Université de Montréal

Comportements anxiodépressifs et motivation alimentaire en contexte d'obésité : impacts des acides gras saturés sur le noyau accumbens

Par

Léa Décarie-Spain

Département de Neurosciences, Faculté de Médecine

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de PhD

en Sciences neurologiques

Décembre 2019

© Léa Décarie-Spain, 2019

Université de Montréal

Département de Neurosciences, Faculté de Médecine

Cette thèse intitulée

Comportements anxiodépressifs et motivation alimentaire en contexte d'obésité : impacts des acides gras saturés sur le noyau accumbens

Présenté par

Léa Décarie-Spain

A été évalué(e) par un jury composé des personnes suivantes

Alex Parker
Président-rapporteur

Stephanie Fulton
Directeur de recherche

Thierry Alquier
Codirecteur

Caroline Ménard
Membre du jury

Alfonso Abizaid
Examinateur externe

Résumé

L'obésité augmente la susceptibilité aux troubles anxieux et de l'humeur et, à son tour, un affect négatif influence les comportements alimentaires. Faisant partie du circuit de la récompense, le noyau accumbens intègre la signalisation dopaminergique avec des signaux corticaux et traduit ces informations en comportements motivés. Chez le rongeur, une alimentation riche en gras favorise des adaptations dopaminergiques au noyau accumbens et des études d'imagerie révèlent un recrutement amoindri de cette région du cerveau lors de la consommation d'aliments palatables en obésité humaine. Les altérations dopaminergiques au noyau accumbens perturbent les fonctions de récompense et contribuent fortement aux déficits motivationnels couramment observés en dépression. L'obésité induite par la diète résulte d'une surconsommation chronique d'aliments à forte densité énergétique, tels que ceux riches en gras, mais des acides gras alimentaires distincts influencent différemment la santé métabolique et l'humeur. Alors que les acides gras monoinsaturés, prédominants dans le régime méditerranéen, améliorent les paramètres du syndrome métabolique, les acides gras saturés, enrichis en produits d'origine animale et en aliments transformés, ont des actions pro-inflammatoires et leur consommation est corrélée aux symptômes dépressifs chez l'humain.

Ainsi, nous avons émis l'hypothèse que l'obésité induite par une diète riche en gras saturés, et non monoinsaturés, favorise l'expression de comportements anxieux et dépressifs chez la souris via des adaptations moléculaires au noyau accumbens. Afin de tester cette hypothèse, nous avons exposé des souris mâles et femelles à une diète riche en gras saturés ou monoinsaturés ou à une diète faible en gras et avons évalué le rôle de l'inflammation au noyau accumbens dans l'expression d'un phénotype anxiodépressif.

Dans notre première étude, impliquant uniquement des souris mâles, nous avons constaté que, malgré une prise de poids et une adiposité similaires, seules les souris nourries avec une diète riche en gras saturés présentaient des altérations métaboliques et des comportements anxiodépressifs. De plus, ces effets étaient accompagnés d'une augmentation des niveaux de marqueurs inflammatoires dans le noyau accumbens et, par approche virale, l'inhibition spécifique de la voie pro-inflammatoire du facteur nucléaire kappa-b dans cette région était suffisante pour empêcher l'expression de comportements anxiodépressifs ainsi que de recherche compulsive de sucrose.

Dans notre deuxième étude, des souris femelles ont été placées sur les mêmes 3 régimes et nous avons également observé un phénotype anxiodépressif spécifique à la diète riche en gras saturés. Contrairement aux mâles, l'inflammation n'était pas associée à l'expression de comportements anxiodépressifs. À la place, des niveaux d'œstrogènes circulants élevés et une expression diminuée du récepteur à l'estrogène bêta dans le noyau accumbens ont distingué les souris sous diète riche en gras saturés des autres.

Dans notre troisième étude, nous avons induit l'obésité et des comportements anxiodépressifs chez des souris mâles en les exposant à la diète riche en gras saturés. Par une approche chimiogénétique, nous avons renversé le phénotype dépressif induit par la diète riche en gras saturés en activant les neurones du noyau accumbens exprimant le récepteur dopaminergique de type 1. De plus, nous avons mis en évidence des effets différentiels de ces neurones, en condition de diète riche en gras saturés, avec une hausse des comportements anxieux par cette même manipulation.

Dans notre quatrième étude, nous évaluons le potentiel d'un nouveau co-agoniste glucagon-like peptide-1/dexaméthasone à réduire la motivation pour les aliments riches en gras et en sucre chez les souris mâles. Nous avons constaté que ce co-agoniste pouvait inhiber, de manière aiguë, la motivation à obtenir des récompenses alimentaires à la fois sous diète contrôle et suite au sevrage d'une diète riche en gras et en sucre. Le traitement prolongé avec ce composé chez des souris obèses a permis de réduire le poids corporel et l'apport alimentaire, sans favoriser de comportements anxiodépressifs ou de déficit cognitif.

Dans l'ensemble, notre travail supporte le rôle du noyau accumbens dans la susceptibilité accrue à l'anxiété et à la dépression chez les personnes obèses. Nous démontrons que la composition du régime alimentaire en différents acides gras, et non seulement la teneur, influence les altérations métaboliques et de l'humeur en obésité. Nos données suggèrent que cette relation est gouvernée par des mécanismes moléculaires distincts en fonction du sexe. Enfin, ces études pourraient orienter le développement de nouvelles approches thérapeutiques traitant à la fois les composantes métaboliques et motivationnelles de l'obésité.

Mots-clés : obésité induite par la diète, acides gras saturés, noyau accumbens, dépression, anxiété, dopamine, inflammation, estrogène, récompense alimentaire.

Abstract

Obesity increases the odds for mood disorders such as depression and anxiety and, in turn, negative affect influences feeding behaviours. Part of the reward circuitry, the nucleus accumbens integrates dopaminergic signaling with cortical inputs and translates this information into goal-oriented behaviours. In rodents, high-fat feeding promotes dopaminergic adaptations in the nucleus accumbens and imaging studies reveal blunted recruitment of this brain region during palatable food consumption in human obesity. Alterations in nucleus accumbens dopamine signaling disrupt reward function and heavily contribute to the motivational deficits commonly observed in depression. Diet-induced obesity results from chronic overconsumption of energy-dense foods, such as those with a high fat content, yet distinct dietary fatty acids influence metabolic health and mood differently. While monounsaturated fatty acids, predominant in the Mediterranean diet, have overall benefits for features of the metabolic syndrome, saturated fatty acids, enriched in animal-derived products and processed foods, have pro-inflammatory actions and their consumption correlates with depressive symptoms.

Thus, we hypothesized that obesity induced by a saturated, but not monounsaturated, high-fat diet promotes anxiety and depressive behaviours in mice via molecular adaptations in the nucleus accumbens. In order to test this hypothesis, we placed male and female mice on either a saturated or monounsaturated high-fat diet or a control low-fat diet and assessed the role of nucleus accumbens inflammation in mediating the expression of an anxiodepressive phenotype.

In our first study, only involving male mice, we found that, despite similar weight gain and overall adiposity, only mice fed the saturated high-fat diet displayed metabolic impairments and anxiodepressive behaviours. In addition, these impairments were accompanied by enhanced levels of inflammatory markers in the nucleus accumbens and region-specific viral mediated inhibition of the pro-inflammatory nuclear factor kappa-b pathway was sufficient to prevent the expression of anxiodepressive behaviours as well as compulsive sucrose-seeking.

In our second study, female mice were placed on the same 3 diets and we also observed an anxiodepressive phenotype specific to the saturated high-fat diet. In contrast to the males, inflammation was not associated to the increase in anxiodepressive behaviours. Instead, elevated circulating levels of estrogen and diminished expression of estrogen receptor beta in the nucleus accumbens distinguished mice on the saturated high-fat diet from the others.

In our third study, we induced obesity and anxiodepressive behaviours in male mice by exposing them to the saturated high-fat diet. Via a chemogenetic approach, we blocked the depressive phenotype induced by saturated high-fat feeding by activating neurons of the nucleus accumbens expressing the type 1 dopamine

receptor. In addition, we evidenced differential effects of these neurons, under conditions of saturated high-fat feeding, as anxiety behaviours were enhanced by this same manipulation.

In our fourth study, we assess the potential of a novel glucagon-like peptide-1/dexamethasone co-agonist to reduce motivation for high-fat/high-sugar rewards in male mice. We found that this co-agonist could acutely inhibit operant response for palatable foods under both chow and withdrawal from high-fat/high-sucrose diet conditions. Prolonged treatment with this compound in diet-induced obese mice successfully reduced body weight and food intake, without promoting anxiodepressive behaviours as well as cognitive impairment.

Overall, our work supports a role for the nucleus accumbens in the greater susceptibility to anxiety and depression in obese individuals. We demonstrate that diet composition in fatty acids, and not just fat content, influences metabolic and mood impairments in obesity. Our data suggests this relationship to be mediating by distinct molecular mechanisms in a sex-specific manner. Finally, these studies may orient the development of novel therapeutic approaches addressing both the metabolic and motivational components of obesity.

Keywords : diet-induced obesity, saturated fatty acids, nucleus accumbens, depression, anxiety, dopamine, inflammation, estrogen, food reward.

Table des matières

Résumé 5

Abstract 7

Table des matières 9

Liste des tableaux 13

Liste des figures 15

Liste des sigles et abréviations 17

Remerciements 23

Chapitre 1 - Introduction 25

1.1. Obésité, anxiété et dépression – une combinaison perdante 25

1.2. Influence des émotions sur la régulation de l'apport alimentaire 26

1.2.1. Homéostasie énergétique 26

1.2.2. Circuit méso-cortico-limbique 28

1.2.3. Émotions et alimentation 29

1.2.4. Monoamines impliquées en anxiété et en dépression 30

1.2.4.1. Sérotonine 31

1.2.4.2. Dopamine 32

1.2.4.3. Norépinéphrine 34

1.3. Impacts de l'obésité sur le cerveau 36

1.3.1. Acides gras alimentaires 36

1.3.1.1. Acides gras saturés 37

1.3.1.2. Acides gras monoinsaturés 38

1.3.1.3. Acides gras polyinsaturés 38

1.3.2. Neuro-endocrinologie 39
1.3.2.1. Hormones métaboliques 40
1.3.2.2. Peptides gastriques 41
1.3.2.3. Axe HPA 42
1.3.2.4. Axe HPG 43
1.3.3. Adaptations dopaminergiques 46
1.3.4. Neuroinflammation 47
1.3.4.1. Inflammation métabolique 47
1.3.4.2. Inflammation au système nerveux central 47
1.3.4.3. Conséquences de la neuroinflammation 49
1.3.4.4. Étiologie inflammatoire en dépression 50
1.4. Déficits motivationnels en dépression 52
1.4.1. Perturbations cognitives en dépression et anxiété 52
1.4.2. Déficits hédoniques en dépression et anxiété 53
1.4.3. Récompense alimentaire 54
1.4.4. Dépression atypique 55
Chapitre 2 – Méthodologie et contributions 57
2.1. Mise en contexte des articles 57
2.2. Approches expérimentales 57
2.2.1. Lignées de souris transgéniques 58
2.2.2. Vecteurs viraux 58
2.2.3. Profilage métabolique 59
2.2.4. Analyses comportementales 59
2.2.4.1. Comportements dépressifs 60

2.2.4.2. Comportements anxieux 60
2.2.4.3. Comportements conditionnés 60
2.2.5. Biologie moléculaire 60
2.3. Contributions scientifiques 61
2.3.1. Contributions du premier article 61
2.3.2. Contributions du deuxième article 62
2.3.3. Contributions du troisième article 62
2.3.4. Contributions du quatrième article 62
Chapitre 3 – Résultats 65
3.1. Premier article 65
3.2. Deuxième article 102
3.3. Troisième article 123
3.4. Quatrième article 150
Chapitre 4 – Discussion 174
4.1. Obésité et dépression 175
4.1.1. Modèles d'obésité chez le rongeur 175
4.1.2. Modèles de dépression chez le rongeur 177
4.1.3. Différences sexuelles 178
4.1.4. Différences développementales 180
4.2. Mécanismes inflammatoires 181
4.2.1. Origine de l'inflammation 181
4.2.2. Rôles des cellules gliales 182
4.2.3. Intégrité de la barrière hémato-encéphalique 183
4.3. Circuit méso-cortico-limbique 184

4.3.1. Voie méso-corticale 184

4.3.2. Implication des neurones D2R 185

4.3.3. Susceptibilité des neurones D1R 185

4.4. Perspectives thérapeutiques 186

4.4.1. Endotypes dépressifs 187

4.4.2. Polypharmacie 187

Chapitre 5 – Conclusion 189

Références bibliographiques 191

Liste des tableaux

Tableau 1. – Principaux types d'acides gras en fonction des degrés de saturation 37

Tableau 2. – Hormones métaboliques et peptides gastriques 40

Tableau 3. – Résumé des hypothèses et conclusions 174

Liste des figures

Figure 1. – Principaux noyaux hypothalamiques impliqués dans la prise alimentaire 27

Figure 2. – Circuit méso-cortico-limbique 28

Figure 3. – Principaux systèmes de monoamines impliquées en dépression et anxiété 31

Figure 4. – Récepteurs dopaminergiques au noyau accumbens 33

Figure 5. – Variations hormonales au cours du cycle menstruel chez la femme 44

Figure 6. – Signalisation inflammatoire à travers la barrière hémato-encéphalique 48

Figure 7. – Voie de signalisation du facteur nucléaire kappa-B 50

Liste des sigles et abréviations

5-HT : 5-hydroxytryptamine ou sérotonine

5-HTT: transporteur du 5-HT

5-HTTP: 5-hydroxytryptophane

ACTH : hormone adrénocorticotrophique

AgRP: agouti-related protein

AMY : amygdale

Arc : noyau arqué

BDNF : facteur neurotrophique dérivé du cerveau

bgal : bêta-galactosidase

CMV : cytomégalovirus

CNO : clozapine-N-oxide

CORT : cortisol ou corticostérone

CPA : conditionnement à l'évitement de place

Cre : cre-recombinase

CREB : protéine se liant aux éléments de réponse à l'AMP cyclique

CRF : facteur de relâche de la corticotrophine

CRP : protéine C-réactive

D1R: récepteur dopaminergique de type 1

D2R: récepteur dopaminergique de type 2

DIO : double inverted flox

DR: raphe dorsal

EPM : labyrinthe surélevé en croix

ERa : récepteur à l'estrogène alpha

ERb: récepteur à l'estrogène bêta

FSH : hormone folliculo-stimulante

FST : test de la nage forcée

GABA : acide gamma-aminobutyrique

GFP : protéine fluorescente verte

GLP-1 : glugacon-like peptide-1

GnRH : hormone de relâche de la gonadotrophine

HDL : lipoprotéine à haute densité

HPA : hypothalamo-pituitaire-adrénergique

HPC : hippocampe

HPG : hypothalamo-pituitaire-gonadotrope

hSyn : synapsine humaine

IFNg : interferon gamma

IkBa : inhibiteur de kappa-B alpha

IKK : kinase de l'inhibiteur de kappa-B

IL1b : interleukine-1 bêta

IL6 : interleurkine-6

IPITT : test de tolérance à l'insuline intra-péritonéale

LC: locus coerulus

LDL : lipoprotéine à basse densité

LH : hormone lutéinisante

LHA : noyau latéral de l'hypothalamus

LPS : lipopolysaccharide

MAO: monoamine oxydase

MC4R: récepteur à la mélanocortine

MCP-1 : protéine chimiooattractive de monocyte de type 1

MHC-II : complexe d'histocompatibilité majeur de type 2

NAc : noyau accumbens

NET : transporteur à la norépinéphrine

NFkB : facteur de transcription nucléaire kappa-B

NPY: neuropeptide Y

NTS : noyau du tractus solitaire

OFT : test de champ ouvert

OGTT : test de tolérance au glucose oral

PFC : cortex préfrontal

POMC : pro-opiomélanocortine

PVN : noyau paraventriculaire

qPCR : réactions de polymérase en chaîne quantitatives

SIT : test d'interaction sociale

SPT : test de préférence au sucrose

TCC : thérapie cognitive-comportementale

TH: tyrosine hydroxylase

TLR-4 : récepteur toll-like 4

TNF: facteur de nécrose tumorale

VMH : noyau ventromédian de l'hypothalamus

VTA : aire tegmentaire ventrale

À mamie et grand-maman

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier les professeurs Alex Parker, Caroline Ménard, Alfonso Abizaid et Marie-France Marin, qui est gracieusement accepté de faire partie de mon jury de thèse. Tous les 4 ont répondu avec enthousiasme à mon invitation et sont demeurés compréhensifs face à mes changements de date de dépôt.

Mon désir de poursuivre une formation doctorale a débuté bien avant mon entrée à l'université et alors que je concevais étudier en sciences humaines, deux femmes ont joué un grand rôle dans mon application en sciences de la nutrition. Mes enseignantes de biologie, chimie et sciences physiques, Nathalie Fiset et Suzanne Dionne, ont su susciter ma curiosité et m'ont fait réaliser que je n'étais pas prête à laisser les sciences de la nature de côté.

Un grand merci à Louise Lemire qui m'a aidée à obtenir mon premier poste en recherche alors que je venais à peine d'atteindre la majorité. Merci aux professeurs qui m'ont offert des contrats de recherche tout au long de mon baccalauréat; Tracey O'Sullivan, Bénédicte Fontaine-Bisson, Éric Doucet, Dia Sanou et Alain Dagher. Alors qu'ils me connaissaient à peine, ils m'ont ouvert la porte de leur laboratoire et m'ont offert de précieuses opportunités d'avancement. Un merci particulier à Bénédicte et Éric qui m'ont aidée à obtenir mes premiers financements de recherche au baccalauréat et même lorsque je suis partie faire ma maîtrise. Mention honorable à Bénédicte pour le soutien moral continu à travers mes études supérieures ;-)

La formation d'un comité de parrainage m'a permis de connaître Nathalie Arbour et Anna Samaha non seulement à titre de professeures, mais également de mentores. Leurs expertises scientifiques ont enrichi mes travaux ainsi que ma formation académique, mais surtout, leur générosité et la qualité de nos interactions m'ont fait sentir soutenue tout au long des 5 dernières années.

J'ai eu la chance de travailler à l'INRA Bordeaux dans le cadre d'un stage de recherche sous la supervision de notre collaborateur Guillaume Ferreira. Guillaume m'a accueillie à bras ouverts dans son équipe et, encore aujourd'hui, il est une importante source de conseils même de l'autre côté de l'Atlantique.

Il va de soi que je n'aurais pu accomplir ma thèse sans mes directeurs Stephanie Fulton et Thierry Alquier. Du moment que j'ai visité leur laboratoire, j'ai su que j'avais trouvé ma voie en recherche. J'ai été relativement privilégiée en termes d'opportunités de présentation, de publication et de formation pendant mes études supérieures et ceci est grâce à l'immense confiance qu'ils m'ont attribuée, dès les débuts de ma formation. Mon séjour dans leur laboratoire s'achève, mais je sais que cela ne met pas fin à leur soutien et je leur en remercie grandement.

Du groupe Fulton/Alquier, je remercie tout particulièrement Cécile, Sandeep, Victor, Alexandre, Élizabeth et David pour leurs contributions précieuses à mes travaux de thèse, mais également Demetra, Khalil, Romane, Trevor, Danie, Shingo ainsi que tous les membres antérieurs de l'équipe qui ont favorisé une ambiance d'entraide et de camaraderie au sein du laboratoire. J'inclus ici les nombreux stagiaires que j'ai supervisés qui ont marqué mon parcours de par leur aide technique et leur personnalité.

J'ai aussi forgé des amitiés avec des membres des laboratoires voisins et des organismes de recherche desquels nous faisons partie. Ainsi, je remercie les membres des laboratoires de l'axe cardiométabolique du CRCHUM, du MDRC et du CMDO pour les fous rires que nous avons partagés, lors de conférences tout comme au quotidien.

Un merci tout spécial aux docteurs Roger Labonté et Marie-Claude Delisle ainsi qu'aux membres de leurs équipes. Leurs accompagnements, à différents moments de ma formation universitaire, m'ont permis de maintenir ma scolarité et, surtout, un équilibre de vie relativement acceptable... ☺

Ma famille a été derrière moi à travers ce long parcours académique et n'a jamais raté une occasion pour me partager leur fierté et leurs encouragements. Mon père, ma mère et ma sœur ont été aux premières loges et ont été, chacun à leur manière, une source intarissable de nourriture, d'écoute et de réconfort. J'ai également des amis en or, scientifiques ou non, qui m'ont soutenue à travers les hauts et les bas de la recherche. Sans les nommer, je les remercie infiniment.

Sans surprise pour personne au laboratoire, une de mes premières sources de réconfort ce sont mes chats. J'avais toujours hâte de retrouver Pantoufle et Paprika lorsque je prenais une pause pour visiter mes parents. Bibi a été ma confidente numéro 1 lors de mon installation à Montréal et de ma transition de la maîtrise vers le doctorat. Chou m'a aidée à garder le cap après le départ de Bibi et m'accompagne dans tous mes projets, que ce soit un stage en France ou l'hébergement de chatons de la SPCA.

Sur cette note, j'aimerais terminer en remerciant Christian Demers et le comité institutionnel de protection des animaux du CRCHUM pour l'opportunité qu'ils m'ont offert d'agir à titre de représentante étudiante au cours des dernières années. En plus de l'éthique animale, la participation au CIPA m'a maintenue à jour sur les avancées en recherche issues du CRCHUM, même en dehors de mon champ d'expertise, ce qui a renforcé ma formation scientifique. Comme à la fin de chacune de mes présentations, j'aimerais remercier tous les animaux impliqués dans mon parcours en recherche. L'utilisation des animaux de laboratoire est un privilège, et non un droit.

Chapitre 1 - Introduction

1.1. Obésité, anxiété et dépression – une combinaison perdante

L'être humain occidental est victime de son évolution : l'abondance de sources alimentaires, la transition vers un mode de vie de plus en plus sédentaire et la croissance fulgurante de nouvelles technologies créent un environnement propice à une épidémie mondiale d'obésité raccourcissant, pour une première fois, l'espérance de vie. Au Canada, la majorité des adultes sont en situation de surpoids ou d'obésité (1). L'obésité entraîne avec elle d'innombrables complications et risques de comorbidités dont les coûts pour le système de santé sont d'ordre télescopique. De son côté, la dépression est un trouble psychiatrique fréquent à répercussions sévères tant au niveau personnel que professionnel. De ce fait, la dépression est la première cause d'invalidité au travail (2). On peut diagnostiquer chez la très grande majorité des patients dépressifs (60-90% selon les études) un trouble anxieux (3). La présence de symptômes anxieux en cas de dépression est synonyme, non seulement, d'un fardeau supplémentaire, mais également d'un pronostic assombri (4,5). On considère, au Québec, qu'une personne sur cinq souffrira d'un trouble de la santé mentale au cours de sa vie, et les troubles anxieux et de l'humeur sont les plus fréquents (6).

En plus de leurs fardeaux respectifs, l'obésité, l'anxiété et la dépression entretiennent une relation particulière. L'obésité augmente considérablement le risque de dépression et les personnes souffrant de dépression ont plus de chances de devenir obèse (7). Non seulement est-elle fréquemment associée à des symptômes dépressifs, l'anxiété est également plus fréquente chez les personnes obèses que chez celles de poids normal (8). De plus, au Canada, on estime qu'environ 1 patient dépressif sur 5 présente une forme de dépression résistante aux antidépresseurs conventionnels et cette sous-population clinique est particulièrement touchée par des comorbidités cardio-métaboliques en plus de présenter un indice de masse corporelle plus élevé que les patients dépressifs démontrant une réponse thérapeutique (9). On se retrouve alors avec une combinaison de conditions médicales qui se renforcent entre-elles. La gestion saine du poids corporel est un processus à long-terme qui requiert motivation et concentration. Le maintien d'un équilibre de vie propice à la santé mentale nécessite un minimum d'énergie et de bien-être physique. Le défi pour les professionnels de la santé face à ces comorbidités demeure la mise en place d'une prise en charge permettant d'adresser simultanément les barrières communes au changement.

En recherche biomédicale, l'usage de rongeurs est fréquent pour étudier les mécanismes moléculaires sous-tendant le développement de l'obésité et de ses complications métaboliques en réponse à la consommation d'une diète riche en gras et/ou en sucre. Similairement, il existe différents modèles murins de dépression ou d'anxiété dont la validité est confirmée à l'aide de tests comportementaux se basant sur la symptomatologie

humaine (10). Par exemple, l'anhédonie – un symptôme dépressif majeur – se caractérise par une perte de plaisir ou d'intérêt qui s'observe chez l'animal par une réduction de la préférence pour une récompense naturelle comme une solution sucrée ou une interaction sociale. La dépression peut également s'accompagner d'un sentiment de désespoir et d'une capacité d'adaptation réduite qui se reflète par l'adoption d'un comportement passif plutôt qu'actif en situation aversive chez la souris. L'anxiété chez le rongeur se modélise par le recrutement de l'axe hypothalamo-pituitaire-adrénergique (HPA) ou encore par l'évitement de zones d'une arène considérées plus à risque (11). Ensemble, ces mesures permettent d'investiguer les processus biologiques par lesquels l'obésité induite par la diète peut favoriser le développement de comportements anxiodépressifs chez la souris.

1.2. Influence des émotions sur la régulation de l'apport alimentaire

La connexion entre l'obésité et la santé mentale n'est pas si surprenante considérant que le cerveau régule, à la fois, notre prise alimentaire et nos émotions. Le système nerveux central régule divers aspects de la balance énergétique et contribue directement à la problématique de l'obésité. En fait, des chercheurs ont démontré que la très grande majorité des gènes impliqués dans l'obésité sont exprimés au niveau du système nerveux central (12). Ces altérations géniques peuvent se traduire par un déséquilibre homéostatique via une prise alimentaire accrue ou une dépense énergétique moindre, mais également par des traits de caractère particuliers favorisant la surconsommation (13). Le cerveau ajuste nos comportements alimentaires en fonction des besoins physiologiques de l'organisme ainsi qu'en réponse à des mécanismes de renforcement.

1.2.1. Homéostasie énergétique

La survie de l'organisme est dépendante d'un contrôle précis de paramètres métaboliques qui est orchestré, en grande partie, par l'hypothalamus. L'hypothalamus veille à ce que le corps maintienne un niveau adéquat de réserves énergétiques en détectant le niveau de marqueurs sanguins reflétant le statut nutritionnel. Par exemple, la leptine, une hormone sécrétée de façon proportionnelle à la masse adipeuse est détectée par l'hypothalamus et ce dernier peut ajuster la prise alimentaire en conséquence. Le noyau arqué (Arc) est situé à la base de l'hypothalamus (Figure 1), au bas du troisième ventricule et y est placé stratégiquement afin de détecter des variations dans les signaux métaboliques plasmatiques. Les neurones les mieux caractérisés de l'Arc sont ceux à la pro-opiomélanocortine (POMC) ainsi que ceux exprimant l'*agouti-related protein* (AgRP) ou le neuropeptide Y (NPY). Ces neurones envoient des projections au noyau paraventriculaire (*paraventricular nucleus;* PVN) afin de former des synapses avec les neurones exprimant le récepteur à la mélanocortine (MC4R) dont l'activité inhibe la prise alimentaire et signale la satiété. Les

neurones AgRP/NPY libèrent un antagoniste du MC4R, alors que les neurones POMC libère son agoniste, permettant ainsi donc une régulation entre les signaux orexigènes et anorexigènes (14). De plus, le PVN contient des neurones sécrétant le facteur de relâche de la corticotrophine (*corticotropin-releasing factor*; CRF) requise pour le fonctionnement de l'axe hypothalamo-pituitaire-adrénergique (HPA).

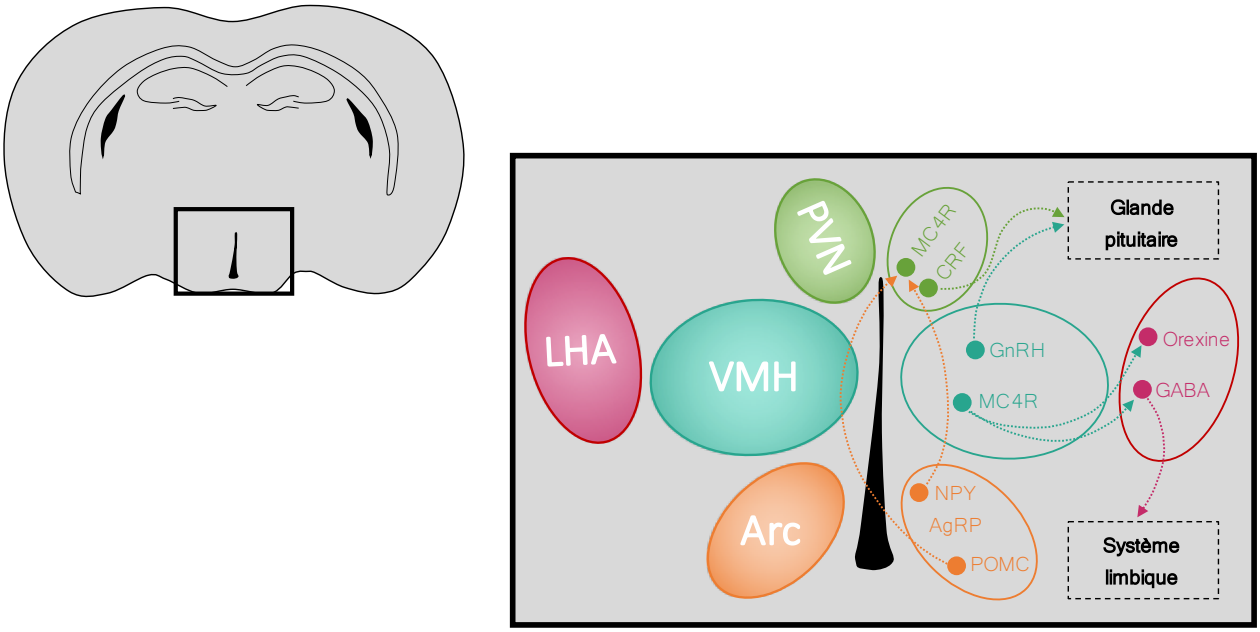


Figure 1. – Principaux noyaux hypothalamiques impliqués dans la prise alimentaire

Noyau arqué (Arc); hypothalamus latéral (LHA); noyau paraventriculaire (PVN); hypothalamus ventro-médian (VMH); récepteur à la mélanocortine (MC4R); facteur de relâche de la corticotrophine (CRF); hormone de relâche de la gonadotrophine (GnRH); neuropeptide Y (NPY); agouti-related protein (AgRP); pro-opiomélanocortine (POMC); acide gamma-aminobutyrique (GABA).

Le noyau ventromédian de l'hypothalamus (*ventromedial hypothalamus;* VMH) exprime également des neurones MC4R et est impliqué dans l'homéostasie énergétique (15). Le VMH jouerait un rôle d'adaptation métabolique en situation obésogène, c'est-à-dire qu'il influencerait les mécanismes de dépenses énergétiques en fonction du statut nutritionnel (16). Le VMH contient des neurones exprimant le récepteur à l'estrogène alpha (ERa) dont l'activité joue un rôle préventif au développement de l'obésité et des désordres métaboliques (17,18). On retrouve dans le VMH, mais également à travers les noyaux hypothalamiques, des neurones libérant l'hormone de relâche de la gonadotrophine (*gonadotropin-releasing hormone*; GnRH) qui participent à la sécrétion des hormones sexuelles via l'axe hypothalamo-pituitaire-gonadotrope (HPG). Le VMH envoie des projections à l'Arc et au PVN, ainsi qu'au noyau latéral de l'hypothalamus (*lateral hypothalamus*; LHA). La stimulation du LHA favorise la prise alimentaire, particulièrement la consommation d'aliments riches en gras et en sucre (19). Cet effet peut passer, entre-autre, via l'activation des neurones à l'orexine favorisant la prise alimentaire ou encore par l'activité des neurones inhibiteurs à l'acide gamma-aminobutyrique (*gamma-*

aminoburytic acid; GABA), particulièrement leurs synapses avec certains structures extra-hypothalamiques. De ce fait, les neurones du LHA communiquent avec plusieurs régions du cerveau impliquées dans les émotions (système limbique) et peuvent ainsi influencer le comportement alimentaire en intégrant le statut nutritionnel avec les états affectifs (19,20).

1.2.2. Circuit méso-cortico-limbique

L'expérience de manger implique des dimensions affectives et cognitives qui peuvent diverger des besoins physiologiques. D'un point de vue évolutif, la recherche et la consommation d'aliments à haute teneur calorique sont des comportements dont le renforcement positif a été essentiel à la survie de l'espèce. Encore aujourd'hui, en condition d'abondance, le cerveau demeure réactif aux stimuli externes associés à la nourriture. Par mécanisme d'apprentissage, la consommation de certains types d'aliments est associée à un sentiment de récompense qui pousse un individu à vouloir répéter l'expérience (21). On ne mange donc pas toujours parce que nous sommes en déficit énergétique, mais également parce que notre cerveau a encodé que l'ingestion de ces aliments est une expérience positive. Cet encodage découle du recrutement de diverses régions formant le circuit méso-cortico-limbique (Figure 2). Parmi ces structures, on retrouve l'aire tegmentaire ventrale (*ventral tegmental area;* VTA) qui possède une importante population de neurones dopaminergiques projetant vers l'amygdale (AMY), le noyau accumbens (NAc), l'hippocampe (HPC) et le cortex préfrontal (*prefrontal cortex*; PFC).

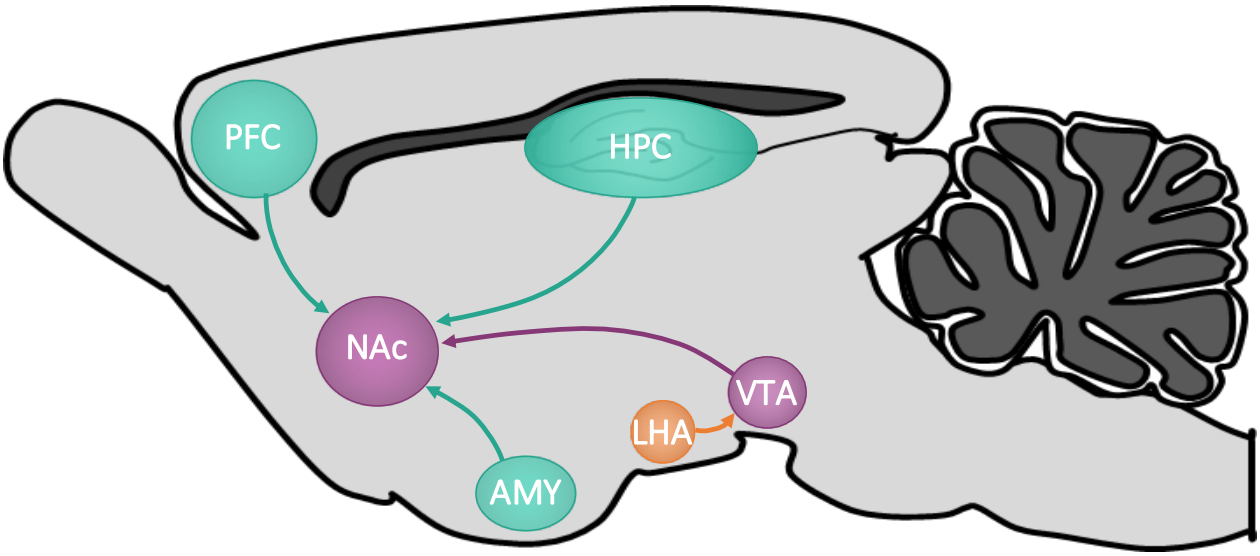


Figure 2. – Circuit méso-cortico-limbique

Amygdale (AMY); hippocampe (HPC); hypothalamus latéral (LHA); noyau accumbens (NAc); cortex préfrontal (PFC); aire tegmentaire ventrale (VTA).

Le renforcement d'un comportement alimentaire nécessite la signalisation dopaminergique du VTA au NAc. Le NAc est activé en réponse à l'ingestion d'aliments dits palatables, tels que les aliments riches en gras et en sucre. Cette activation est indicative du statut récompensant du comportement et favorise sa répétition via un remodelage neuronale (22). Au cours du temps, le NAc n'est plus seulement réactif à l'exécution du comportement, mais également à des stimuli prédisant l'ingestion des aliments palatables. Ce phénomène d'anticipation facilite l'exécution du comportement alimentaire et requière l'action concertée des autres régions du circuit méso-cortico-limbique.

Le HPC est une structure importante pour les fonctions mnésiques et d'apprentissage. Ces processus facilitent l'association entre un stimulus externe et une réaction comportementale, ce qui fait que ce stimulus auparavant neutre devient prédicteur d'une réponse conditionnée. Le HPC permet d'intégrer des stimuli prédicteurs de consommation de nourriture et influence le comportement alimentaire en fonction d'expériences antérieures (23). L'AMY quant à elle attribue une valeur, positive ou négative, aux stimuli neutres suite à leur association à une réponse conditionnée. Cette valeur est variable selon l'état physiologique et les probabilités que l'exécution du comportement résulte en l'obtention d'une récompense (24). Cette flexibilité cognitive s'effectue en concert avec le PFC via des mécanismes de plasticité pouvant être faciliter ou inhiber en fonction de la sous-région impliquée (25). Certaines fonctions exécutives comme la flexibilité cognitive et le contrôle inhibiteur prennent racine au niveau du PFC (26) et sont démontrées comme ayant un impact sur les comportements alimentaires (27). Le HPC, l'AMY et le PFC renvoient tous des projections neuronales au NAc qui agit à titre d'intégrateur de ces informations afin de faciliter, ou non, l'expression de comportements motivés.

Bien que le phénomène de motivation alimentaire ne soit pas conditionnel à une activation orexigénique au niveau de l'hypothalamus, ce dernier demeure en étroite communication avec le circuit mésolimbique et peut potentialiser son activité. Par exemple, le LHA envoie des projections au VTA qui favorisent la signalisation dopaminergique au NAc (28) et l'expression de comportements alimentaires compulsifs (29). Tel qu'il sera décrit dans la prochaine section, les hormones impliquées dans le métabolisme énergétique telles que la leptine, l'insuline et la ghréline communiquent également directement avec le VTA et d'autres régions du circuit méso-cortico-limbique via la présence de récepteurs (30,31).

1.2.3. Émotions et alimentation

Nos états d'âmes peuvent également moduler nos comportements alimentaires. Un stress aigu ou une peine d'amour, par exemple, peuvent être accompagnés d'une perte d'appétit. À l'opposé, les aliments palatables servent souvent de source de réconfort en réponse à un stress chronique ou à la recherche de plaisir. L'expression « manger ses émotions » prend tout son sens chez les individus tentant d'apaiser leur inconfort

par la nourriture. Les aliments de prédilection sont plus souvent qu'autrement riches en gras et en sucre, des nutriments dont l'apport stimule la signalisation dopaminergique entre le VTA et le NAc (32).

Plusieurs mécanismes biologiques sous-tendent ou sont proposés comme sous-tendant l'alimentation émotionnelle. Un système particulièrement pertinent au contexte d'obésité, anxiété et dépression est celui de l'axe HPA. L'axe HPA connecte l'hypothalamus, la glande pituitaire et les glandes surrénales afin de relâcher l'hormone de cortisol (la corticostérone chez le rongeur; CORT) dans la circulation sanguine. Les neurones du PVN libèrent le CRF qui signale à la glande pituitaire de sécréter de l'hormone adénocorticotrophique (*adrenocorticotropic hormone*; ACTH) dans la circulation sanguine. L'ACTH cible le cortex médullaire des glandes surrénales qui relâche la CORT. On associe souvent les concentrations plasmatiques de CORT à une indication du niveau stress car cet axe permet au corps de se préparer à répondre à une menace externe perçue ou réelle. Précisément, la CORT mobilise les ressources énergétiques du corps en vue de fournir, aux muscles, les nutriments nécessaires pour combattre ou fuir une situation stressante. Cette adaptation est bénéfique à court-terme et un mécanisme de rétroaction inhibitrice de la part de la CORT et de ses précurseurs sur le cerveau permet le retour à la normale une fois que la menace est maîtrisée. Par contre, certaines menaces ne sont pas transitoires mais plutôt présentes de façon chronique dans nos vies, telles que le stress en milieu de travail, les relations interpersonnelles ou même un discours interne péjoratif. Ces situations peuvent mener à une activation chronique de l'axe HPA ainsi qu'à un impact prolongé de la CORT sur le métabolisme énergétique et l'appétit ayant comme conséquence de favoriser la prise alimentaire et la prise de poids (33,34).

Les récepteurs à la CORT sont exprimés au travers le cerveau et leur signalisation est impliquée en apprentissage et en renforcement. Les neurones dopaminergiques du VTA sont d'ailleurs sensibles au stress (35,36) et l'administration de CRF au NAc induit des comportements dépressifs chez le rat (37). La réactivité du circuit méso-cortico-limbique est augmentée en situation d'hypercortisolémie (niveau plasmatique de CORT élevé) et la consommation d'aliments palatables permettrait de réduire, temporairement, l'hyperactivation de l'axe HPA (32,38,39). Ce soulagement est relativement rapide ce qui rend ce renforcement puissant et justifie la prévalence de l'alimentation émotionnelle. De plus, il a également été démontré que la CRF facilite les mécanismes de plasticité au NAc, ce qui permet de cristalliser l'adoption de comportements de motivés mésadaptés (40).

1.2.4. Monoamines impliquées en anxiété et en dépression

Le traitement pharmacologique de la dépression est loin d'être optimal et compris, mais les molécules classiques se concentrent sur trois systèmes de neurotransmetteurs monoamines afin d'apaiser les symptômes anxieux et dépressifs. Plusieurs autres cibles moléculaires ont été identifiées dans les dernières années, dans le cadre de cette thèse, l'introduction se limitera aux neuromodulateurs monoamines (Figure 3). La théorie

monoamine de la dépression dicte que les personnes dépressives ont un déficit de certains neurotransmetteurs et que l'inhibition de leur recapture puis de leur dégradation lorsqu'ils sont sécrétés par un neurone présynaptique permet d'améliorer l'humeur en prolongeant l'interaction des neurotransmetteurs avec les récepteurs post-synaptiques (41). Cette théorie est controversée en raison de la prévalence importante de patients dépressifs ne répondant pas au traitement ainsi que de l'hétérogénéité de symptômes en présentation clinique (42). De plus, la réponse thérapeutique aux antidépresseurs apparaît bien après que la signalisation monoamine soit rétablie et coïncide plutôt avec l'occurrence d'adaptations neurales ayant lieu à plus long terme (43). Néanmoins, le rétablissement de la signalisation monoamine contribue probablement au remodelage moléculaire impliqué dans l'effet des antidépresseurs (44). Tout comme les émotions influencent l'alimentation, la sérotonine, la dopamine et la norépinéphrine ont également un impact sur nos comportements alimentaires.

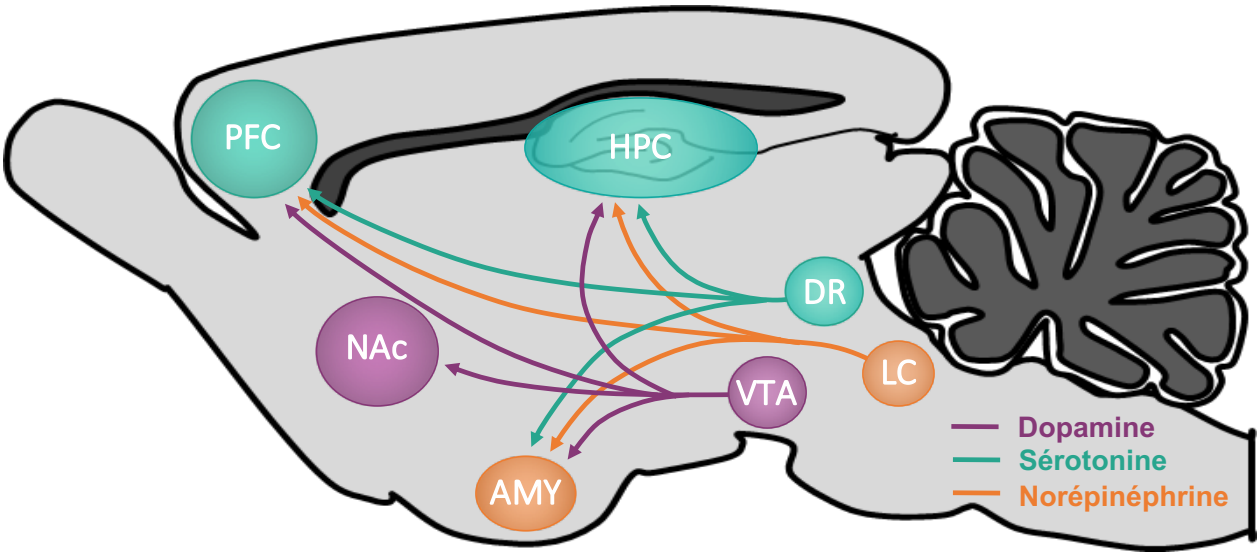


Figure 3. – Principaux systèmes de monoamines impliquées en dépression et anxiété

Amygdale (AMY); raphé dorsal (DR); hippocampe (HPC); locus coerulus (LC); noyau accumbens (NAc); cortex préfrontal (PFC); aire tegmentaire ventrale (VTA).

1.2.4.1. Sérotonine

La sérotonine ou 5-hydroxytryptamine (5-HT) est synthétisée à partir de tryptophane, un acide aminé alimentaire, qui est converti en 5-hydroxytryptophane (5-HTP) par l'enzyme de tryptophane hydroxylase puis en 5-HT par l'enzyme de tryptophane décarboxylase (45). Le 5-HT est emmagasiné dans des vésicules de sécrétion et relâché dans la fente synaptique pour interagir avec des récepteurs sérotoninergiques pré et post-synaptiques. Le 5-HT est, par la suite, soit capté par le neurone présynaptique via le transporteur du 5-HT (5-HTT) ou métabolisé en acide 5-hydroxy-indol-acétique (5-hydroxyindolacetic acid; 5-HIAA) par l'enzyme de monoamine oxydase (MAO). Les principales projections des neurones sérotoninergiques

prennent origine au niveau du raphé dorsal (*dorsal raphe;* DR) et se dispersent vers la moelle épinière, le cervelet, l'hypothalamus ainsi que plusieurs structures limbiques telles que le HPC, l'AMY et le PFC (46).

De pair avec l'hypothèse hypo-sérotoninergique, les individus souffrant de dépression ont des niveaux sériques de 5-HT réduits comparativement aux individus sains (47). Au cerveau, les concentrations extracellulaires de 5-HT corrèlent négativement avec le niveau de pessimisme (48). Ce manque de 5-HT peut être le résultat d'une faible synthèse ou encore d'une dégradation excessive de neurotransmetteur par la MAO. De ce fait, le métabolisme de dégradation du 5-HT est augmenté chez les individus non-médicamentés souffrant de dépression (49). Certains antidépresseurs inhibent l'action de la MAO alors que d'autres inhibent la fonction de recapture du 5-HTT, toujours dans le but de maximiser l'interaction du 5-HT avec les récepteurs post-synaptiques.

Le récepteur 5-HT1a est une cible pour l'action des antidépresseurs, son activation au neurone post-synaptique provoque des effets antidépresseurs et anxiolytiques (50). Il s'adonne que la densité du récepteur 5-HT1a est réduite dans plusieurs régions du cerveau, telles que le HPC et le PFC, chez les patients souffrant de dépression (51). Bien que le récepteur 5-HT1a soit le plus souvent associé aux effets des antidépresseurs, d'autres récepteurs au 5-HT sont susceptibles de contribuer tel que le 5-HT1b dont l'expression est réduite au NAc en dépression (52) ou encore le 5-HT2b, dont la présence est requise pour une réponse thérapeutique aux antidépresseurs (53). Il semblerait également que les récepteurs 5-HT2a, en abondance dans les régions corticales, seraient impliqués dans la résilience et les fonctions cognitives (54).

La prise d'antidépresseurs agissant sur le système sérotoninergique peut avoir des effets secondaires stimulant ou inhibant l'appétit selon le récepteur ciblé. Par exemple, l'activation des récepteurs 5-HT4 inhibe la prise alimentaire (55) et l'agonisme des récepteurs 5-HT2c est une cible thérapeutique pour la perte de poids (56). Malgré tout, on observe une susceptibilité à l'obésité ainsi qu'à l'hyperglycémie chez les individus prenant des antidépresseurs, possiblement via la réduction de la fonction du 5-HTT (57). Les systèmes monoaminergiques étant inter-reliés, la modulation de la signalisation sérotoninergique n'influence pas que les récepteurs au 5-HT. Par exemple, l'activité des projections du DR résulte en une diminution de la sécrétion de dopamine au NAc via l'inhibition des neurones du VTA (58).

1.2.4.2. Dopamine

La dopamine est une catécholamine également dérivée d'un acide aminé alimentaire, la tyrosine, qui est convertie en L-Dopa par l'enzyme tyrosine hydroxylase (TH) avant d'être transformé en dopamine. Elle est emmagasinée dans des vésicules de sécrétion en vue d'être relâchée à la fente synaptique ou métabolisée par la MAO en DOPAC puis en acide vanilloïde par la catéchol-O-méthyltransféranse (45). La dopamine possède quelques voies majeures de neurotransmission dont les plus pertinentes à l'anxiété et la dépression

sont la voie méso-corticale et la voie méso-limbique dont les projections proviennent du VTA et forment le circuit méso-cortico-limbique. La voie méso-corticale, qui se rend jusqu'au PFC, en passant par l'AMY et le HPC, est majoritairement impliquée dans la cognition et les fonctions exécutives. La voie mésolimbique, reliant le VTA au NAc, est requise pour le renforcement de comportement motivé et son activité joue un rôle majeur dans l'expression des comportements dépressifs (59).

La déplétion aigüe en tyrosine chez des individus sains reproduit les déficits neuropsychologiques observés en dépression, notamment au niveau de l'anhédonie et de la motivation (60). Ces déficits sont encore plus accrus lorsque la déplétion est induite chez des patients en rémission de dépression, suggérant une vulnérabilité persistante des fonctions de récompense (61). Ces résultats suggèrent qu'un déficit en dopamine provoque des symptômes dépressifs, particulièrement en ce qui a trait aux états motivationnels. Des adaptions synaptiques au niveau du NAc ont été identifiées comme mécanisme sous-tendant l'anhédonie (62) possiblement via une hypo-activation de cette région en dépression (63).

Le NAc est majoritairement composé de neurones de projection pouvant être classifiés comme exprimant le récepteur post-synaptique dopaminergique de type 1 (D1R) ou de type 2 (D2R) et donc répondant à la neurotransmission dopaminergique issue du VTA (Figure 4). L'activation du D1R cause une dépolarisation du neurone, alors que l'activation du D2R est associée à une hyperpolarisation. Via un circuit de connexions neuronales impliquant les ganglions de la base et le thalamus, les neurones D1R et D2R du NAc modulent l'activité des neurones dopaminergiques du VTA. En général, on considère que l'activation des neurones exprimant le D1R favorise la relâche de dopamine au NAc alors que la stimulation de ceux caractérisés par le D2R la tempère (64). Les neurones D1R du NAc projettent notamment au LHA qui, à son tour, interagit avec le VTA pour influencer la transmission dopaminergique au NAc (31).

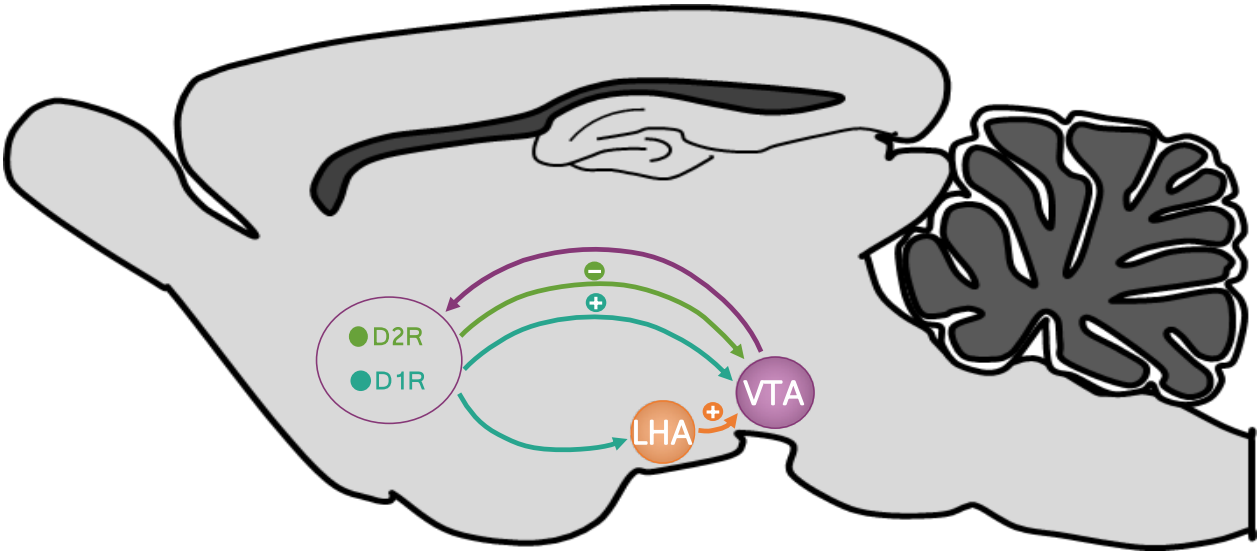


Figure 4. – Récepteurs dopaminergiques au noyau accumbens

Récepteur dopaminergique de type 1 (D1R); type 2 (D2R); hypothalamus latéral (LHA); aire tegmentaire ventrale (VTA).

Les modèles précliniques de dépression suggèrent que la stimulation des neurones D1R promeut un phénotype de résilience au stress alors que l'activation des neurones D2R accentuerait la susceptibilité à développer des comportements dépressifs (65). À l'instar des D1R, les D2R peuvent également être localisés sur les neurones dopaminergiques issus du VTA et inhiber la sécrétion de dopamine directement au niveau de la fente synaptique au NAc en agissant à titre d'autorécepteur. La réduction de la signalisation dopaminergique en dépression pourrait s'expliquer par l'action des autorécepteurs D2R dont le blocage au NAc rétablit l'activité dopaminergique ainsi que la connectivité avec le PFC chez les individus dépressifs (66).

Alors que des défauts de la neurotransmission dopaminergique sont souvent associés à la dépression, en raison des déficits hédoniques et motivationnels accompagnant une hypoactivation du NAc, la dopamine joue également un rôle au niveau de l'anxiété via un conditionnement à la peur adéquat et la prévention d'une réaction anxieuse généralisée (67). Ces effets modulateurs de l'anxiété impliquent le recrutement des régions de la voie méso-corticale tels que le PFC, l'AMY et le HPC (68). Par exemple, les D2R du HPC sont requis pour le processus de généralisation de l'information, un phénomène pathologiquement excessif tant en dépression qu'en anxiété et qui peut provoquer des réponses de peur à des stimuli jamais auparavant associés à un danger quelconque (69). À l'opposé, l'activité des D2R au NAc est requise pour le phénomène d'apaisement, c'est-à-dire, la disparition de l'expression de la peur (70). Chez la souris, l'innervation du VTA vers le NAc peut induire à la fois une préférence ou une aversion selon la structure d'origine des neurones glutaminergiques entrant (71).

Chez l'humain, l'usage d'un inhibiteur de recapture de la dopamine et de la norépinephrine a été associé à une perte de poids modeste qui se maintient avec un traitement à long-terme (72). Les expériences chez l'animal suggèrent que cette molécule améliore le statut motivationnel de façon concordante avec une signalisation dopaminergique accrue au NAc, tout en réduisant la prise alimentaire (73). Il n'est, toutefois, pas clair si son impact sur l'appétit est médié par la dopamine, puisque l'inhibition de la prise alimentaire chez le rat est potentialisée par le blocage des récepteurs à la norépinephrine plutôt qu'à la dopamine (74). Néanmoins, la modulation de la neurotransmission dopaminergique au NAc demeure un mécanisme potentiel dans la réduction de la prise alimentaire, particulièrement en ce qui concerne la consommation d'aliments palatables.

1.2.4.3. Norépinéphrine

La norépinephrine est dérivée de la dopamine via l'action de la DOPA decarboxylase et a son propre transporteur à la norépinephrine (NET). Tout comme la dopamine, elle est emmagasinée dans des vésicules

de sécrétion et dégradée par la MAO et la COMT (45). Son noyau principal est le locus coerulus (LC) qui envoie des projections diffuses à travers le cerveau (75), de façon similaire à la 5-HT.

L'activité des récepteurs alpha-adrénergiques de la norépinephrine est reconnue comme modulateur des déficits cognitifs et de l'attention en dépression (76). De ce fait, le recrutement excessif des autorécepteurs alpha-adrénergiques inhibe la sécrétion de norépinephrine et nuit à la consolidation de la mémoire (77). Les individus souffrant de dépression présentent également une disponibilité accrue des transporteurs à la norépinephrine comparativement aux sujets en santé et celle-ci corrèle négativement avec les capacités d'attention (78).

La dépression peut s'exprimer par un ralentissement psychomoteur ainsi qu'une fatigue extrême et, dans ce cas, les effets positifs de la norépinephrine sur l'éveil sont recherchés. Cependant, à l'opposé, la norépinephrine peut également favoriser un état d'hypervigilance caractéristique de certains troubles anxieux (79). De concert avec la CRH, la norépinephrine module l'aversion et l'expression de l'anxiété via le recrutement des neurones de l'AMY (80). En plus d'être intimement liés à l'activité de l'axe HPA et le stress chronique a un effet délétère sur les neurones du locus coerulus (81).

La norépinephrine active le système nerveux autonome sympathique qui innerve les organes périphériques et influence le métabolisme énergétique et cardiorespiratoire. Tel que mentionné plus haut, l'usage d'un inhibiteur de la recapture de la dopamine et de la norépinephrine favorise une perte de poids modeste pouvant être attribuable, au moins en partie, à une augmentation de la thermogenèse (82). L'inhibition de la recapture de la norépinéphrine et de la sérotonine permettrait également de normaliser certains comportements alimentaires en plus d'améliorer le profil métabolique (83). Cependant, cette dernière drogue fut retirée du marché en raison de ses effets hypertenseurs ainsi que de l'incidence augmentée de crise cardiaque (84). Cet exemple illustre bien la complexité derrière la régulation de l'appétit et du poids corporel par le système nerveux central et la communication étroite entre le cerveau et les organes périphériques.

En résumé

Le cerveau intègre les signaux environnants pour guider nos actions en vue de préserver un équilibre énergétique. Des influences métaboliques et motivationnelles influencent nos comportements alimentaires de façon synergique la majorité du temps. Parmi ces facteurs, on retrouve une dimension affective incluant l'humeur et la réactivité au stress. Ces fonctions limbiques requièrent l'implication de neurotransmetteurs monoamines ciblés par la pharmacothérapie pour la dépression et l'anxiété. La modulation de ces systèmes de neurotransmission peut également influencer le métabolisme et les comportements alimentaires.

1.3. Impacts de l'obésité sur le cerveau

Un apport alimentaire supérieur aux dépenses énergétiques crée une balance énergétique positive et favorise le gain de poids. L'obésité dérive d'un déséquilibre énergétique chronique où la majorité des calories excédentaires sont stockés sous forme de réserves lipidiques. L'adiposité excessive, particulièrement en région abdominale, est associée à plusieurs complications endocriniennes caractérisant le syndrome métabolique. Le syndrome métabolique regroupe l'adiposité abdominale, l'hyperglycémie, l'hypertension, l'hypertriglycéridémie ainsi qu'un ratio de lipoprotéines (haute densité (HDL) : basse densité (LDL)) défavorable. Ces particularités prédisposent les individus obèses à plusieurs conditions métaboliques comme le diabète de type 2, l'athérosclérose ou la fibrose hépatique (85). Cependant, la morbidité ne se limite pas qu'aux organes périphériques. Chez l'humain ou en modèle animal, le surpoids et l'obésité sont associés à une prédisposition à certains désordres neurodégénératifs tel que la maladie de Parkinson (86) ainsi qu'à des déficits neuropsychiatriques au niveau cognitif (87) ou affectif (88). Tout comme système nerveux central influence la prise alimentaire et le métabolisme, l'alimentation et le statut nutritionnel ont un impact sur le cerveau.

1.3.1. Acides gras alimentaires

Les lipides constituent un élément primordial au fonctionnement du système nerveux central que ce soit via la fluidité membranaire, le maintien de la gaine de myéline, la stabilisation de récepteurs membranaires ou encore à titre de messagers synaptiques (89). Les acides gras sont donc essentiels au bon fonctionnement des cellules et leur consommation ne devrait pas être éliminée, mais plutôt diversifiée. Le cerveau peut synthétiser différents acides gras *de novo*, mais il a été démontré que les lipides de la circulation sanguine, pouvant donc être d'origine alimentaire, accèdent au système nerveux central (90). Ainsi, non seulement l'embonpoint affecte les fonctions cérébrales, mais la qualité de notre alimentation via la composition en acides gras de notre diète a un impact sur le système nerveux central. Les études épidémiologiques mettent en évidence des corrélations pertinentes entre la consommation de certains types d'acides gras et certains indicateurs de santé cardio-métabolique ou de bien-être psychologique (Tableau 1). Ces associations vont de pair avec les recommandations nutritionnelles encourageant une diversité des sources d'acides gras alimentaires à longue chaîne incluant principalement les acides gras monoinsaturés et polyinsaturés, ainsi qu'une modération des apports d'acides gras saturés (91).

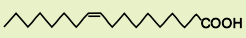
Type	Saturé	Monoinsaturé	Polyinsaturé
Exemple	Acide palmitique	Acide oléique 	Acide docohexaénoïque
Origine	Animale	Végétale	Pescale ou végétale
Réponse immunitaire	Pro-inflammatoire	Anti-inflammatoire	Anti-inflammatoire (oméga-3) Pro-inflammatoire (oméga-6)
Observations épidémiologiques	Inflammation métabolique Symptômes dépressifs	Corrélation négative avec les symptômes dépressifs	Corrélation positive (oméga-6) ou négative (oméga-3) avec les symptômes dépressifs

Tableau 1. – Principaux types d'acides gras en fonction des degrés de saturation

1.3.1.1. Acides gras saturés

Les acides gras saturés, tels que l'acide palmitique et l'acide stéarique, sont retrouvés dans les produits d'origine animale tels que les produits laitiers et les viandes (92). Leur classification « saturés » provient du fait que tous les atomes de carbone forment le maximum de liaison avec un atome d'hydrogène, conférant une structure peu flexible affectant la fluidité des membranes plasmiques (93). Les diètes riches en gras utilisées pour induire l'obésité chez le rongeur sont généralement enrichies en acides gras saturés. En plus du gain de poids, ces animaux présentement bien souvent une inflammation systémique se reflétant également au niveau de l'hypothalamus et des altérations métaboliques (94,95). Cette inflammation hypothalamique est issue d'une propriété des acides gras saturés, et non monoinsaturés, à interagir avec la cascade de signalisation intracellulaire des récepteurs Toll-like 4 (Toll-like receptor 4; TLR-4) impliqués dans la propagation de la réponse inflammatoire et le stress cellulaire (96).

L'acide palmitique est l'acide gras saturé prédominant dans notre alimentation et il a été démontré en culture cellulaire que ses effets immunitaires sont médiés, au moins en partie, par l'activation de facteurs de transcription nucléaire menant à l'expression de plusieurs cytokines pro-inflammatoires (97). Il peut également induire une résistance à l'insuline en entravant à la signalisation intracellulaire directement au niveau de l'hypothalamus (98). Chez le rongeur, 4 semaines de diète riche en gras saturés suffisent pour détecter un enrichissement du contenu en acide palmitique au niveau de l'hypothalamus (99). Les propriétés pro-inflammatoires de l'acide palmitique nuisent également à l'effet suppresseur de la prise alimentaire par la leptine (100) ainsi qu'au contrôle glycémique (101). Chez la souris, l'administration intra-péritonéale d'acide palmitique induit l'expression de comportements anxieux (102).

Similairement, chez l'humain, la consommation à long-terme d'acides gras saturés corrèle avec des mesures inflammatoires, en particulier l'acide palmitique et l'acide stéarique (103). L'apport en acides gras saturés est également prédicteur d'inflammation, mais également de dépression chez les hommes et les femmes

(104). Chez les hommes, les concentrations plasmatiques d'acide palmitique vont de pair avec la présence de symptômes dépressifs (105). Les avantages à réduire notre consommation d'acides gras saturés ne sont donc pas que métaboliques, mais également psychologiques. Toutefois, les bénéfices cardio-métaboliques ne dépendent pas que de la diminution de ces apports, mais bien de leur remplacement par d'autres types d'acides gras alimentaires de type insaturé (106).

1.3.1.2. Acides gras monoinsaturés

Les acides gras monoinsaturés sont principalement issus d'aliments d'origine végétale comme les légumes et les produits céréaliers. Leur structure diffère des acides gras saturés au niveau d'un atome de carbone qui forme une double liaison avec un autre atome de carbone, leur conférant davantage de flexibilité (93). Les acides gras monoinsaturés sont généralement associés à une bonne santé cardio-métabolique tel qu'observé dans les études épidémiologiques concernant la diète méditerranéenne. Particulièrement, l'huile d'olive ou plus précisément l'acide oléique qu'elle contient, apporte des bienfaits sur le plan du contrôle glycémique, du profil lipidique (107) ainsi de la pression sanguine (108). Contrairement à l'acide palmitique, l'acide oléique a plutôt un effet suppresseur sur la réponse immunitaire et n'induit pas d'inflammation systémique (109).

Au niveau du système nerveux central, on y observe également un impact anti-inflammatoire de l'acide oléique que ce soit en culture cellulaire (110) ou via une diète enrichie en acide oléique chez la souris (111). Outre son effet sur la neuroinflammation, les actions de l'acide oléique au cerveau se reflètent aussi via une réduction de la production hépatique de glucose et une inhibition de la prise alimentaire (112). Au niveau comportemental, on remarque une absence d'impact délétère sur la locomotion, l'éveil ainsi que l'activité cérébrale et la sensibilité à l'insuline chez les souris recevant une diète enrichie en acides gras monoinsaturés, comparativement à celles nourries avec une diète riche en gras saturés malgré un contenu de masse adipeuse similaire (113).

Ces observations précliniques vont de pair avec une corrélation négative entre l'apport en acides gras monoinsaturés et les symptômes dépressifs tant chez les hommes que les femmes (104). Chez les individus obèses et/ou présentant des dysfonctions métaboliques, la vulnérabilité à la dépression est significativement réduite avec l'adoption du diète méditerranéenne (114,115). Ces bienfaits des acides gras monoinsaturés sur la santé cardio-métabolique, le profil inflammatoire ainsi que les fonctions affectives reflètent le risque réduit de dépression chez les personnes obèses présentant un profil métabolique sain comparativement aux individus souffrant d'obésité ainsi que de complications métaboliques (116).

1.3.1.3. Acides gras polyinsaturés

Les acides gras polyinsaturés regroupent les oméga-3 et 6 présentant plusieurs double-liaisons avec la plus distale se situant au 3ième ou 6ième atome de carbone par rapport à la fin de la chaîne, respectivement. Ces acides gras sont considérés « essentiels » puisqu'ils ne peuvent être synthétisés de novo par le corps

humain en quantité suffisante et doivent donc être fournis par notre alimentation. Les acides gras oméga-3 sont principalement retrouvés dans l'huile de poisson gras alors que les oméga-6 sont présents dans les végétaux. Cependant, l'usage d'huiles à forte teneur en oméga-6 par l'industrie alimentaire et la consommation excessive de produits transformés rendent l'apport d'oméga-6 généralement largement au-dessus des recommandations nutritionnelles. Le ratio oméga-6 : oméga-3 joue un rôle crucial considérant certains effets opposés des deux classes d'acides gras polyinsaturés, notamment au niveau immunitaire. Effectivement, les produits dérivés des oméga-3 ont des propriétés anti-inflammatoires alors que la majorité des dérivés des oméga-6 activent la réponse immunitaire. Au système nerveux central, les acides gras polyinsaturés influencent les fonctions cérébrales via la neuroinflammation, mais également d'autres mécanismes dont la pertinence dépasse le cadre de cette thèse (voir (117)).

Les acides gras polyinsaturés ont suscité énormément d'intérêt quant à leurs bénéfices cardio-protecteurs, quoique modestes pour la population générale (118) et leurs effets sont maintenant investigués à travers le corps, y compris le cerveau. La supplémentation en acides gras oméga-3 démontre des effets bénéfiques sur l'humeur autant chez les individus souffrant de dépression que chez ceux ne rencontrant pas les critères diagnostiques (119). Chez les hommes, l'apport en acides gras oméga-3 corrèle négativement avec les symptômes dépressifs via une protection contre l'inflammation (104). À l'opposé, chez une population âgée en rémission de dépression, l'apport en acides gras oméga-6 prédit les symptômes anxieux et dépressifs résiduels (120). Quant au ratio oméga-6 : oméga-3, le maintien d'une faible prédominance des acides gras oméga-6 est associé à une progression ralentie des symptômes dépressifs au cours du temps (121).

1.3.2. Neuro-endocrinologie

L'obésité est associée à plusieurs dysfonctions endocriniennes telles que la résistance à certaines hormones métaboliques et peptides gastriques, ainsi que la perturbation d'axe de signalisation reliant l'hypothalamus à des glandes périphériques en passant par la glande pituitaire. Par exemple, en condition d'adiposité excessive, les fonctions de l'insuline, la leptine, la ghréline ainsi que le glucagon-like peptide-1 (GLP-1), pour ne nommer que quelques hormones, sont affectées (Table 2). Du côté de la glande pituitaire, on dénote particulièrement les axes HPA et HPG régulant les niveaux sanguins de CORT et d'hormones sexuelles, respectivement. L'obésité est associée à un dérèglement de l'axe HPA pouvant favoriser la réactivité au stress ainsi que la consommation d'aliments palatables. On observe, également, des perturbations hormonales au niveau de l'axe HPG pouvant expliquer la fertilité réduite chez les femmes obèses. L'axe HPG implique également les testicules et les hormones androgènes, cependant cette thèse se limitera aux hormones sexuelles féminines dans un contexte d'obésité et de dépression.

	Insuline	Leptine	Ghréline	GLP-1
Origine	Cellules bêta	Adipocytes	Cellules intestinales	Cellules intestinales
Impact sur l'appétit	Anorexigène	Anorexigène	Orexigène	Anorexigène
Impact motivationnel	Inhibition	Inhibition	Potentiation	Inhibition

Tableau 2. – Hormones métaboliques et peptides gastriques

1.3.2.1. Hormones métaboliques

L'insuline est sécrétée par les cellules bêta du pancréas afin de permettre l'utilisation du glucose sanguin par les cellules, faute de quoi, les cellules ne peuvent utiliser ce substrat énergétique et la glycémie atteint un niveau nocif pour les tissus environnants. L'intolérance au glucose, observable en syndrome métabolique et suggestive d'un état pré-diabétique, résulte d'une accumulation de glucose dans la circulation sanguine conséquente à une incapacité de l'insuline à faire son travail. Chez les personnes obèses, on observe généralement de hautes concentrations d'insuline dans la circulation sanguine, indiquant que les défauts de métabolisme glucidique sont davantage issus d'une perte de sensibilité à l'insuline plutôt que d'une sécrétion insuffisante (122). L'insuline possède des récepteurs au niveau de l'hypothalamus, permettant une réduction de l'appétit, mais également au VTA où elle peut influencer la motivation alimentaire (123). Chez le rat, un défaut dans la voie de signalisation de l'insuline au niveau des neurones dopaminergiques augmente la prise alimentaire (124).

Chez le rongeur, le syndrome métabolique est associé au développement de comportements anxieux (20,125,126). Il est fort probable que les altérations métaboliques travaillent de façon synergique avec différents acteurs au système nerveux central pour promouvoir les symptômes d'anxiété et de dépression. La résistance à l'insuline, par exemple, résultant en une intolérance au glucose, peut induire l'expression de comportements anxiodépressifs chez la souris via une perturbation du métabolisme de la dopamine (127) ou encore le recrutement de l'axe HPA (128). Chez l'humain en bonne santé, la résistance à l'insuline corrèle avec les mesures de connectivité du NAc au cortex chez des individus en santé (129). Certains agents anti-diabétiques pourraient même améliorer les symptômes anxieux et dépressifs tels que démontré chez le rongeur (130) et l'humain (131,132).

Sécrétée de façon proportionnelle à l'adiposité, la leptine est un indicateur des réserves énergétiques du corps à long terme et favorise l'homéostasie en inhibant la prise alimentaire. L'obésité s'accompagne de concentrations plasmatiques élevées en leptine et le traitement à la leptine endogène s'avère inefficace, mettant en évidence le développement d'une résistance aux effets anorexigènes de cette hormone avec la prise de poids. Les actions de la leptine sont bien connues à l'hypothalamus où l'activation de ses récepteurs

stimule les neurones POMC et inhibe les neurones AgRP (133). Cependant, l'expression des récepteurs à la leptine est observable à travers le cerveau et, tout comme l'insuline, l'effet de la leptine sur la prise alimentaire résulte également de son interaction avec le circuit méso-cortico-limbique, notamment le VTA (134). Même en contexte non-alimentaire, la leptine demeure un important modulateur de l'activité dopaminergique entre le VTA et NAc, ainsi que des fonctions de récompense (135,136).

Un phénotype dépressif est également rapporté dans des modèles d'hyperleptinémie (137) et d'antagonisme des récepteurs à la leptine (138). En condition d'obésité, l'hyperleptinémie pourrait également contribuer à l'infiltration immunitaire au système nerveux central et au développement de symptômes dépressifs (139). Les souris transgéniques déficientes en récepteurs à la leptine présentent une réduction dans l'expression de protéines de jonctions serrées en plus d'une migration accrue de macrophages au système nerveux central (140), ce qui mène à supposer qu'une signalisation adéquate de la leptine est requise pour préserver l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique. À l'opposé, la leptine peut également agir directement au niveau des cellules immunitaires pour favoriser la production de cytokines pro-inflammatoires qui à leur tour peuvent influencer la propagation de la réponse inflammatoire au cerveau (141). Chez l'humain, l'hyperleptinémie est fortement associée au sous-type atypique de la dépression et pourrait expliquer la plus grande susceptibilité des personnes obèses aux symptômes dépressifs (142).

1.3.2.2. Peptides gastriques

La ghréline est une hormone orexigène sécrétée par les cellules intestinales stimulant la prise alimentaire via l'activation des neurones AgRP de l'hypothalamus ainsi que les neurones dopaminergiques du VTA (143,144). On observe une perte des effets de la ghréline sur la prise alimentaire chez le rongeur nourri avec une diète riche en gras (95). L'impact de la ghréline sur la motivation alimentaire est également atténuée et nuit à l'acquisition de certaines tâches conditionnées (145,146). Tout comme la CORT, la ghréline est sécrétée en situation de stress et, à son tour, celle-ci communique avec l'axe HPA pour moduler son activité (147). L'activation des récepteurs à la ghréline au VTA favorise l'impulsivité chez le rongeur (148), ce qui pourrait se traduire par des comportements alimentaires compulsifs chez l'humain. Chez une population de femmes obèses, de hautes concentrations plasmatiques de ghréline départagent celles présentant des facteurs de risque de développer un trouble alimentaire et de celles n'en présentant pas (149).

Dans les modèles de stress chronique chez le rongeur, la signalisation de la ghréline au système nerveux central est requise pour l'expression d'un phénotype métabolique (150,151). En même temps, la ghréline a également un effet antidépresseur suite à un stress (152,153). Ces particularités se rejoignent sous l'hypothèse que la ghréline contribue à la réponse au stress et permet l'adaptation du corps en vue de faire face à la menace (154). Ainsi, la ghréline est impliquée à la fois dans la réactivité au stress et dans la

résilience, via des mécanismes pouvant passer, par contre, via la consommation d'aliments riches en gras et en sucre, conférant un soulagement qu'à court-terme.

Le GLP-1 est un peptide gastrique également sécrété par les cellules intestinales favorisant la prolifération des cellules bêta du pancréas et communiquant avec le noyau du tractus solitaire (NTS) qui envoie des projections à l'hypothalamus pour signaler la satiété (155,156). Le nerf vague relie les organes digestifs au NTS et informe ce dernier du statut nutritionnel en fonction de la distension gastrique et de la concentration de certains peptides. Ce rôle du nerf vague est altéré par une suralimentation chronique (157). Suite à une chirurgie bariatrique, la sécrétion de peptides gastriques, tel que le GLP-1, est augmentée, et ce, avant qu'une perte de poids ait lieu (158). Ce changement au niveau du GLP-1 contribue à l'amélioration de la sensibilité à l'insuline et de l'effet de satiété suite à l'intervention chirurgicale. Des analogues du GLP-1 sont d'ailleurs approuvés dans le traitement du diabète (159) et des essais cliniques rapportent également une efficacité de ce traitement dans la perte de poids (160,161). Outre sa signalisation via le nerf vague et le noyau du tractus solitaire, le GLP-1 possède également des récepteurs au circuit méso-cortico-limbique ainsi qu'au LH via lesquels il influence les comportements motivés (162–164).

Quelques études précliniques ont investigué les effets d'analogues du GLP-1 dans des modèles de dépression et d'anxiété. Certains suggèrent des bénéfices d'un analogue du GLP-1 sur les comportements dépressifs et les dysfonctions métaboliques conséquents à l'usage d'antipsychotique atypique (165). Des résultats similaires sont observés dans un modèle d'administration chronique de CORT (166). La plus récente étude rapporte que l'amélioration du phénotype dépressif par la combinaison d'un agent anti-diabétique et de l'activité physique en modèle de stress chronique est médié par le GLP-1 (167). Une méta-analyse préliminaire soutient un potentiel des analogues du GLP-1 dans l'amélioration des symptômes dépressifs (168).

1.3.2.3. Axe HPA

Tel que mentionné plus haut, l'axe HPA est réactif au stress et son activation prolongée favorise la prise alimentaire. En contexte non-pathologique, la CORT est relâchée par les glandes surrénales, se lie aux récepteurs aux glucocorticoïdes du cerveau et a un effet rétroactif d'inhibition sur l'axe HPA. L'obésité est associée à une perturbation du fonctionnement adéquat de l'axe HPA via des changements dans la sécrétion de CORT et/ou la signalisation rétroactive au cerveau.

Bien que certaines études se contredisent, une analyse systématique de la littérature supporte une association positive entre l'indice de masse corporelle et les concentrations plasmatiques de CORT suite à un stress. Les résultats sont encore plus homogènes lorsque l'activité de la CORT est corrélée avec l'adiposité plutôt que le poids corporel (169) Il est intéressant de noter que la relation entre les niveaux de CORT et l'indice de masse corporelle pourrait suivre une courbe « en U » où tant la maigreur que l'obésité serait

associée à une hypercortisolémie, alors que le surpoids se situerait vers le bas de la courbe (170). Cependant, ces observations se basent sur un état de maigreur subséquent à l'anorexie mentale, un trouble psychiatrique qui, en soit, implique de hauts niveaux de stress. Tout de même, il a été démontré, encore une fois, récemment, que la CORT sérique est significativement plus élevé chez les femmes obèses que chez celle de poids normal (171). Au-delà des mesures uniques de CORT souvent obtenues en début de journée, l'amplitude des variations circadiennes de CORT pourrait être plus représentative des altérations moléculaires induites par une dysfonction de l'axe HPA, au moins dans le tissu adipeux (172). Mieux encore, les mesures de CORT dans les cheveux procurent une lecture à plus long-terme et on dénote que les niveaux sont plus élevés chez les patients obèses comparativement à la fois aux patients en surpoids qu'à ceux de poids normal (173).

Chez le rat, une alimentation riche en acides gras saturés - mais non monoinsaturés, est associée à un pic de CORT plus élevé (174). Il a également été démontré que la consommation prolongée d'une diète riche en gras ou d'aliments palatables augmente considérablement la réactivité de l'axe HPA suite à une immobilisation (175,176). Il est intéressant de noter que des changements dans les niveaux circulants de CORT en mesure basale ne sont pas toujours observés (125), suggérant donc que l'obésité amplifie la susceptibilité au stress. Cette hyperactivité de l'axe HPA peut s'expliquer par une rétroaction inadéquate de la CORT sur les récepteurs aux glucocorticoïdes du tissu adipeux (177) ou encore du cerveau, via une réduction de l'expression de ces récepteurs tel qu'observé au niveau du HPC dans un modèle d'obésité induite par la diète chez la rate (178). Similairement, l'invalidation des récepteurs aux glucocorticoïdes au PVN empêche l'inhibition rétroactive de la CORT et résulte en une hyperactivité de l'axe HPA (179).

L'exposition à des concentrations élevés de CORT dans la circulation sanguine, de façon prolongée, favorise la formation et l'expansion de dépôts adipeux, particulièrement au niveau viscéral. La CORT a également un effet inhibiteur sur la production d'hormones thyroïdiennes et l'hypothyroïdie s'accompagne par un ralentissement du métabolisme basal favorisant le gain de poids (180). En plus de son impact sur le métabolisme, l'activation prolongée de l'axe HPA peut favoriser l'alimentation émotionnelle de façon similaire à la facilitation des comportements addictifs par la CORT (181). Par exemple, chez les patients obèses souffrant d'hyperphagie boulimique, l'exposition à un stress psychosocial favorise les compulsions alimentaires de façon concordante avec le recrutement de l'axe HPA (182).

1.3.2.4. Axe HPG

Les neurones de l'hypothalamus relâchent la GnRH qui cible la glande pituitaire qui libère à son tour l'hormone folliculostimulante (*follicule stimulating hormone*; FSH) ainsi que l'hormone lutéinisante (*luteinizing hormon*e; LH) dans la circulation sanguine. Chez la femme, la LH et la FSH signalent aux ovaires de sécréter les hormones reproductives féminines, c'est-à-dire l'estrogène et la progestérone (183). Le cycle

hormonal féminin est composé d'une phase folliculaire, où la concentration en estrogène augmente de façon progressive jusqu'à l'ovulation, caractérisée par une chute drastique d'estrogène ainsi qu'une pulsation à grande amplitude de LH et FSH (Figure 5). Suite à l'ovulation, débute, la phase lutéale, avec l'entrée en action de la progestérone dont les niveaux s'élèvent jusqu'à une semaine suivant l'ovulation puis redescendent en fin de cycle (184). L'estrogène et la progestérone sont dérivées de la testostérone, via l'action de l'enzyme de conversion aromatase qui est principalement exprimée dans les ovaires, mais également présente dans le tissu adipeux ainsi que le cerveau (185).

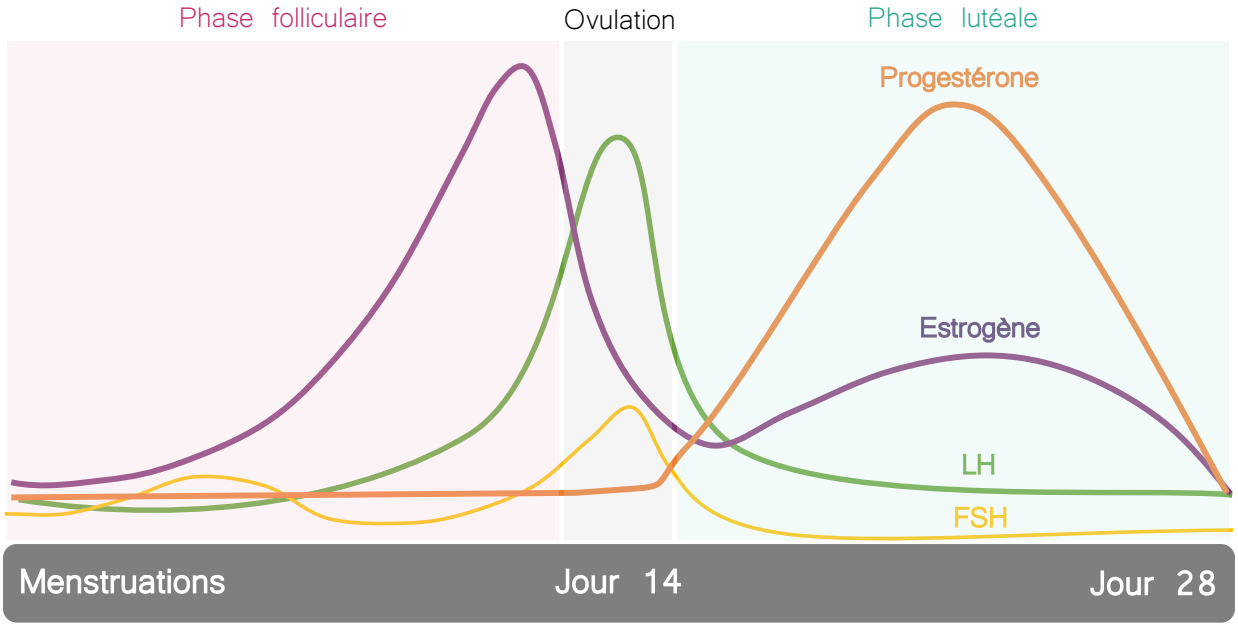


Figure 5. – Variations hormonales au cours du cycle menstruel chez la femme

Hormone folliculostimulante (FSH); hormone lutéinisante (LH).

La ménarche, ou l'apparition des premières menstruations, survient à un âge de plus en plus jeune et ce changement physiologique est dépendant de l'adiposité (184,186). Chez la femme pubère, l'obésité atténue l'amplitude des pulsations de LH envoyées par la glande pituitaire, perturbant ainsi l'ovulation et l'entrée en phase lutéale (187). Il a également été démontré dans des modèles animaux que la fréquence des pulsations de LH est rapidement modulée par le statut nutritionnel (188). D'ailleurs, des menstruations irrégulières ainsi que des cycles anovulatoires sont plus fréquemment observés chez les femmes en situation d'obésité que chez celles de poids normal (189). L'adiposité excessive mène à des concentrations périphériques d'hormones sexuelles féminines accrues en raison de l'activité de conversion des androgènes en estrogène par l'aromatase dans le tissu adipeux (190). L'hyperinsulinémie, courante en obésité, favorise également la production d'androgènes par les ovaires (189). Similairement, le syndrome de l'ovaire polykystique se caractérise par une fertilité appauvrie, de la résistance à l'insuline ainsi qu'une augmentation

du niveau de la testostérone en circulation. Pertinemment, les femmes souffrant de ce syndrome sont aussi plus susceptibles de développer de l'obésité abdominale ainsi que des troubles de l'humeur (191).

Les comportements sexuels et la reproduction requièrent un statut nutritionnel adéquat et l'expression de récepteurs aux hormones reproductives, tel que le ERa fluctue à l'hypothalamus en réponse au métabolisme de substrats énergétiques (188). En plus d'affecter les comportements de reproduction, l'expression des ERa est requise pour les fonctions métaboliques de par son activité à l'hypothalamus (17,18,192). Chez la souris mâle, la signalisation des ERa de l'hypothalamus module les perturbations métaboliques associées à la consommation d'une diète riche en gras (193). Toutefois, les ERa de d'autres régions peuvent intervenir, tel que l'AMY modulant le poids corporel (194) et le DR inhibant les compulsion alimentaires (195). La prise alimentaire des femmes décroisse progressivement au cours de la phase folliculaire pour atteindre son minimum à l'ovulation et remonter abruptement pour la phase lutéale (196). Chez l'animal, la motivation alimentaire est inversement associée à l'estrogène circulante et peut-être modulée par l'administration d'estrogène au VTA (197).

Les variations des hormones sexuelles au cours du cycle menstruel peuvent également influencer les fonctions affectives. On observe, chez la femme, une réactivité augmentée du circuit mésolimbique en phase folliculaire, caractérisée par des concentrations élevées d'estrogène et faibles de progestérone (198). Le pic d'estrogène en fin de phase folliculaire est aussi associé à une plus grande tendance à privilégier des récompenses obtenues suite à un délai plutôt que des récompenses immédiates, mais de plus petites valeurs (199,200). Une chute drastique de l'estrogène survient à la ménopause et l'hormonothérapie de remplacement permet d'augmenter la réponse cérébrale à un contexte de récompense (201). Bien qu'à une moins grande échelle, la phase prémenstruelle (fin de phase lutéale) s'accompagne aussi d'une baisse des niveaux d'estrogène et ces deux périodes sont associée à une vulnérabilité aux symptômes anxieux et dépressifs (202). Chez la souris, l'ovariectomie est associée à une augmentation des comportements anxieux (203) et l'administration d'estrogène réduit l'expression de ces comportements chez la femelle âgée (204). Certaines études rapportent également une influence du cycle hormonal sur les fonctions cognitives et l'expression d'un phénotype anxiodépressif avec une meilleure performance mnésique ainsi qu'une réduction des comportements anxiodépressifs juste avant l'ovulation, lorsque les niveaux d'estrogène sont à leur apogée (205,206).

La littérature suggère que certains polymorphismes du gène ERa pourraient être associés aux symptômes dépressifs sévères ainsi qu'à l'anxiété (207). Des altérations dans l'expression génique des ERa au PFC et au HPC sont rapportés chez des patients dépressifs (208). Chez la souris, la susceptibilité à un phénotype dépressif est modulée par les ERa du NAc (209). Il n'en demeure pas moins que le récepteur à l'estrogène bêta (ERb), bien moins étudié chez l'humain, est fréquemment associé à la modulation des comportements anxiodépressifs chez la souris. Par exemple, la perte de fonction des ERb favorise les comportements anxieux chez la femelle (210) et l'administration d'un agoniste spécifique aux ERb reproduit

les effets antidépresseurs de l'estrogène chez la souris sauvage mais pas celle déficiente en ERb (211). Finalement, l'usage d'un ligand sélectif aux ERb permet de réduire les comportements dépressifs et la prise de poids suite à une ovariectomie (212).

1.3.3. Adaptations dopaminergiques

L'imagerie médicale a permis de visualiser l'activité cérébrale chez les personnes obèses dans un contexte de récompense. De pair avec l'hypothèse d'un déficit de signalisation dopaminergique, la réponse cérébrale au NAc à la consommation d'aliments palatables est réduite suite à une prise de poids (213,214). Le recrutement du NAc est également amoindri suite à l'ingestion de lait frappé chez des sujets de poids normal mais consommant de la crème glacée sur une base régulière suggérant un phénomène d'habituation (215). Cette hypo-activation lors de l'ingestion de nourriture est combinée à une réactivité accrue aux stimuli associés à l'apport alimentaire (216,217). On se retrouve donc avec un déséquilibre dans la réponse du circuit de la récompense entre la phase anticipatoire et celle suivant la prise alimentaire. Autrement dit, les individus obèses répondent fortement aux signaux associés à la nourriture, mais très peu suite à sa consommation.

Cette situation de déséquilibre est similaire à ce qui est observé dans le cas de toxicomanie où l'environnement peut servir de déclencheur aux envies de consommer, sans que la prise de drogue en soi soit satisfaisante (218). Dans ce cas, la consommation d'aliments palatables peut devenir habituelle et l'ancrage de ce comportement semble corréler avec une augmentation de la disponibilité des D2R dans la portion dorsale du striatum ainsi qu'une diminution dans la portion ventrale correspondant au NAc (219). On remarque également une sécrétion de dopamine réduite chez les personnes obèses qui va de pair avec la réactivité amoindrie du NAc en réponse à l'ingestion d'aliments palatables (220). Ces observations chez l'humain suggèrent que la consommation répétée d'aliments palatables entraîne un remodelage de la signalisation dopaminergique au striatum pouvant favoriser la répétition de comportements alimentaires mésadaptés.

Chez le rongeur, les études impliquant des modèles d'obésité induite par la diète ont permis d'identifier des patrons dans l'expression de certains marqueurs biologiques au circuit mésolimbique. On suspecte globalement une réduction de la signalisation dopaminergique au NAc qui est suggérée par un contenu inférieur chez les animaux obèses comparativement aux animaux contrôle (221,222). Les neurones dopaminergiques du VTA projetant au NAc libèrent moins de neurotransmetteurs tant en condition basale (223,224) que lorsque stimulés (222), chez les animaux obèses. Un mécanisme potentiel pour ce déficit dopaminergique pourrait être via une disponibilité moindre de dopamine dans les neurones puisque l'expression protéique de l'enzyme de conversion TH peut être diminuée en cas d'obésité (225). Parallèlement, l'expression génique de D1R semble être réduite au NAc d'animaux obèses (221,223,226,227), quoique certaines études ne rapportent aucune différence (224,228). Contrairement aux observations chez l'humain, le pronostic est plus flou dans

le cas du D2R en études précliniques avec certains rapportant une augmentation de l'expression protéique (225) et d'autres une réduction au niveau génique (221) chez les animaux obèses, alors que plusieurs ne rapportent aucun changement (226,227,229). Il est possible que cette discordance soit issue, en partie, par des conséquences divergentes de l'obésité sur les D2R en position pré et post-synaptique.

D'un point de vue comportemental, il en demeure que les rongeurs nourris avec une diète obésogène démontrent une réponse altérée aux drogues psychostimulantes telles que la cocaïne et l'amphétamine. Bien que les animaux recevant une diète riche en gras diffèrent des animaux nourris avec une diète contrôle de par une augmentation (228,230,231) ou une diminution (124,232) de leur réponse locomotrice à l'administration de psychostimulant, le conditionnement à une préférence de place en association au psychostimulant est profondément réduit par la diète obésogène (232–234). Il semblerait donc que l'obésité affecte la signalisation dopaminergique au NAc et, par le fait même, entraîne des comportements alimentaires mésadaptés via un débalancement des fonctions d'apprentissage et de renforcement. Ce défaut de la voie mésolimbique peut également se traduire par un déficit motivationnel similaire à ce qui est observable en état dépressif et sera abordé dans la section suivante.

1.3.4. Neuroinflammation

1.3.4.1. Inflammation métabolique

L'obésité est définie comme un état inflammatoire de bas grade chronique jouant un rôle clé dans les dysfonctions métaboliques associées à la suralimentation. Les dépôts adipeux, particulièrement ceux de la cavité viscérale, sont une cible de migration pour les macrophages qui y adoptent un profil de type M1 et relâchent des cytokines pro-inflammatoires telles que le facteur de nécrose tumorale (*tumour necrosis factor* : TNF), l'interleukine-1 bêta (IL1b) et l'interferon gamma (IFNg). Ces cytokines interagissent avec différentes cascades intracellulaires afin de moduler la transcription de facteurs pro-inflammatoires ainsi que le recrutement d'autres cellules immunitaires, créant une amplification de la signalisation inflammatoire. Ce débalancement prolongé dans l'expression de molécules à profil pro-inflammatoire versus anti-inflammatoire est néfaste au bon fonctionnement des organes de la cavité abdominale et contribue aux altérations métaboliques telle que la résistance à l'insuline et l'athérosclérose (235,236).

1.3.4.2. Inflammation au système nerveux central

L'inflammation induite par la diète et l'obésité peut également se refléter au niveau du système nerveux central. Chez l'humain, l'imagerie médicale chez des individus obèses révèle une corrélation entre certains marqueurs inflammatoires tels que le fibrinogène ainsi que la protéine C-réactive (*C-reactive protein* : CRP) et des changements neuro-anatomiques (237) ainsi que des déficits cognitifs (238), respectivement. Ces observations suggèrent un impact de l'inflammation métabolique induite par l'obésité sur le système nerveux

central, d'autant plus que la gliose réactionnelle – un processus d'activation des fonctions immunitaires des astrocytes et des microglies en réponse à un stress – est augmentée dans l'hypothalamus de personnes obèses (239,240). Cette propagation de la signalisation inflammatoire peut se faire via différents mécanismes, majoritairement démontrés chez le rongeur mâle (Figure 6).

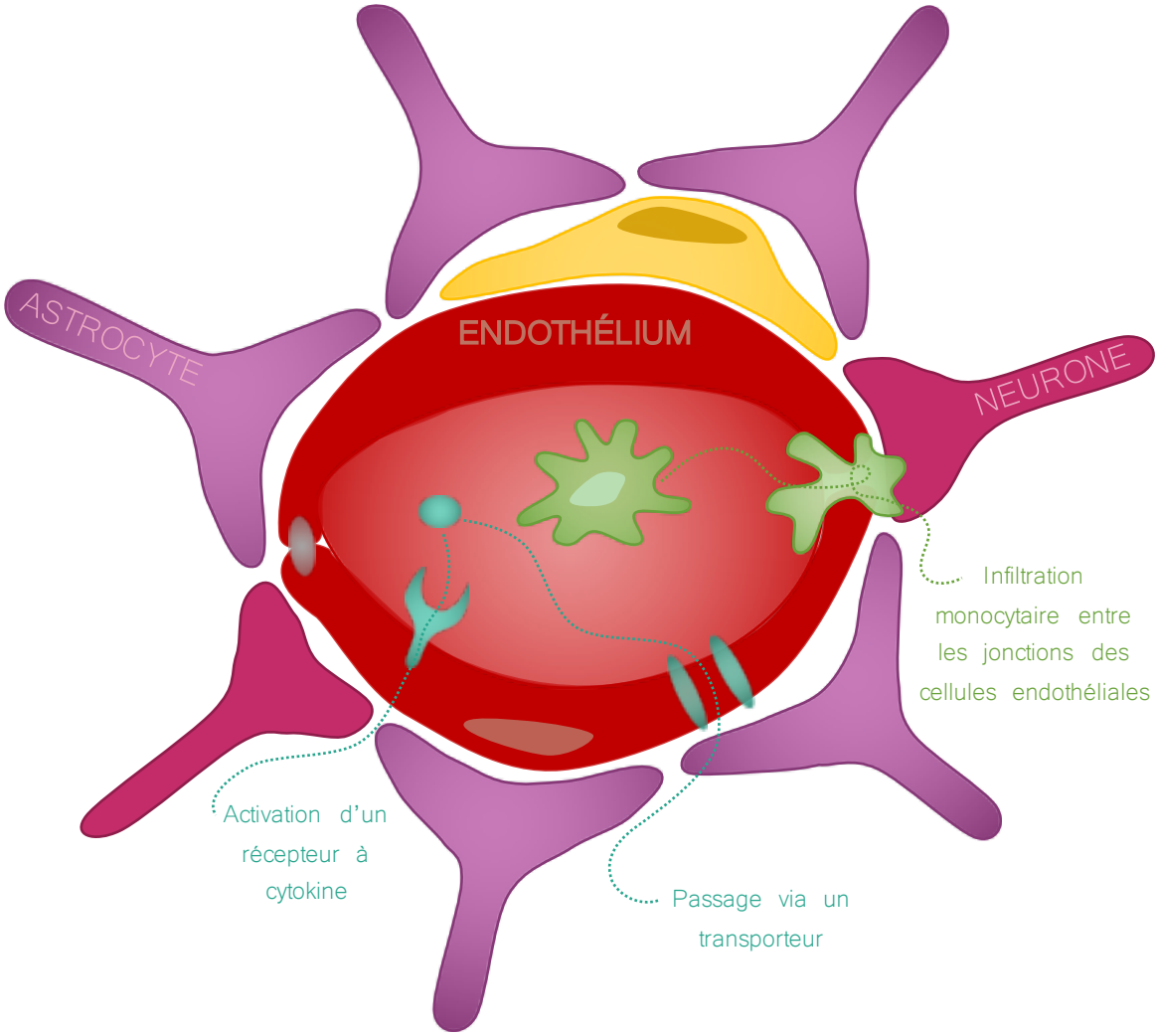


Figure 6. – Signalisation inflammatoire à travers la barrière hémato-encéphalique

Les cytokines pro-inflammatoires libérées dans la circulation sanguine peuvent migrer au niveau de la barrière hémato-encéphalique et agir sur le cerveau soit en entrant via leurs transporteurs respectifs ou en provoquant la signalisation d'une cascade de seconds messagers qui va induire la sécrétion de cytokines de l'autre côté de la barrière (241,242). Suite à une diète riche en gras, on observe une augmentation de l'expression de TNF (96,99,193,240,243,244), IL1b (94,96,99,193,243–246) dans différentes régions du cerveau du rongeur, principalement l'hypothalamus, mais également le HPC et le PFC. On remarque également des indices d'activation des fonctions phagocytaires des microglies (87,94,96,99,239,240,247,248) et des

astrocytes (193,239,240,247,248) chez les animaux nourris avec une diète riche en gras, suggérant que cette dernière favorise la gliose réactionnelle. En addition à l'activation de cellules gliales, l'obésité est également associée à la surexpression de certains marqueurs de recrutement de cellules immunitaires comme la protéine chimioattractive de monocyte de type 1 (*monocyte chemoattractant protein-1* : MCP-1) (99,249) ou le complexe d'histocompatibilité majeur de type 2 (*major histocompatibility complex-II* : MHC-II) (250,251) ainsi qu'à une infiltration accrue de cellules myéloïdes au système nerveux central (252). Cette infiltration immunitaire peut résulter de la sécrétion de MCP-1 et de MHC-II par les cellules gliales activées ou encore via une augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique par une diète riche en gras (253).

Le nerf vague permet une communication nerveuse directe entre le système nerveux central et la cavité abdominale. Le cerveau reçoit ainsi de l'information sur le statut nutritionnel ainsi que l'état inflammatoire et la sensibilité du nerf vague est altérée par l'obésité (95,157). De plus, l'accumulation de cytokines pro-inflammatoires au niveau intestinal perturbe l'activité des afférences du nerf vague au système nerveux central (254). À l'opposé, la stimulation du nerf vague peut réduire les niveaux d'inflammation systémique, tel qu'il a été démontré avec le TNF chez le rat (255). Finalement, bien que le mécanisme de transport des acides gras alimentaires au travers la barrière hémato-encéphalique demeure à être démontré in vivo, une fois au système nerveux central, ceux-ci peuvent activer la transcription de gènes pro-inflammatoires via la liaison au récepteur TLR-4 exprimé dans les neurones (96,100).

1.3.4.3. Conséquences de la neuroinflammation

Tout comme avec les organes périphériques, l'inflammation induit des déficits dans les fonctions des différentes régions du cerveau. Au niveau de l'hypothalamus, la signalisation pro-inflammatoire, et notamment l'activité du facteur de transcription nucléaire kappa-B (*Nuclear Factor kappa-B*; NFkB) joue un rôle primordial dans le développement de de la résistance à la leptine ou même à l'insuline (244,256,257). Les études sur l'activité de transcription de NFkB se concentre particulièrement sur son activation via sa voie canonique qui est dépendante de la phosphorylation de la protéine inhibitrice de NFkB (*inhibitor of kappa-B alpha*; IkBa) qui retient ce dernier dans le cytoplasme pour bloquer sa migration au noyau (Figure 7). Cette phosphorylation est effectuée par la sous-unité bêta de la kinase de l'inhibiteur de NFkB (inhibitor of kappa-B kinase; IKK) (258). Il existe également une voie d'activation non-canonique de NFkB, exempte de IKKb, où la sous-unité alpha du complexe IKK (IKKa) libère NFkB de son inhibiteur – le facteur p100. Cette signalisation alternative est moins connue et plutôt observée dans certains cas de leucémie et d'infections virales (259).

La propagation de l'inflammation au HPC, de son côté, est associée à un déficit de la mémoire spatiale (251), la reconnaissance d'objets (87) ainsi que l'acquisition d'un conditionnement à la peur (246). La performance modeste en tâche impliquant la mémoire émotionnelle reflète bien la relation étroite entre les

fonctions cognitives et affectives, particulièrement en contexte inflammatoire (260). De ce fait, l'inflammation perturbe également les processus affectifs et peut favoriser l'expression de comportements anxiodépressifs.

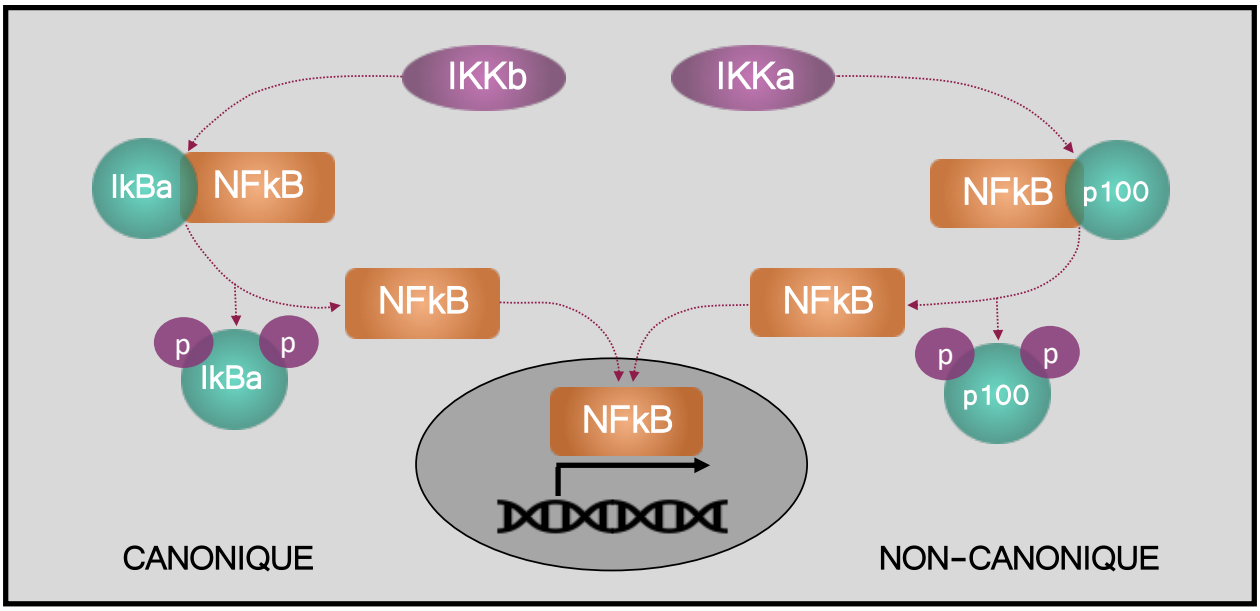


Figure 7. – Voie de signalisation du facteur nucléaire kappa-B

Inhibiteur de NFkB alpha (IkBa); sous-unité alpha de la kinase de l'inhibiteur de NFkB (IKKa); sous-unité bêta de la kinase de l'inhibiteur de NFkB (IKKb); facteur nucléaire kappa-B (NFkB).

1.3.4.4. Étiologie inflammatoire en dépression

Bien que les causes soient multifactorielles, l'inflammation fait partie des mécanismes biologiques hypothétiques sous-tendant le développement de symptômes dépressifs pour au moins une partie de la population affectée. Ceci découle de la théorie des macrophages émise par Smith en 1991 (261), se basant sur des niveaux sanguins élevés de marqueurs pro-inflammatoires chez une proportion de patients dépressifs et suggérant que les symptômes dépressifs découlent d'une réponse aigüe du système immunitaire. Ces observations cliniques concordent avec la prévalence de symptômes dépressifs chez les patients traités par immunothérapie ainsi que ceux souffrant de maladies auto-immunes et mettent en évidence la vulnérabilité de mécanismes modulateurs de l'humeur à l'inflammation d'origine périphérique (262).

Chez l'humain en bonne santé, l'administration d'une faible dose d'endotoxine réduit l'activité cérébrale au NAc en réponse à l'obtention d'une récompense, suggérant une altération motivationnelle (263). Ce phénomène est également reproductible chez la souris où l'injection de lipopolysaccharide (LPS), produit de la bactérie à gram négative, induit une infiltration de macrophages au système nerveux central, en plus d'induire des comportements dépressifs (139). Par imagerie, on observe aussi un recrutement amoindri du NAc lors de l'exécution de comportements motivés (264). Le recrutement de la voie canonique de

signalisation pro-inflammatoire NFkB au NAc module l'expression de comportements dépressifs suite à un stress chez le rongeur (265). La voie NFkB est également impliquée dans la transcription de facteurs neutrophiques comme le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (*brain derived neutrophic factor* : BDNF) et la protéine se liant aux éléments de réponse à l'AMP cyclique (*c-AMP response element-binding protein* : CREB) dont l'expression au NAc corrèle avec les comportements anxiodépressifs chez des souris nourries avec une diète riche en gras saturés (225). Chez les sujets dépressifs présentant un profil pro-inflammatoire, une perturbation de l'activité du striatum (incluant le NAc et le striatum dorsal) est communément rapportée dans la littérature (266,267). De ce fait, les niveaux plasmatiques de CRP sont associés à un excès de glutamate au striatum qui, à son tour, prédit l'anhédonie et le ralentissement psychomoteur chez une cohorte dépressive (268). Ces résultats mettent en lumière une susceptibilité de la voie dopaminergique mésolimbique aux processus inflammatoires d'origine périphérique. Peu d'études se sont penchées sur l'impact de l'inflammation sur les fonctions cérébrales en contexte d'anxiété, toutefois d'autres structures du circuit limbique, telles que le PFC et l'AMY pourraient être impliquées (266) et des taux sériques élevées de CRP sont rapportés autant en dépression qu'en anxiété (269).

La contribution relative de l'inflammation dans la pathogénèse de la dépression et de l'anxiété n'est pas uniforme d'un individu ou d'un sous-type dépressif à un autre, mais sa prépondérance et ses implications thérapeutiques justifient l'intérêt envers un modèle clinique permettant d'identifier les patients faisant partie de cette sous-population en vue de leur offrir des traitements ciblés (270). Les individus en situation d'obésité font souvent partie de ce groupe en raison de l'inflammation métabolique engendrée par leur surcharge pondérale qui perturbe tant leur sommeil que leurs fonctions affectives (271). Cependant, le mécanisme sous-tendant les déficits émotifs et l'inflammation ne sont pas nécessairement dépendant du poids corporel, puisque l'association entre l'anxiété et la CRP est indépendante de l'indice de masse corporelle (272). L'alimentation en elle-même peut avoir un impact sur le bien-être psychologique puisque l'index pro-inflammatoire de certains aliments, tels que les acides gras saturés et le cholestérol, a récemment été corrélé avec des indices de santé mentale (273).

En résumé

L'obésité est souvent associée à un profil métabolique défavorable dont la sévérité est influencée par la composition en acides gras de la diète. Les acides gras saturés, issus majoritairement de produits animaux, favorisent la signalisation pro-inflammatoire ainsi que la dysfonction de plusieurs organes. La consommation de ces lipides est également associée à des symptômes anxieux et dépressifs chez l'humain et à un phénotype anxiodépressif chez le rongeur. La substitution de ces gras alimentaires par ceux possédant une ou plusieurs insaturations dans leur chaîne de carbone est bénéfique tant pour le métabolisme que pour l'humeur. L'obésité est également caractérisée par une résistance à plusieurs hormones et peptides

métaboliques jouant un rôle à la fois dans la régulation de la balance énergétique que dans les fonctions motivationnelles. La suralimentation et l'adiposité excessive entravent aussi au fonctionnement adéquat d'axes neuroendocriniens impliquant la CORT et l'estrogène. L'impact de ces altérations se reflète au niveau métabolique et affectif. La consommation répétée d'aliments riches en gras et en sucre prédispose tant l'humain que le rongeur a certaines adaptions dans la signalisation dopaminergique au circuit mésolimbique. Ces changements peuvent contribuer à la perpétuation de comportements alimentaires mésadaptés ainsi qu'à la prise de poids. Enfin, le cerveau n'est pas à l'abri de l'inflammation métabolique comme il était autrefois considéré. Plusieurs acteurs sont impliqués dans la communication inflammatoire entre les organes périphériques et le cerveau et ces mêmes acteurs contribuent également à promouvoir certains symptômes dépressifs. De ce fait, la neuroinflammation est reconnue comme un des mécanismes potentiels de la pathogénèse dépressive, notamment via son impact sur les fonctions motivationnelles.

1.4. Déficits motivationnels en dépression

La dépression est caractérisée par une altération profonde du fonctionnement global d'un individu dans différentes sphères de sa vie que ce soit au niveau professionnel, interpersonnel ou de sa propre hygiène de vie. Les manifestations cliniques de la dépression sont diverses avec des combinaisons différentes de symptômes et des perturbations du sommeil ou de l'appétit pouvant se refléter tant par une augmentation qu'une diminution. À travers l'hétérogénéité interindividuelle de la dépression, la présence d'un des 2 symptômes majeurs – c'est-à-dire une humeur dépressive ou une anhédonie - est requise pour établir un diagnostic clinique. Bien que l'anhédonie et l'humeur dépressive soient toutes deux prédictives de la sévérité ainsi que du pronostic, seule l'anhédonie prédit la résistance au traitement (274). Il se pourrait que ces deux manifestations dépressives impliquent des circuits neuronaux divergents et sont donc susceptibles de répondre à des approches thérapeutiques différentes. Par exemple, certaines combinaisons de pharmacothérapie sont plus efficaces que d'autres pour traiter l'anhédonie (275). Dans d'autres cas, les déficits hédoniques ne sont pas au premier plan, mais l'humeur dépressive peut être entretenue par des biais cognitifs provoquant la répétition de pensées négatives ou le pessimisme (276).

1.4.1. Perturbations cognitives en dépression et anxiété

La thérapie cognitive-comportementale (TCC) soutient que notre mode de pensée affecte notre état émotionnel qui lui guide nos comportements. Ainsi, nos actions viennent à refléter nos émotions et à confirmer nos pensées, qu'elles soient rationnelles ou non. La dépression peut s'exprimer par des difficultés de concentration qui entravent à la performance académique ou professionnelle, mais aussi aux processus cognitifs. Chez

certains patients dépressifs, on peut dénoter des altérations fonctionnelles au niveau du HPC perturbant l'encodage de l'information en tâche de mémoire associative (277). Chez une population de sujets sains, des antécédents dépressifs favorisent un biais vers la recollection de souvenirs chargés avec des émotions négatives plutôt que positives (278). Le biais de négativité corrèlerait inversement avec la connectivité entre le PFC et une sous-région du HPC (279). Un déficit au niveau de la flexibilité cognitive peut entraver à la recollection d'informations positives ayant généralement un effet bénéfique sur l'humeur (280) et promouvoir le pessimisme ainsi que la rumination mentale chez les individus souffrant de dépression ou d'anxiété (281–283). Par ailleurs, une association positive a été démontré chez des sujets en santé entre le ratio volumique AMY/HPC et le biais de recollection de souvenirs négatifs (284). Il s'avère que la TCC peut diminuer la sévérité des symptômes d'anxiété ou de dépression, notamment en ciblant la réactivité accrue de l'AMY au contenu émotionnel (285). Cette hyperactivité de l'AMY peut s'accompagner d'une hypoactivation du PFC chez les individus prédisposés à la dépression (286).

Chez une population de patients dépressifs, la mémoire de travail et les fonctions cognitives sont altérées et ce, de façon plus prononcée en situation d'obésité (287). Similairement, l'obésité est associée à une performance appauvrie en tâche cognitive et ce déficit s'aggrave en présence de comorbidité dépressive (288). Chez les individus souffrant à la fois d'obésité et de dépression, la performance dans une tâche de contrôle inhibiteur est prédictive à la fois de l'indice de masse corporelle que du score clinique dépressif (289). Chez les personnes âgées de moins de 45 ans, la résistance à l'insuline, plutôt que les mesures anthropométriques, prédirait le déclin des fonctions exécutives (290).

1.4.2. Déficits hédoniques en dépression et anxiété

L'être humain est motivé à répéter des expériences qui lui sont associés à un état de récompense. En dépression, l'anhédonie se manifeste par une perte de sensation de plaisir associé autrefois à des mêmes situations plaisantes. En situation plaisante, la connectivité entre le PFC ventromédian et le NAc est réduite chez les individus dépressifs et est indicative des fonctions hédoniques (291)(Young et al., 2016). À l'opposé, toujours chez des patients dépressifs souffrant d'anhédonie, d'autres symptômes dépressifs, comme la détresse, n'entretiennent pas cette relation avec la connectivité PFC-NAc (291). La stimulation aigüe de la neurotransmission dopaminergique, quant à elle, permet de normaliser la connectivité entre ces deux structures (66). Le renforcement de comportements motivés aide à guider nos choix ultérieurs et l'anhédonie peut contribuer à une perturbation de l'apprentissage de tâches récompensées. Par exemple, chez les personnes dépressives, la sévérité de l'anhédonie est associée à une capacité d'apprentissage réduite prédisant la résistance aux traitements de pharmacothérapie et/ou psychothérapie (292). Dans d'autres cas, la difficulté ne réside pas nécessairement dans le plaisir ressenti suite à l'activité, mais plutôt au niveau de la motivation à s'engager dans une activité (293). L'instigation de comportements motivés est reliée à l'activation de la voie mésolimbique reliant le VTA au NAc et les perturbations de ce circuit sont intimement

liées à l'anhédonie et à l'expression de comportements dépressifs (63). L'usage d'antidépresseurs ciblant la dopamine est particulièrement efficace chez les personnes dépressives présentant des déficits majeurs au niveau de la motivation (294). La stimulation du NAc est une avenue thérapeutique efficace chez les personnes souffrant de dépression réfractaire aux traitements de première ligne, particulièrement en ce qui a trait à l'anhédonie (295).

Chez la souris, la susceptibilité à développer des comportements dépressifs suite à un stress s'accompagne de l'expression de marqueurs de plasticité suggérant un remodelage neuronal au niveau du NAc (296). En particulier, la morphologie dendritique des neurones est altérée chez les animaux présentant des déficits hédoniques, un phénotype qui est renversé avec le traitement par antidépresseurs (297). Tel que mentionné plus haut, parmi ces neurones, on remarque une modulation différentielle des comportements dépressifs de la part des neurones D1R et D2R où l'activation des D2R facilite l'expression du phénotype dépressif alors que la stimulation des D1R a un effet protecteur (298). Les projections dopaminergiques du VTA vers le NAc semblent moduler la susceptibilité au phénotype dépressif en un court laps de temps (59), cependant, la contribution d'afférences provenant du PFC (299) ainsi que du HPC (300) n'est pas négligeable dans l'expression de comportements motivés et dépressifs.

Similairement à ce qui est observé chez les patients souffrant d'anhédonie, les femmes obèses présentent une connectivité altérée du circuit de la récompense (216). Cette observation va de pair avec les adaptations dopaminergiques au NAc retrouvées chez les modèles d'obésité induite par la diète chez le rongeur, tel que décrit dans la section 1.3.3. L'expression de facteurs de plasticité est augmentée chez les souris mâles nourries avec une diète riche en gras et corrèle avec l'étendue de comportements anxiodépressifs (225). Chez le rat, la consommation d'aliments palatables favorise les comportements anxiodépressifs et est associée avec une réduction de l'activité neuronale au NAc (176). Ces données suggèrent que via son impact sur le circuit de la récompense, la surconsommation d'aliments riches en gras et en sucre incite au développement d'un phénotype anxiodépressif.

1.4.3. Récompense alimentaire

La dépression s'accompagne souvent de modifications dans les habitudes alimentaires, que ce soit via une augmentation ou une perte d'appétit. Il n'est pas clair si ces deux symptômes découlent d'un mécanisme commun. Par contre, une étude d'imagerie cérébrale rapporte que chez les patients dépressifs présentant une augmentation de l'apport alimentaire, l'activité au circuit méso-cortico-limbique est accrue en réponse à des stimuli alimentaires alors que ceux souffrant d'une perte d'appétit présenteraient une hypoactivité au cortex insulaire, comparativement à des sujets sains (301). Plus encore, la réponse du striatum à un stimulus alimentaire corrèle avec les mesures plasmatiques de CRP (270). Un autre groupe de chercheurs a également observé un phénomène similaire avec une hyperactivation du VTA suite à la présentation

d'images d'aliments qui corrélait positivement avec les niveaux circulants de ghréline acylée – forme active de la ghréline - que chez les personnes dépressives hyperphagiques (302). Cette relation entre la réactivité du circuit de la récompense à des images d'aliments palatables, l'inflammation et le statut métabolique réplique ce qui est observé chez les individus obèses. Ainsi, ces individus dépressifs sont plus susceptibles de surconsommer des aliments riches en gras et en sucre qui vont négativement affecter le statut métabolique et ultérieurement les fonctions limbiques.

Tel que mentionné plus haut, certains chercheurs rapportent une hypoactivation striatale suite à la consommation d'aliments palatables chez les individus en consommant sur une base régulière (215). Ceci suggère que, tout comme chez les personnes obèses, la réactivité accrue aux signaux externes en lien avec la nourriture chez les patients dépressifs présentant une augmentation de l'appétit pourrait également s'accompagner d'une activation inadéquate du NAc suite à l'ingestion d'aliments palatables.

1.4.4. Dépression atypique

Bien que la dépression s'exprime différemment chez chaque individu, il est possible de rassembler certains patients en sous-types de dépression selon la prédominance de certains symptômes. Par exemple, les perturbations de l'appétit et du sommeil en dépression forment un continuum duquel on peut extraire les deux extrêmes. Ainsi, on retrouve la dépression mélancolique, caractérisée par un profond état de désespoir, de l'insomnie et une perte d'appétit prononcée. La dépression atypique présente également une perturbation de l'humeur, mais s'accompagne généralement d'un ralentissement psychomoteur, d'une augmentation de la prise alimentaire et d'hypersomnie. Alors que le sous-type mélancolique est associé à une hyperactivité de l'axe HPA (303), l'hypothèse d'hypoactivité en cas de dépression atypique n'est pas unanimement soutenue par la littérature (304). Cette ambiguïté pourrait être expliqué par le statut métabolique des patients avec présentation atypique favorisant l'hypercortisolémie. De ce fait, le sous-type dépressif atypique est fortement associé au syndrome métabolique et est prédicteur de gain de poids (305). La combinaison dépression et syndrome métabolique n'est pas seulement néfaste pour la santé physique mais également pour les symptômes affectifs puisque le pronostic sur plusieurs années est plus sombre (306).

La présence d'hyperphagie et de ralentissement psychomoteur en dépression est généralement indicatrice d'altérations métaboliques et d'inflammation périphérique (307). Une composante génétique pourrait moduler la susceptibilité d'un individu à un sous-type dépressif et les gènes associés à l'obésité sont suspectés comme favorisant la présentation atypique (308). Le rôle central des dysfonctions métaboliques et de l'inflammation chez ces patients suggère que ces derniers ne répondent pas nécessairement aux mêmes approches thérapeutiques que ceux ayant une présentation plus classique de la dépression. L'inflammation métabolique, par exemple, est un facteur de risque à la résistance au traitement (309). Alors que seulement

le tiers des patients dépressifs bénéficieront d'une réponse clinique complète suite à un traitement conventionnel, les approches thérapeutiques se doivent de refléter l'hétérogénéité de cette condition médicale.

La chirurgie bariatrique, couplée à une modification des habitudes vie, permet une perte de poids marquée sur une courte période de temps, dont le maintien à long terme est généralement meilleur qu'avec l'adoption d'un mode de vie sain uniquement (310,311). Outre la perte de poids, les changements métaboliques quasi-immédiats sont certainement l'élément le plus intéressant avec une sensibilisation à plusieurs hormones digestives de satiété telles que l'insuline et le GLP-1 (158). La chirurgie bariatrique pourrait même affecter la perception gustative aux aliments palatables et normaliser la réponse aux stimuli alimentaire (312). Alors que certains auteurs rapportent une amélioration des symptômes dépressifs et parfois anxieux suite à une chirurgie bariatrique (313), les mesures ne dépassent généralement pas 24 mois et lorsqu'elles sont à plus long terme, elles suggèrent une remontée des symptômes (314,315). Des études longitudinales avec les symptômes anxieux et dépressifs parmi les mesures primaires sont requises avant de pouvoir suggérer l'intervention chirurgicale comme avenue thérapeutique de la dépression en comorbidité à l'obésité.

En résumé

Les individus souffrant de dépression de forme atypique ainsi que d'obésité avec altérations métaboliques peuvent donc se retrouver dans un cercle vicieux impliquant hyperphagie et déficit hédonique. La prise en charge de cette clientèle requière probablement une approche thérapeutique adressant à la fois les symptômes dépressifs et la santé métabolique afin d'engendrer une perte de poids qui se maintiendra à long terme. Les mécanismes biologiques à cibler seront sans doute ceux impliqués à la fois en obésité et en dépression, tels que l'inflammation, le circuit de la récompense et certaines perturbations neuroendocrines. Ces mécanismes potentiels ont servi de prémisse à nos questions de recherche et au design des quatre articles présentés dans cet ouvrage.

Chapitre 2 – Méthodologie et contributions

Dans le cadre de cette thèse, nous avons voulu investiguer le rôle du NAc dans l'expression de comportements anxieux et dépressifs induits par l'obésité chez la souris mâle et femelle. Particulièrement, nous avons voulu isoler la contribution de mécanismes identifiés au préalable comme influençant le métabolisme énergétique et la régulation des émotions tant chez l'humain qu'en modèle animal. Nous avons posé l'hypothèse que les altérations inflammatoires, endocriniennes et motivationnelles de l'obésité induite par la diète agissent au niveau du NAc pour promouvoir un phénotype anxiodépressif. De plus, nous avons voulu départager l'impact d'un apport excessif en lipides de la composition lipidique de la diète en comparant les acides gras saturés avec les acides gras monoinsaturés.

2.1. Mise en contexte des articles

Un des objectifs du premier article était d'étudier l'impact de l'inflammation métabolique, induite par une diète riche en gras saturés, sur l'expression de comportements anxiodépressifs chez la souris mâle. Dans un deuxième temps, nous avons voulu confirmer le rôle joué par la voie de transcription NFkB spécifiquement au NAc dans le développement du phénotype comportemental et la motivation alimentaire. Pour le deuxième article, considérant la prépondérance féminine dans la population clinique dépressive, il nous était impératif de vérifier si les acides gras saturés induisaient un phénotype métabolique et comportemental similaire chez la souris femelle, puis d'examiner si le mécanisme biologique était identique. Dans le troisième article, nous visions à isoler la contribution des neurones D1R du NAc dans le développement de comportements anxieux et dépressifs en contexte d'une diète riche en gras saturés chez la souris mâle. Finalement, pour le quatrième article, nous avons testé le potentiel d'un nouveau conjugué au GLP-1 et à la dexaméthasone à réduire la motivation alimentaire chez la souris mâle dans le cadre d'une collaboration avec le Helmöltz Diabetes Centre.

2.2. Approches expérimentales

Ces quatre articles partagent un ensemble de techniques expérimentales qui sont décrites brièvement ci-dessous. L'intégralité des protocoles employés se retrouve toutefois dans les articles originaux.

2.2.1. Lignées de souris transgéniques

L'entièreté des études a été effectuée chez la souris C57Bl6 adulte, certaines provenant de la souche J et d'autres de la souche N. Bien que des souris de type sauvage aient été utilisées dans le quatrième article, la majorité des travaux ont été menés avec des souris transgéniques. Deux lignées transgéniques ont été établies; la lignée NFkB-LacZ sur un fond N et la D1R-Cre sur un fond J.

- *Lignée NFkB-LacZ*

  Le transgène NFkB-LacZ sert d'indicateur de l'activité transcriptionnelle de la voie NFkB puisque la transcription du gène LacZ correspond avec l'entrée du complexe NFkB-LacZ dans le noyau de la cellule. Le gène LacZ encode la protéine de bêta-galactosidase (βgal) dont l'expression peut facilement être marquée par immunofluorescence. La lignée NFkB-LacZ a donc été employée afin de mesurer l'activité de la voie NFkB au NAc de souris mâles et femelles dans les deux premiers articles de cette thèse.

- *Lignée D1R-Cre*

  Chez ces souris, le gène codant pour l'enzyme de recombinaison Cre-recombinase (Cre) est transcrit dans toutes les cellules où le D1R est exprimé. Ainsi, en ciblant la Cre, il est possible d'également de cibler le D1R. Par exemple, nous avons pu marquer les neurones D1R du NAc par immunofluorescence à l'aide d'un anticorps contre la Cre, ce que nous n'avons pas réussi à faire auparavant avec un anticorps contre le D1R. Les animaux mâles et hétérozygotes de cette lignée ont été utilisés dans le troisième article de cette thèse.

2.2.2. Vecteurs viraux

Nous avons utilisé des adénovirus dépourvus d'ADN viral à titre de vecteurs pour délivrer des séquences génétiques prédéterminées aux cellules ciblées. Ces virus ont été injectés spécifiquement au NAc par chirurgie stéréotaxique.

- *AV-CMV-IKKbdn*

  Afin d'inhiber la voie canonique de transcription NFkB au NAc, nous avons injecté les souris avec un adénovirus exprimant une mutation de la sous-unité bêta du complexe IKK (IKKb). Ce dominant négatif de IKKb empêche la migration de NFkB au noyau et bloque ainsi la transcription nucléaire. Ce vecteur était équipé d'un promoteur de type *cytomégalovirus* (CMV) qui permet d'infecter un large spectre de types de cellules. Le virus contrôle utilisé possédait la même construction, à la distinction que la séquence

de IKKbdn était remplacé par celle codant pour la protéine fluorescente verte (green fluorescent protein; GFP). Ces virus ont été employés dans le premier article.

- *AAV-hSyn-DIO-hM3Dq-mCherry*

Nous avons pris avantage du développement de la chimiogénétique pour manipuler l'activité des neurones D1R du NAc en injectant un adénovirus associé délivrant une séquence codant pour le récepteur artificiel hM3Dq activé par l'administration de l'agoniste exogène clozapine-N-oxide (CNO). Le gène hM3Dq était couplé à l'expression de la protéine fluorescente mCherry. La construction du virus inclue une séquence *double inverted flox (DIO)* limitant l'insertion du transgène hM3Dq-mCherry aux cellules exprimant la Cre. Le promoteur la synapsine humaine (hSyn), quant à lui, favorise l'infection des neurones. En injectant cet adénovirus associé au NAc de souris de la lignée D1R-Cre, on obtient l'expression du récepteur hM3Dq que dans les neurones D1R du NAc et ceux-ci peuvent être activé transitoirement suite à l'injection intra-péritonéale de CNO. Le virus contrôle utilisé dans ce cas ne possédait pas la séquence hM3Dq, que le mCherry. Ces virus ont été employés dans le troisième article.

2.2.3. Profilage métabolique

En addition aux mesures de prise alimentaire et de poids corporel, d'autres tests ont été effectués afin de déceler les dysfonctions métaboliques induites par l'obésité et l'effet différentiel des acides gras saturés versus monoinsaturés.

- Test de tolérance au glucose oral (oral glucose tolerance test; OGTT)
- Test de tolérance à l'insuline intra-péritonéale (intraperitoneal insulin tolerance test; IPITT)
- Analyse de la composition corporelle par résonnance magnétique (EchoMRI)
- Dissection et pesée de dépôts adipeux (sous-cutané, péri-rénal, péri-gonadal et intrascapulaire)
- Séjour en cage métabolique (activité locomotrice et échanges gazeux)

Toutes ces mesures se retrouvent dans le premier article et la majorité est présente dans le deuxième et troisième article.

2.2.4. Analyses comportementales

Les questions de recherche abordées dans cette thèse reposent sur des observations éthologiques en modèle murin d'obésité. Des analyses comportementales sont donc retrouvées dans tous les articles de cet ouvrage. Nous avons utilisé des tâches permettant de mesurer les comportements de types dépressifs, anxieux et conditionnés.

2.2.4.1. Comportements dépressifs

Ces tests comportementaux permettent d'évaluer le désespoir (behavioural despair) et l'anhédonie en présence de récompenses naturelles.

- Test de la nage forcée (forced swim test; FST): adoption d'un comportement passif (désespoir) en situation de stress
- Test de préférence au sucrose (sucrose preference test ; SPT): mesure de la consommation d'une solution sucrée (1%) versus de l'eau
- Test d'interaction sociale (social interaction test; SIT): temps d'interaction avec une souris inconnue du même sexe

2.2.4.2. Comportements anxieux

Les tâches comportementales utilisées en anxiété chez le rongeur se basent sur l'évitement de zones considérées plus à risque comme les espaces ouverts et éclairés.

- Labyrinthe surélevé en croix (elevated-plus maze; EPM): temps passé dans les bras ouverts versus fermés du labyrinthe
- Test de champ ouvert (open field test; OFT): temps passé dans le centre de l'arène

2.2.4.3. Comportements conditionnés

Des tâches de conditionnement nous ont permis d'investiguer la motivation alimentaire, ainsi que les répercussions du traitement par CNO en chimiogénétique.

- Conditionnement opérant (operant conditionning): nombre maximum d'appuis sur un levier conditionné pour l'obtention d'une récompense alimentaire
- Suppression de comportements de recherche de sucrose (cue-induced suppression of food-seeking behaviour): persistance des appuis sur le levier conditionné en présence d'un stimulus aversif
- Conditionnement à l'évitement de place (conditionned place avoidance; CPA): temps passé dans une région de l'arène suite à son association à l'administration d'une substance

2.2.5. Biologie moléculaire

À la fin des expériences, le cerveau, le plasma et parfois les dépôts adipeux sont récoltés pour des analyses post-mortem en biologie moléculaire. Dans tous les articles, ces approches nous permettent d'identifier certains mécanismes moléculaires pouvant accompagner les phénotypes comportementaux.

- Expression de gènes par réactions de polymérase en chaîne quantitatives (quantitative polymerase chain reaction; qPCR)
- Immunoblottage (western immunoblotting)

- Immunohistochimie
- Méthode immuno-enzymatique (enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA)

2.3. Contributions scientifiques

La réalisation de ces quatre études a nécessité la contribution de plusieurs chercheurs au sein de notre groupe de recherche et à l'extérieur. Afin de départager ma contribution des leurs, leurs apports respectifs sont décrits ci-dessous. Pour chacun des articles, la rédaction du manuscrit a impliqué tous les premiers auteurs (*co-premiers) ainsi que les auteurs de correspondance et celui-ci a été révisé et approuvé par tous les auteurs. Les contributions énumérées ne concernent donc que le travail de laboratoire, le partage de matériel et l'expertise.

2.3.1. Contributions du premier article

Nucleus accumbens mediates the anxiodepressive behavior and compulsive sucrose seeking elicited by saturated dietary fat.

Décarie-Spain, L*, Sharma, S*, Hryhorczuk, C, Issa-Garcia, V, Barker, P, Arbour, N, Alquier, T & Fulton, S.

Publié : Molecular Metabolism (2018) Volume 10; pages 1-13.

- S. Sharma a généré les premières données de l'étude impliquant la comparaison métabolique et comportementale entre les trois diètes utilisées, ce qui correspond aux deux premières figures de l'article. Il m'a également formé aux chirurgies stéréotaxiques ainsi qu'aux tests comportementaux.
- C. Hryhorczuk a performé les premières analyses d'expression génique au NAc correspondant à une partie de la figure 3a. Elle m'a aussi formée à effectuer ces analyses.
- V. Issa-Garcia a effectué plusieurs analyses comportementales et d'expression géniques chez les souris ayant eu une chirurgie stéréotaxique dans le cadre de son stage MITACS sous ma supervision.
- P. Barker a généré la lignée NFkB-LacZ et la construction de l'adénovirus avec dominant négatif.
- N. Arbour a contribué au design et à l'interprétation des analyses géniques de par son expertise en neuroinflammation.
- T. Alquier m'a supervisée à titre de co-directeur.
- S. Fulton m'a supervisée à titre de directrice et est l'auteure de correspondance.

Ma contribution est reflétée dans les figures 3-5 de l'article impliquant les mesures d'inflammation au NAc suite aux diètes ainsi que toutes les expériences requérant une chirurgie stéréotaxique.

2.3.2. Contributions du deuxième article

Saturated, but not monounsaturated, high-fat feeding promotes anxiodepressive behaviours associated to changes in nucleus accumbens estrogen signaling.

Décarie-Spain, L, Hryhorczuk, C, Fisette, A, Jacob-Brassard, E, Alquier, T & Fulton, S.

Non publié : en préparation.

- C. Hryhorczuk a effectué les expériences d'immunoblottage de la figure 4c et m'a assisté dans plusieurs manipulations in vivo.
- A. Fisette a effectué les OGTT et IPITT, ainsi que la collecte des dépôts adipeux de la figure 1.
- E. Jacob-Brassard m'a assistée dans les tests comportementaux et certaines analyses d'expression génique dans le cadre d'un stage sous ma supervision.
- T. Alquier m'a supervisée à titre de co-directeur.
- S. Fulton m'a supervisée à titre de directrice et est l'auteure de correspondance.

J'ai contribué à l'ensemble des expériences.

2.3.3. Contributions du troisième article

Nucleus accumbens D1R neurons differentially modulate anxiety and depressive-like behaviours induced by saturated dietary fat.

Décarie-Spain, L, Lau, D, Hryhorczuk, C, Ferreira, G, Alquier, T. & Fulton, S.

Non publié: en préparation.

- D. Lau m'a assisté dans toutes les tâches comportementales.
- C. Hryhorczuk a performé l'immunoblottage dans la figure 3b.
- G. Ferreira m'a conseillé dans l'instauration de la chimiogénétique au centre de recherche.
- S. Fulton m'a supervisée à titre de directrice et est l'auteure de correspondance.

J'ai contribué à l'ensemble des expériences.

2.3.4. Contributions du quatrième article

GLP-1/dexamethasone inhibits food reward without inducing mood and memory deficits in mice.

Décarie-Spain, L*, Fisette, A*, Zhu, Z, Yang, B, DiMarchi, R, Tschöp, M, Finan, B, Fulton, S & Clemmensen, C.

Publié : Neuropharmacology (2019) Volume 151; pages 55-63.

- A. Fisette a performé toutes les expériences in vivo avec moi.
- Z. Zhu, B. Yang, B. Finan, R. DiMarchi, M. Tschöp et B. Finan ont fourni les analogues (GLP-1 et GLP-1/dexaméthasone) et leur expertise en polypharmacie
- S. Fulton m'a supervisée à titre de directrice et est co-auteure de correspondance.
- C. Clemmensen est co-auteur de correspondance.

J'ai performé toutes les expériences in vivo de pair avec A. Fisette. J'ai effectué l'analyse post-mortem en figure 3.

Chapitre 3 – Résultats

3.1. Premier article

Nucleus accumbens inflammation mediates anxiodepressive behavior and compulsive sucrose seeking elicited by saturated dietary fat.

Léa Décarie-Spain[1,2,3*], Sandeep Sharma[1,2,4*], Cécile Hryhorczuk[1,2], Victor Issa Garcia[1,2], Philip A Barker[6], Nathalie Arbour[1,3], Thierry Alquier[1,2,5]& Stephanie Fulton[1,2,4]

(1) Centre de Recherche du CHUM; (2) Montreal Diabetes Research Centre; (3) Department of Neuroscience; (4) Department of Nutrition; (5) Department of Medicine – Université de Montréal, Quebec Canada; (6) Department of Biology, University of British Columbia, BC, Canada

*Authors contributing equally to this work.

Corresponding author:

Stephanie Fulton, PhD

CRCHUM & Montreal Diabetes Research Center

900 Saint-Denis, R08.428

Montreal, Quebec – Canada, H2X 0A9

1.514.890.8000 x 23628

stephanie.fulton@umontreal.ca

ABSTRACT

Objective: The incidence of depression is significantly compounded by obesity. Obesity arising from excessive intake of high-fat food provokes anxiodepressive behavior and elicits molecular adaptations in the nucleus accumbens (NAc), a region well-implicated in the hedonic deficits associated with depression and in the control of food-motivated behavior. To determine the etiology of diet-induced depression, we studied the impact of different dietary lipids on anxiodepressive behavior and metabolic and immune outcomes and the contribution of NAc immune activity.

Methods: Adult C57Bl/6 mice were subjected to isocaloric high-fat/high-sucrose diets (HFD), enriched in either saturated or monounsaturated fat, or a control low-fat diet (LFD). Metabolic responses, anxiodepressive behavior and plasma and NAc inflammatory markers were assessed after 12 weeks. In separate experiments, an adenoviral construct inhibiting IKKβ, an upstream component of the nuclear factor kappa-b (NFkB) pathway, was *a priori* injected into the NAc.

Results: Both HFDs resulted in obesity and hyperleptinemia, however the saturated HFD uniquely triggered anxiety-like behavior, behavioral despair, hyperinsulinemia, glucose intolerance, peripheral inflammation and multiple pro-inflammatory signs in the NAc, including reactive gliosis, increased expression of cytokines, antigen-presenting markers and NFκB transcriptional activity. Selective NAc IKKβ inhibition reversed the upregulated expression of inflammatory markers, prevented anxiodepressive behavior and blunted compulsive sucrose-seeking in mice fed the saturated HFD.

Conclusions: Metabolic inflammation and NFκB-mediated neuroinflammatory responses in the NAc contribute to the expression of anxiodepressive behavior and heightened food cravings caused by a diet high in saturated fat and sugar.

Keywords: diet-induced obesity; dietary fatty acids; nuclear factor kappa-b; neuroinflammation; depression; anxiety; food reward

Abbreviations: adenovirus (Ad); beta-galactosidase (βgal); corticosterone (CORT); C-reactive protein (CRP); diet-induced obesity (DIO); elevated-plus maze (EPM); forced swim test (FST); glial fibrillary acidic protein (GFAP); green fluorescent protein (GFP); high-fat diet (HFD); hypothalamic-pituitary adrenal (HPA); inhibitor of kappa-b kinase bêta (IKKβ); inhibitor of kappa-b kinase beta dominant negative (IKKdn); insulin tolerance test (ITT); interferon-gamma (IFN-γ); interleukin-1bêta (IL-1β); intraperitoneal (i.p.); ionized calcium binding adaptor molecule 1 (Iba-1); lipopolysaccharide (LPS); low-fat diet (LFD); major histocompatibility complex (MHC); nuclear factor kappa-b (NFkB); nucleus accumbens (NAc); oral glucose tolerance test (OGTT); progressive ratio (PR); tumor necrosis factor (TNF)

1. INTRODUCTION

Obesity considerably elevates the odds of developing depression [1]. Depressed mood not only affects psychological well-being but also considerably increases the risks of obesity complications and diminishes adherence to treatment strategies. In turn, higher body mass index in depressed individuals is associated with poorer prognosis [2]. Obesity in humans and murine models is characterized by a state of chronic low-grade inflammation including elevated circulating inflammatory cytokines, adipokines and triglycerides [3]. Several lines of evidence implicate a neuroimmune etiology in a subset of depressed individuals and thus persistent immune activation in obesity may give rise to mood impairments. Indeed, elevated plasma levels of the inflammatory marker C-reactive protein (CRP), which correlate with depressive symptoms [4–6], is one of the best predictors of depression onset in obese individuals [6]. Moreover, increased brain expression of interleukin-1 beta (IL-1β) [7–9], tumor-necrosis factor (TNF) [8,10] and interferon-gamma (IFN-γ) [10], characteristic of rodent models of lipopolysaccharide (LPS)-induced depressive-like behavior [7–10], is also evident in mice consuming a high-fat diet (HFD) [11,12].

As a neuroanatomical substrate integrating signals from diverse inputs, several lines of evidence highlight a major role for the nucleus accumbens (NAc) in the control of motivation and reward-seeking [13,14], the response to stress [15] and the regulation of anxiodepressive behavior [16,17]. Anhedonia and motivational deficits are key symptoms of depression that are well-tied to neuroplastic changes in the NAc [18]. We previously found that prolonged high-fat feeding resulting in diet-induced obesity (DIO) elicits anxiodepressive behavior and NAc molecular adaptations that correlate with the extent of behavioral despair [19]. Dietary-derived changes in the NAc may also underlie enhanced palatable food-seeking exhibited by obese individuals and rodent models of obesity [18–20]. Indeed, as a means to offset the negative emotional state, depressed mood can stimulate food cravings [18,20] and thereby enable a detrimental cycle whereby caloric overload intensifies metabolic disturbances and strengthens risk of depression comorbidity.

Obese individuals characterized as 'metabolically healthy' (without hypertriglyceridemia, inflammation, insulin resistance) do not present with increased risk of depression [21]. Likewise, the anxiogenic effects of a HFD are absent in conditions that preclude obesity and associated metabolic impairments in rodents [22,23]. Dietary fats can have distinct metabolic, endocrine and behavioral effects according to their predominant lipid class. In contrast to monounsaturated lipids, excess intake of saturated fat is tied to greater metabolic dysfunction that includes increased visceral fat accumulation and peripheral inflammation [23–26]. Consistently, depressive symptoms are positively associated with total and saturated fat consumption while inversely correlated with monounsaturated fat intake [27]. Along these lines, we demonstrated that a saturated, but not a monounsaturated, HFD blunts NAc dopamine tone and function [28] and perturbs hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) activity in rats [23]; however, the mechanisms mediating saturated fat intake and neurobehavioral impairments are unknown.

Consuming a HFD can elicit immune activation in hypothalamus and hippocampus in rodents [11,12,29–31] whereas human obesity is associated with signs of hypothalamic gliosis and injury [11]. It remains to be elucidated however, if excessive dietary fat can stimulate immune activity in the NAc that give rise to mood impairments. Given the involvement NAc in the hedonic deficits associated with mood disorders [18], as well as its vulnerability to neural adaptations following high-fat feeding [19], the present study sought to identify neuroinflammatory responses in the NAc and determine if they underlie anxiodepressive behavior provoked by DIO. We investigated the impact of two isocaloric HFDs, enriched in either palm oil (saturated) or olive oil (monounsaturated), on energy metabolism, immune activation and anxiodepressive behavior in mice. A secondary objective was to determine if neuroinflammation propagated by the inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta (IKKβ)-NFκB pathway – a transcription factor playing a key role in driving cytokine gene expression [32] - contributes to anxiodepressive behavior and palatable food-seeking elicited by a HFD. Contrary to the largely protective effect of the monounsaturated HFD, we found a saturated HFD enhances weight gain, metabolic complications, systemic inflammation and anxiety-like and despair responses in behavioral tests. Concurrently, the saturated HFD was found to increase the expression of several immune markers, trigger reactive gliosis and stimulate NFκB transcriptional activity in the NAc. Exposing a functional role of NAc NFκB in obesity-induced anxiodepressive and food-motivated behavior, viral-mediated inhibition of IKKβ/NFκB in the NAc prevented neuroinflammation and anxiodepressive behavior and suppressed cue-induced compulsive sucrose-seeking in mice fed the saturated HFD.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Animals and Diets

All procedures involving the use of animals were approved by the CRCHUM Animal Care Committee in accordance with Canadian Council on Animal Care guidelines. Male C57BL/6 mice (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, USA) and NFκB-LacZ reporter mice [33] (C57BL/6 background; in-house colony) were housed in a reverse 12h light-dark cycle (lights off at 10am) with ad libitum access to water and food. Colony-derived heterozygous NFκB-LacZ reporter mice and wildtype littermates were weaned at P21-23 and genotyped as described [33].

Beginning at 8 weeks of age, singly-housed (for food intake measures) or group-housed (2-4/cage; for all remaining experiments) mice were given free access to one of three custom, ingredient-matched diets (Table 1; Dyets, Bethlehem, PA, USA) described in detail previously [28]: a 50% kcal palm oil saturated high-fat diet ("Palm"), an isocaloric 50% kcal olive oil monounsaturated high-fat diet ("Olive") or a 16.8% kcal soybean oil low-fat diet ("Control"). Eight cohorts of adult male C57BL/6 wildtype and NFκB-LacZ

colony mice were employed to investigate the metabolic, behavioral and biochemical consequences of each diet as described in supporting information. All measures were taken after 12 weeks on the diets.

2.2. Metabolic profiling

Mice from each of the three diet conditions (n=8/group) were fasted overnight for basal blood glucose measurements. For oral glucose tolerance test (OGTT), mice were fasted overnight followed by oral gavage of dextrose (2g/kg of body weight). For intraperitoneal insulin tolerance tests (ITT), food was removed from the cage at 9AM for 4h fasting prior to intraperitoneal (i.p.) injection of insulin. For both OGTT and ITT, blood glucose was measured at 0, 15, 30, 45, 60, 90 and 120 minutes. Body mass composition was measured via Echo MRI and subcutaneous, perigonadal, and perirenal fat depots were extracted at sacrifice and weighed. Blood was collected from a new cohort of mice (n=7-13/group) at the time of sacrifice to measure plasma insulin (Cedarlane Labs, Burlington, Canada), corticosterone (at circadian peak; Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY, USA), TNF (Qiagen, Hilden, Germany), IL-1β (Qiagen) and CRP (Life Diagnostics, Inc., WestChester, PA, USA) levels via ELISA. Plasma insulin and leptin from adenovirus treated mice was measured by alpha-ELISA (Perkin-Elmer, MA, USA).

2.3. Behavioral testing

2.3.1. Elevated-plus maze (EPM)

Separate cohorts of mice were used to measure changes in anxiodepressive behavior induced by diet and in response to diet ± NAc IKKβ/NFκB inhibition. For the EPM test, mice were placed in the center of an elevated-plus platform composed of two open arms and two closed arms. Anxiety-like behavior was assessed by quantifying the proportion of time spent and number of entries in the opened arms over a 5 minute trial. Each trial was video recorded and analyzed using the EthoVision software as described previously [19].

2.3.2. Forced swim test (FST)

Assessment of behavioral despair using the FST was carried out as described previously [19]. Briefly, mice were placed in a water-filled glass container for 6 minutes. The first 2 minutes of the trial served as habituation and velocity was measured in order to assess locomotor capacity. Immobility time during the last 4 minutes was indicative of behavioral despair. Each trial was video recorded and analyzed using the EthoVision software.

2.4. Quantitative PCR

Tissue punches of NAc (core and shell) were obtained from frozen coronal sections (200μm) and RNA extracted using TRIzol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). cDNA was synthetized from 700ng of total RNA using random hexamers and M-MLV Reverse Transcriptase (Invitrogen). Real-time PCR was performed

using the Rotor Gene SYBR Green PCR kit (Qiagen). Primers were designed using BLAST (U.S. National Library of Medicine) and synthesized by Integrated DNA Technologies, Inc. based on the sequences listed in Table 2. Data was extrapolated from standard curves and normalized to the housekeeping genes (Beta-actin, Cyclophilin or HPRT) which were not affected by diet (Fig. S1). The most stable housekeeping gene across experimental groups was selected according to GeNorm and NormFinder algorithms. Mean ± standard error of mean values for each group are expressed in fold changes relative to Control (Fig. 3A) or ControlGFP (Fig. 4H) normalized at 1.0.

2.5. Beta-galactosidase histochemistry

Heterozygous NFκB-LacZ mice subjected to the diet protocol (n=4/group) were injected with a lethal dose of sodium pentobarbital prior to cardiac perfusion with 30mL of ice-cold phosphate buffered saline (PBS), followed by 30mL of 10% buffered formalin. Following 4h immersion in 10% buffered formalin, brains were transferred to 30% sucrose for 24-48h. Coronal brain sections (30μm) containing the rostro-caudal extent of the NAc were sliced with a microtome (Leica SM2000R). Free floating slices were washed in PBS and incubated in a blocking buffer (3% normal goat serum + 0.1% Triton + 0.02% PBS-azide) for 2h at room temperature. Cell membranes were then permeabilized by incubating sections in 0.2% Tween in PBS solution for 9 minutes and then rinsed with PBS prior to overnight incubation in blocking solution with a primary polyclonal chicken antibody against βgal, Ab9361 (1:1000), Abcam (Cambridge, UK) at 4ºC. Following washes, sections were incubated with an Alexa Fluor® 568 conjugated goat anti-chicken IgG antibody (Abcam, 1:1000) for 2h, at room temperature. Following washes, sections were mounted onto microscope slides with DAPI aqueous mounting media (Vectashield, Vector Labs, Burlingham, CA, USA) and visualized (Zeiss AxioImager.M2 ApoTome.2).

2.6. Glia immunostaining

Following the diet protocol, wildtype mice (n=3/group) were perfused and brains post-fixed, cryoprotected and sliced as above. Free-floating slices (30μm) were incubated with a primary polyclonal rabbit antibody against GFAP (Ab5804, Millipore (Darmstadt, Germany) or IBA-1 (019-19741, Wako Chemicals USA (Richmond, VA, USA) at a dilution of 1:500. Following washes, sections were incubated with the horseradish peroxidase-conjugated goat anti-rabbit immunoglobulin G antibody provided in Vectastain Elite ABC HRP kit (Vector Labs) at a dilution of 1:1000 for 2h at room temperature. Sections were immersed in avidin/biotin complex solution for 1 minute, rinsed with PBS and mounted onto microscope slides. Prior to application of mounting media (Vectashield, Vector Labs) and coverslip, slides were dehydrated in 95% ethanol solution in PBS and 100% ethanol for 30 seconds and 1 minute, respectively.

2.6.1. Morphometric analysis of microglia

Images acquired (Zeiss AxioImager.M2 ApoTome.2) were converted to 8-bit using ImageJ. Density, perimeter, maximum ferret and minimum ferret for the soma of each microglia (n=3-4/mouse) were measured using the "analyze particles" function of ImageJ. Soma ratio was calculated by dividing the minimum ferret value by the maximum ferret value, giving an indicator of circularity from 0.00 to 1.00. The total number of visible processes per cell was counted and the length of each process was measured as distance from the border of the soma to the end of the process.

2.7. Viral-mediated inhibition of IKKβ/NFkB

2.7.1. Viral construct

Adenoviral constructs consisted of a sequence coding for a dominant negative mutation of the inhibitor of kappa-B kinase beta subunit (Ad^{IKKdn}) [34] or green fluorescent protein (Ad^{GFP}) under the control of a cytomegalovirus promoter. In view of the modulatory role of NFκB in inflammatory gene expression in glia and neurons, a recombinant adenovirus (serotype 5) was selected to enable high transduction efficiency and broad host range. Adenoviruses were amplified and purified by Vector Biolabs (Malvern, PA, USA).

2.7.2. Validation of viral inhibition

Viral titer and placement validation was performed in heterozygous NFκB-LacZ mice microinjected with AdIKKdn in NAc of right hemisphere and AdGFP in NAc of left hemisphere. Mice were sacrificed 2 weeks after surgery and 6h following intraperitoneal lipopolysaccharide (LPS; Escherichia Coli 0127:B8, Millipore Sigma) injection (500μg/kg). Coronal NAc slices were subjected to the βgal immunofluorescence protocol to visualize changes in LPS-induced NFκB transcriptional.

2.7.3. Stereotaxic surgery

Mice were anaesthetized with isoflurane and placed into a mouse ultraprecise stereotaxic instrument (Kopf, Inc.) with Bregma and Lambda in the same horizontal plane. Ad^{IKKdn} or Ad^{GFP} (0.5μL/side; 3.0 x 107 PFU/side) was delivered bilaterally into the NAc (AP:+1.7mm. ML:±1.1mm, DV:-4.5mm, relative to bregma and skull surface) using a 0.5μL NeuroSyringe (Hamilton, Reno, NV, USA).

Bearing in mind the observed distinct neurobehavioral impact of the palm HFD, viral manipulations were carried out in mice submitted to the palm HFD and control diet, providing four groups: $Control^{GFP}$; $Control^{IKKdn}$; $Palm^{GFP}$ and $Palm^{IKKdn}$. Mice (n=17-21/group) were injected with adenoviruses following 8 weeks on their respective diets and then continued on these diets for an additional 4 weeks post-surgery before behavioral and biochemical testing. Mice were individually housed after surgery.

2.8. Operant conditioning

2.8.1. Sucrose motivation

Training mice to respond for sucrose on a progressive ratio (PR) schedule was as described [22,35]. Briefly, chow-fed mice were food restricted to maintain 90% of their body weight and trained daily in an operant task to press one of two levers to receive a sucrose pellet. Once stable responding in the PR task was achieved, all mice were provided ad libitum access to the Control or Palm HFD and subjected to operant training at least once a week to maintain PR responding. After 8 weeks, baseline breakpoint values were measured over 3 consecutive days followed by stereotaxic microinjections of Ad^{IKKdn} or Ad^{GFP} adenovirus in to the NAc as described above. Two weeks post-surgery, $Control^{GFP}$, $Control^{IKKdn}$, $Palm^{GFP}$ and $Palm^{IKKdn}$ mice were reintroduced into the operant chambers for PR training and testing. Breakpoint thresholds (the last response ratio successfully completed) obtained over 3-5 consecutive days during the 11th week of diet were used in the analysis. Data is presented as breakpoint values before (8th week of diet) and after stereotaxic microinjection (11th week).

2.8.2. Conditioned suppression test

To assess compulsive sucrose seeking, we adapted a protocol of cue-induced suppression of feeding [36] to the operant setting (Fig. 5D). At the end of the operant protocol above, PalmGFP and PalmIKKdn mice were transitioned from the palm HFD to standard chow, a manipulation which stimulates craving and food-seeking [22]. Mice were trained to lever-press for sucrose pellets on a fixed-ratio 5 schedule of reinforcement in operant cages equipped with grid floors capable of delivering electrical current (Med Associates, Inc., St Albans, VT, USA). During each 30 minute operant session the first 10-minute block the house-light was illuminated, the second 10 minute block the house-light was off and the last 10 minutes the houselight was illuminated. Baseline measures of lever pressing represented the mean of 3 consecutive daily sessions. The conditioning phase consisted of 4 consecutive daily sessions with delivery of a foot-shock paired to the illuminated houselight (1s 0.45mA/min for 20 min; total of 20 shocks), active lever and the availability of sucrose reward. On the test day (Day 5), lever responses were measured under the same conditions except that no foot-shocks were delivered. Data is presented as the total number of lever-presses per session.

2.9. Statistical analyses

Data were analysed with GraphPad Prism 6 and are presented as mean ± standard error of the mean (SEM). A one-way ANOVA was used to compare the three diet groups. Viral intervention results were analysed via 2-way ANOVA (diet x genotype) with Bonferonni post-hoc as well as differences in sucrose motivation (time x virus). Criterion for significance was set to $p<0.05$ in all comparisons.

3. RESULTS

3.1. Saturated high-fat feeding potentiates metabolic impairments and inflammation

We first sought to determine the impact of prolonged intake of HFDs enriched in either palm or olive oil on multiple metabolic endpoints. Both the palm and olive HFDs resulted in greater weight gain relative to controls; however, mice fed the palm HFD gained an average of 3.0g ± 1.3g (equating 8.5% ± 2.8%) more body weight than the olive HFD group (Fig. 1A). Similarly, significant fat accumulation was exhibited by both HFD groups, but total fat mass (Fig. 1B) and visceral (perirenal and perigonadal) fat deposition were more pronounced in the palm HFD mice (Fig. 1C). This was accompanied by greater caloric intake in the palm HFD group compared to controls and olive HFD (Fig. 1D). While no changes were observed in plasma total non-esterified free fatty acid levels (Fig. 1E), plasma leptin levels increased in both the palm and olive HFD groups with no difference between the two HFDs (Fig. 1F). As compared to both the control and olive HFD groups, mice fed palm HFD had higher insulin (Fig. 1G) and glucose levels (Fig. 1H). Consistently, oral glucose tolerance tests demonstrate that the palm HFD provoked glucose intolerance (30, 45 and 60 minutes) (Fig. 1I). Moreover, mice fed the palm HFD demonstrated a trend towards reduced insulin sensitivity relative to controls (Fig. 1J). Plasma CRP and TNF levels were elevated by palm HFD relative to the olive HFD and control diet (Fig. 1K, L). Finally, plasma IL-1β and corticosterone concentrations increased in the palm HFD group relative to controls (Fig. 1M, N).

3.2. Stimulation of anxiodepressive behavior by a saturated (but not monounsaturated) high-fat diet

To establish if the development of anxiodepressive behavior relies on diet lipid composition and associated metabolic consequences, naïve mice were tested in the elevated-plus maze (EPM) and forced swim test (FST) following the 12-week diet period. The palm HFD reduced the proportion of time spent and number of entries into the open arm of the EPM as compared to controls and olive HFD (Fig. 2A, B). Mice fed the palm, but not the olive, HFD had increased immobility time in the FST compared to controls (Fig. 2C). Swim speed (velocity) was similar across the three diet conditions (Fig. 2D), suggesting that changes in locomotor capacity do not account for reduced mobility exhibited by palm HFD mice in the EPM and FST. In addition, locomotor activity measured during the last two hours of light phase (period when behavioral testing was carried out) was similar between palm HFD and control mice (data not shown).

3.3. Saturated high-fat feeding triggers inflammation in the nucleus accumbens

Structural and functional alterations in the NAc have been well associated with anhedonia, anxiodepressive behavior and manifestation of depressive disorders [18,37,38]. Thus, we next sought to determine if NAc inflammation accompanies peripheral immune activation evoked by the palm HFD. NAc mRNA levels of glial fibrillary acidic protein (GFAP) and ionized calcium binding adaptor molecule 1 (Iba-1), astrocyte and microglia/macrophage markers respectively, were potentiated by the palm HFD (Fig. 3A). In addition, IFN-γ and heat shock protein-72 (HSP-72; marker of neural injury) expression increased and there was a

trend (p=0.08) for elevated expression of CD45 (leukocyte common antigen) in palm HFD mice relative to controls (Fig. 3A).

Considering the key contribution of the NFκB pathway in the expression of pro-inflammatory genes, we assessed NFκB activity in response to the three diets. For effective readout of NFκB transcriptional activity [33], we next submitted NFκB-LacZ (beta-galactosidase, βgal) reporter mice to the diets to measure and visualize changes of NAc NFκB activation. βgal immunolabelling revealed greater βgal expression in the palm HFD group (Fig.3B). The palm HFD produced a significant increase in βgal signal intensity relative to the control diet and olive HFD (Fig. 3C).

Heightened GFAP and Iba-1 mRNA levels observed in palm HFD mice persuaded further examination of diet-induced reactive gliosis in the NAc. Consistent with gene expression data, GFAP immunohistochemistry revealed an elevation in the number of GFAP+ astrocytes in palm HFD mice compared to controls (Fig. 3D, E). Although increases in Iba-1+ microglia/macrophage number were not significant (Fig. 3F, G), Iba-1+ microglia of palm HFD mice displayed greater amoeboid (active state) morphology as evidenced by fewer (Fig. 3H) and shorter (Fig. 3I) processes as well as reduced soma ratio (Fig. 3J). Retraction of microglia processes, characteristic of inflammatory conditions, is a morphological change associated with greater mobility and phagocytic activity in response to immune threat. Density and perimeter of soma (Fig. 3K, L) remained unchanged across all three diets.

3.4. Nucleus accumbens viral inhibition of IKKβ/NFkB prevents diet-induced anxiodepressive behavior and neuroinflammation

In order to evaluate the involvement of NFκB signaling in diet-induced NAc neuroinflammation and anxiodepressive behavior, we applied a viral strategy for targeted delivery of a dominant negative form of IKKβ, an upstream component of the canonical IKK complex conferring NFκB activation (Ad^{IKKdn}), or a control adenovirus expressing green fluorescent protein (Ad^{GFP}) in mice fed the control diet or the palm HFD (Fig. 4A). Histology and βgal immunofluorescence in LPS-treated NFκB-LacZ reporter mice injected with Ad^{IKKdn} or control (Ad^{GFP}) confirmed NAc injection coordinates and the effectiveness of Ad^{IKKdn} to reduce NFκB activity (Fig. S2A, B). βgal immunofluorescence was unchanged in the dorsal and ventrolateral areas of the striatum (data not shown). βgal gene expression was also compared between the Ad^{GFP}-infected and Ad^{IKKdn}-infected hemispheres of LPS-treated NFκB-LacZ reporter mice (Fig. S2C). While the palm HFD increased body weight relative to control as expected, no effect of the virus injected (Ad^{GFP} vs. Ad^{IKKdn}) was observed (Fig. 4B). Accordingly, viral inhibition of IKKβ/NFκB in the NAc did not affect locomotor activity, energy expenditure and respiratory exchange (Fig. S3). In agreement with our previous results, Palm HFD

mice receiving Ad^{GFP} ("$Palm^{GFP}$") showed a significant reduction in the proportion of time spent (Fig. 4C) and frequency of entries (Fig. 4D) into the open arm of the EPM as compared to $Control^{GFP}$ mice. Targeted inhibition of IKKβ/NFκB in the NAc of Palm HFD mice ("$Palm^{IKKdn}$") normalized EPM anxiety-like behavior to that of controls (Fig. 4C, D) without differences in distance travelled (Fig. 4E). Similarly, the effect of Palm HFD to increase behavioral despair in the FST was reproduced as shown by increased immobility time in $Palm^{GFP}$ mice as compared to $Control^{GFP}$ mice (Fig. 4F), an effect that was blocked in $Palm^{IKKdn}$ mice (Fig. 4F). These changes occurred without any differences between groups in swim velocity during the FST (Fig. 4G). Moreover, the 24h assessment of locomotor activity in metabolic chambers, notably during the light phase when behavioral testing occurred, suggests that normalization of behavioral despair in $Palm^{IKKdn}$ mice is not attributed to increased locomotion (Fig. S3).

NAc IKKβ mRNA expression was reduced by 58.5% ± 4.4% in PalmIKKdn mice (0.97 fold change vs. $Control^{GFP}$) relative to $Palm^{GFP}$ mice (2.33 fold change vs. $Control^{GFP}$) (Fig. 4H). $Palm^{GFP}$ mice demonstrated enhanced NAc mRNA expression of GFAP, Iba-1, vimentin, TNF, IL-1β, IFN-γ, CD45, and CD11b (macrophage and microglia marker) compared to $Control^{GFP}$ mice (Fig. 4H). As these results suggested recruitment of immune cells, major histocompatibility complex class I (MHC-I) and class II (MHC-II) genes were quantified and found to be highly elevated in $Palm^{GFP}$ relative ton $Control^{GFP}$ mice (Fig. 4H). On the other hand, HFD^{IKKdn} mice showed marked reductions in the expression of GFAP, Iba-1, vimentin, TNF, IL-1β, MHC-I and MHC-II compared to $Palm^{GFP}$ mice (Fig. 4H). In contrast, mRNA levels of vimentin, TNF, MHC-I and MHC-II tended to increase in $Control^{IKKdn}$ mice compared to $Control^{GFP}$ controls, a finding that likely reflects the bimodal influence of NFκB on inflammatory gene expression [39].

3.5. Nucleus accumbens IKKβ/NFkB signaling modulates sucrose reward and compulsive seeking

Obesity is strongly tied to heightened food reward and food cue reactivity [40,41] and depressed mood can trigger overconsumption of palatable foods as a means to offset the negative emotional state [18,20]. Moreover, numerous lines of evidence implicate the NAc in the control of food-motivated behavior and cue-induced food-seeking [13,14,42]. To determine if NAc IKKβ/NFκB inhibition blunts sucrose-motivated behavior, PR operant testing was carried out in $Control^{GFP}$, $Control^{IKKdn}$, $Palm^{IKKdn}$ and $Palm^{GFP}$ immediately before and after adenoviral injections. There were no differences in breakpoint thresholds between $Control^{GFP}$ and $Control^{IKKdn}$ as well as between $Palm^{IKKdn}$ and $Palm^{GFP}$ mice before surgery (Fig. 5A); however, $Palm^{IKKdn}$ mice breakpoint values significantly dropped after adenoviral injections relative to pre-surgery baseline (Fig. 5A, B) despite no differences in preference for correct lever between $Control^{GFP}$, $Control^{IKKdn}$, $Palm^{IKKdn}$ and $Palm^{GFP}$ mice (Fig. 5C). Viral injections had no impact on post-injection body weights, food intake, plasma insulin and leptin and the capacity of mice to discriminate between correct and incorrect levers (Fig. S4). As a final step, we sought to investigate if NAc IKKβ/NFκB inhibition could counteract heightened sucrose seeking

elicited by withdrawing access to HFD (transition to chow [19]) using the cue conditioned suppression test of compulsive food seeking (Fig. 5D) [36,43]. $Palm^{GFP}$ mice transitioned to a normal chow diet failed to show a significant reduction in sucrose responding despite exposure to aversive conditioning (Fig. 5E) to suggest the presence of compulsive sucrose seeking. Conversely, lever-pressing was markedly suppressed by aversive conditioning in $Palm^{IKKdn}$ mice (Fig. 5E) providing evidence that moderating palm HFD-evoked NFκB/IKKβ signaling can diminish compulsive sucrose-seeking.

4. DISCUSSION

Obesity and mood disorder comorbidity poses a major threat to the management of obesity, depression and overall health. Obesity is estimated to escalate the risk of major depressive disorder by 58% [1], a relationship that is absent when obesity presents without major metabolic deficits [21,44]. Dietary lifestyle is a key determinant of metabolic outcomes and is increasingly linked to changes in brain function and the development of neuropsychiatric and neurodegenerative diseases. Unraveling the complex interactions between nutrient intake and metabolism, endocrine output, immune activity and neural function is germane to identifying the pathophysiological mechanisms through which diet and obesity can perturb emotional and motivational processes.

The present findings demonstrate that overconsumption of saturated fat (in combination with excess sugar) that leads to the development of DIO stimulates anxiodepressive behavior. The use of an olive oil-based HFD permitted identification of the unique impact of saturated lipids on behavioral indices and anxiety and despair. Stimulation of anxiodepressive behavior by the palm HFD was accompanied by elevated adiposity, hyperinsulinemia, glucose intolerance, hypercorticosteronemia and circulating pro-inflammatory markers - features of type 2 diabetes and the metabolic syndrome [45]. As we reported previously, the palm HFD also raises plasma concentrations of the long chain fatty acid palmitate in a manner proportional to diet content [23]. Largely protective effects of the isocaloric olive HFD on glucose homeostasis, peripheral and central immune activity and anxiodepressive behavior, despite significant increases in body weight, fat mass and leptin levels, underscore the distinct action of the saturated HFD. Consistent with these observations, monounsaturated fatty acids can provide cardio-metabolic [26] and mood benefits [27] while Mediterranean diets characterized by a higher proportion of monounsaturated fats confer reduced risk of metabolic [46] and mood disorders [47,48]. Moreover, a large component of the olive oil HFD and Mediterranean diets is oleate, a fatty acid reported to have anti-inflammatory properties [49]. Thus, oleate may help protect against the priming of microglia observed in the olive group of the current study. This observation is consistent with oleic acid inhibition of LPS-induced NF□B activation in cultured microglia [50]. On the other hand, plasma levels of the saturated fatty acid palmitate are associated with depression severity in humans [51] whereas acute palmitate treatment in mice, a manipulation tied to increase hypothalamic inflammation [52,53] and has anxiogenic actions [54]. Collectively, the present results are largely consistent with clinical and

epidemiological observations and with rodent studies from our lab and others suggesting that metabolic impairments underlie the expression of anxiodepressive behavior in obesity [21,44,45,47,48,55–61].

Multiple lines of evidence point to the immune-activating actions of saturated fats in the development of anxiodepressive behavior. Increased visceral adiposity, which correlates with inflammatory profile and metabolic dysfunction [56], manifested in mice fed the saturated but not the monounsaturated HFD. In addition, as seen here and in previous studies [23,62], the saturated HFD caused a substantial rise in CORT which may have well generated heightened peripheral and central immune responses. These changes were accompanied by significantly higher circulating levels of CRP, TNF and IL-1β, inflammatory signals well-associated with depression risk and severity. CRP, in particular, was highlighted as a primary variable predicting depression onset in obesity [6]. Concomitantly, several indicators of inflammation in the NAc were distinguished in saturated HFD mice, including heightened NFκB activation, reactive gliosis, and elevated expression of pro-inflammatory cytokines and immune markers. Of key importance, reversal of all of these upregulated genes by the saturated HFD mice was accomplished by selective NAc IKK□/NFκB inhibition that was sufficient to protect from diet-induced anxiodepressive behavior.

Peripheral cytokines can access the central nervous system and increase production of local inflammatory mediators including cytokines and chemokines by endothelial cells, perivascular macrophages, microglia and astrocytes. The saturated HFD increased mRNA expression of microglia and astrocyte markers (Iba-1 and GFAP) in the NAc and augmented their activity and number, respectively. This result is in line with reports of reactive gliosis in the hypothalamus in response to a HFD [11,29]. Also evident was increased gene expression of IFN-γ, a cytokine promoting immune cell infiltration produced by resident microglia and macrophages as well as astrocytes and lymphoid cells [63,64]. IFN-γ is also an important activator of macrophages and inducer of MHC-I and MHC-II expression, molecules that were substantially increased in $Palm^{GFP}$ mice. The trend for increased CD45 expression observed could additionally suggest macrophage recruitment; however, while it was previously shown that DIO can provoke infiltration of peripheral immune cells [65] establishing whether or not they are increased in the NAc would require local cell quantification. Elevated HSP-72 expression serves as added evidence of NAc cellular insult and inflammation by the saturated HFD as this protein protects from apoptotic and necrotic cell death. Finally, immunohistochemistry data revealed heightened transcriptional activity of NFκB. Taken together, these findings uncover NAc immune activation in response to prolonged saturated high-fat feeding and obesity.

Increases in the expression of pro-inflammatory genes by palm HFD was more pronounced in mice receiving adenovirus injections (magnitude of gene expression increases more pronounced in $Palm^{GFP}$ vs. $Control^{GFP}$), owing perhaps to the combined immune-stimulating effect of the diet and the injection and/or virus. In view of this, we measured the expression of additional immune markers which prove more difficult to quantify in

less inflammatory conditions. In agreement with the role of IKKβ/NFκB pathway, saturated HFD increased IKKβ mRNA expression and this was normalized by viral-mediated inhibition of IKKβ in Palm^{IKKdn} mice. Additionally, NAc inhibition of the IKKβ/NFκB signalling pathway reduced signs of reactive gliosis (GFAP, Iba-1, vimentin) as well expression of cytokines (TNF, IL-1β) and antigen markers (CD11b, MHC-II). These molecular changes corresponded with a reversal of behavioral signs of despair and anxiety. Importantly, viral injections did not alter metabolic measures and thus cannot explain the biochemical and behavioral changes found. Together, these observations resonate with the link between peripheral immune cells infiltration and anxiodepressive behavior [9,66] as well as reduced blood-brain barrier permeability by high-fat feeding [67,68]. In contrast, IKKβ/NFκB inhibition failed to reduce the expression of inflammatory markers in mice fed the control LFD given that markers of astrogliosis (vimentin), inflammation (TNF) and immune responses (MHC-I, MHC-II) had a tendency to be higher in Control^{IKKdn} as compared to Control^{GFP} mice. We suspect this to be related to the additional functions of the NFκB signalling pathway outside of inflammatory regulation [33]. As NFκB is constitutionally active in neurons, attempts to inhibit this pathway under basal conditions may be challenged by homeostatic mechanisms. These findings suggest that improvements in anxiodepressive behavior in this metabolic inflammation model can be explained, at least in part, by reduction of the NFκB pathway in the NAc, and are consistent with reports of neuroinflammation-induced anxiodepressive behavior in rodents [66,69–71] and impairments in NAc function following peripherally-induced inflammation in humans [72].

Depression and anxiety can stimulate palatable food cravings and hyperphagia in a subset of individuals [45,73]. Mice fed the saturated HFD and then subjected to a dieting manipulation known to increase palatable food craving (transition to a low-fat diet) [22] were resistant to an aversive conditioning procedure that suppresses food-seeking under normal conditions [36,43,74]. NAc-specific inhibition of the NFκB signalling pathway not only reduced sucrose motivation in Palm^{IKKdn}, but not Control^{IKKdn} mice, but also prevented compulsive sucrose-seeking behavior upon withdrawal of the palm HFD. These data are in agreement with the involvement of the NFκB signalling pathway in reinforcement and motivated behaviors [75–77]. As the NFκB signalling pathway has been shown to mediate morphological and molecular changes in NAc medium spiny neurons [37,38,76,78,79], we posit that saturated HFD-induced NFκB transcriptional activity in the NAc favors neural adaptations underlying changes in mood and motivation. Despite observations of diminished sucrose-seeking by NAc NFκB inhibition there were no changes in body weight in Palm^{IKKdn} mice that could be anticipated if mice are less motivated to consume palatable food. We speculate that this is due to the fact that ad libitum access to HFD (as was provided in homecage where majority of daily calories were consumed) demands little effort to consume and thus does not engage the NAc-mediated motivational processes at play in the operant task, a view that is consistent with NAc interventions differentially modulating

free-feeding vs. effort-based food seeking [42]. Nevertheless, identifying high-fat feeding-related neural adaptations underlying the pervasive nature of palatable food consumption in typical environmental conditions where there is a cost for food is likely to provide important insights for hyperphagia and obesity treatment.

5. CONCLUSIONS

Collectively, this work identifies the impact of excess saturated dietary fat to elicit metabolic impairments, peripheral and neural immune activation, anxiodepressive behavior and sucrose motivation. The link between obesity and depression may thus involve overconsumption of saturated lipids (and perhaps other pro-inflammatory food/diets) and ensuing NFκB-mediated inflammatory processes in the NAc, and thereby suggests that anti-inflammatory strategies may prove valuable for treating depression in obese individuals. Resulting immune activation in the NAc is suspected to induce neuroplastic adaptations that generate mood impairments, although further work is needed to identify the neural modifications and NAc output pathways involved in this phenomenon.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by a MDRC/Sunlife grant to SF and a CIHR grant (MOP115042). LDS was supported by a doctoral fellowship from FRQS, SS by a post-doctoral fellowship from the CIHR Neuroinflammation Training Program, VIG by a MITACS Summer Internship, TA by a FRQS Salary Award and SF and NA (2012-2017) a CIHR New Investigator Award.

The authors thank the Rodent Phenotyping Platform at CRCHUM for measures in metabolic cages and plasma analysis of insulin and leptin.

REFERENCES

[1] Luppino, F.S., de Wit, L.M., Bouvy, P.F., Stijnen, T., Cuijpers, P., Penninx, B.W., et al., 2010. Overweight, obesity and depression: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. Arch Gen Psychiatry 67(3): 10.

[2] Opel, N., Redlich, R., Grotegerd, D., Dohm, K., Heindel, W., Kugel, H., et al., 2015. Obesity and major depression: Body-mass index (BMI) is associated with a severe course of disease and specific neurostructural alterations. Psychoneuroendocrinology 51: 219-26, Doi: 10.1016/j.psyneuen.2014.10.001.

[3] Lumeng, C.N., Saltiel, A.R., 2011. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. Journal of Clinical Investigation: 2111-7, Doi: 10.1172/JCI57132.

[4] Liu, Y., Al-Sayegh, H., Jabrah, R., Wang, W., Yan, F., Zhang, J., 2014. Association between C-reactive protein and depression: modulated by gender and mediated by body weight. Psychiatry Res 219(1): 103-8, Doi: 10.1016/j.psychres.2014.05.025.

[5] Dowlati, Y., Herrmann, N., Swardfager, W., Liu, H., Sham, L., Reim, E.K., et al., 2010. A meta-analysis of cytokines in major depression. Biol Psychiatry 67(5): 446-57, Doi: 10.1016/j.biopsych.2009.09.033.

[6] Daly, M., 2013. The relationship of C-reactive protein to obesity-related depressive symptoms: a longitudinal study. Obesity (Silver Spring) 21(2): 248-50, Doi: 10.1002/oby.20051.

[7] Zhang, Y., Liu, L., Peng, Y.L., Liu, Y.Z., Wu, T.Y., Shen, X.L., et al., 2014. Involvement of inflammasome activation in lipopolysaccharide-induced mice depressive-like behaviors. CNS Neurosci Ther 20(2): 119-24, Doi: 10.1111/cns.12170.

[8] Cazareth, J., Guyon, A., Heurteaux, C., Chabry, J., Petit-Paitel, A., 2014. Molecular and cellular neuroinflammatory status of mouse brain after systemic lipopolysaccharide challenge: importance of CCR2/CCL2 signaling. J Neuroinflammation 11: 132, Doi: 10.1186/1742-2094-11-132.

[9] Aguliar-Valles, A., Kim, J., Jung, S., Woodside, B., Luheshi, G.N., 2013. Role of brain transmigrating neutrophils in depression-like behavior during systemic infection. Mol Psychiatry, Doi: 10.1038/mp.2013.137.

[10] O'Connor, J.C., Lawson, M.A., Andre, C., Briley, E.M., Szegedi, S.S., Lestage, J., et al., 2009. Induction of IDO by bacille Calmette-Guerin is responsible for development of murine depressive-like behavior. J Immunol 182(5): 3202-12, Doi: 10.4049/jimmunol.0802722.

[11] Thaler, J.P., Yi, C.X., Schur, E.A., Guyenet, S.J., Hwang, B.H., Dietrich, M.O., et al., 2012. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. J Clin Invest 122(1): 153–62, Doi: 10.1172/JCI59660.

[12] Morselli, E., Fuente-Martin, E., Finan, B., Kim, M., Frank, A., Garcia-Caceres, C., et al., 2014. Hypothalamic PGC-1α protects against high-fat diet exposure by regulating ERα. Cell Reports 9(2): 633–45, Doi: 10.1016/j.celrep.2014.09.025.

[13] Nunes, E.J., Randall, P.A., Podurgiel, S., Correa, M., Salamone, J.D., 2013. Nucleus accumbens neurotransmission and effort-related choice behavior in food motivation: Effects of drugs acting on dopamine, adenosine, and muscarinic acetylcholine receptors. Neuroscience and Biobehavioral Reviews: 2015–25, Doi: 10.1016/j.neubiorev.2013.04.002.

[14] Ferrario, C.R., Labouèbe, G., Liu, S., Nieh, E.H., Routh, V.H., Xu, S., et al., 2016. Homeostasis Meets Motivation in the Battle to Control Food Intake. The Journal of Neuroscience 36(45): 11469–81, Doi: 10.1523/JNEUROSCI.2338-16.2016.

[15] Gold, P.W., 2015. The organization of the stress system and its dysregulation in depressive illness. Molecular Psychiatry 20(1): 32–47, Doi: 10.1038/mp.2014.163.

[16] Francis, T.C., Lobo, M.K., 2017. Emerging Role for Nucleus Accumbens Medium Spiny Neuron Subtypes in Depression. Biological Psychiatry: 645–53, Doi: 10.1016/j.biopsych.2016.09.007.

[17] Williams, Z.M., 2015. Good vibrations with deep brain stimulation. Nat Neurosci 18(103): 1613–22, Doi: 10.1038/nn.4007.

[18] Russo, S.J., Nestler, E.J., 2013. The brain reward circuitry in mood disorders. Nat Rev Neurosci 14(9): 609–25, Doi: 10.1038/nrn3381.

[19] Sharma, S., Fulton, S., 2013. Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. Int J Obes (Lond) 37(3): 382–9, Doi: 10.1038/ijo.2012.48.

[20] Volkow, N.D., Wang, G.J., Tomasi, D., Baler, R.D., 2013. The addictive dimensionality of obesity. Biol Psychiatry 73(9): 811–8, Doi: 10.1016/j.biopsych.2012.12.020.

[21] Hamer, M., Batty, G.D., Kivimaki, M., 2012. Risk of future depression in people who are obese but metabolically healthy: the English longitudinal study of ageing. Mol Psychiatry 17(9): 940–5, Doi: 10.1038/mp.2012.30.

[22] Sharma, S., Fernandes, M.F., Fulton, S., 2013. Adaptations in brain reward circuitry underlie palatable food cravings and anxiety induced by high-fat diet withdrawal. Int J Obes (Lond) 37(9): 1183–91, Doi: 10.1038/ijo.2012.197.

[23] Hryhorczuk, C., Décarie-Spain, L., Sharma, S., Daneault, C., Rosiers, C. Des., Alquier, T., et al., 2017. Saturated high-fat feeding independent of obesity alters hypothalamus-pituitary-adrenal axis function but not anxiety-like behaviour. Psychoneuroendocrinology 83(November 2016): 142–9, Doi: 10.1016/j.psyneuen.2017.06.002.

[24] Sartorius, T., Ketterer, C., Kullmann, S., Balzer, M., Rotermund, C., Binder, S., et al., 2012. Monounsaturated fatty acids prevent the aversive effects of obesity on locomotion, brain activity, and sleep behavior. Diabetes 61(7): 1669–79, Doi: 10.2337/db11-1521.

[25] Carrillo, C., Cavia Mdel, M., Alonso-Torre, S., 2012. Role of oleic acid in immune system; mechanism of action; a review. Nutr Hosp 27(4): 978–90, Doi: 10.3305/nh.2012.27.4.5783.

[26] Soriguer, F., Rojo-Martínez, G., Goday, A., Bosch-Comas, A., Bordiú, E., Caballero-Díaz, F., et al., 2013. Olive oil has a beneficial effect on impaired glucose regulation and other cardiometabolic risk factors. Di@bet.es study. European Journal of Clinical Nutrition 67(9): 911–6, Doi: 10.1038/ejcn.2013.130.

[27] Lai, J.S., Oldmeadow, C., Hure, A.J., McEvoy, M., Hiles, S.A., Boyle, M., et al., 2016. Inflammation mediates the association between fatty acid intake and depression in older men and women. Nutrition Research 36(3): 234–45, Doi: 10.1016/j.nutres.2015.11.017.

[28] Hryhorczuk, C., Florea, M., Rodaros, D., Poirier, I., Daneault, C., Des Rosiers, C., et al., 2015. Dampened Mesolimbic Dopamine Function and Signaling by Saturated but not Monounsaturated Dietary Lipids. Neuropsychopharmacology, Doi: 10.1038/npp.2015.207.

[29] Valdearcos, M., Robblee, M.M., Benjamin, D.I., Nomura, D.K., Xu, A.W., Koliwad, S.K., 2014. Microglia dictate the impact of saturated fat consumption on hypothalamic inflammation and neuronal function. Cell Rep 9(6): 2124–38, Doi: 10.1016/j.celrep.2014.11.018.

[30] Erion, J.R., Wosiski-Kuhn, M., Dey, A., Hao, S., Davis, C.L., Pollock, N.K., et al., 2014. Obesity elicits interleukin 1-mediated deficits in hippocampal synaptic plasticity. J Neurosci 34(7): 2618–31, Doi: 10.1523/JNEUROSCI.4200-13.2014.

[31] Cazettes, F., Cohen, J.I., Yau, P.L., Talbot, H., Convit, A., 2011. Obesity-mediated inflammation may damage the brain circuit that regulates food intake. Brain Res 1373: 101–9, Doi: 10.1016/j.brainres.2010.12.008.

[32] Oeckinghaus, A., Hayden, M.S., Ghosh, S., 2011. Crosstalk in NF-kappaB signaling pathways. Nat Immunol 12(8): 695-708, Doi: 10.1038/ni.2065.

[33] Bhakar, A.L., Tannis, L.-L., Zeindler, C., Russo, M.P., Jobin, C., Park, D.S., et al., 2002. Constitutive NFkB essential for neuronal survival. The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience 22(19): 8466-75.

[34] Christoffel, D.J., Golden, S.A., Heshmati, M., Graham, A., Birnbaum, S., Neve, R.L., et al., 2012. Effects of inhibitor of kappaB kinase activity in the nucleus accumbens on emotional behavior. Neuropsychopharmacology 37(12): 2615-23, Doi: 10.1038/npp.2012.121.

[35] Sharma, S., Hryhorczuk, C., Fulton, S., 2012. Progressive-ratio responding for palatable high-fat and high-sugar food in mice. Journal of Visualized Experiments : JoVE (63): e3754, Doi: 10.3791/3754.

[36] Fernandes, M.F.A., Matthys, D., Hryhorczuk, C., Sharma, S., Mogra, S., Alquier, T., et al., 2015. Leptin Suppresses the Rewarding Effects of Running via STAT3 Signaling in Dopamine Neurons. Cell Metabolism, Doi: 10.1016/j.cmet.2015.08.003.

[37] Krishnan, V., Han, M.H., Graham, D.L., Berton, O., Renthal, W., Russo, S.J., et al., 2007. Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. Cell 131(2): 391-404, Doi: 10.1016/j.cell.2007.09.018.

[38] Christoffel, D.J., Golden, S.A., Dumitriu, D., Robison, A.J., Janssen, W.G., Ahn, H.F., et al., 2011. IkappaB kinase regulates social defeat stress-induced synaptic and behavioral plasticity. J Neurosci 31(1): 314-21, Doi: 10.1523/JNEUROSCI.4763-10.2011.

[39] Lawrence, T., 2009. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology 1(6): a001651, Doi: 10.1101/cshperspect.a001651.

[40] Stice, E., Spoor, S., Bohon, C., Veldhuizen, M.G., Small, D.M., 2008. Relation of reward from food intake and anticipated food intake to obesity: a functional magnetic resonance imaging study. Journal of Abnormal Psychology 117(4): 924-35, Doi: 10.1037/a0013600.

[41] Sweet, L.H., Hassenstab, J.J., McCaffery, J.M., Raynor, H.A., Bond, D.S., Demos, K.E., et al., 2012. Brain response to food stimulation in obese, normal weight, and successful weight loss maintainers. Obesity (Silver Spring) 20(11): 2220-5, Doi: 10.1038/oby.2012.125.

[42] Kelley, A.E., 2004. Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 27(8): 765-76, Doi: 10.1016/j.neubiorev.2003.11.015.

[43] Johnson, P.M., Kenny, P.J., 2010. Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. Nat Neurosci 13(5): 635-41, Doi: 10.1038/nn.2519.

[44] Hinnouho, G.M., Singh-Manoux, A., Gueguen, A., Matta, J., Lemogne, C., Goldberg, M., et al., 2017. Metabolically healthy obesity and depressive symptoms: 16-year follow-up of the Gazel cohort study. PLoS ONE 12(4): e0174678, Doi: 10.1371/journal.pone.0174678.

[45] Lasserre, A.M., Strippoli, M.-P.F., Glaus, J., Gholam-Rezaee, M., Vandeleur, C.L., Castelao, E., et al., 2016. Prospective associations of depression subtypes with cardio-metabolic risk factors in the general population. Molecular Psychiatry, Doi: 10.1038/mp.2016.178.

[46] Martínez-González, M.A., Salas-Salvadó, J., Estruch, R., Corella D, D., Fitó, M., Ros, E., 2015. Benefits of the Mediterranean Diet: Insights from the PREDIMED Study. Progress in Cardiovascular Diseases 58(1): 50-60, Doi: 10.1016/j.pcad.2015.04.003.

[47] Sánchez-Villegas, A., Martínez-González, M., Estruch, R., Salas-Salvadó, J., Corella, D., Covas, M., et al., 2013. Mediterranean dietary pattern and depression: the PREDIMED randomized trial. BMC Medicine 11(1): 208, Doi: 10.1186/1741-7015-11-208.

[48] García-Toro, M., Vicens-Pons, E., Gili, M., Roca, M., Serrano-Ripoll, M.J., Vives, M., et al., 2016. Obesity, metabolic syndrome and Mediterranean diet: Impact on depression outcome. Journal of Affective Disorders 194: 105-8, Doi: 10.1016/j.jad.2015.12.064.

[49] Carrillo, C., Cavia Mdel, M., Alonso-Torre, S., 2012. Role of oleic acid in immune system; mechanism of action; a review. Nutr Hosp 27(4): 978-90, Doi: 10.3305/nh.2012.27.4.5783.

[50] Oh, Y.T., Lee, J.Y., Lee, J., Kim, H., Yoon, K.S., Choe, W., et al., 2009. Oleic acid reduces lipopolysaccharide-induced expression of iNOS and COX-2 in BV2 murine microglial cells: Possible involvement of reactive oxygen species, p38 MAPK, and IKK/NF-κB signaling pathways. Neuroscience Letters 464(2): 93-7, Doi: 10.1016/j.neulet.2009.08.040.

[51] Tsuboi, H., Watanabe, M., Kobayashi, F., Kimura, K., Kinae, N., 2013. Associations of depressive symptoms with serum proportions of palmitic and arachidonic acids, and alpha-tocopherol effects among male population--a preliminary study. Clin Nutr 32(2): 289-93, Doi: 10.1016/j.clnu.2012.07.011.

[52] Benoit, S.C., Kemp, C.J., Elias, C.F., Abplanalp, W., Herman, J.P., Migrenne, S., et al., 2009. Palmitic acid mediates hypothalamic insulin resistance by altering PKC-theta subcellular localization in rodents. J Clin Invest 119(9): 2577-89, Doi: 10.1172/JCI36714.

[53] Cheng, L., Yu, Y., Szabo, A., Wu, Y., Wang, H., Camer, D., et al., 2015. Palmitic acid induces central leptin resistance and impairs hepatic glucose and lipid metabolism in male mice. The Journal of Nutritional Biochemistry 26(5): 541-8, Doi: 10.1016/j.jnutbio.2014.12.011.

[54] Moon, M.L., Joesting, J.J., Lawson, M.A., Chiu, G.S., Blevins, N.A., Kwakwa, K.A., et al., 2014. The saturated fatty acid, palmitic acid, induces anxiety-like behavior in mice. Metabolism: Clinical and Experimental 63(9): 1131-40, Doi: 10.1016/j.metabol.2014.06.002.

[55] Yamada, N., Katsuura, G., Ochi, Y., Ebihara, K., Kusakabe, T., Hosoda, K., et al., 2011. Impaired CNS leptin action is implicated in depression associated with obesity. Endocrinology 152(7): 2634-43, Doi: 10.1210/en.2011-0004.

[56] Hryhorczuk, C., Sharma, S., Fulton, S.E., 2013. Metabolic disturbances connecting obesity and depression. Front Neurosci 7: 177, Doi: 10.3389/fnins.2013.00177.

[57] Jokela, M., Hamer, M., Singh-Manoux, A., Batty, G.D., Kivimaki, M., 2014. Association of metabolically healthy obesity with depressive symptoms: pooled analysis of eight studies. Mol Psychiatry 19(8): 910-4, Doi: 10.1038/mp.2013.162.

[58] Schmitz, N., Deschênes, S., Burns, R., Smith, K., Lesage, A., Strychar, I., et al., 2016. Depression and risk of type 2 diabetes: the potential role of metabolic factors. Molecular Psychiatry 217(12): 1726-32, Doi: 10.1038/mp.2016.7.

[59] Dunbar, J.A., Reddy, P., Davis-Lameloise, N., Philpot, B., Laatikainen, T., Kilkkinen, A., et al., 2008. Depression: an important comorbidity with metabolic syndrome in a general population. Diabetes Care 31(12): 2368-73, Doi: 10.2337/dc08-0175.

[60] Chirinos, D.A., Murdock, K.W., LeRoy, A.S., Fagundes, C., 2017. Depressive symptom profiles, cardio-metabolic risk and inflammation: Results from the MIDUS study. Psychoneuroendocrinology 82: 17-25, Doi: 10.1016/j.psyneuen.2017.04.011.

[61] Moreira, F.P., Jansen, K., Cardoso, T. de A., Mondin, T.C., Magalhães, P.V. da S., Kapczinski, F., et al., 2017. Metabolic syndrome in subjects with bipolar disorder and major depressive disorder in a current depressive episode: Population-based study. Journal of Psychiatric Research 92: 119-23, Doi: 10.1016/j.jpsychires.2017.03.025.

[62] Oh, Y.T., Kim, J., Kang, I., Youn, J.H., 2014. Regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis by circulating free fatty acids in male Wistar rats: role of individual free fatty acids. Endocrinology 155(3): 923-31, Doi: 10.1210/en.2013-1700.

[63] Kawanokuchi, J., Mizuno, T., Takeuchi, H., Kato, H., Wang, J., Mitsuma, N., et al., 2006. Production of interferon-γ by microglia. Multiple Sclerosis Journal 12(5): 558-64, Doi: 10.1177/1352458506070763.

[64] Monteiro, S., Roque, S., Marques, F., Correia-Neves, M., Cerqueira, J.J., 2017. Brain interference: Revisiting the role of IFNγ in the central nervous system. Progress in Neurobiology, Doi: 10.1016/j.pneurobio.2017.05.003.

[65] Buckman, L.B., Hasty, A.H., Flaherty, D.K., Buckman, C.T., Thompson, M.M., Matlock, B.K., 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, Doi: 10.1016/j.bbi.2013.06.007.

[66] Weber, M.D., Godbout, J.P., Sheridan, J.F., 2016. Repeated Social Defeat, Neuroinflammation, and Behavior: Monocytes Carry the Signal. Neuropsychopharmacology: 1-16, Doi: 10.1038/npp.2016.102.

[67] Elahy, M., Lam, V., Pallebage-Gamarallage, M.M., Giles, C., Mamo, J.C.L., Takechi, R., 2015. Nicotine Attenuates Disruption of Blood-Brain Barrier Induced by Saturated-Fat Feeding in Wild-Type Mice. Nicotine & Tobacco Research: 1436-41, Doi: 10.1093/ntr/ntv044.

[68] Menard, C., Pfau, M.L., Hodes, G.E., Kana, V., Wang, V.X., Bouchard, S., et al., 2017. Social stress induces neurovascular pathology promoting depression. Nature Neuroscience 20(12): 1752-60, Doi: 10.1038/s41593-017-0010-3.

[69] Couch, Y., Anthony, D.C., Dolgov, O., Revischin, A., Festoff, B., Santos, A.I., et al., 2013. Microglial activation, increased TNF and SERT expression in the prefrontal cortex define stress-altered behaviour in mice susceptible to anhedonia. Brain Behav Immun 29: 136-46, Doi: 10.1016/j.bbi.2012.12.017.

[70] Campos, A.C., Vaz, G.N., Saito, V.M., Teixeira, A.L., 2014. Further evidence for the role of interferon-gamma on anxiety- and depressive-like behaviors: involvement of hippocampal neurogenesis and NGF production. Neurosci Lett 578: 100-5, Doi: 10.1016/j.neulet.2014.06.039.

[71] Patki, G., Solanki, N., Atrooz, F., Allam, F., Salim, S., 2013. Depression, anxiety-like behavior and memory impairment are associated with increased oxidative stress and inflammation in a rat model of social stress. Brain Research 1539: 73-86, Doi: 10.1016/j.brainres.2013.09.033.

[72] Eisenberger, N.I., Berkman, E.T., Inagaki, T.K., Rameson, L.T., Mashal, N.M., Irwin, M.R., 2010. Inflammation-induced anhedonia: endotoxin reduces ventral striatum responses to reward. Biol Psychiatry 68(8): 748-54, Doi: 10.1016/j.biopsych.2010.06.010.

[73] Gibson, E.L., 2012. The psychobiology of comfort eating: implications for neuropharmacological interventions. Behav Pharmacol 23(5-6): 442-60, Doi: 10.1097/FBP.0b013e328357bd4e.

[74] Velazquez-Sanchez, C., Santos, J.W., Smith, K.L., Ferragud, A., Sabino, V., Cottone, P., 2015. Seeking behavior, place conditioning, and resistance to conditioned suppression of feeding in rats intermittently exposed to palatable food. Behav Neurosci 129(2): 219-24, Doi: 10.1037/bne0000042.

[75] Ang, E., Chen, J., Zagouras, P., Magna, H., Holland, J., Schaeffer, E., et al., 2008. Induction of nuclear factor-κB in nucleus accumbens by chronic cocaine administration. Journal of Neurochemistry 79(1): 221-4, Doi: 10.1046/j.1471-4159.2001.00563.x.

[76] Russo, S.J., Wilkinson, M.B., Mazei-Robison, M.S., Dietz, D.M., Maze, I., Krishnan, V., et al., 2009. Nuclear factor kappa B signaling regulates neuronal morphology and cocaine reward. J Neurosci 29(11): 3529-37, Doi: 10.1523/JNEUROSCI.6173-08.2009.

[77] Zhang, X., Cui, Y., Jing, J., Cui, Y., Xin, W., Liu, X., 2011. Involvement of p38/NF-kappaB signaling pathway in the nucleus accumbens in the rewarding effects of morphine in rats. Behav Brain Res 218(1): 184-9, Doi: 10.1016/j.bbr.2010.11.049.

[78] Walsh, J.J., Friedman, A.K., Sun, H., Heller, E.A., Ku, S.M., Juarez, B., et al., 2014. Stress and CRF gate neural activation of BDNF in the mesolimbic reward pathway. Nat Neurosci 17(1): 27-9, Doi: 10.1038/nn.3591.

[79] Koo, J.W., Russo, S.J., Ferguson, D., Nestler, E.J., Duman, R.S., 2010. Nuclear factor-kappaB is a critical mediator of stress-impaired neurogenesis and depressive behavior. Proc Natl Acad Sci U S A 107(6): 2669-74, Doi: 10.1073/pnas.0910658107.

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Saturated high-fat feeding potentiates metabolic impairments and inflammation. (A-C) Final body weights (n=23-24/diet), body mass composition (n=7-8/diet) and adipose tissue depositions (n=8/diet) following 12 weeks of low-fat diet (Control), saturated (Palm) or monounsaturated (Olive) high-fat feeding. (D) Average weekly caloric intake on each diet (n=8/diet). (E-H) Plasma levels of free fatty acids, leptin, insulin and glucose at time of sacrifice (n=6-8/diet). (I) Oral glucose tolerance test in overnight fasted mice receving a dose of dextrose (2g/kg) (n=7-8/diet). (J) Insulin tolerance test in 4h fasted mice injected with insulin (n=4-8/diet). (K-N) Plasma levels of C-reactive protein, tumor necrosis factor (TNF), interleukin-1bêta (IL-1β) and corticosterone at time of sacrifice (n=7-13/diet). Group mean ± SEM, One-way analysis of variance, Bonferroni post hoc; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.005

Figure 2. Stimulation of anxiodepressive behavior by a saturated high-fat diet. (A, B) Time spent and number of entries into the open arms of the elevated-plus maze (n=15-16/diet). (C) Immobility time during the 4 last minutes of the forced swim test (n=6-8/diet). (D) Swimming velocity during the first 2 minutes of the forced swim test (n=6-8/diet). Group mean ± SEM; one-way analysis of variance, Bonferroni post hoc; *p<0.05, ***p<0.005.

Figure 3. Saturated high-fat feeding triggers inflammation in the nucleus accumbens. (A) Relative nucleus accumbens gene expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP), ionized calcium binding adaptor molecule-1 (Iba-1), tumor necrosis factor (TNF), interleukin-1bêta (IL-1β), interferon-gamma (IFN-γ), CD45, CD11b and heat-shock protein-72 (HSP-72). (B) βgal (red) immunofluorescence on nucleus accumbens coronal slices of NFkB-LacZ (βgal) reporter mice fed one of 3 diets. 20X magnification; 50μm scale bars. (C) Quantification of βgal signal density in nucleus accumbens (n=4/diet). (D, E) Staining and quantification of GFAP+ cells in the nucleus accumbens (n=7-10/diet). (F, G) Staining and quantification of Iba-1+ cells in the nucleus accumbens (n=8-14/diet). (H, I) Lenght and number of processes of Iba-1+ cells (n=9-11/diet). (J-L) Ratio (minimum ferret/maximum ferret), density and perimeter of Iba-1+ cells (n=10-11/diet). Cell quantification per surface area of 0.078mm$^{2;}$ magnification of 20X and 63X (inserts); 50μm scale bars. Group mean ± SEM; one-way analysis of variance, Bonferroni post hoc; *p<0.05, **p<0.01.

Figure 4. Inhibition of IKKβ/NFkB in the nucleus accumbens prevents diet-induced anxiodepressive behavior and neuroinflammation. (A) Experimental layout depicting start of diets, viral injection and testing. (B) Final body weights after testing (n=21-25/group). (C, D) Time spent and entries in open arms of the elevated-plus maze (n=13-20/group). (E) Distance travelled in the elevated-plus maze. (F) Immobility time during the last 4 minutes of the forced swim test (n=13-19/group). (G) Swimming velocity during the first 2

minutes of the forced swim test (n=13-19/group). (H) Nucleus accumbens relative gene expression of inhibitor of kappa-B kinase-bêta (IKKβ), glial fibrillary acidic protein (GFAP), ionized calcium binding adaptor molecule-1 (Iba-1), interleukin-1bêta (IL-1β), interferon-gamma (IFN-γ), CD45, CD11b, heatshock protein-72 (HSP-72) vimentin, tumor necrosis factor (TNF), major histocompatibility complex (MHC)-1 and MHC-II (n=7-9/group). Group mean ± SEM; two-way analysis of variance, Bonferroni post hoc; ∗p<0.05, ∗∗p<0.01, ∗∗∗p<0.005.

Figure 5. Nucleus accumbens IKKβ/NFkB inhibition decreases sucrose reward and compulsive sucrose seeking in mice fed the saturated high-fat diet. (A) Breakpoint values in operant responding for sucrose pellets before (Pre) and after (Post) viral injection (n=3-6/group); two-way analysis of variance, Bonferonni post hoc. (B) Variation in breakpoint ratio before and after viral injection; unpaired two-tailed t-test ($Palm^{GFP}$ vs. $Palm^{IKKdn}$). (C) Preference for correct over incorrect lever in operant responding for sucrose pellets before and after viral injection. (D) Protocol for cue-induced suppression of sucrose seeking. (E) Variation in lever pressing for sucrose before and after aversive conditioning (n=5-6/group); two-way analysis of variance, Bonferonni post hoc. Group mean ± SEM; ∗p<0.05, ∗∗p<0.01.

TABLES

Table 1. Diet composition

	Control	Olive	Palm
Fat source	Soybean oil	Olive oil	Palm oil
Fat (g/kg)	70	270	270
Casein (g/kg)	200	200	200
L-Cystine (g/kg)	3	3	3
Sucrose (g/kg)	100	100	100
Cornstarch (g/kg)	397.5	197.5	197.5
Dyetrose (g/kg)	132	132	132
Mineral Mix (g/kg)	35	35	35
Vitamine Mix (g/kg)	10	10	10
% Kcal Fat	17	50	50
% Kcal carbohydrates	62	43	43
% Kcal proteins	21	7	7
Total Kcal/g	3.8	4.8	4.8
% palmitic acid (C16:0)	10.2	10.512	44.5
% stearic acid (C18:0)	4.5	3.0	4.2
% oleic acid (C18:1)	22.7	77	39.4
% linoleic acid (C18:2)	54.8	7	9.5
% linolenic acid (C18:3)	7.8	0.6	N/A
% saturated fat	15	17.1	51.1
% monounsaturated fat	23.4	72.3	38.8
% polyunsaturated fat	61.2	10.6	9.7

N/A: data not available

Table 2. List of primer sequences

Genes	Forward sequence	Reverse sequence
β-actin	TTCTTGGGTATGGAATCCTGTGGCA	ACCAGACAGCACTGTGTTGGCAT
Cyclophilin	*GCTTTTCGCCGCTTGCTGCA*	*TGCAAACAGCTCGAAGGAGACGC*
Hprt	*AGTCCCAGCGTCGTGATTAG*	*TCTCGAGCAAGTCTTTCAGTCC*
Gfap	*AACGACTATCGCCGCCAACTG*	*CTCTTCCTGTTCGCGCATTTG*
Iba-1	*GGATTTGCAGGGAGGAAAAG*	*TGGGATCATCGAGGAATTG*
Tnf	*CACGCTCTTCTGTCTACTG*	*AAGATGATCTGAGTGTGAGG*
Il-1β	*CTTGTGCAAGTGTCTGAAG*	*GAACAGGTCATTCTCATCAC*
Ifn-γ	*AAGTTTGAGGTCAACAACCCAC*	*AATCTCTTCCCCACCCCGAA*
Cd45	*TGAGCACAACAGAGAATGCCC*	*AACACACCTGGATGATATGTGGT*
Cd11b	*CCCAGAACCTCTCAAGTGCC*	*CTGCAACAGAGCAGTTCAGC*
Hsp-72	*CAGAGGCCAGGGCTGGATTA*	*ACACATGCTGGTGCTGTCACTTC*
βgal	*CCTCGAATCAGCAACGGCTT*	*TGAAGTTCAGATGTGCGGCG*
Ikkβ	*GGCACCTTGGATGACCTAGA*	*CCATATCCTGGCTGTCACCT*
Vimentin	*GGCTCGTCACCTTCGTGAAT*	*AGAAAAGGTTGGCAGAGGCA*
Mhc-i(H2kb)	*GTGATCTCTGGCTGTGAAGT*	*GTCTCCACAAGCTCCATGTC*
Mhc-ii(H2aa)	*CAACCGTGACTATTCCTTCC*	*CCACAGTCTCTGTCAGCTC*

FIGURES

Figure 1.

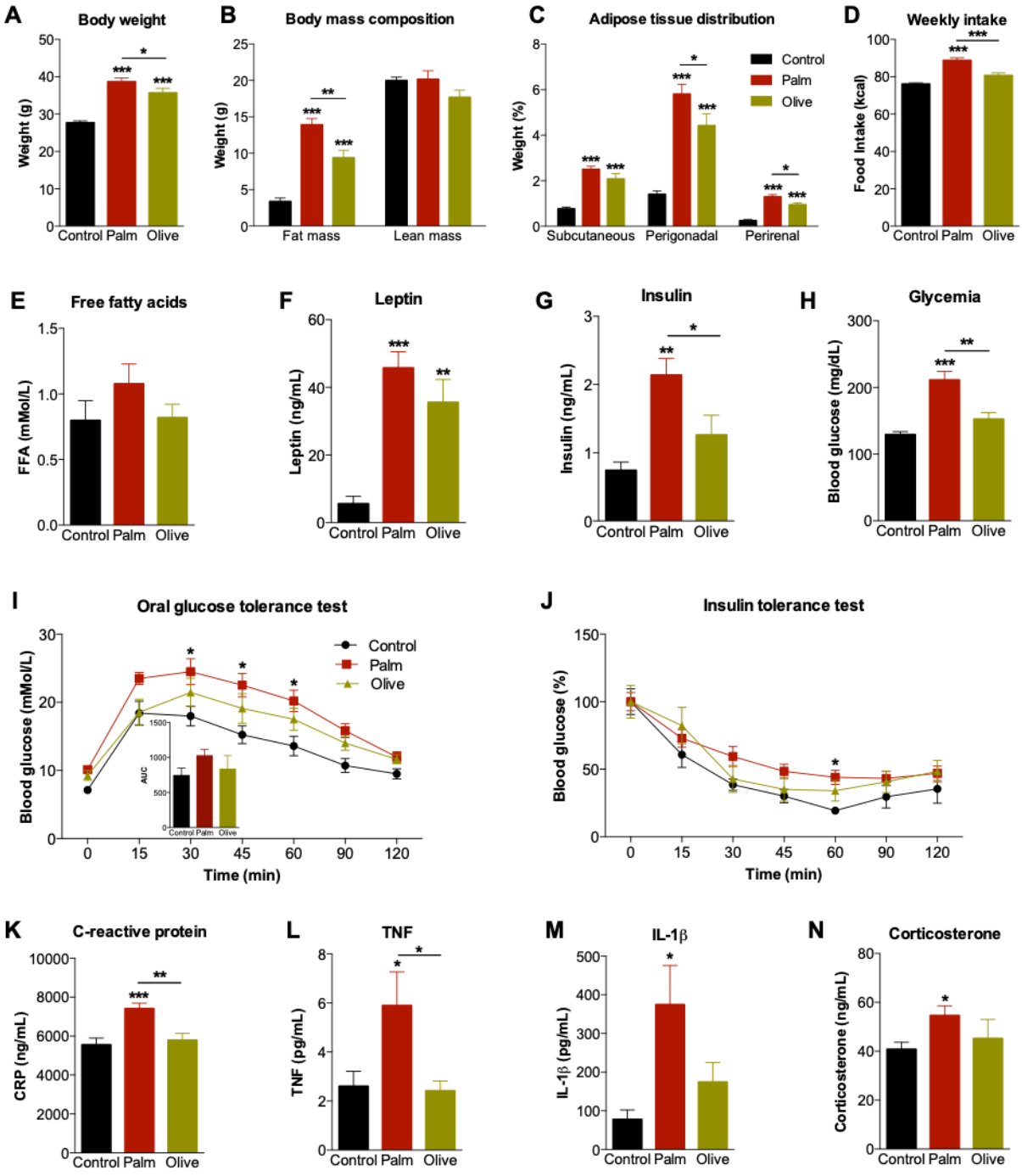


Figure 2.

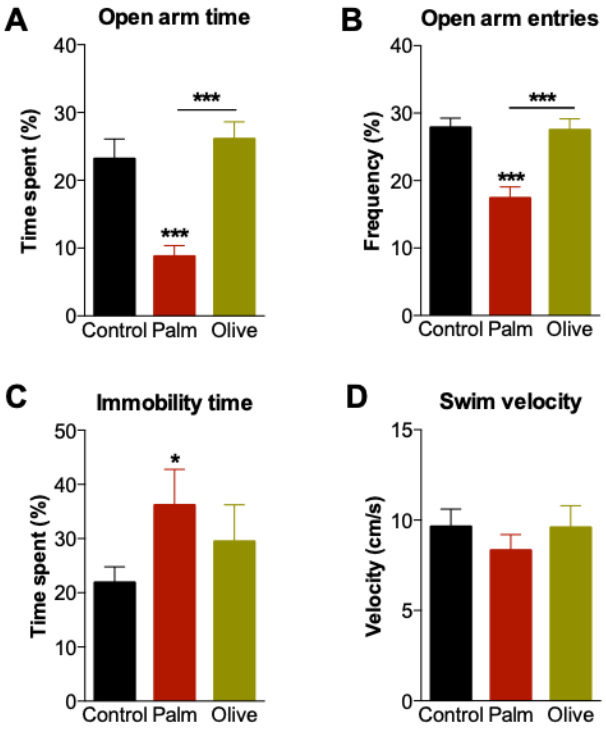

A
Open arm time
Time spent (%)
40
30
20
10
0
***
***
Control Palm Olive
B
Open arm entries
Frequency (%)
40
30
20
10
0
***
***
Control Palm Olive
C
Immobility time
Time spent (%)
50
40
30
20
10
0
*
Control Palm Olive
D
Swim velocity
Velocity (cm/s)
15
10
5
0
Control Palm Olive

Figure 3.

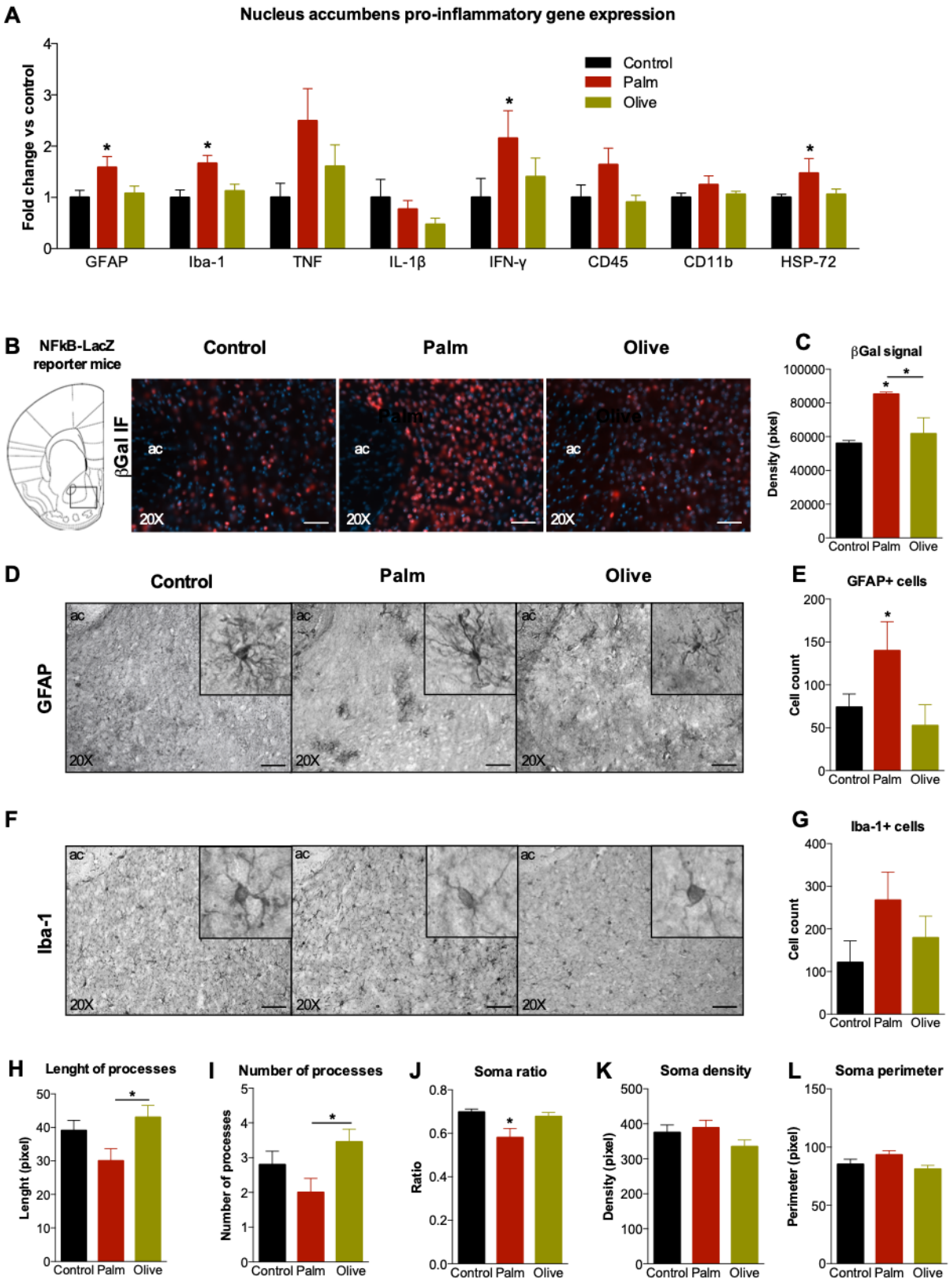

A
Nucleus accumbens pro-inflammatory gene expression
Fold change vs control
Control
Palm
Olive
GFAP
Iba-1
TNF
IL-1β
IFN-γ
CD45
CD11b
HSP-72
B
NFkB-LacZ reporter mice
Control
Palm
Olive
βGal IF
ac
20X
C
βGal signal
Density (pixel)
Control Palm Olive
D
GFAP
E
GFAP+ cells
Cell count
F
Iba-1
G
Iba-1+ cells
H
Lenght of processes
Lenght (pixel)
I
Number of processes
J
Soma ratio
Ratio
K
Soma density
Density (pixel)
L
Soma perimeter
Perimeter (pixel)

Figure 4.

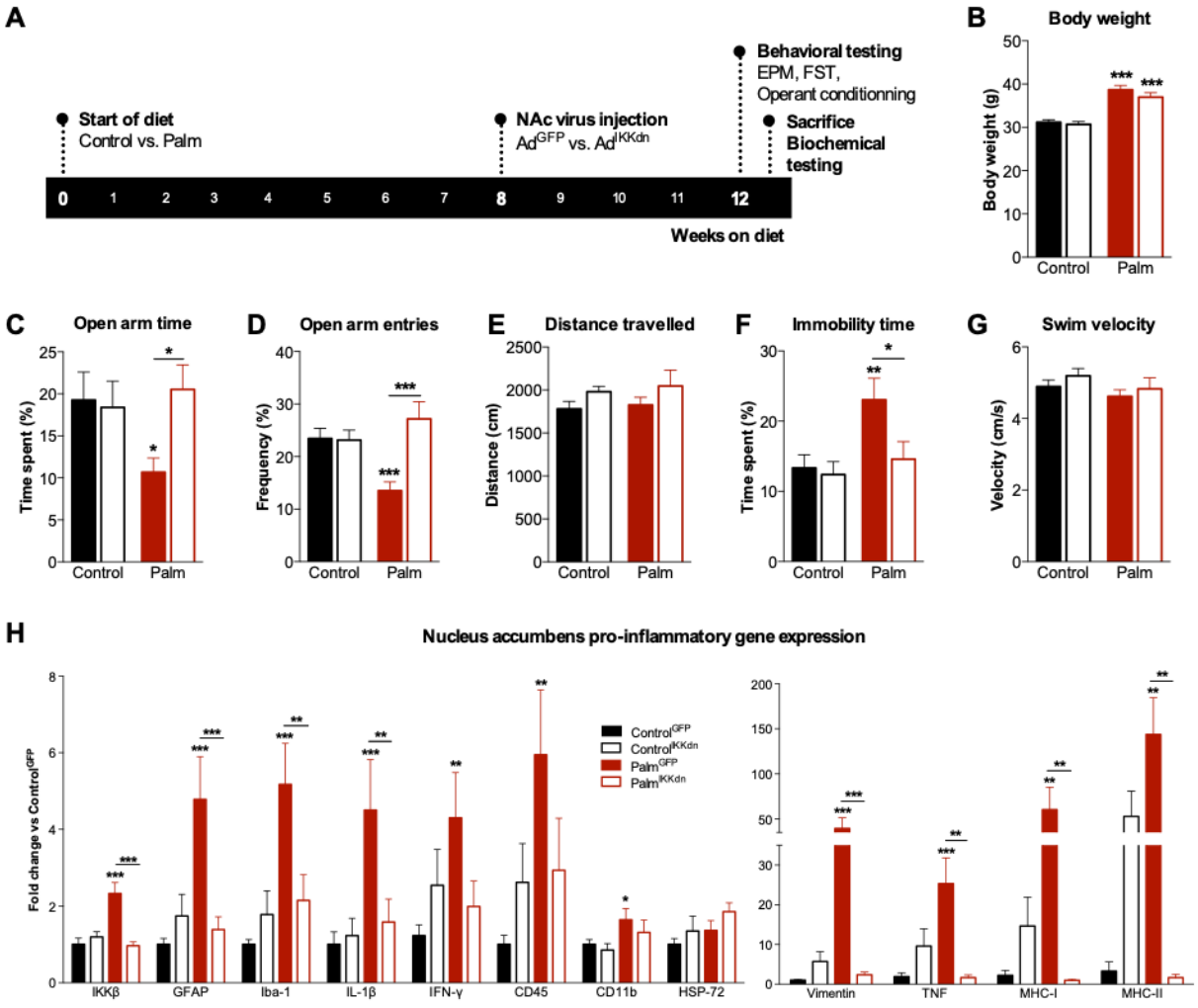
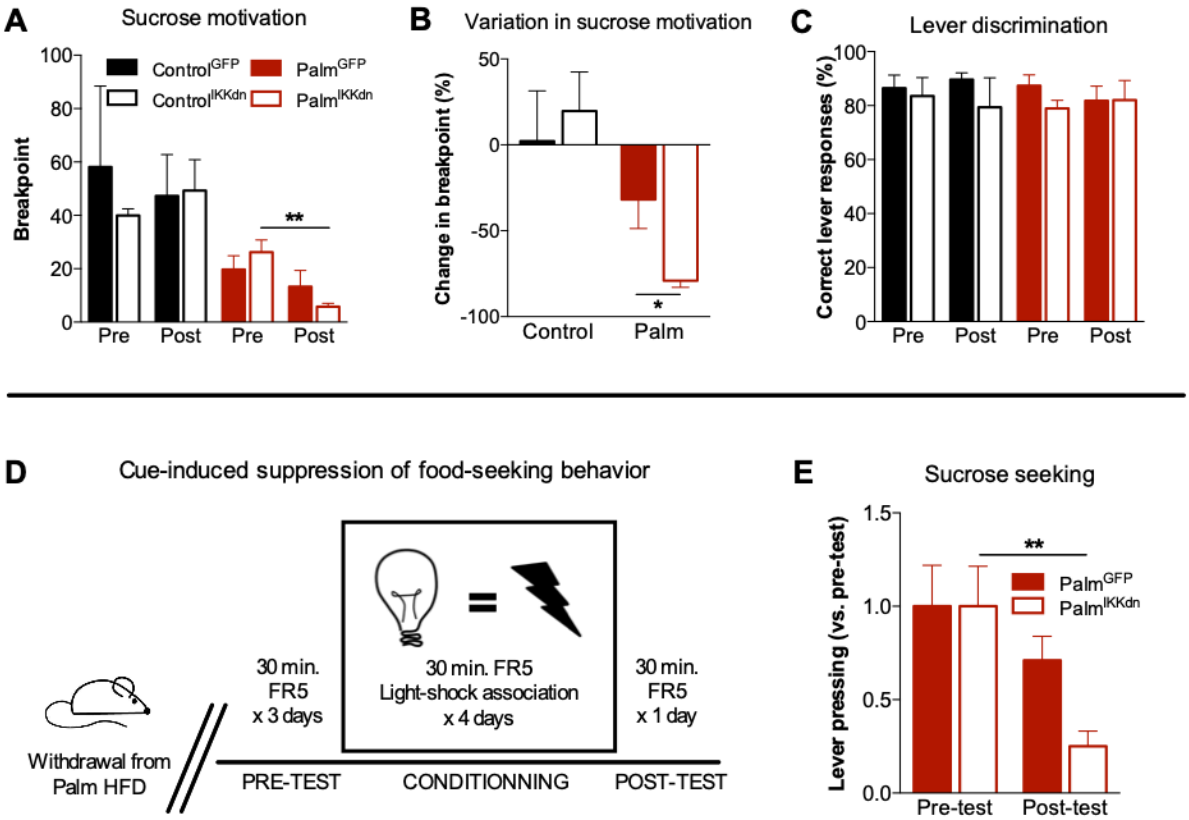

A
Start of diet
Control vs. Palm
NAc virus injection
Ad^GFP vs. Ad^IKKdn
Behavioral testing
EPM, FST,
Operant conditionning
Sacrifice
Biochemical
testing
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
Weeks on diet
B
Body weight
Body weight (g)
Control
Palm
C
Open arm time
Time spent (%)
D
Open arm entries
Frequency (%)
E
Distance travelled
Distance (cm)
F
Immobility time
Time spent (%)
G
Swim velocity
Velocity (cm/s)
H
Nucleus accumbens pro-inflammatory gene expression
Fold change vs Control^GFP
Control^GFP
Control^IKKdn
Palm^GFP
Palm^IKKdn
IKKβ
GFAP
Iba-1
IL-1β
IFN-γ
CD45
CD11b
HSP-72
Vimentin
TNF
MHC-I
MHC-II

Figure 5.


A
Sucrose motivation
Control^GFP
Palm^GFP
Control^IKKdn
Palm^IKKdn
Breakpoint
100
80
60
40
20
0
**
Pre
Post
Pre
Post
B
Variation in sucrose motivation
Change in breakpoint (%)
50
0
-50
-100
*
Control
Palm
C
Lever discrimination
Correct lever responses (%)
100
80
60
40
20
0
Pre
Post
Pre
Post
D
Cue-induced suppression of food-seeking behavior
Withdrawal from
Palm HFD
30 min.
FR5
x 3 days
30 min. FR5
Light-shock association
x 4 days
30 min.
FR5
x 1 day
PRE-TEST
CONDITIONNING
POST-TEST
E
Sucrose seeking
Lever pressing (vs. pre-test)
1.5
1.0
0.5
0.0
**
Palm^GFP
Palm^IKKdn
Pre-test
Post-test

SUPPLEMENTARY MATERIAL

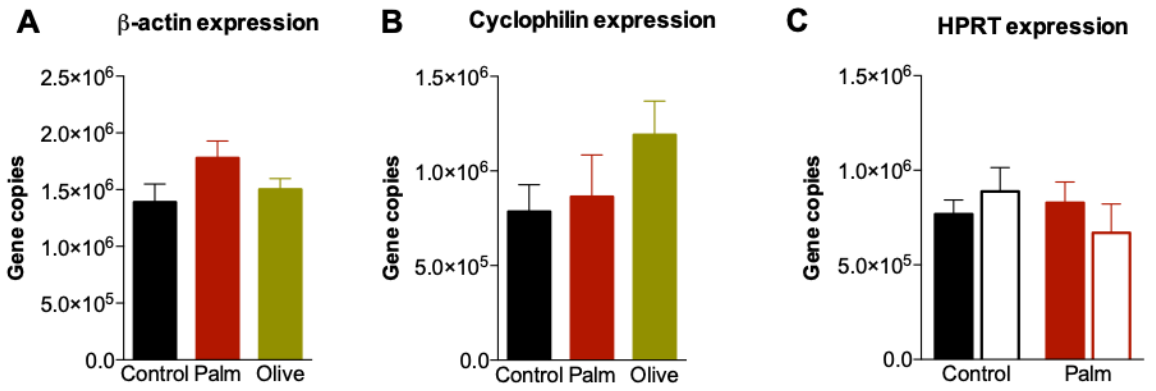


Figure S1. Housekeeping genes expression. (**A**, **B**) β-actin and cyclophilin mRNA levels for relative expression of pro-inflammatory markers in Figure 3A (n=5-8/group). (**C**) HPRT mRNA expression in nucleus accumbens for relative expression of pro-inflammatory markers in Figure 4I (n=7-10/group). Group mean ± SEM; two-way analysis of variance, Bonferroni post-hoc.

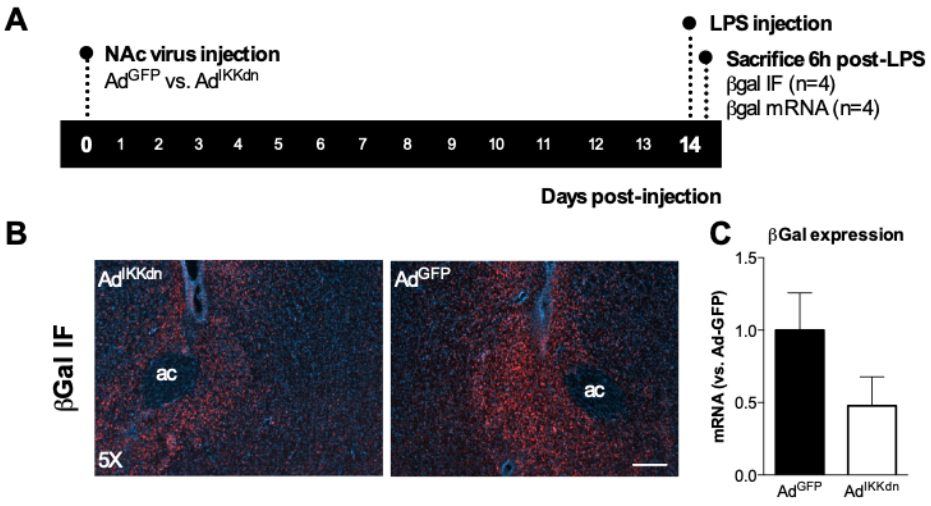


Figure S2. Placement and titer validation of nucleus accumbens IKK/NFκB inhibition. (A) Timeline depicting lipopolysaccharide (LPS) treatment and sacrifice following NAc virus injection. **(B)** βgal immunofluorescence (red) in nucleus accumbens of NFkB-LacZ reporter mice injected with Ad^{IKKdn} in the right hemisphere and Ad^{GFP} in the left hemisphere and treated with an intraperitoneal lipopolysaccharide (LPS) injection 6h prior to sacrifice. 5X magnification, 200μm scale bar. (**C**) Nucleus accumbens mRNA levels of βgal in NFkB-LacZ reporter mice injected with Ad^{GFP} and Ad^{IKKdn} (n=4/group).

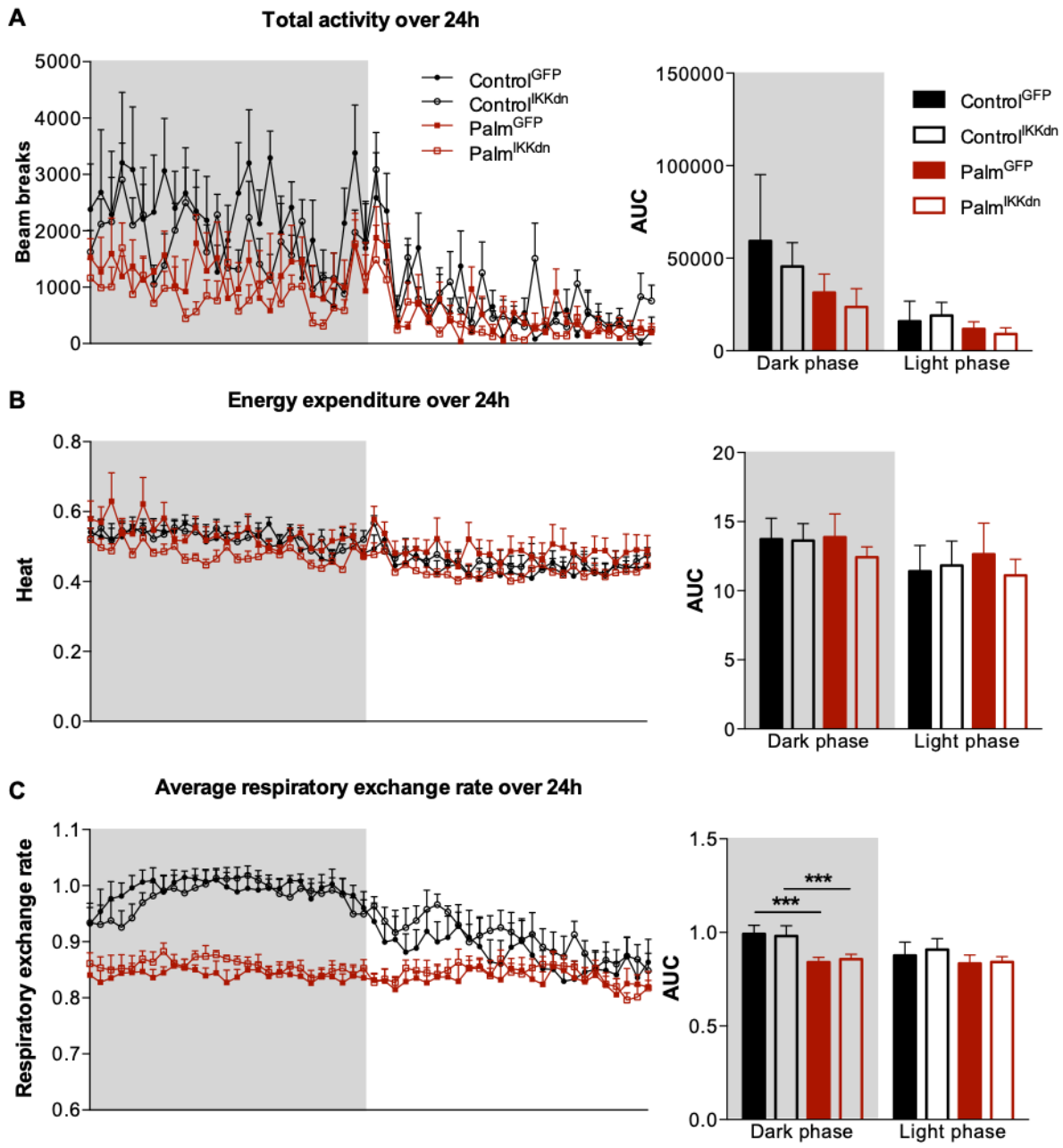


Figure S3. Viral inhibition of IKKβ/NFκB in nucleus accumbens does not affect metabolic funtions. (A) Locomotor activity, **(B)** energy expenditure and (**C**) respiratory exchange rate over 24h (n=5-7/group). Palm HFD significantly reduces mean respiratory exchange rate during dark phase in both viral conditions. Two-way analysis of variance; Bonferonni post hoc. ***p<0.001.

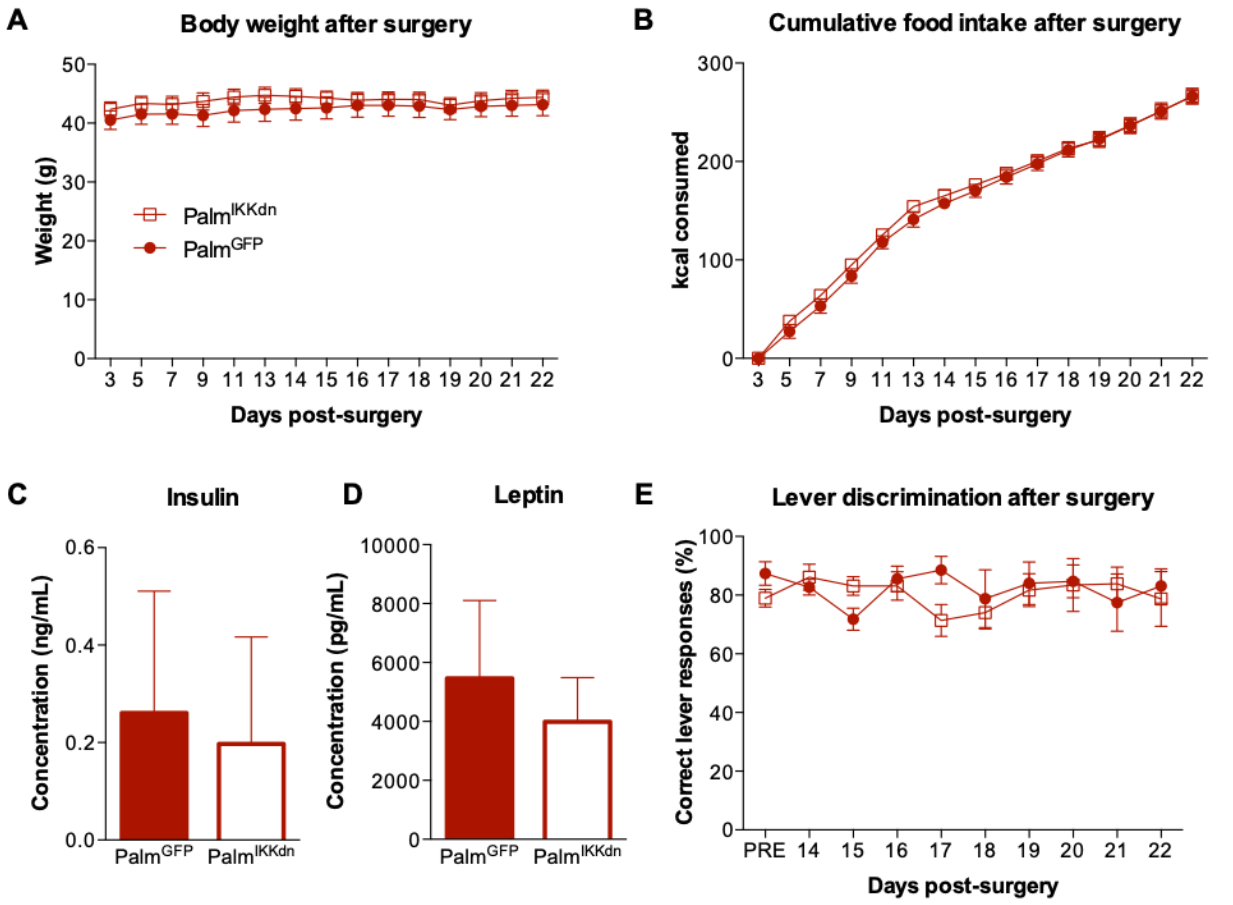


Figure S4. Nucleus accumbens IKK/NFκB inhibition does not affect body weight, food intake, lever discrimination or plasma levels of insulin and leptin. (A, B) Changes in sucrose motivation are not related to differential effects of Ad^{IKKdn} and Ad^{GFP} adenovirus on body weight nor food intake and lever discrimination after stereotaxic surgery (n=5-6/group). **(C, D)** Circulating levels of insulin and leptin are also unaffected by viral intervention (n=6-8/group). **(E)** Preference for correct lever is also unaltered by viralintervention (n=5-6/group). Group mean ± SEM; two-way analysis of variance, Bonferroni post hoc and unpaired t-test.

3.2. Deuxième article

Saturated, but not monounsaturated, high-fat feeding promotes anxiodepressive behaviours associated to changes in nucleus accumbens estrogen signaling in female mice

Short title: Saturated fats alter anxiodepressive behaviours and estrogen signaling

Léa Décarie-Spain, Cécile Hryhorczuk, Alexandre Fisette, Élizabeth Jacob-Brassard, Thierry Alquier & Stephanie Fulton

Centre de recherche du CHUM, Université de Montréal & Montreal Diabetes Research Centre

Corresponding author :

Stephanie Fulton, PhD

R08, 900 St-Denis

Montreal, Canada

H2X 0A9

Stephanie.fulton@umontreal.ca

Tel: (514) 890-8000 x23602

Keywords: saturated dietary fat; depression; diet-induced obesity; estrogen; nucleus accumbens, female mice

Disclosure summary: The authors declare no conflict of interests.

ABSTRACT

A bidirectional relationship exists between obesity and depression. The nucleus accumbens (NAc) is a brain region involved in goal-oriented behaviour whose functions are critical to hedonic feeding and motivation. Our group has recently demonstrated that a saturated high-fat diet (HFD) promotes anxiodepressive behaviours via NAc inflammation in male mice. While the incidence of depression is twice as high in women than in men, the use of females in biomedical research remains limited. Thus, we set out to investigate the metabolic and behavioural outcomes of saturated and monounsaturated HFDs in female mice as well as to verify the relative contribution of NAc inflammation and estrogen signalling.

Adult C57Bl6 female mice were fed either a saturated HFD, an isocaloric monounsaturated HFD or a control low-fat diet for 24 weeks, after which metabolic profiling and behavioural testing for anxiodepressive behaviours were conducted. Plasma was collected at time of sacrifice for quantification of leptin, inflammatory markers as well as 17β-estradiol levels and brains were harvested to analyze NAc expression of pro-inflammatory genes and estrogen-signalling molecules.

While both HFDs promoted diet-induced obesity and metabolic impairments, only the saturated HFD triggered anxiodepressive behaviours. This saturated HFD-specific behavioural phenotype could not be explained by NAc inflammation, but rather changes in the expression of estrogen signalling markers. Such results highlight a sexual dimorphism in the mechanisms underlying depression comorbid to obesity.

INTRODUCTION

Obesity increases the odds of mental health disorders such as depression and anxiety, in both men and women (1,2). Adiposity correlates with depressive symptoms and this relationship is stronger for women (3). The prevalence of depression is also especially increased in diabetic women (4), suggesting an interaction between poor metabolic status and mood impairments. Depressive subtypes relate differently to cardiometabolic health as 'atypical depression', characterized by hyperphagia and hypersomnia, is predictive of weight gain and obesity (5). Clinical presentation of depression can also be influenced by gender where symptoms of increased appetite and weight gain are more commonly reported by women (6).

Lifetime prelavence of depression is about 2-fold greater in women than in men and this enhanced susceptibility to mood disorders appears around puberty with a rise in sexual hormones (7). Variations in affect can also be observed across the menstrual cycle, as women are more susceptible to psychosocial stress during the luteal phase (low estrogen) (8). Similarly, activity in the brain reward circuitry of women peaks during the follicular phase (high estrogen) and positively correlates with circulating estrogen levels across the menstrual cycle (9). Female rodents display less anxiety behaviours when in estrus (high estrogen) (10,11) and estrogen modulates activity in the nucleus accumbens (NAc) (12). Sex-specific adaptations in the NAc modulate the susceptibility of female rodent to a subthreshold stress-induced depression paradigm (13,14).

17β-estradiol – the main form of estrogen - is converted from testosterone by aromatase and obesity is considered a state of hyper aromatase activity due to the high expression of the enzyme in adipose tissue (15). Nonetheless, aromatase is also expressed in the brain and neural-derived estradiol influences neuroplasticity (16). Estrogen signaling in the central nervous system contributes to the regulation of energy balance (17) and brain aromatase availability may be reduced in overweight individuals (18). Thus, obesity may be associated to alterations in central estrogen signaling that could impair both mood and metabolism.

Dietary fatty acids differentially impact cardiometabolic health, for instance, the saturated fatty acid palmitate has pro-inflammatory properties (19) that can impair hypothalamic function and hinder metabolism (20). In male mice, palmitic acid has been shown to promote hypothalamic inflammation by downregulating the estrogen receptor alpha (21). We have previously demonstrated that saturated, but not monounsaturated, high-fat feeding, in male mice, promotes anxiodepressive behaviours via neuroinflammatory processes in the NAc (22). In female mice, however, the metabolic and behavioural consequences of saturated versus monounsaturated high-fat feeding remained to be elucidated.

We aimed to investigate the metabolic and behavioural consequences of high-fat feeding all the while considering differential impacts of saturated versus monounsaturated dietary fatty acids in female mice. In addition, we set to verify whether the association between neuroinflammation and obesity-related

anxiodepressive behaviours was present in females and\or if changes pertaining to estrogen signalling could be observed.

MATERIALS AND METHODS

Animals and diets: All procedures involving animals were approved by the CRCHUM Animal Care Committee in accordance with the Canadian Council on Animal Care's guidelines. Females from our in-house NFkB/LacZ reporter mice colony (C57BL/6N background) were housed in a reverse 12h light-dark cycle (lights off at 10am) with ad libitum access to food and water. At 8 weeks of age, mice were assigned one of three custom, ingredient-matched diets (Table 1), as described previously (23), for a duration of 24 weeks: a soybean oil-based low-fat diet (Control), a palm-oil based saturated high-fat diet (Palm) or an isocaloric olive-oil based monounsaturated high-fat diet (Olive).

Behavioural measures: Behavioural procedures were performed one day apart and towards the end of the light phase, as described previously (24). As an assessment of anxiety-like behaviour, mice were placed in the centre of the elevated-plus maze (EPM) and left to explore all arms of the maze for 5 min. The proportion of time spent in the open arms of the maze was used as a read out of anxiety-like behaviour and total distance travelled as an indication of overall locomotion. To evaluate behavioural despair, we used the forced swim test (FST), where mice were placed in a 2000mL water-filled (23 ± 1°C) glass container for 6 min. The mean velocity during the first 2 min of the test was used as an indication of swimming ability, while the proportion of time spent immobile during the remaining 4 min of the test served as a read-out of behavioural despair.

Metabolic measures: Final body weights were recorded at the end of the 24th week of diet, followed by fat and lean mass measures using an EchoMRI. For the oral glucose tolerance test (OGTT), 4h-fasted mice were given a dextrose solution (2g/kg) by oral gavage. Tail blood glucose measures were obtained 0, 15, 30, 60 and 90 minutes following dextrose administration. As for the insulin tolerance test (ITT), a second cohort of mice were fasted for 4h prior to intraperitoneal injection of insulin and tail blood glucose levels were monitored 0, 15, 30, 60 and 90 minutes afterwards. At time of sacrifice, mice were anesthetized under isoflurane and quickly decapitated to harvest brain and blood. Subcutaneous, perirenal and interscapular adipose tissue depositions were also dissected and weighed. Plasma was extracted from blood samples and used for ELISA immunoassays in order to quantify circulating levels of leptin, tumour necrosis-factor (TNF) and C-reactive protein (CRP).

Quantitative PCR: At time of sacrifice, brains were snap-frozen in isopentane and 250um coronal sections were obtained with a cryostat. RNA was extracted from NAc microdissections using the TRIzol (Invitrogen,

Carlsbad, CA, USA) method and cDNA was synthetized from 700ng of total RNA with random hexamers and the M-MLV Reverse Transcriptase (Invitrogen), as described previously (22). Rotor Gene SYBR Green PCR kits (Quiagen) were employed for real-time PCR runs. Primers (Table 2) were designed via the BLAST (U.S. National Library of Medicine) tool and synthetized by Integrated DNA Technologies. Gene copies were extrapolated from standard curves and normalized to the cyclophiline (Cyclo) housekeeping gene. Values for each group are expressed as fold changes relative to Control normalized at 1.0.

Beta-galactosidase histochemistry: Following a lethal injection of pentobarbital (intraperitoneal; ip), a transcadiac perfusion of phosphate buffered saline (PBS) followed by formalin was performed on the mice. Brains were placed in formalin for 6h and then in a 30% sucrose solution. Coronal sections of 25µm were obtained using a microtome (Leica SM2000R). Staining against beta-galactosidase (βgal) was performed as previously described (Mol Met). Briefly, sections were washed in PBS, blocked in for 2h in a 3% normal goat serum solution, permeabilized with Tween and incubated overnight with a polyclonal chicken βgal antibody (Ab9361, 1:1000; Abcam, Cambridge, UK) at 4°C. The next day, sections were washed in PBS, incubated with an Alexa Fluor^{568}-conjugated goat anti-chicken IgG antibody (Abcam, 1:1000), mounted on microscope slides with a DAPI mounting media (Vectashield, Vector Labs, Burlingham, CA, USA) and visualized on the fluorescent microscope (Zeiss AxioImager.M2 ApoTome.2).

Statistical analyses: Data were analysed using the GraphPad Prism 6 software and results are presented as mean ± standard error of the mean (SEM). A one-way ANOVA with Bonferonni post-hoc was employed to compare the 3 diet conditions. A two-way ANOVA, repeated measures, with Bonferonni post-hoc, as well, was used to assess the impact of diet across time in the OGTT and ITT. Criterion for significance was set to $p<0.05$ for all comparisons.

RESULTS

Both saturated and monounsaturated high-fat feeding promote adiposity and metabolic impairments.

Our first aim was to investigate the impact of high-fat feeding and the differential effects of dietary fatty acids on female mice metabolism. Both palm and olive HFDs significantly increased body weight relative to control-fed animals (Fig. 1A), which was paired with greater adiposity (Fig. 1B) but not lean mass content (Fig. 1C). Concurrently, circulating levels of leptin (Fig. 1D) and subcutaneous, visceral and brown adipose tissue depositions (Fig. 1E) were all increased by both palm and olive HFDs. However, plasma TNF was unchanged by diet (Fig. 1F) and the CRP marker was only elevated in the olive condition (Fig. 1G). Nonetheless, blood glucose levels were significantly higher at the 15 and 30 min time points by both palm and olive HFDs (Fig. 1H), while overall area under the curve was specifically enhanced by the olive

condition during the OGTT (Fig. 1H). This impairment was not associated to detectable changes in the ITT (Fig. 1I).

Saturated, but not monounsaturated, high-fat feeding promotes anxiodepressive behaviours.

We then sought to assess the consequences of high-fat feeding on anxiodepressive behaviours in female mice. Animals fed the palm HFD showed a reduction in time spent in the open arms of the EPM relative to both control and olive groups (Fig. 2A), which was not related to differences in locomotor activity (Fig. 2B). Similarly, palm, but not olive, HFD increased immobility time relative to the control condition in the FST (Fig. 2C), without interfering with average swim velocity in the first 2 min of testing (Fig. 2D).

Saturated high-fat feeding specific behavioural phenotype is not accompanied by greater nucleus accumbens inflammation relative to monounsaturated high-fat diet.

In order to verify if the anxiodepressive behaviours elicited by the palm HFD were associated to nucleus accumbens inflammation, several genes were quantified in NAc microdissections (Fig. 3A) from female mice on each diet. While cyclophiline (Cyclo), glial fibrillary acidic protein (GFAP), ionized calcium binding adaptor molecule-1 (Iba1), major histocompatibility complex-1 (MHC-I) and CD11b expression levels remained unchanged by either diet condition, both palm and olive HFDs resulted in higher expression of interferon gamma (IFNy) as well as CD45 and only the olive condition triggered an increase in MHC-II relative to controls (Fig. 3B). Using NFkB/LacZ reporter mice, nucleus accumbens NFkB transcriptional activity was visualize by staining against beta-galactosidase (βgal) and no distinctive patterns were observed across diet conditions (Fig. 3C).

Saturated high-fat feeding is associated to changes in circulating estrogen and estrogen receptor expression in the nucleus accumbens.

As the expression for inflammatory markers in the NAc did not vary between mice fed the palm or olive HFD, we measured molecules related to estrogen signalling to verify if these were differentially modulated by dietary fatty acids. Circulating levels of 17β-estradiol were increased in mice fed the palm HFD relative to control-fed animals and there was also a tendency for greater expression in comparison to the olive HFD group (Fig. 4A). In the NAc, while housekeeping gene beta-actin (βactin) and estrogen receptor alpha (ERα) expression did not vary across diet conditions, levels of estrogen receptor beta (ERβ) were reduced by the palm HFD relative to olive-fed mice (Fig. 4B). However, no differences were observed for gene expression of CYP2S1 and CYP4X1, the 2 most expressed isoforms of aromatase in the female rodent brain (25).

DISCUSSION

Lifetime prevalence for mood disorders is greater in women and the relationship between metabolic impairments and depression may be stronger than in men. The goal of this study was to compare the differential consequences of saturated versus monounsaturated high-fat feeding on metabolic and behavioural endpoints in female mice as well as to verify the relative contribution of NAc inflammation in mediating anxiodepressive behaviours. Our findings demonstrate that both saturated and monounsaturated HFD promote adiposity gain and glucose intolerance. However, despite similar metabolic profiles, anxiodepressive behaviours are only observed in mice fed the palm, but not the olive, HFD. This specific impact of saturated high-fat feeding could not be associated to NAc inflammation but was rather accompanied by elevated circulating 17β-estradiol and reduced NAc ERβ gene expression.

Consumption of a Mediterranean diet, rich in unsaturated fatty acids, is typically associated to positive outcomes on metabolic health (26–28). The impairments observed in our olive HFD group may derive from the especially long duration of diet study which was required to bypass the typical resistance of female rodents to diet-induced obesity (29,30). The protective effect of the olive HFD on anxiodepressive behaviours elicited by obesity, on the other hand, is in accordance with the beneficial effects of the Mediterranean diet on mental health (31,32). For example, in a population of aging women, consumption of saturated fats has been positively correlated with cognitive decline, while the opposite relationship was observed with monounsaturated fatty acids and no association with overall fat intake (33).

In male mice, we showed that saturated high-fat feeding induces anxiodepressive behaviours via NAc inflammation (22). In the present study, however, minimal indices of neuroinflammation were observed, none of which were specific to the saturated HFD. High-fat feeding has been shown to affect brain lipid metabolism differently in female rodents (34,35) and other have detected no indications of immune activation in the hypothalamus (21,36). Estrogen may be protecting females against neuroinflammation given its beneficial influence on the resolution of inflammation in macrophages (37) and preservation of blood-brain barrier integrity (38).

Metabolic impairments are suggested to mediate the relationship between mood and obesity (39). The lack of anxiodepressive phenotype in our olive HFD group suggests that while metabolic alterations may be required, they are not by themselves sufficient to induce a behavioural phenotype, at least in female rodents. Instead, changes in the expression of markers involved in estrogen signaling were associated to the differential impact of dietary fatty acids on behaviour. The increase in circulating levels of 17β-estradiol by the palm HFD cannot be attributed solely to a change in body weight as this finding was not present in animals fed the olive HFD. Interestingly, in men, plasma estrogen was correlated with depressive symptoms, independently of body mass index (40). NAc ERβ gene expression was especially reduced by the palm HFD in comparison

to the olive HFD condition and while ERα has been recently shown to regulate resiliency to stress-induced depression (41), anxiolytic and antidepressant properties of estrogen are lost in ERβ knockout female mice (10,42). In males, anxiodepressive behaviours induced by chronic unpredictable stress are accompanied by a greater proteic ratio of ERα to ERβ in the prefrontal cortex and hippocampus (43). In ovariectomized mice, treatment with an ERβ ligand demonstrated efficiency in reducing both body weight and depressive behavior (44). Difference in the gene expression of ERβ in the NAc of mice fed the palm and olive HFD may explain the discrepancy in behavioural outcome. A western immunoblotting experiment is in process to assess the protein expression of ERα and ERβ in the NAc of mice under each diet condition.

Membrane receptors can be stabilized via palmitoylation where palmitate is linked to Cys residues and such post-translational modification in the central nervous system has been shown to impact neurotransmission (45). Estrogen receptors form dimers in the nucleus, yet, in females, palmitoylation allows their expression at the cellular membrane and association with other receptors (46). In fact, in the NAc, membrane estrogen receptor coupling to metabotropic glutamatergic receptors mediate synaptic plasticity induced by estrogen (47). Phosphorylation of the C-AMP Response Element-binding protein (CREB) has been shown to be a downstream measure of estrogen receptor/glutamate receptor activation in rat striatal neurons (48). A western immunoblotting experiment is in process to assess the protein expression of CREB and phosphoCREB in the NAc of mice under each diet condition.

In conclusion, this work in females evidences a sexual dimorphism in the mechanisms underlying anxiodepressive behaviours elicited by diet-induced obesity. While saturated high-fat feeding induces anxiodepressive behaviours in both sexes, females are unlikely to respond to anti-inflammatory interventions. Changes in estrogen signaling at the level of the NAc may underlie the affective consequences of consumption of a palm oil-based high fat diet.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the Rodent Metabolic Plateform at CRCHUM for plasma analysis of leptin and inflammatory markers as well as Mélodie Takla for her assistance. Philip Barker provided initial NFkB mice.

LDS was supported by a Health Professional Doctoral Fellowship from FRQS, AF by a PostDoctoral Fellowship from the Canadian Diabetes Association, EJB by an NSERC internship award and SF by a CIHR New Investigator Award.

REFERENCES

1. Luppino FS, de Wit LM, Bouvy PF, Stijnen T, Cuijpers P, Penninx BW, Zitman FG. Overweight, obesity and depression: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. Arch Gen Psychiatry 2010;67(3):10.

2. Amiri S, Behnezhad S. Obesity and anxiety symptoms: a systematic review and meta-analysisAdipositas und Angstsymptome: systematische Review und Metaanalyse. neuropsychiatrie 2019. doi:10.1007/s40211-019-0302-9.

3. Ul-Haq Z, Smith DJ, Nicholl BI, Cullen B, Martin D, Gill JMR, Evans J, Roberts B, Deary IJ, Gallacher J, Hotopf M, Craddock N, Mackay DF, Pell JP. Gender differences in the association between adiposity and probable major depression: A cross-sectional study of 140,564 UK Biobank participants. BMC Psychiatry 2014;14(1):153.

4. Anderson RJ, Freedland KE, Lustman PJ. The prevalence of comorbid depression in adults with diabetes: A meta-analysis. Diabetes Care 2001;24(6):1069–1078.

5. Lasserre AM, Glaus J, Vandeleur CL, Marques-Vidal P, Vaucher J, Bastardot F, Waeber G, Vollenweider P, Preisig M. Depression with atypical features and increase in obesity, body mass index, waist circumference, and fat mass: A prospective, population-based study. JAMA Psychiatry 2014;71(8):880–888.

6. Kokras N, Dalla C. Preclinical sex differences in depression and antidepressant response: Implications for clinical research. J. Neurosci. Res. 2017;95(1–2):731–736.

7. Burt VK, Stein K. Epidemiology of depression throughout the female life cycle. J Clin Psychiatry 2002;63:9–15.

8. Albert K, Pruessner J, Newhouse P. Estradiol levels modulate brain activity and negative responses to psychosocial stress across the menstrual cycle. Psychoneuroendocrinology 2015;59:14–24.

9. Dreher J-C, Schmidt PJ, Kohn P, Furman D, Rubinow D, Berman KF. Menstrual cycle phase modulates reward-related neural function in women. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2007;104(7):2465–70.

10. Walf AA, Koonce C, Manley K, Frye CA. Proestrous compared to diestrous wildtype, but not estrogen receptor beta knockout, mice have better performance in the spontaneous alternation and object recognition tasks and reduced anxiety-like behavior in the elevated plus and mirror maze. Behav. Brain Res. 2009;196(2):254–260.

11. Ramos-Ortolaza DL, Doreste-Mendez RJ, Alvarado-Torres JK, Torres-Reveron A. Ovarian hormones modify anxiety behavior and glucocorticoid receptors after chronic social isolation stress. Behav. Brain Res. 2017;328:115–122.

12. Yoest KE, Cummings JA, Becker JB. Estradiol, dopamine and motivation. Cent. Nerv. Syst. Agents Med. Chem. 2014;14(2):83–9.

13. Hodes GE, Pfau ML, Purushothaman I, Ahn HF, Golden SA, Christoffel DJ, Magida J, Brancato A, Takahashi A, Flanigan ME, Menard C, Aleyasin H, Koo JW, Lorsch ZS, Feng J, Heshmati M, Wang M, Turecki G, Neve R, Zhang B, Shen L, Nestler EJ, Russo SJ. Sex Differences in Nucleus Accumbens Transcriptome Profiles Associated with Susceptibility versus Resilience to Subchronic Variable Stress. J. Neurosci. 2015;35(50):16362–16376.

14. Chandra R, Francis TC, Nam H, Riggs LM, Engeln M, Rudzinskas S, Konkalmatt P, Russo SJ, Turecki G, Iniguez SD, Lobo MK. Reduced Slc6a15 in Nucleus Accumbens D2-Neurons Underlies Stress Susceptibility. J. Neurosci. 2017;37(27):6527–6538.

15. Patel S. Disruption of aromatase homeostasis as the cause of a multiplicity of ailments: A comprehensive review. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2017;168:19–25.

16. Azcoitia I, Arevalo MA, Garcia-Segura LM. Neural-derived estradiol regulates brain plasticity. Journal of Chemical Neuroanatomy. http://ac.els-cdn.com/S089106181630237X/1-s2.0-S089106181630237X-main.pdf?_tid=b7c4cc4c-4663-11e7-bd0d-00000aacb361&acdnat=1496278155_7f2d387d9fbba287e8f327dec7d2abb6. Published 2016. Accessed May 31, 2017.

17. Xu Y, López M. Central regulation of energy metabolism by estrogens. Mol. Metab. 2018;15:104–115.

18. Wang G-J, Biegon A, Telang F, Logan J, Kim SW, Jayne M, Volkow N, Fowler J. Decreased brain aromatase availability in overweight humans. J. Nucl. Med. 2011;52(supplement 1):340–340.

19. Huang S, Rutkowsky JM, Snodgrass RG, Ono-Moore KD, Schneider DA, Newman JW, Adams SH, Hwang DH. Saturated fatty acids activate TLR-mediated proinflammatory signaling pathways. J Lipid Res 2012;53(9):2002–2013.

20. Benoit SC, Kemp CJ, Elias CF, Abplanalp W, Herman JP, Migrenne S, Lefevre AL, Cruciani-Guglielmacci C, Magnan C, Yu F, Niswender K, Irani BG, Holland WL, Clegg DJ. Palmitic acid mediates hypothalamic insulin resistance by altering PKC-theta subcellular localization in rodents. J Clin Invest 2009;119(9):2577–2589.

21. Morselli E, Fuente-Martin E, Finan B, Kim M, Frank A, Garcia-Caceres C, Navas CR, Gordillo R, Neinast M, Kalainayakan SP, Li DL, Gao Y, Yi C-X, Hahner L, Palmer BF, Tschöp MH, Clegg DJ. Hypothalamic PGC-1α protects against high-fat diet exposure by regulating ERα. Cell Rep. 2014;9(2):633–45.

22. Décarie-Spain L, Sharma S, Hryhorczuk C, Issa-Garcia V, Barker PA, Arbour N, Alquier T, Fulton S. Nucleus accumbens inflammation mediates anxiodepressive behavior and compulsive sucrose seeking elicited by saturated dietary fat. Mol. Metab. 2018;10:1–13.

23. Hryhorczuk C, Florea M, Rodaros D, Poirier I, Daneault C, Des Rosiers C, Arvanitogiannis A, Alquier T, Fulton S. Dampened Mesolimbic Dopamine Function and Signaling by Saturated but not Monounsaturated Dietary Lipids. Neuropsychopharmacology 2015. doi:10.1038/npp.2015.207.

24. Sharma S, Fulton S. Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. Int J Obes 2013;37(3):382–389.

25. Stamou M, Wu X, Kania-Korwel I, Lehmler HJ, Lein PJ. Cytochrome P450 mRNA expression in the rodent brain: Species-, sex-, and region-dependent differences. Drug Metab. Dispos. 2014;42(2):239–244.

26. Soriguer F, Rojo-Martínez G, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiú E, Caballero-Díaz F, Calle-Pascual A, Carmena R, Casamitjana R, Castaño L, Castell C, Catalá M, Delgado E, Franch J, Gaztambide S, Girbés J, Gomis R, Gutiérrez G, López-Alba A, Teresa Martínez-Larrad M, Menéndez E, Mora-Peces I, Ortega E, Pascual-Manich G, Serrano-Rios M, Urrutia I, Valdés S, Antonio Vázquez J, Vendrell J. Olive oil has a beneficial effect on impaired glucose regulation and other cardiometabolic risk factors. Di@bet.es study. Eur. J. Clin. Nutr. 2013;67(9):911–916.

27. Ros E, Martinez-Gonzalez MA, Estruch R, Salas-Salvado J, Fito M, Martinez JA, Corella D. Mediterranean Diet and Cardiovascular Health: Teachings of the PREDIMED Study. Adv. Nutr. An Int. Rev. J. 2014;5(3):330S-336S.

28. Martínez-González MA, Salas-Salvadó J, Estruch R, Corella D D, Fitó M, Ros E. Benefits of the Mediterranean Diet: Insights from the PREDIMED Study. Prog. Cardiovasc. Dis. 2015;58(1):50–60.

29. Saito K, He Y, Yang Y, Zhu L, Wang C, Xu P, Hinton AO, Yan X, Zhao J, Fukuda M, Tong Q, Clegg DJ, Xu Y. PI3K in the ventromedial hypothalamic nucleus mediates estrogenic actions on energy expenditure in female mice. Sci. Rep. 2016;6. doi:10.1038/srep23459.

30. Palmisano BT, Stafford JM, Pendergast JS. High-Fat feeding does not disrupt daily rhythms in female

mice because of protection by ovarian hormones. Front. Endocrinol. (Lausanne). 2017;8(MAR). doi:10.3389/fendo.2017.00044.

31. Sánchez-Villegas A, Martínez-González M, Estruch R, Salas-Salvadó J, Corella D, Covas M, Arós F, Romaguera D, Gómez-Gracia E, Lapetra J, Pintó X, Martínez J, Lamuela-Raventós R, Ros E, Gea A, Wärnberg J, Serra-Majem L. Mediterranean dietary pattern and depression: the PREDIMED randomized trial. BMC Med. 2013;11(1):208.

32. García-Toro M, Vicens-Pons E, Gili M, Roca M, Serrano-Ripoll MJ, Vives M, Leiva A, Yáñez AM, Bennasar-Veny M, Oliván-Blázquez B. Obesity, metabolic syndrome and Mediterranean diet: Impact on depression outcome. J. Affect. Disord. 2016;194:105–108.

33. Okereke OI, Rosner BA, Kim DH, Kang JH, Cook NR, Manson JE, Buring JE, Willett WC, Grodstein F. Dietary fat types and 4-year cognitive change in community-dwelling older women. Ann. Neurol. 2012;72(1):124–134.

34. Rodriguez-Espinosa N, Fernandez-Espejo E. Effects of acute and repeated cocaine on markers for neural plasticity within the mesolimbic system in rats. Psychopharmacology (Berl). 2015;232(1):57–62.

35. Morselli E, Frank AP, Palmer BF, Rodriguez-Navas C, Criollo A, Clegg DJ. A sexually dimorphic hypothalamic response to chronic high-fat diet consumption. Int. J. Obes. (Lond). 2016;40(2):206–9.

36. Dorfman MD, Krull JE, Douglass JD, Fasnacht R, Lara-Lince F, Meek TH, Shi X, Damian V, Nguyen HT, Matsen ME, Morton GJ, Thaler JP. Sex differences in microglial CX3CR1 signalling determine obesity susceptibility in mice. Nat. Commun. 2017;8:14556.

37. Villa A, Rizzi N, Vegeto E, Ciana P, Maggi A. Estrogen accelerates the resolution of inflammation in macrophagic cells. Sci. Rep. 2015;5:15224.

38. Maggioli E, McArthur S, Mauro C, Kieswich J, Kusters DHM, Reutelingsperger CPM, Yaqoob M, Solito E. Estrogen protects the blood-brain barrier from inflammation-induced disruption and increased lymphocyte trafficking. Brain. Behav. Immun. 2016;51:212–22.

39. Hryhorczuk C, Sharma S, Fulton SE. Metabolic disturbances connecting obesity and depression. Front Neurosci 2013;7:177.

40. Stanikova D, Luck T, Bae YJ, Thiery J, Ceglarek U, Engel C, Enzenbach C, Wirkner K, Stanik J, Kratzsch J, Riedel-Heller SG. Increased estrogen level can be associated with depression in males. Psychoneuroendocrinology 2018;87:196–203.

41. Lorsch ZS, Loh YHE, Purushothaman I, Walker DM, Parise EM, Salery M, Cahill ME, Hodes GE, Pfau ML, Kronman H, Hamilton PJ, Issler O, Labonté B, Symonds AE, Zucker M, Zhang TY, Meaney MJ, Russo SJ, Shen L, Bagot RC, Nestler EJ. Estrogen receptor α drives pro-resilient transcription in mouse models of depression. Nat. Commun. 2018;9(1):1116.

42. Walf AA, Koonce CJ, Frye CA. Adult female wildtype, but not oestrogen receptor β knockout, mice have decreased depression-like behaviour during pro-oestrus and following administration of oestradiol or diarylpropionitrile. J. Psychopharmacol. 2009;23(4):442–450.

43. Sharma HR, Thakur MK. Correlation of ERα/ERβ expression with dendritic and behavioural changes in CUMS mice. Physiol. Behav. 2015;145:71–83.

44. Sasayama D, Sugiyama N, Yonekubo S, Pawlak A, Murasawa H, Nakamura M, Hayashi M, Ogawa T, Moro M, Washizuka S, Amano N, Hongo K, Ohnota H. Novel oestrogen receptor β-selective ligand reduces obesity and depressive-like behaviour in ovariectomized mice. Sci. Rep. 2017;7:1–8.

45. Fukata M, Fukata Y, Adesnik H, Nicoll RA, Bredt DS. Identification of PSD-95 palmitoylating enzymes. Neuron 2004;44(6):987–996.

46. Meitzen J, Luoma JI, Boulware MI, Hedges VL, Peterson BM, Tuomela K, Britson KA, Mermelstein PG. Palmitoylation of estrogen receptors is essential for neuronal membrane signaling. Endocrinology 2013;154(11):4293–4304.

47. Tonn Eisinger KR, Larson EB, Boulware MI, Thomas MJ, Mermelstein PG. Membrane estrogen receptor signaling impacts the reward circuitry of the female brain to influence motivated behaviors. Steroids 2018;133:53–59.

48. Grove-Strawser D, Boulware MI, Mermelstein PG. Membrane estrogen receptors activate the metabotropic glutamate receptors mGluR5 and mGluR3 to bidirectionally regulate CREB phosphorylation in female rat striatal neurons. Neuroscience 2010;170(4):1045–55.

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Both saturated and monounsaturated high-fat feeding promote adiposity and metabolic impairments.

(A) Final body weight (n=16-19/diet), (B) fat and (C) lean mass (n=7-13/diet), as well as (D) plasma leptin levels (n=7-8/diet), (E) adipose tissue distribution (n=7-13/diet), (F) plasma tumour necrosis factor (TNF) (n=7-8/diet) and (G) C-reactive protein (CRP) (n=10-12/diet) levels following 24 weeks of low-fat (Control), saturated (Palm) or monounsaturated (Olive) high-fat feeding. (H) Oral glucose tolerance test in 4h fasted mice receiving 2mg/kg of dextrose (n=6-10/diet). (I) Insulin tolerance test in 4h fasted mice injected with insulin (n=6-10/diet). One-way (A-G; AUC) and two-way (H-I) ANOVA, Bonferonni post hoc; $*p<0.05$, $**p<0.01$, $***p<0.005$.

Figure 2. Saturated, but not monounsaturated, high-fat feeding promotes anxiodepressive behaviours.

(A) Time spent in the open arms and (B) total distance travelled in the elevated-plus maze (n=14-18/diet). (C) Time spent immobile and (D) swim velocity during the first 2 minutes of the forced swim test (n=10-11/diet). One-way ANOVA, Bonferonni post hoc; $*p<0.05$, $**p<0.01$.

Figure 3. Saturated high-fat feeding's behavioural phenotype is not accompanied by greater nucleus accumbens inflammation relative to the monounsaturated high-fat diet.

(A) Nucleus accumbens microdissections on coronal slices. (B) Relative nucleus accumbens gene expression of cyclophiline (Cyclo), glial fibrillary acidic protein (GFAP), ionized calcium binding adaptor molecule-1 (Iba1), interferon gamma (IFNy), major histocompatibility complex-1 (MHC-I) and 2 (MHC-II), CD45 and CD11b (n=8/diet). (C) βgal (red) immunofluorescence on nucleus accumbens coronal sections from NFkB-LacZ reporter mice; 10X magnification, 200μm scale bars. One-way ANOVA, Bonferonni post hoc; $*p<0.05$, $**p<0.01$.

Figure 4. Saturated high-fat feeding is associated to changes in circulating estrogen and estrogen receptor expression in the nucleus accumbens.

(A) Plasma 17β-estradiol levels (n=5-7/diet). (B) Relative nucleus accumbens gene expression of beta actin (βActin), estrogen receptor alpha (ERα), estrogen receptor beta (ERβ) and of the CYPS1 and CYP4X1 isoforms of aromatase (n=6-8/diet). One-way ANOVA, Bonferonni post hoc; $*p<0.05$.

Table 1. Diets composition

Nutrients	Control	Palm	Olive
Source of fat	Soybean oil	Palm oil	Olive oil
Fat (g/kg)	70	270	270
Casein (g/kg)	200	200	200
Sucrose (g/kg)	100	100	100
Cornstarch (g/kg)	397.5	197.5	197.5
Mineral mix (g/kg)	35	35	35
Vitamin mix (g/kg)	10	10	10
% kcal from fat	17	50	50
Total kcal/g	3.8	4.8	4.8
% palmitic acid (C16:0)	10.2	44.5	10.512
% oleic acid (C18:1)	22.7	39.4	77
% saturated fat	15	51.1	17.1
% monounsaturated fat	23.4	38.8	72.3

Table 2. Primers sequences

Gene	Forward	Reverse
Cyclo	GCTTTTCGCCGCTTGCTGCA	TGCAAACAGCTCGAAGGAGACGC
GFAP	AACGACTATCGCCGCCAACTG	CTCTTCCTGTTCGCGCATTTG
Iba1	GGATTTGCAGGGAGGAAAAG	TGGGATCATCGAGGAATTG
IFNy	AAGTTTGAGGTCAACAACCCAC	AATCTCTTCCCCACCCCGAA
MHC-I	GTGATCTCTGGCTGTGAAGT	GTCTCCACAAGCTCCATGTC
MHC-II	CAACCGTGACTATTCCTTCC	CCACAGTCTCTGTCAGCTC
CD45	TGAGCACAACAGAGAATGCCC	AACACACCTGGATGATATGTGGT
CD11b	CCCAGAACCTCTCAAGTGCC	CTGCAACAGAGCAGTTCAGC
ERa	AGCAAGCCCCGATGGA	GAGATGCCTGGGATGCTCTT
ERb	CTATATCTGTCCAGCCACGAATC	CCACACTTGACCATTCCTACTT
CYP2S1	TCGGGGCTTTTGCGGCTAAGT	CAACCAGGACCACCACGCGG
CYP4X1	CACCCTTGTGCCTTCCCCTGC	CCTCGTCCAATGCATGGAGTCAGG

FIGURES

Figure 1.

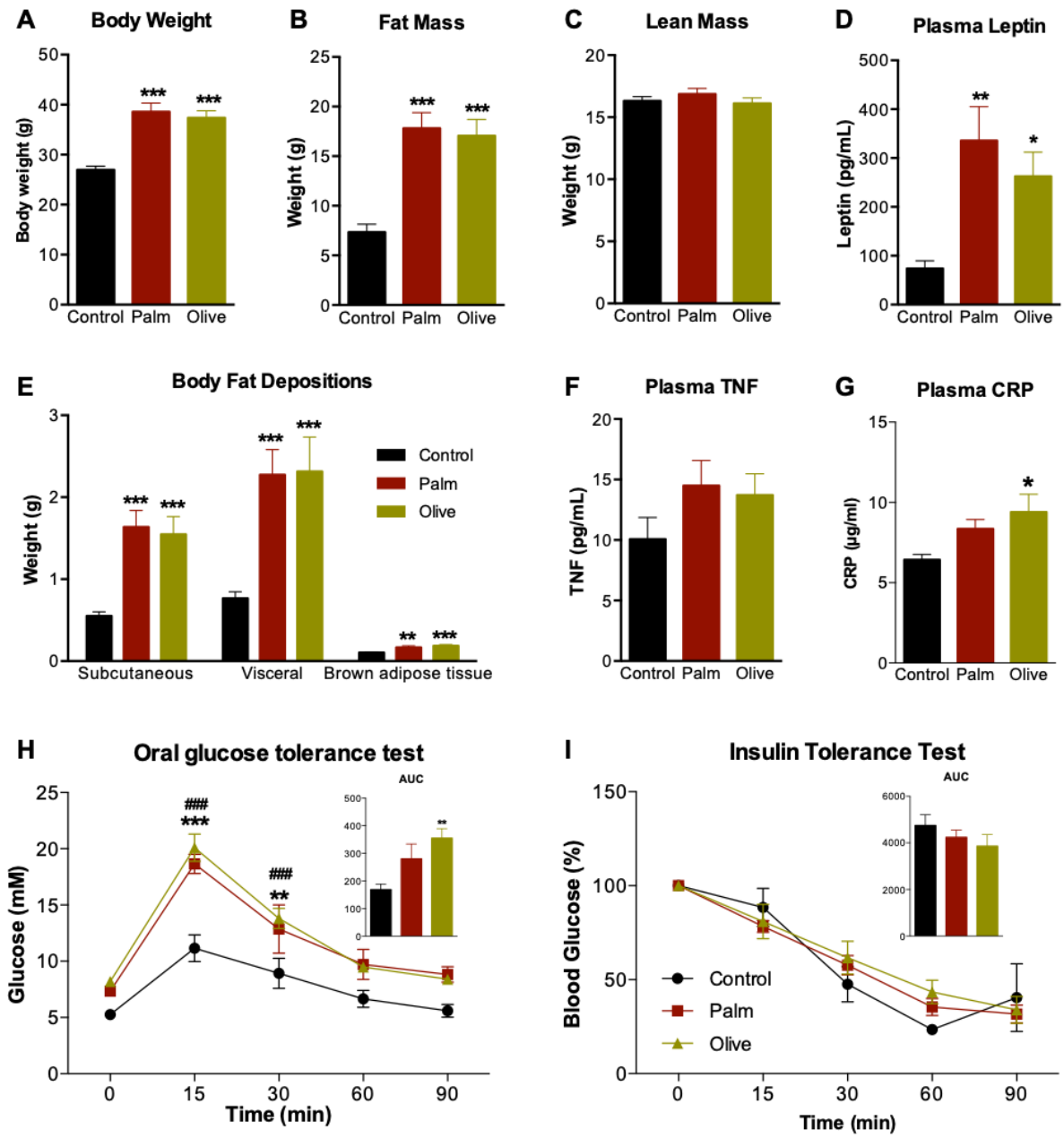


Figure 2.

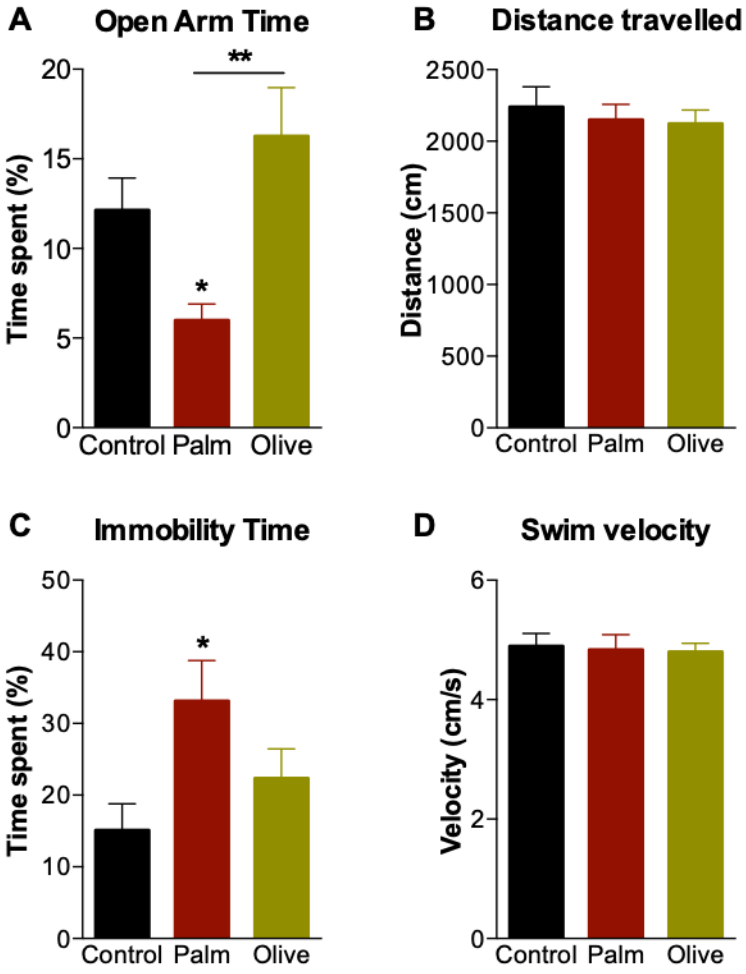

A
Open Arm Time
**
*
Time spent (%)
20
15
10
5
0
Control Palm Olive
B
Distance travelled
Distance (cm)
2500
2000
1500
1000
500
0
Control Palm Olive
C
Immobility Time
*
Time spent (%)
50
40
30
20
10
0
Control Palm Olive
D
Swim velocity
Velocity (cm/s)
6
4
2
0
Control Palm Olive

Figure 3.

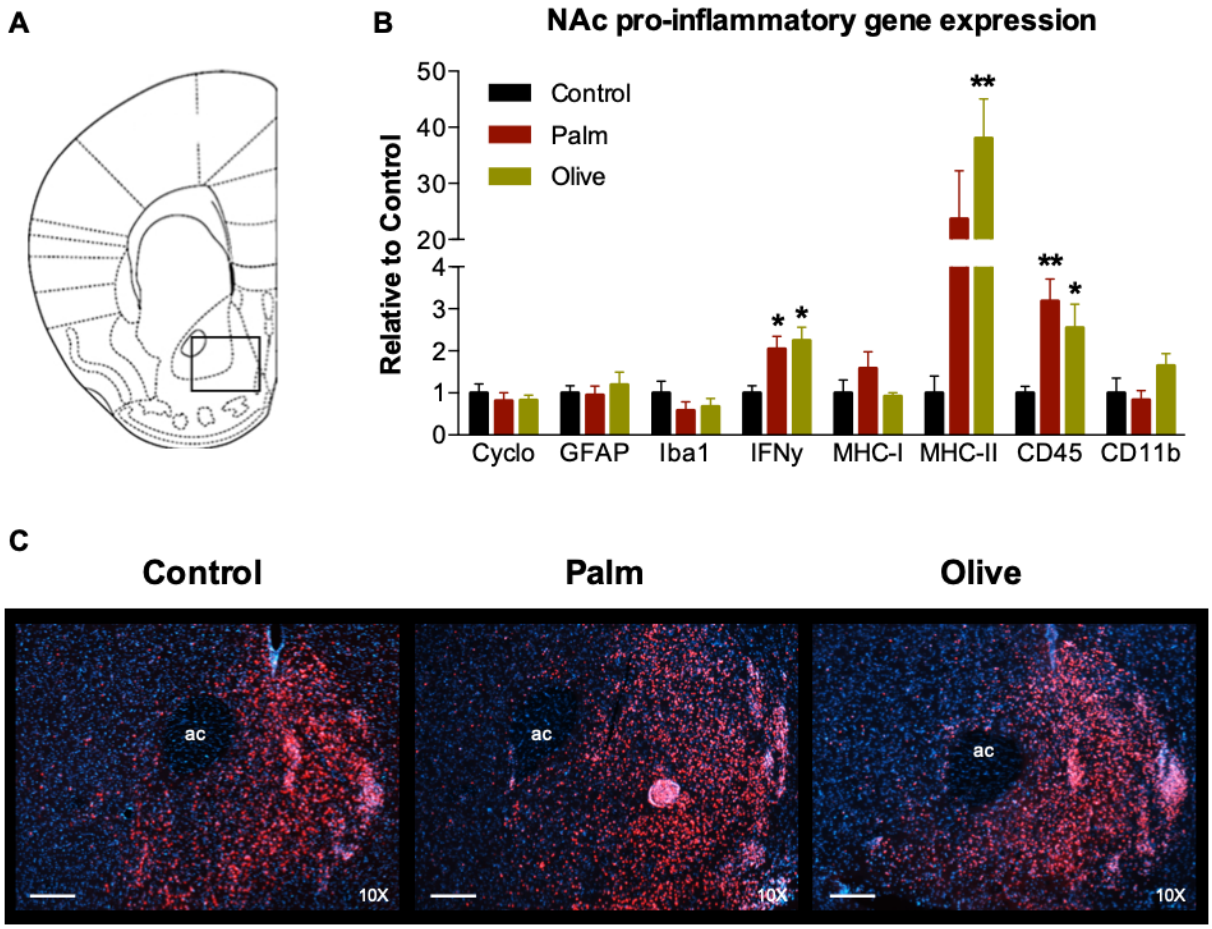
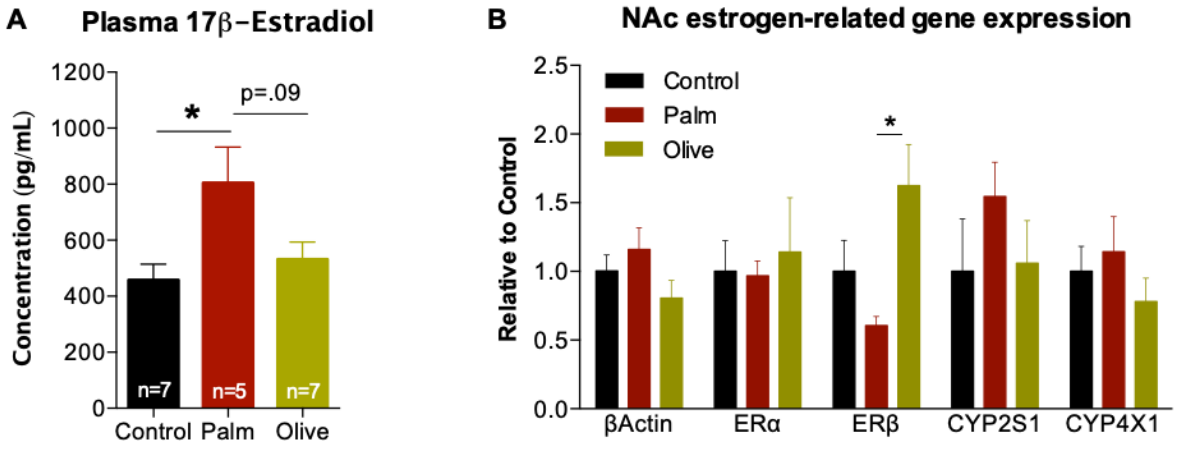

A
B
NAc pro-inflammatory gene expression
Relative to Control
Control
Palm
Olive
Cyclo
GFAP
Iba1
IFNy
MHC-I
MHC-II
CD45
CD11b
C
Control
Palm
Olive
ac
10X

Figure 4.


A
Plasma 17β-Estradiol
Concentration (pg/mL)
1200
1000
800
600
400
200
0
*
p=.09
n=7
n=5
n=7
Control
Palm
Olive
B
NAc estrogen-related gene expression
Relative to Control
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Control
Palm
Olive
*
βActin
ERα
ERβ
CYP2S1
CYP4X1

3.3. Troisième article

Nucleus accumbens D1R neuronal activity differentially modulates anxiety and depressive behaviours elicited by prolonged saturated high-fat feeding

Léa Décarie-Spain[1], David Lau[1], Cécile Hryhorczuk[1], Thierry Alquier[1], Guillaume Ferreira[2] & Stephanie Fulton[1]

[1]Centre de recherche du CHUM, Université de Montréal & Montreal Diabetes Research Centre

[2]Laboratoire de Nutrition et Neurobiologie intégrée, INRA Bordeaux, Université de Bordeaux

Corresponding author:

Stephanie Fulton, PhD

R08. 900 St-Denis, Montreal, Canada, H1X 0A9

Stephanie.fulton@umontreal.ca

Tel: 514-908-8000 x23602

ABSTRACT

Obesity substantially enhances the threat of mood disorders and chronic intake of a saturated high-fat diet (sHFD) promotes anxiodepressive behaviours in a manner involving nucleus accumbens (NAc) inflammation. The NAc, a brain region controlling motivated behaviours, is predominantly composed of medium spiny neurons (MSN) expressing either the type 1 (D1R) or type 2 (D2R) dopamine receptors. NAc D1R MSN optogenetic activation has been shown to promote resiliency in a stress-induced depression paradigm. While previous observations suggest that NAc D1R expression and function is modulated by a sHFD, the direct contribution of D1R MSNs in diet-induced anxiodepressive behavior remained to be assessed. Adult $D1R^{Cre}$ male mice fed a sHFD or a control low-fat diet (LFD) received a bilateral NAc injection of an adeno-associated virus expressing either the hM3Dq receptor or control mCherry protein (n=5-7/group) in a Cre-dependent manner. Over a 5-day period, mice underwent testing for anxiety and depressive-like behaviours in a counter-balanced manner following daily intraperitoneal injections of the hM3Dq ligand clozapine-N-oxide (CNO; 1mg/kg). Mice fed the sHFD and injected with mCherry virus (sHFD/mCherry) showed a blunted preference for sucrose and enhanced behavioural despair relative to LFD/mCherry animals. sHFD/hM3Dq mice displayed greater sucrose preference and decreased behavioural despair compared to the sHFD/mCherry group. However, sHFD/hM3Dq also displayed greater anxiety-like behaviours relative to LFD/mCherry animals. Overall, these results suggest the pro-depressant effect of obesity by saturated high-fat feeding is mediated by NAc D1R MSN activation. The reversal of the diet-induced depressive phenotype however, appears to be associated with indices of increased anxiety.

Keywords: diet-induced obesity, depression, anxiety, dopamine receptor, nucleus accumbens

INTRODUCTION

Susceptibility to developing depression is severely impacted by obesity (Luppino et al., 2010) and the strength of this association heavily relies on the presence of metabolic impairments (Hamer et al., 2012; Hinnouho et al., 2017). Chronic intake of energy-dense foods such as prolonged high-fat feeding promotes weight gain and obesity, yet specific classes of dietary fatty acids can have differential effects on metabolic health and brain function (Fernandes et al., 2017). Following a Mediterranean diet, rich in monounsaturated fatty acids, is associated to cardiometabolic health (Martínez-González et al., 2015) and can be beneficial for depression (Sánchez-Villegas et al., 2013). Biomarkers for long-term intake of saturated fatty acids, on the other hand, correlate with metabolic inflammation (Mu et al., 2014) and plasma levels of the saturated fatty acid palmitate is predictive of depression scores in men (Tsuboi et al., 2013). Our group has recently shown that saturated, but not monounsaturated, high-fat feeding promotes anxiodepressive behaviours in male mice, via inflammatory processes in the nucleus accumbens (NAc) (Décarie-Spain et al., 2018).

The NAc is part of the brain reward circuitry and its implication in mood disturbances is well established (Russo and Nestler, 2013). Impairments in reward functions can translate into anhedonia, a core symptom of depression, and deep-brain stimulation of the NAc is a recognized therapeutic avenue for alleviation of anhedonic features in treatment-resistant depression (Schlaepfer et al., 2008). The NAc is predominantly composed of GABAergic medium spiny neurons (MSN) expressing type 1 (D1R) or type 2 (D2R) dopamine receptors and artificial activation of both D1R and D2R subtypes of MSN modulates susceptibility to a stress-induced depressive phenotype in male mice (Francis et al., 2015).

In fact, behavioural indices of anhedonia are tied to reduced excitatory signaling onto NAc D1R MSN (Lim et al., 2012), suggesting impaired D1R MSN function could mediate the behavioural response to stress.

Prolonged high-fat feeding can trigger alterations in dopamine signaling in reward-related brain regions such as the NAc (Décarie-Spain et al., 2016). In non-obese rats, we have shown that saturated, but not monounsaturated, high-fat feeding increases NAc protein expression of D1R yet results in blunted reward function (Hryhorczuk et al., 2015). While NAc D1R MSN appear to modulate anhedonia in response to stress and saturated high-fat feeding impairs D1R function, the relative contribution of D1 and D2 MSNs in the development of a depressive phenotype in a context of diet-induced obesity remains to be elucidated. We set to investigate the role of NAc D1 MSNs in the expression of anxiodepressive behaviours induced by saturated high-fat feeding.

METHODS

Animals and diets: All procedures involving animals were approved by the CRCHUM Institutional Animal Protection Committee in accordance with the Canadian Animal Care guidelines. Adult (8-10 weeks old) heterozygous male mice from our in-house B6.FVB(Cg)-Tg(Drd1-cre)EY262Gsat/Mmucd colony (MMRRC; 030989-UCD) maintained on a C57Bl6J background were fed a palm-oil based high-fat diet (Palm) or an ingredient matched soybean oil-based control low-fat diet (Control) for a duration of 12 weeks. Mice were grouped-housed (3-4/cage) for the first 8 weeks of the diet period, after which they were single-housed if they had stereotaxic surgery. Housing was under a 12:12 reverse cycle (lights off at 10:00) and access to food and water was ad libitum. Stress potentially induced by tail handling was reduced by the use of tunnels (Gouveia and Hurst, 2017).

Metabolic profiling: In order to replicate the metabolic and behavioural phenotype induced by saturated high-fat feeding from our previous work (Décarie-Spain et al., 2018) in the D1R-Cre colony, 8 weeks old male mice were single-housed and fed either the control or palm diet for 12 weeks. Body weight and food intake were recorded weekly and fat mass content was assessed at the end of the 12th week via the use of an EchoMRI. An oral glucose tolerance test (OGTT) was also carried out on 4h-fasted mice administered a % dextrose solution by gavage. Glucose levels were monitored from tail blood at various timepoints (0, 15, 30, 45, 60, 90 and 120 min following dextrose gavage). These animals also underwent behavioural testing as described below.

Viral injection: Two cohorts of mice (n=6/group) underwent stereotaxic surgery, after the 8th week of diet, to be bilaterally injected in the NAc with 500nL of either the modified human muscarinic receptor (hM3Dq) tagged to the mCherry fluorescent protein (AAV8-hSyn-DIO-hM3Dq-mCherry; AAVhM3Dq) or mCherry-only (AAV8-hSyn-DIO-mCherry; AAVmCherry) expressing Cre-dependent associated adenovirus serotype 8 (1012 PFU/mL) (Krashes et al., 2011) (Fig. 4A-B). Control animals all received mCherry (Control^{mCherry}) while Palm animals were further separated into 2 groups receiving either AAV^{mCherry} (Palm^{mCherry}) or AAVhM3Dq (Palm^{hM3Dq}). For the remaining 4 weeks of diet, mice were single-housed and their body weight and food intake were monitored weekly. Stereotaxic coordinates were based on bregma and skull surface: +1.7mm (anterior), ±1.1mm (lateral) and -4.5mm (ventral) (Fig. 4C-D).

Behavioural testing: After the 12th week of diet, all animals underwent a counterbalanced sequence of behavioural tests over a 5-day period (Fig. 5A-B) during which mice were injected daily with clozapine-N-oxide (CNO; 1mg/kg in 0.3% DMSO/saline, intraperitoneal; ip) and body weight and food intake were monitored twice daily (6h and 24h following CNO injection). Standard water bottle and water valves were replaced by 2 50mL bottles. Behavioral tests occurred during the end of light/beginning of dark period (09:00-11:00) and each mouse was injected 45 minutes prior to the start of its respective test trial.

Elevated-plus maze (EPM): Mice were placed in the center of a standard mouse elevated-plus maze platform (Med Associate) and exploration was video recorded for 5 minutes. The EthoVision software quantified the frequency of entries and time spent in the different zones of the maze (open arms, close arms and center), as well as total distance travelled.

Open field test (OFT): Mice were placed facing one of the walls of a standard mouse open-field arena (Med Associates; 27.3x27.3cm) and exploration was video recorded for 5 minutes. The EthoVision software quantified the frequency of entries and time spent in the different zones of the arena (center (6.8x6.8cm), periphery (20.5x20.5cm) and walls (27.3x27.3cm)), as well as total distance travelled.

Sucrose preference test (SPT): After 48h of habituation to drinking water from 2 50mL Falcon tubes (days 1 and 2), the water content of 1 of the tubes was replaced with a 1% sucrose solution (2% sucrose solution in Fig. 2F). On day 3, drinking volume of both tubes was assessed 24h following CNO injection. On day 4, the same experiment was repeated with the water bottle and sucrose bottle exchanging place. Preference for sucrose was calculated as the total volume of sucrose solution consumed divided by the total volume of fluid consumed over a same time period (2x24h).

Forced swim test (FST): Mice were placed in a 2.0L recipient filled with 1.7L of 24.0 ± 1.0°C water and mobility was video recorded for a duration of 6 minutes. The EthoVision software quantified the average velocity during the first 2 minutes of the trial and the immobility time during the last 4 minutes of the trial.

In another experiment, 2 additional cohorts (N=11-12) of mice underwent behavioural testing with daily CNO ip injections (45 minutes before trial) following 12 weeks of diet (Fig. 7E). Two additional cohort of mice (n=5-6/group) were used to assess aversive properties of CNO administration in PalmhM3Dq mice. To do so, we first compared Control and Palm-fed mice non-injected with AAV and treated with CNO. Next, we repeated the same behavioural tasks in ControlhM3Dq and PalmhM3Dq mice receiving CNO.

Conditioned place avoidance (CPA): CPA for CNO was conducted over 5 consecutive days as described previously (Hryhorczuk et al., 2015). Briefly, animals were placed in a conditioned placement preference box (Med Associates, etc.) and allowed to explore all 3 compartments for 30 minutes, on day 1. Over the next 3 days, twice daily, mice were restricted to one of the side compartments paired to an ip injection of either vehicle or CNO and free to explore for 15 minutes. The CNO was paired to the side compartment favoured by each individual subject on day 1. On the final day, mice were placed in the centre of the apparatus and free to explore all 3 compartments for 30 minutes. The ratio of time spent in the CNO paired compartment relative to the vehicle paired one was reflective of CNO-induced CPA. All behavioural tests above were recorded and analyzed using the Ethovision computerized scoring software.

Social interaction test (SIT): Mice were free to explore the open field arena, for 5 minutes, in which was located a cage containing a male demonstrator mouse. Direct sniffing of the holding cage was manually scored as interaction time.

Controlling for off-target effects of CNO: The EPM, OFT, SPT and FST were carried in control-fed animals non-infected with virus (vehicle versus CNO, Fig. S1) or infected with either AAVmCherry and AAVhM3Dq but both receiving CNO (Fig. S2), in order to ensure off-target effects of CNO were not affecting performance. Similarly, the CPA and SIT were conducted in Control and Palm animals non-infected with AAV both receiving CNO.

Sacrifice and tissue preparation: Sacrifice of animals from the behavioural cohorts occurred 72h following the last behavioural task, between 9:00-11:00, 45 minutes following a CNO ip injection, to replicate timing of behavioral testing. Mice were anesthetized under isoflurane and decapitated to quickly harvest brain and trunk blood. Blood was collected in tubes filled with 20uL of 0.2M EDTA and plasma was extracted following centrifugation at 7.5RPM for 5 minutes. Brains were snap frozen in isopentane with dry ice, sliced into 250um coronal sections on the cryostat in order to micro-dissect the NAc (0.75mm tissue punch) and store samples at -80°C.

Immunohistochemistry: For immunostaining, mice fed the control or palm diet for 12 weeks (n=11-12/diet) were injected ip with a lethal dose of pentobarbital in a non-stressed state or 1h following FST (n=4-6/group). Animals were transcardially perfused with phosphate buffered saline (PBS) followed by formalin prior to being post-fixed in formalin for 6h hours and left in a 30% sucrose solution for 24h prior to be snap frozen in isopentane and sectioned in 25µm coronal slices on the microtome. For immunostaining, free-floating slices were washed in PBS and blocked into a 3% normal goat serum (NGS) solution for 2h at room temperature. After 3 PBS rinses, slices were permeabilized with a 0.1% Triton solution for 10 minutes and incubated overnight at 4°C with primary antibodies against cFos and Cre recombinase.

Statistical analyses: Data was analysed using the GraphPad Prism 7 software and results are presented as mean ± standard error of the mean (SEM). An unpaired t-test was employed to compare the control versus palm diet condition, while a 2-way ANOVA with repeated measures and Bonferonni post hoc was used for the OGTT. A 1-way ANOVA with Bonferonni post hoc was subsequently employed to compare the of $Control^{mCherry}$, $Palm^{mCherry}$ and $Palm^{hM3Dq}$ conditions, while an unpaired t-test was used when comparing $Control^{hM3Dq}$ and $Palm^{hM3Dq}$ when only these two groups were run together, as well as a 2-way ANOVA with repeated measures and Bonferonni post hoc for comparison before and after conditioning. Criterion for significance was set to $p<0.05$ in all comparisons.

RESULTS

Saturated high-fat feeding promotes diet-induced obesity and anxiodepressive behaviours in D1R-Cre mice.

We first sought to replicate our findings on the metabolic and behavioural consequences of saturated high-fat feeding in D1R-Cre mice. Mice fed the Palm diet displayed greater body weight (Fig. 1A) and cumulative food intake (Fig. 1B) across the 12 weeks diet period. These animals also displayed higher levels of blood glucose (Fig. 1C) and area under the curve (AUC) (Fig. 1D) following dextrose gavage. Increased body weight in Palm mice is associated to greater adiposity relative to Control (Fig. 1E).

Palm high-fat feeding did not affect locomotor activity (Fig. 2A), but significantly reduced open arm time in the EPM (Fig. 2B). Similarly, there was no effect of diet on locomotor activity in the OFT (Fig. 2C), yet centre time was diminished in the Palm group (Fig. 2D). In the SPT, neither Control or Palm mice showed a baseline side preference (Fig. 2E) and no significant effect was observed for preference for a 2% sucrose solution (Fig. 2F). However, in the FST, although initial swim velocity was similar (Fig. 2G), immobility time was increased under the Palm condition (Fig. 2H).

Saturated high-fat feeding is associated to decreased nucleus accumbens D1R neuronal activity.

As saturated high-fat feeding is accompanied by reduced D1R function (Hryhorczuk et al., 2015), we next verified whether this was the case in our model. While NAc cFos signal under baseline conditions is similar between animals fed the Control or Palm diet, colocalization of cFos+ cells with Cre recombinase+ cells is enhanced in the NAc of Control mice following the FST, while no such changes are observed in animals fed the Palm diet (Fig. 3A).

Chemogenetic activation of NAc D1R neurons in mice fed a saturated high-fat diet.

We then included a chemogenetic approach to selectively target NAc D1R neuronal activity in our Palm-fed mice. After 8 weeks of Control or Palm diet, mice were injected with an associated adenovirus expressing either hM3Dq tagged to mCherry or mCherry alone, specifically into the NAc (Fig. 4A-D). Palm high-fat feeding still resulted in higher body weight and food intake and no differences were observed between $Palm^{hM3Dq}$ and $Palm^{mCherry}$ animals (Fig. 4E-F).

Sequence of behavioural testing for anxiety and depressive behaviours was counter-balanced across the 2 cohorts (Fig. 5A-B). Daily CNO treatment had no impact on body weight across the 3 experimental groups (Fig. 5C), although acute food intake in the 6h following CNO injection increased food intake in $Palm^{hM3Dq}$ mice towards the end of the behavioural testing sequence (Fig. 5D), while it initially reduced daily intake (Fig. 5E).

Activation of nucleus accumbens D1R neurons potentiates anxiety but reduces depressive behaviours induced by saturated high-fat feeding.

While locomotor activity was unchanged across the 3 experimental groups (Fig. 6A), open arm time was significantly reduced in Palm^{hM3Dq} mice relative to Control^{mCherry} animals (Fig. 6B) in the EPM. As for the OFT, similarly, locomotion was similar across conditions (Fig. 6C), but centre time was diminished Palm^{hM3Dq} mice relative to Control^{mCherry} animals (Fig. 6D). No group displayed a baseline side preference in the SPT (Fig. 6E), however Palm^{mCherry} mice showed a blunted preference for the 1% sucrose solution and this was rescued in Palm^{hM3Dq} animals (Fig. 6F). In the FST, swim velocity was unchanged (Fig. 6F), while immobility time was enhanced in the Palm^{mCherry} group and this effect was abolished in Palm^{hM3Dq} animals (Fig. 6G).

Additional cohorts of mice were added to further investigate the discrepancy between aversive and motivated behaviours. In Control and Palm-fed animals non-injected with AAV but treated with CNO, there is a trend for the Palm diet to reduce interaction time in the SIT (Fig. 7A). Neither Control nor Palm mice displayed a preference or avoidance for the CNO-paired compartment in the CPA (Fig. B-C). On the other hand, no indication of differences of interaction time could be observed between Control^{hM3Dq} and Palm^{hM3Dq} mice in the SIT (Fig. 7D). In the CPA, there was a trend for reduced preference for the CNO-paired compartment in Control^{hM3Dq} mice (Fig. 7E) and this avoidance expressed as a preference ratio before and after conditioning was significant only in the Control^{hM3Dq} group (Fig. 7F).

DISCUSSION

Anxiety and mood impairments are frequent comorbidities of obesity and may severely hinder therapeutic management of body weight and metabolic disorders. The aim of this study was to investigate the contribution of NAc D1R neurons in the expression of anxiety and depressive behaviours elicited by saturated high-fat feeding. Consumption of the Palm diet induced obesity, glucose intolerance and adiposity gain, as well as anxiety and depressive behaviours in agreement with our previous study (Décarie-Spain et al., 2018). Furthermore, our results demonstrate that the recruitment of NAc D1R neurons is blunted by saturated high-fat feeding and while chemogenetic activation of NAc D1R neurons rescues the depressive phenotype induced by the diet, it also enhances the expression of anxiety behaviours.

Several lines of evidence point to alterations in dopamine signalling by obesity and high-fat feeding in both human and rodents. Activation of the NAc in response to the consumption of palatable foods is dampened by weight gain and obesity in humans (Stice et al., 2008, 2010). D2R binding potential in the NAc inversely correlates with body mass index (Guo et al., 2014). While a few imaging studies have investigated D2R expression in the NAc and reached divergent conclusions, D1R have yet to be assessed in human

obesity (Volkow et al., 2017). In rodents, diet-induced obesity diminishes both dopamine content and release in the NAc(Geiger et al., 2009; Carlin et al., 2013; Hansen et al., 2013; Zhang et al., 2015). Most obese rodents display reduced expression of D1R in the NAc at the gene and protein level while measures of D2R are more heterogeneous (Décarie-Spain et al., 2018). Our findings are consistent with impaired NAc activity in diet-induced obesity and previous work evidencing diminished expression of proteins involved in D1R signalling by saturated high-fat feeding (Hryhorczuk et al., 2015). A western immunoblotting experiment is undergoing in order to assess the expression of phosphoDARPP32Tyr34 and phosphoDARPP32Tyr75 in the NAc of mice fed the Control or Palm diet.

Depression is often characterized by profound hedonic and motivational deficits which are predictive of resistance to first-line psychological and pharmacological treatments (Vrieze et al., 2013). Deep-brain stimulation of the NAc can be especially effective in patients with a primary complaint of anhedonia (Schlaepfer et al., 2008). Decreased striatal D1R binding potential in depressed individuals with a potential inverse correlation to anhedonia and duration of illness (Cannon et al., 2009). In mice, artificial activation of NAc D1R neurons promotes resilience to stress-induced depression while targeting NAc D2R neurons favours a susceptible phenotype in the social defeat stress paradigm (Francis et al., 2015). Nonetheless, the distinctive roles of striatal dopamine receptor subtypes in the execution of motivated behaviours are not clear cut as NAc D2R neuronal activation can increase motivation (Ward et al., 2013; Soares-Cunha et al., 2016).

In comparison to depression, few studies have investigated the implication of dopamine receptors in anxiety and the majority of findings evidence a role for dopamine signalling in the hippocampus and amygdala (Zarrindast and Khakpai, 2015). Dopaminergic transmission is required during fear conditioning for appropriate context or cue associative learning, thereby preventing fear generalization (Zweifel et al., 2011). NAc knockdown of the dopamine transporter reduces both anxiety and depressive behaviours, yet this intervention is not specific to D1R neurons (Bahi and Dreyer, 2019). In a depressed population, striatal D2R availability correlates with anxiety symptoms while it inversely correlates with anhedonia (Peciña et al., 2017). Preclinical work also evidences a crucial role for NAc D2R neurons in the acquisition of conditioned relief (Mayer et al., 2018). Thus, our intervention likely disturbed the balance between D1R and D2R signalling in the NAc, at the expense of D2R modulation of anxiety-related learning.

We used a chemogenetic approach for precise spatio-temporal activation of NAc D1R neuronal activation, yet application of this technic requires control experiments (Roth, 2016). We perform all our behavioural analysis in cohorts including animals non-injected with the hM3Dq AAV to demonstrate the effects observed required both NAc D1R neuronal hM3Dq expression and CNO treatment. In addition, we used a low-dose of CNO (1.0mg/kg) which was associated, in rats, to undetectable plasma levels of clozapine and CNO metabolite 30 and 60 minutes following ip administration (Manvich et al., 2018), coinciding with our testing schedule. We failed to observe a difference in sucrose preference which may relate to the sucrose content

of the solution which was lowered for subsequent experiments. A CPA was developed only in Control^{hM3Dq} animals and it remains unclear if the lack of acquisition in Palm^{hM3Dq} mice derives from an absence of aversion to CNO or impaired conditioned place preference learning by saturated high-fat feeding (Hryhorczuk et al., 2015).

NAc glutamatergic inputs have been shown to have differential impacts on susceptibility to chronic social defeat stress (Bagot et al., 2015). Connectivity between afferent regions and the NAc may be altered by diet-induced obesity, resulting in insufficient NAc D1R neuronal activity. Another avenue is the detrimental consequences of NAc inflammation, in a context of saturated high-fat feeding, on D1R function and calls into question a specific vulnerability of this receptor subtype to immune stress.

CONCLUSION

Overall, this work evidences a differential modulation of anxiety and depressive behaviours by NAc D1R neuronal activation in a context of saturated high-fat feeding. Targeting of these neurons to address the motivational deficits associated to diet-induced obesity must be cautiously with regards to potential anxiety-related adverse effects. Future work should investigate the mechanism underlying diet-induced neuroinflammation and reduced NAc D1R signalling.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Mélanie Éthier and Grace Ferguson from the Rodent Metabolic Phenotyping Platform at CRCHUM for performing the OGTT. In addition, the authors thank the CRCHUM Animal Care Committee for the establishment of mouse tunnel handling at the institute.

LDS was supported by a Health Professional Doctoral Fellowship from FRQS and SF by a CIHR New Investigator Award.

REFERENCES

Bagot RC, Parise EM, Peña CJ, Zhang HX, Maze I, Chaudhury D, Persaud B, Cachope R, Bolaños-Guzmán CA, Cheer J, Deisseroth K, Han MH, Nestler EJ (2015) Ventral hippocampal afferents to the nucleus accumbens regulate susceptibility to depression. Nat Commun 6:7062 Available at: http://www.nature.com/articles/ncomms8062 [Accessed August 29, 2018].

Bahi A, Dreyer J-L (2019) Dopamine transporter (DAT) knockdown in the nucleus accumbens improves anxiety- and depression-related behaviors in adult mice. Behav Brain Res 359:104–115 Available at: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432818306843?via%3Dihub [Accessed December 11, 2019].

Cannon DM, Klaver JM, Peck SA, Rallis-Voak D, Erickson K, Drevets WC (2009) Dopamine Type-1 Receptor Binding in Major Depressive Disorder Assessed using Positron Emission Tomography and [11C]NNC-112. Neuropsychopharmacology 34:1277 Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18946469 [Accessed March 31, 2019].

Carlin J, Hill-Smith TE, Lucki I, Reyes TM (2013) Reversal of dopamine system dysfunction in response to high-fat diet. Obesity 21:2513–2521 Available at: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3700634&tool=pmcentrez&rendertype=abstract [Accessed October 5, 2015].

Décarie-Spain L, Hryhorczuk C, Fulton S (2016) Dopamine signalling adaptations by prolonged high-fat feeding. Curr Opin Behav Sci 9:136–143.

Décarie-Spain L, Sharma S, Hryhorczuk C, Issa-Garcia V, Barker PA, Arbour N, Alquier T, Fulton S (2018) Nucleus accumbens inflammation mediates anxiodepressive behavior and compulsive sucrose seeking elicited by saturated dietary fat. Mol Metab 10:1–13 Available at: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877817309389.

Fernandes MF, Mutch DM, Leri F (2017) The relationship between fatty acids and different depression-related brain regions, and their potential role as biomarkers of response to antidepressants. Nutrients 9 Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28304335 [Accessed June 27, 2017].

Francis TC, Chandra R, Friend DM, Finkel E, Dayrit G, Miranda J, Brooks JM, Iñiguez SD, O'Donnell P, Kravitz A, Lobo MK (2015) Nucleus Accumbens Medium Spiny Neuron Subtypes Mediate Depression-Related Outcomes to Social Defeat Stress. Biol Psychiatry 77:212–222 Available at: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000632231400554X [Accessed February 19, 2017].

Geiger BM, Haburcak M, Avena NM, Moyer MC, Hoebel BG, Pothos EN (2009) Deficits of mesolimbic dopamine neurotransmission in rat dietary obesity. Neuroscience 159:1193–1199 Available at: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2677693&tool=pmcentrez&rendertype=abstract [Accessed June 26, 2015].

Gouveia K, Hurst JL (2017) Optimising reliability of mouse performance in behavioural testing: The major role of non-aversive handling. Sci Rep 7:44999 Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28322308 [Accessed May 15, 2019].

Guo J, Simmons WK, Herscovitch P, Martin A, Hall KD (2014) Striatal dopamine D2-like receptor correlation patterns with human obesity and opportunistic eating behavior. Mol Psychiatry 19:1078–1084 Available at: http://dx.doi.org/10.1038/mp.2014.102 [Accessed September 14, 2015].

Hamer M, Batty GD, Kivimaki M (2012) Risk of future depression in people who are obese but metabolically healthy: the English longitudinal study of ageing. Mol Psychiatry 17:940–945 Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22525487.

Hansen HH, Jensen MM, Overgaard A, Weikop P, Mikkelsen JD (2013) Tesofensine induces appetite suppression and weight loss with reversal of low forebrain dopamine levels in the diet-induced obese rat. Pharmacol Biochem Behav 110:265–271 Available at: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009130571300186X [Accessed August 22, 2015].

Hinnouho GM, Singh-Manoux A, Gueguen A, Matta J, Lemogne C, Goldberg M, Zins M, Czernichow S (2017) Metabolically healthy obesity and depressive symptoms: 16-year follow-up of the Gazel cohort study. PLoS One 12:e0174678 Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28384219 [Accessed June 27, 2017].

Hryhorczuk C, Florea M, Rodaros D, Poirier I, Daneault C, Des Rosiers C, Arvanitogiannis A, Alquier T, Fulton S (2015) Dampened Mesolimbic Dopamine Function and Signaling by Saturated but not Monounsaturated Dietary Lipids. Neuropsychopharmacology Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26171719.

Krashes MJ, Koda S, Ye CP, Rogan SC, Adams AC, Cusher DS, Maratos-Flier E, Roth BL, Lowell BB (2011) Rapid, reversible activation of AgRP neurons drives feeding behavior in mice. J Clin Invest 121:1424–1428 Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21364278 [Accessed May 7, 2018].

Lim BK, Huang KW, Grueter BA, Rothwell PE, Malenka RC (2012) Anhedonia requires MC4R-mediated synaptic adaptations in nucleus accumbens. Nature 487:183–189 Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22785313.

Luppino FS, de Wit LM, Bouvy PF, Stijnen T, Cuijpers P, Penninx BW, Zitman FG (2010) Overweight, obesity and depression: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. Arch Gen Psychiatry 67:10.

Manvich DF, Webster KA, Foster SL, Farrell MS, Ritchie JC, Porter JH, Weinshenker D (2018) The DREADD agonist clozapine N-oxide (CNO) is reverse-metabolized to clozapine and produces clozapine-like interoceptive stimulus effects in rats and mice. Sci Rep 8:3840 Available at: http://www.nature.com/articles/s41598-018-22116-z [Accessed May 25, 2018].

Martínez-González MA, Salas-Salvadó J, Estruch R, Corella D D, Fitó M, Ros E (2015) Benefits of the Mediterranean Diet: Insights from the PREDIMED Study. Prog Cardiovasc Dis 58:50–60 Available at: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0033062015000286 [Accessed May 6, 2015].

Mayer D, Kahl E, Uzuneser TC, Fendt M (2018) Role of the mesolimbic dopamine system in relief learning. Neuropsychopharmacology 43:1651–1659 Available at: http://www.nature.com/articles/s41386-018-0020-1 [Accessed December 11, 2019].

Mu L, Mukamal KJ, Naqvi AZ (2014) Erythrocyte saturated fatty acids and systemic inflammation in adults. Nutrition 30:1404–1408 Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25280420.

Peciña M, Sikora M, Avery ET, Heffernan J, Peciña S, Mickey BJ, Zubieta J-K (2017) Striatal dopamine D2/3 receptor-mediated neurotransmission in major depression: Implications for anhedonia, anxiety and treatment response. Eur Neuropsychopharmacol 27:977–986 Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28870407 [Accessed December 11, 2019].

Roth BL (2016) DREADDs for Neuroscientists. Neuron 89:683–694 Available at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4759656/pdf/nihms754820.pdf [Accessed May 25, 2018].

Russo SJ, Nestler EJ (2013) The brain reward circuitry in mood disorders. Nat Rev Neurosci 14:609–625 Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23942470.

Sánchez-Villegas A, Martínez-González M, Estruch R, Salas-Salvadó J, Corella D, Covas M, Arós F, Romaguera D, Gómez-Gracia E, Lapetra J, Pintó X, Martínez J, Lamuela-Raventós R, Ros E, Gea A, Wärnberg J, Serra-Majem L (2013) Mediterranean dietary pattern and depression: the PREDIMED randomized trial. BMC Med 11:208 Available at: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3848350&tool=pmcentrez&rendertype=abstract [Accessed April 14, 2015].

Schlaepfer TE, Cohen MX, Frick C, Kosel M, Brodesser D, Axmacher N, Joe AY, Kreft M, Lenartz D, Sturm V (2008) Deep brain stimulation to reward circuitry alleviates anhedonia in refractory major depression.

Neuropsychopharmacology 33:368–377 Available at: https://www.nature.com/npp/journal/v33/n2/pdf/1301408a.pdf [Accessed July 9, 2017].

Soares-Cunha C, Coimbra B, Sousa N, Rodrigues AJ (2016) Reappraising striatal D1- and D2-neurons in reward and aversion. Neurosci Biobehav Rev 68:370–386 Available at: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763416301816?via%3Dihub [Accessed November 19, 2019].

Stice E, Spoor S, Bohon C, Veldhuizen MG, Small DM (2008) Relation of reward from food intake and anticipated food intake to obesity: a functional magnetic resonance imaging study. J Abnorm Psychol 117:924–935 Available at: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2681092&tool=pmcentrez&rendertype=abstract [Accessed April 10, 2015].

Stice E, Yokum S, Blum K, Bohon C (2010) Weight gain is associated with reduced striatal response to palatable food. J Neurosci 30:13105–13109 Available at: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2967483&tool=pmcentrez&rendertype=abstract [Accessed August 7, 2015].

Tsuboi H, Watanabe M, Kobayashi F, Kimura K, Kinae N (2013) Associations of depressive symptoms with serum proportions of palmitic and arachidonic acids, and alpha-tocopherol effects among male population--a preliminary study. Clin Nutr 32:289–293 Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22901744.

Volkow ND, Wise RA, Baler R (2017) The dopamine motive system: implications for drug and food addiction. Nat Rev Neurosci 18:741–752 Available at: http://www.nature.com/articles/nrn.2017.130 [Accessed November 8, 2019].

Vrieze E, Pizzagalli DA, Demyttenaere K, Hompes T, Sienaert P, De Boer P, Schmidt M, Claes S (2013) Reduced reward learning predicts outcome in major depressive disorder. Biol Psychiatry 73:639–645 Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23228328 [Accessed July 9, 2017].

Ward RD, Balsam PD, Martinez D, Urizar E, Trifilieff P, Winiger V, Javitch JA, Simpson EH, Taylor KM, Moore H, Feng B (2013) Increasing dopamine D2 receptor expression in the adult nucleus accumbens enhances motivation. Mol Psychiatry 18:1025–1033 Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23711983 [Accessed September 29, 2016].

Zarrindast M-R, Khakpai F (2015) The modulatory role of dopamine in anxiety-like behavioral. Arch Iran Med 18:591–603 Available at: http://www.ams.ac.ir/AIM/NEWPUB/15/18/9/009.pdf [Accessed April 3, 2019].

Zhang C, Wei N-L, Wang Y, Wang X, Zhang J-G, Zhang K (2015) Deep brain stimulation of the nucleus accumbens shell induces anti-obesity effects in obese rats with alteration of dopamine neurotransmission. Neurosci Lett 589:1–6 Available at: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304394015000245 [Accessed October 5, 2015].

Zweifel LS, Fadok JP, Argilli E, Garelick MG, Jones GL, Dickerson TMK, Allen JM, Mizumori SJY, Bonci A, Palmiter RD (2011) Activation of dopamine neurons is critical for aversive conditioning and prevention of generalized anxiety. Nat Neurosci 14:620–628 Available at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3083461/ [Accessed April 3, 2019].

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Saturated high-fat feeding induces obesity and metabolic impairments in D1R-Cre mice.

(A) Body weight and cumulative (B) food intake over 12 weeks of palm high-fat diet versus control low-fat diet. (C-D) Oral glucose tolerance and (E) at mass content after 12 weeks of diet. 2-way ANOVA, Bonferonni post-hoc (A-C) and unpaired t-test (D-E); n=6/group. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.005, ****p<0.001

Figure 2. Saturated high-fat feeding promotes anxiety and depressive-like behaviours in D1R-Cre.

(A) Total distance travelled in and (B) time spent in open arms of the elevated-plus maze (EPM). (C) Total distance travelled in and (D) time spent in centre of the open field (OFT). Preference (E) between 2 water bottles and (F) for sucrose bottle. (G) Mean velocity during the first 2 minutes and (H) time spent immobile during the remaining 4 minutes of the forced swim test (FST) after 12 weeks of diet. Unpaired t-test; n=6/group. *p<0.05, **p<0.01

Figure 3. Saturated high-fat feeding is associated to decreased nucleus accumbens D1R neuronal activity.

(A) Coronal slices (25um) of nucleus accumbens (NAc) stained against DAPI (blue), Cre-recombinase (green) and cFos (red) from mice fed the Control or Palm diet and sacrified in basal state or 1h following forced swim; 20X magnification.

Figure 4. Nucleus accumbens expression of chemogenetic receptor.

(A) Experimental timeline. (B) Viral sequence of adeno-associated virus. (C) Stereotaxic coordinates for nucleus accumbens injection. (D) Coronal section of nucleus accumbens injected with mCherry (red) and stained against DAPI (blue); 10X magnification, 25um thickness. (E) Weekly body weight and (F) cumulative food intake following stereotaxic surgery. One-way ANOVA, main treatment effect; n=6-7/group; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.005.

Figure 5. CNO treatment during behavioural testing

(A-B) Sequence of behavioural tests. (C) Daily body weight and (D) food intake over days of treatment. (E) Daily food intake during first 6 hours following injection. One-way ANOVA, Bonferonni post hoc; n=6-7/group; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.005, ****p<0.001.

Figure 6. Activation of nucleus accumbens D1R neurons potentiates anxiety but reduces depressive behaviours induced by saturated high-fat feeding.

(A) Total distance travelled in and (B) time spent in open arms of the elevated-plus maze (EPM). (C) Total distance travelled in and (D) time spent in centre of the open field (OFT). Preference between (E) 2 water bottles and (F) for sucrose bottle. (G) Mean swim velocity during the first 2 minutes and (H) time spent immobile during the remaining 4 minutes of the forced swim test (FST). One-way ANOVA, Bonferonni post hoc; n=6-7/group. **p<0.01, ***p<0.005.

Figure 7. Activation of nucleus accumbens D1R neurons induces place avoidance in control mice.

(A) Interaction time in the social interaction test (SIT). (B) Avoidance of the CNO-paired compartment before and after conditioned place avoidance (CPA). (C) Ratio of preference for CNO-paired compartment before and after conditioning in the CPA. Unpaired t-test (A), two-way ANOVA, repeated measures Bonferonni post hoc (B) and one-sample t-test (C); n=5-6/group. *p<0.05, **p<0.01

FIGURES

Figure 1.

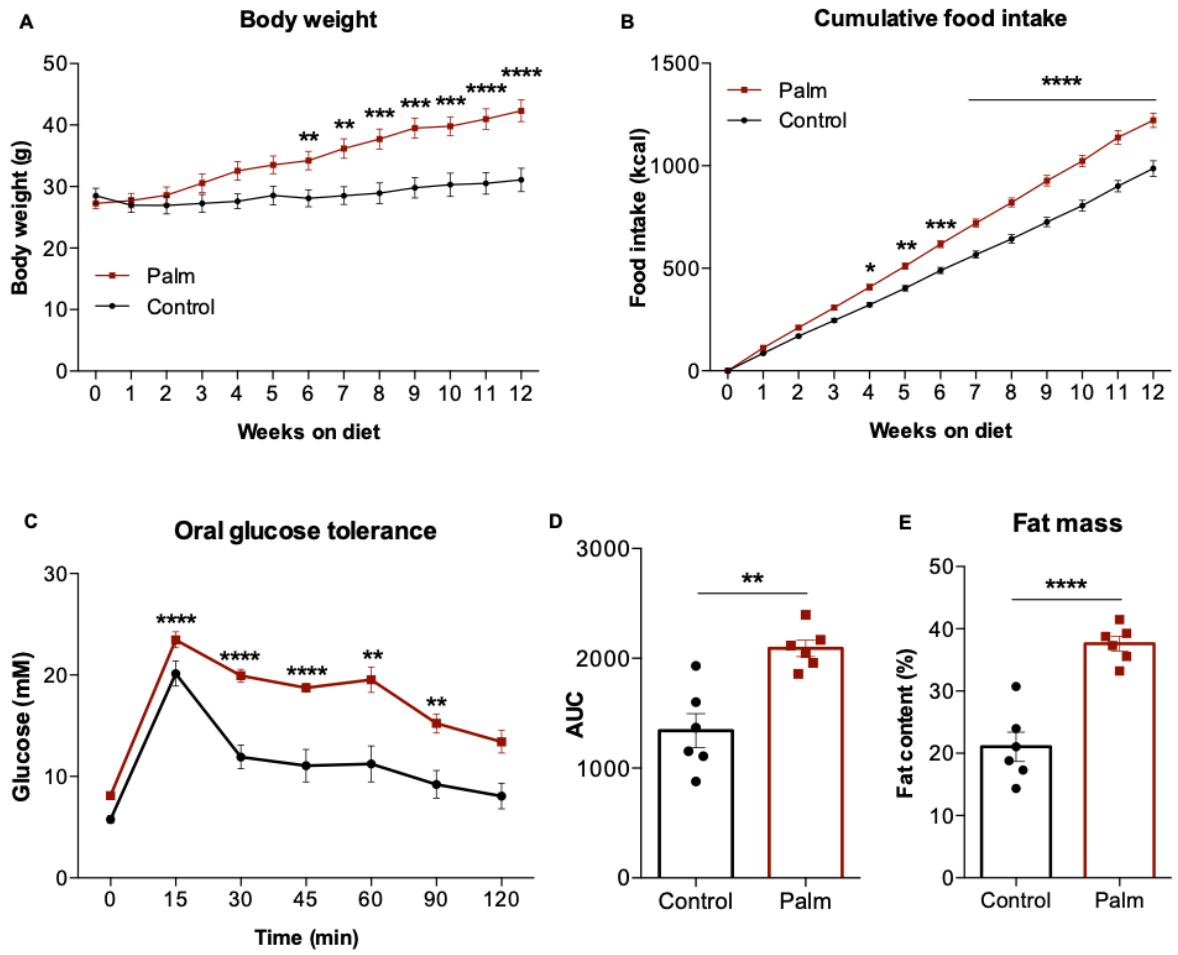


Figure 2.

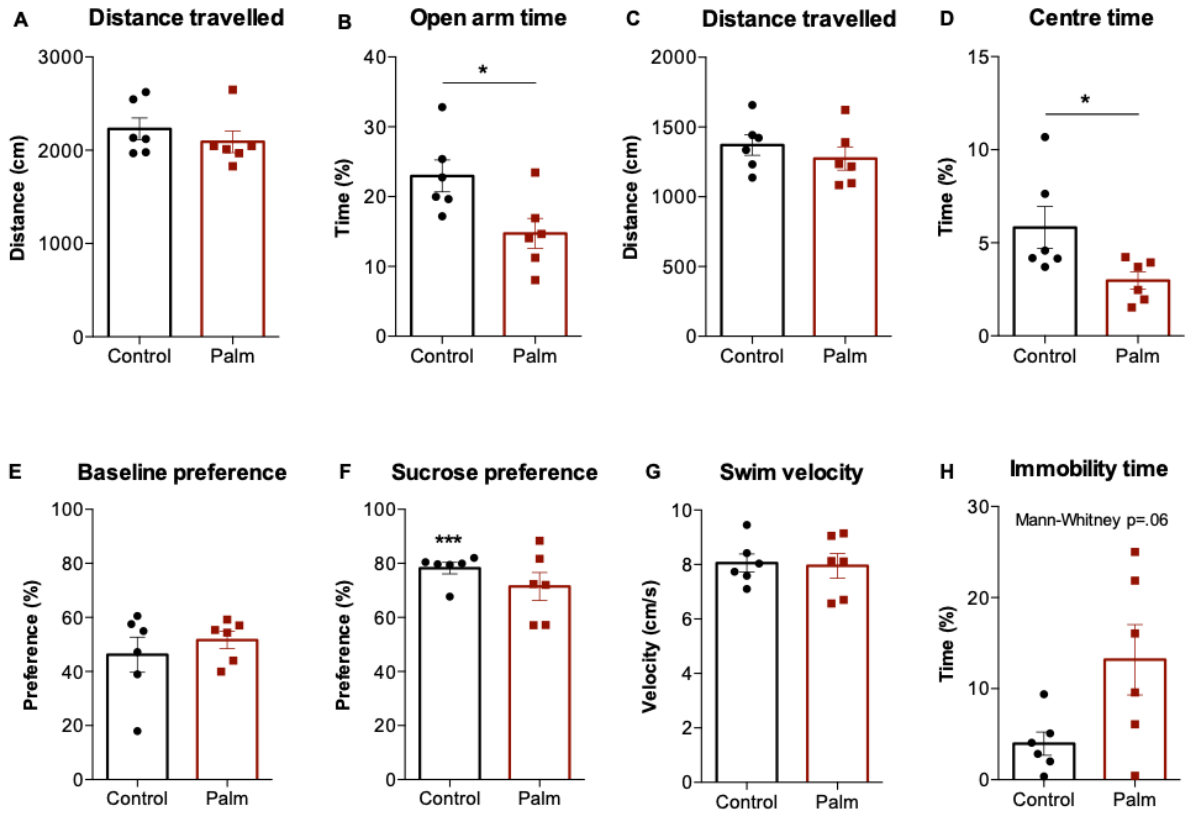

A
Distance travelled
Distance (cm)
3000
2000
1000
0
Control
Palm
B
Open arm time
Time (%)
40
30
20
10
0
*
Control
Palm
C
Distance travelled
Distance (cm)
2000
1500
1000
500
0
Control
Palm
D
Centre time
Time (%)
15
10
5
0
*
Control
Palm
E
Baseline preference
Preference (%)
100
80
60
40
20
0
Control
Palm
F
Sucrose preference
Preference (%)
100
80
60
40
20
0
***
Control
Palm
G
Swim velocity
Velocity (cm/s)
10
8
6
4
2
0
Control
Palm
H
Immobility time
Time (%)
30
20
10
0
Mann-Whitney p=.06
Control
Palm

Figure 3.

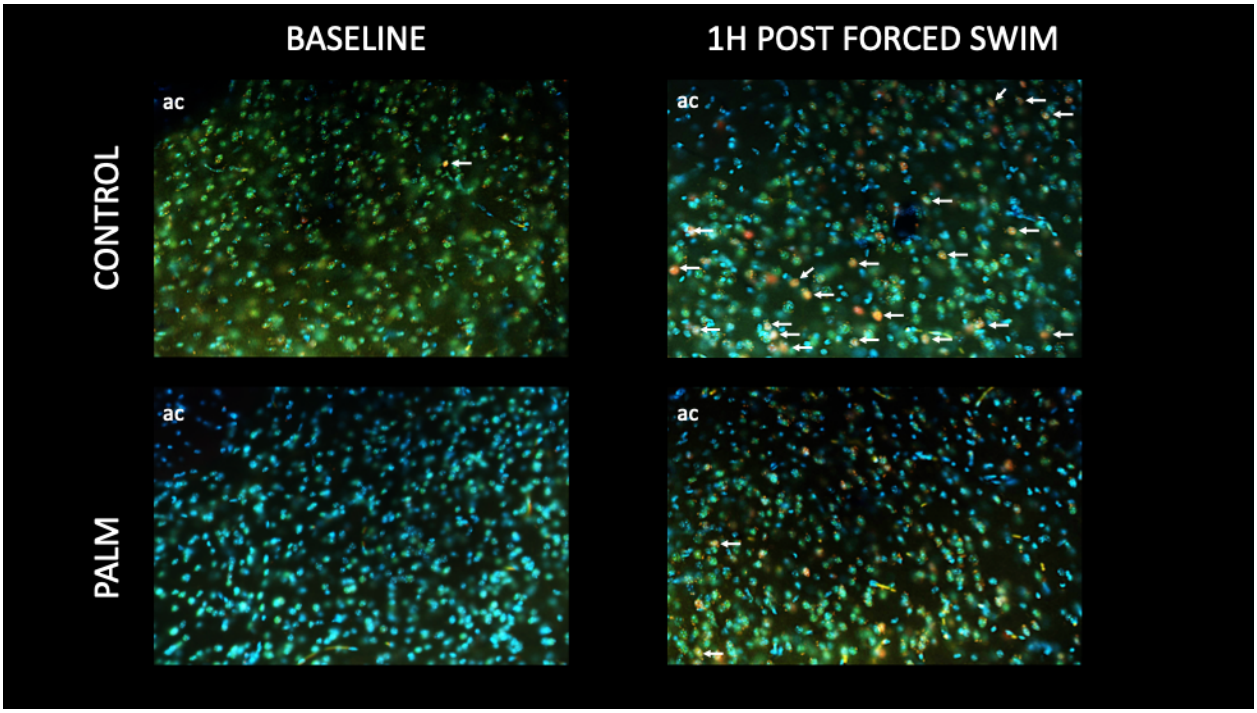


Figure 4.

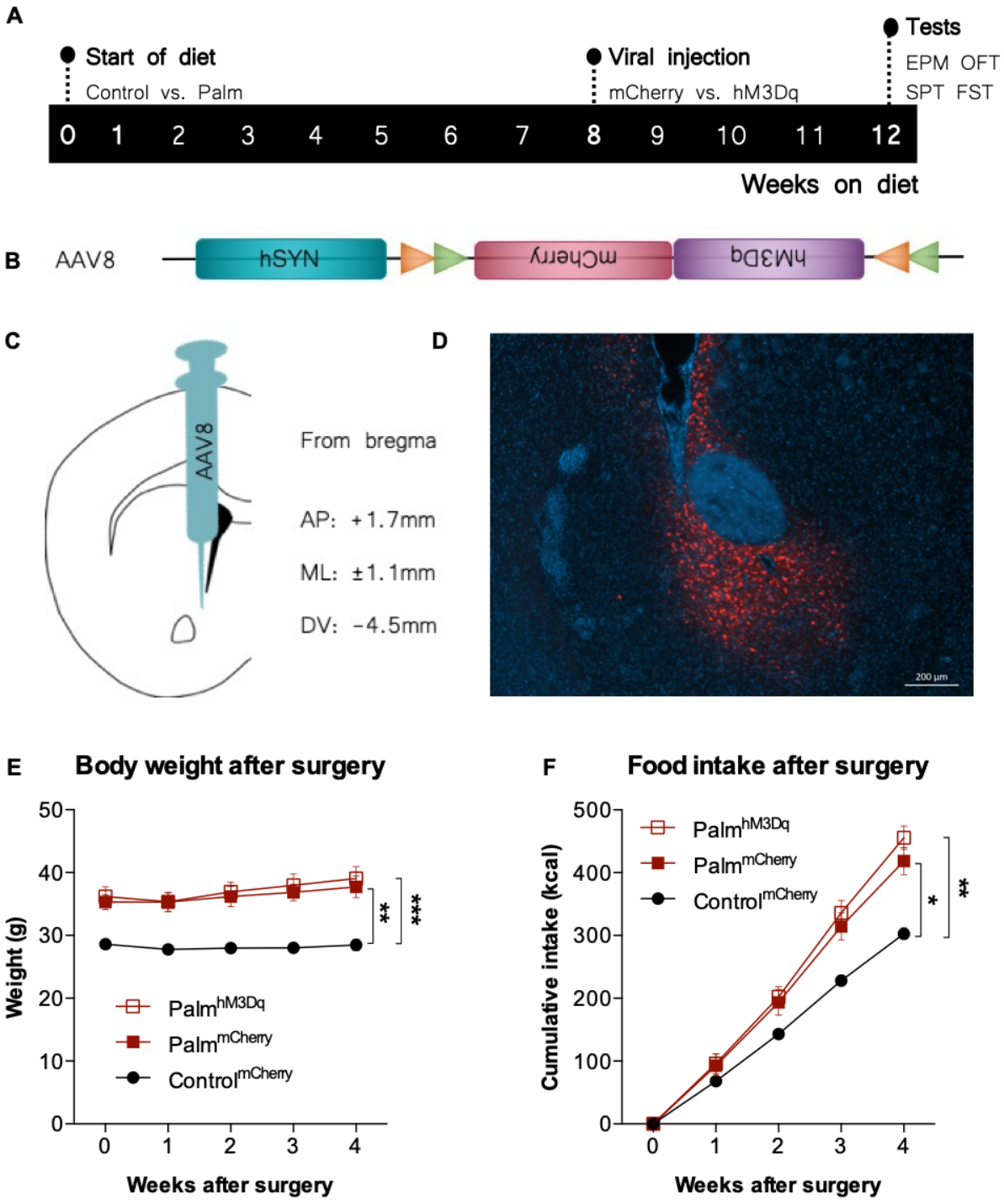

A
Start of diet
Control vs. Palm
Viral injection
mCherry vs. hM3Dq
Tests
EPM OFT
SPT FST
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
Weeks on diet
B
AAV8
hSYN
mCherry
hM3Dq
C
AAV8
From bregma
AP: +1.7mm
ML: ±1.1mm
DV: -4.5mm
D
200 μm
E
Body weight after surgery
Weight (g)
Weeks after surgery
Palm hM3Dq
Palm mCherry
Control mCherry
F
Food intake after surgery
Cumulative intake (kcal)
Weeks after surgery
Palm hM3Dq
Palm mCherry
Control mCherry

Figure 5.

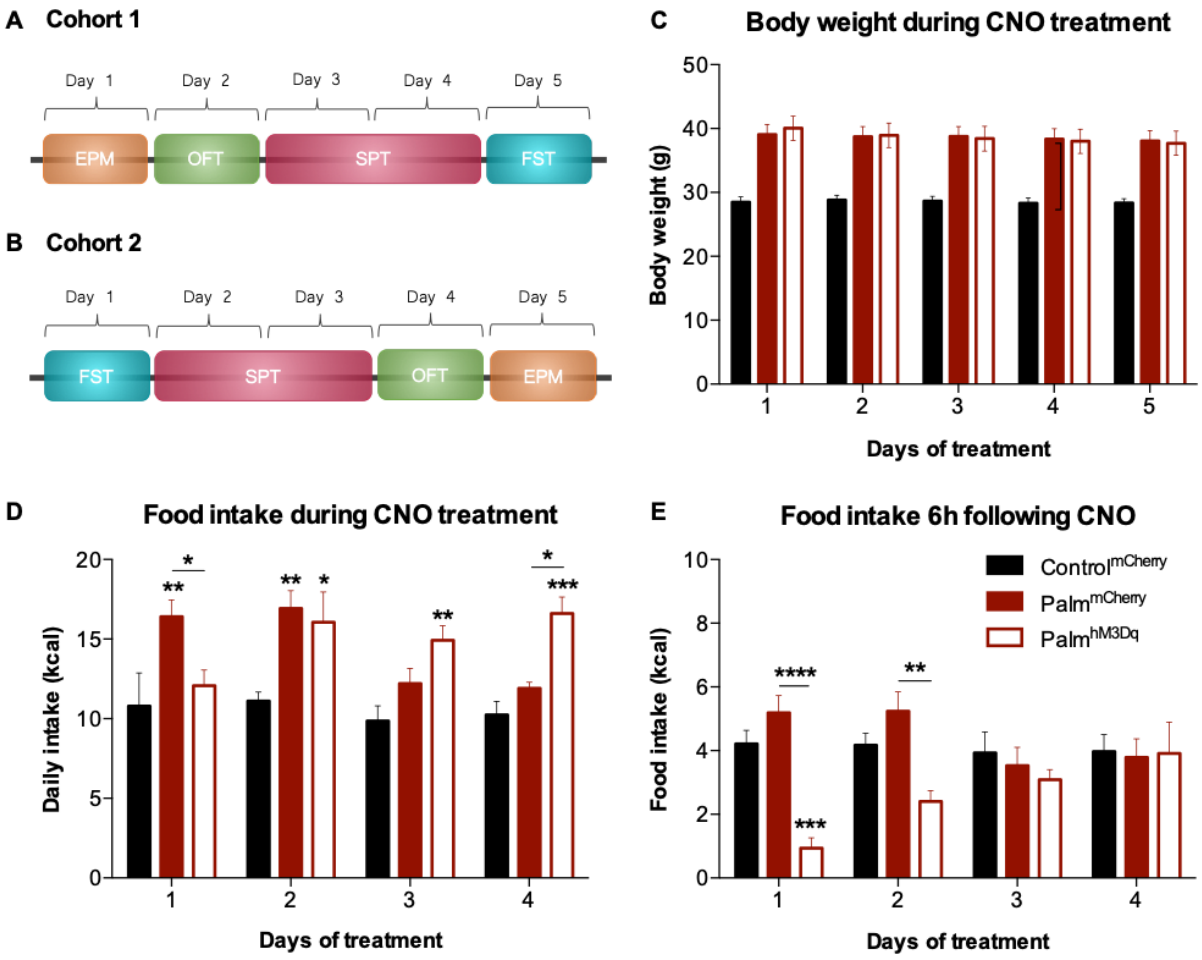

A Cohort 1
Day 1
Day 2
Day 3
Day 4
Day 5
EPM
OFT
SPT
FST
B Cohort 2
Day 1
Day 2
Day 3
Day 4
Day 5
FST
SPT
OFT
EPM
C
Body weight during CNO treatment
Body weight (g)
Days of treatment
D
Food intake during CNO treatment
Daily intake (kcal)
Days of treatment
E
Food intake 6h following CNO
Control mCherry
Palm mCherry
Palm hM3Dq
Food intake (kcal)
Days of treatment

Figure 6.

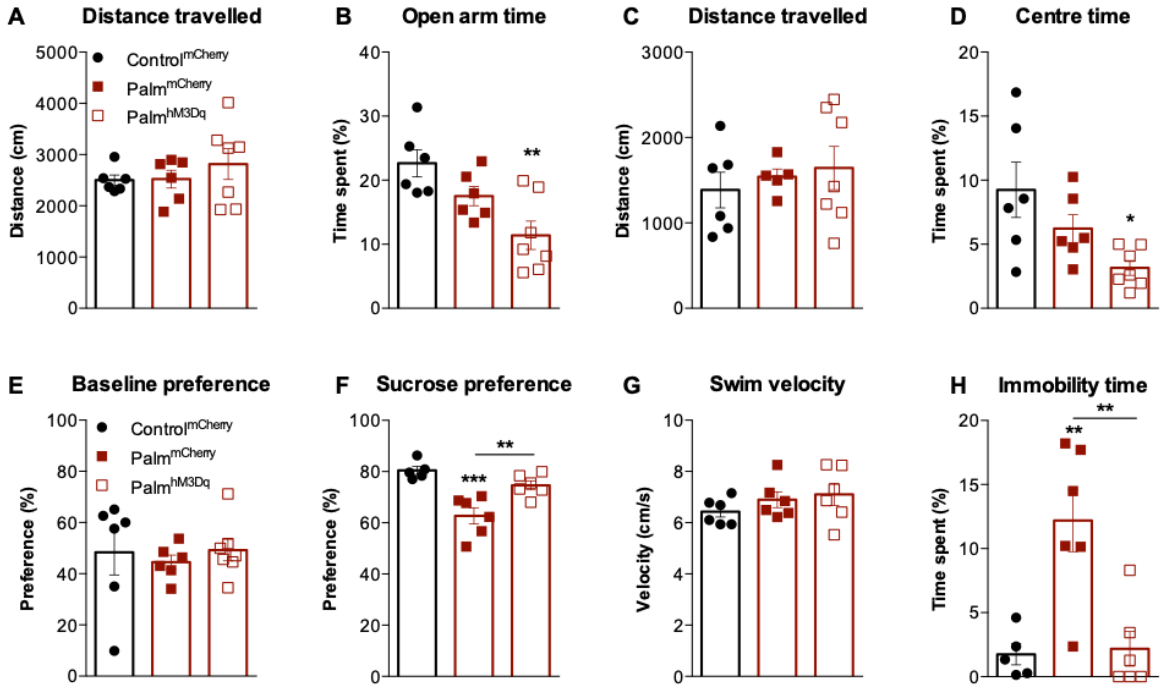
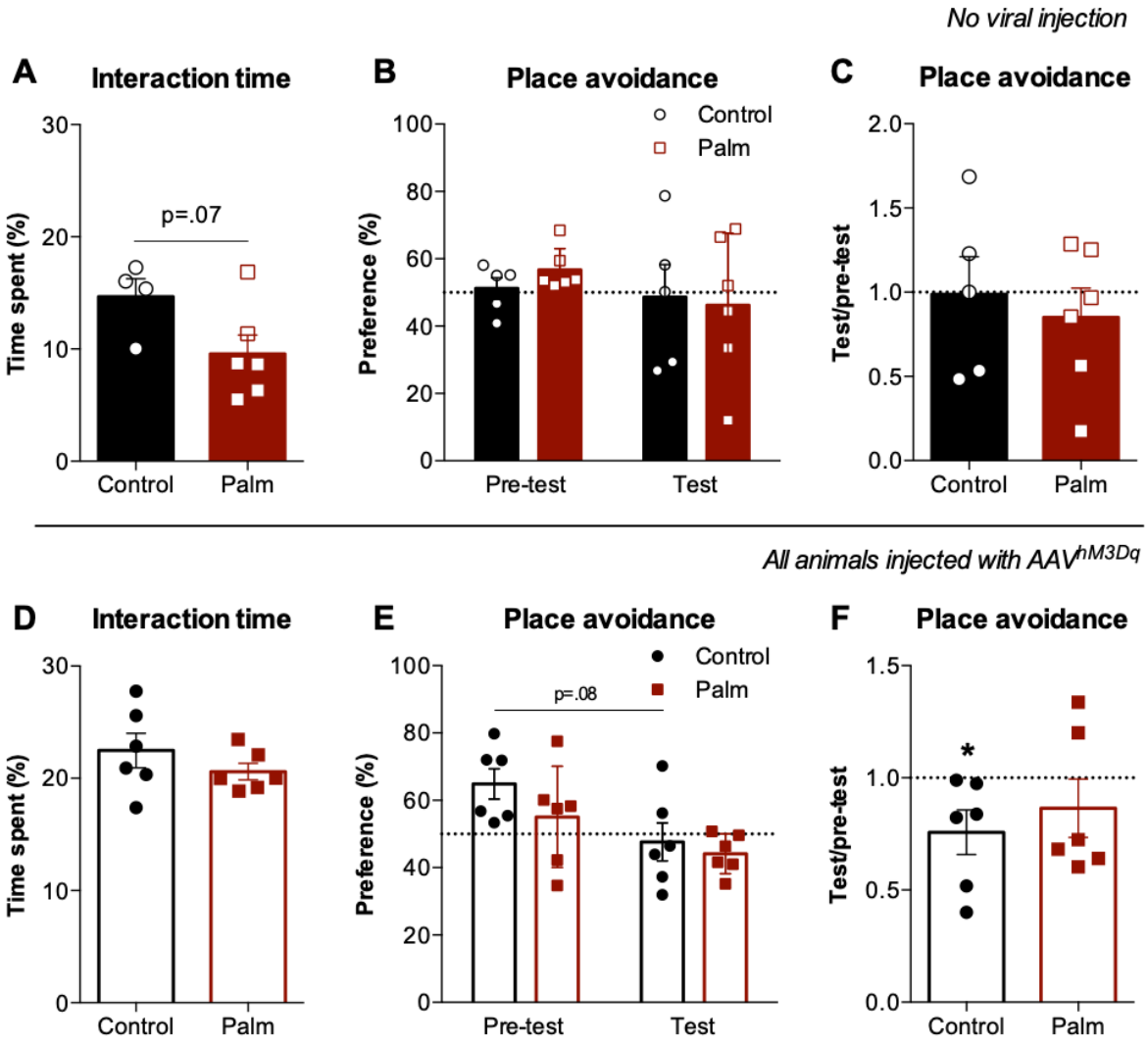

A
Distance travelled
Distance (cm)
Control mCherry
Palm mCherry
Palm hM3Dq
B
Open arm time
Time spent (%)
**
C
Distance travelled
Distance (cm)
D
Centre time
Time spent (%)
*
E
Baseline preference
Preference (%)
F
Sucrose preference
Preference (%)
**
***
G
Swim velocity
Velocity (cm/s)
H
Immobility time
Time spent (%)
**
**

Figure 7.


No viral injection
A
Interaction time
Time spent (%)
30
20
10
0
p=.07
Control
Palm
B
Place avoidance
Preference (%)
100
80
60
40
20
0
Control
Palm
Pre-test
Test
C
Place avoidance
Test/pre-test
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Control
Palm
All animals injected with AAVhM3Dq
D
Interaction time
Time spent (%)
30
20
10
0
Control
Palm
E
Place avoidance
Preference (%)
100
80
60
40
20
0
p=.08
Control
Palm
Pre-test
Test
F
Place avoidance
Test/pre-test
1.5
1.0
0.5
0.0
*
Control
Palm

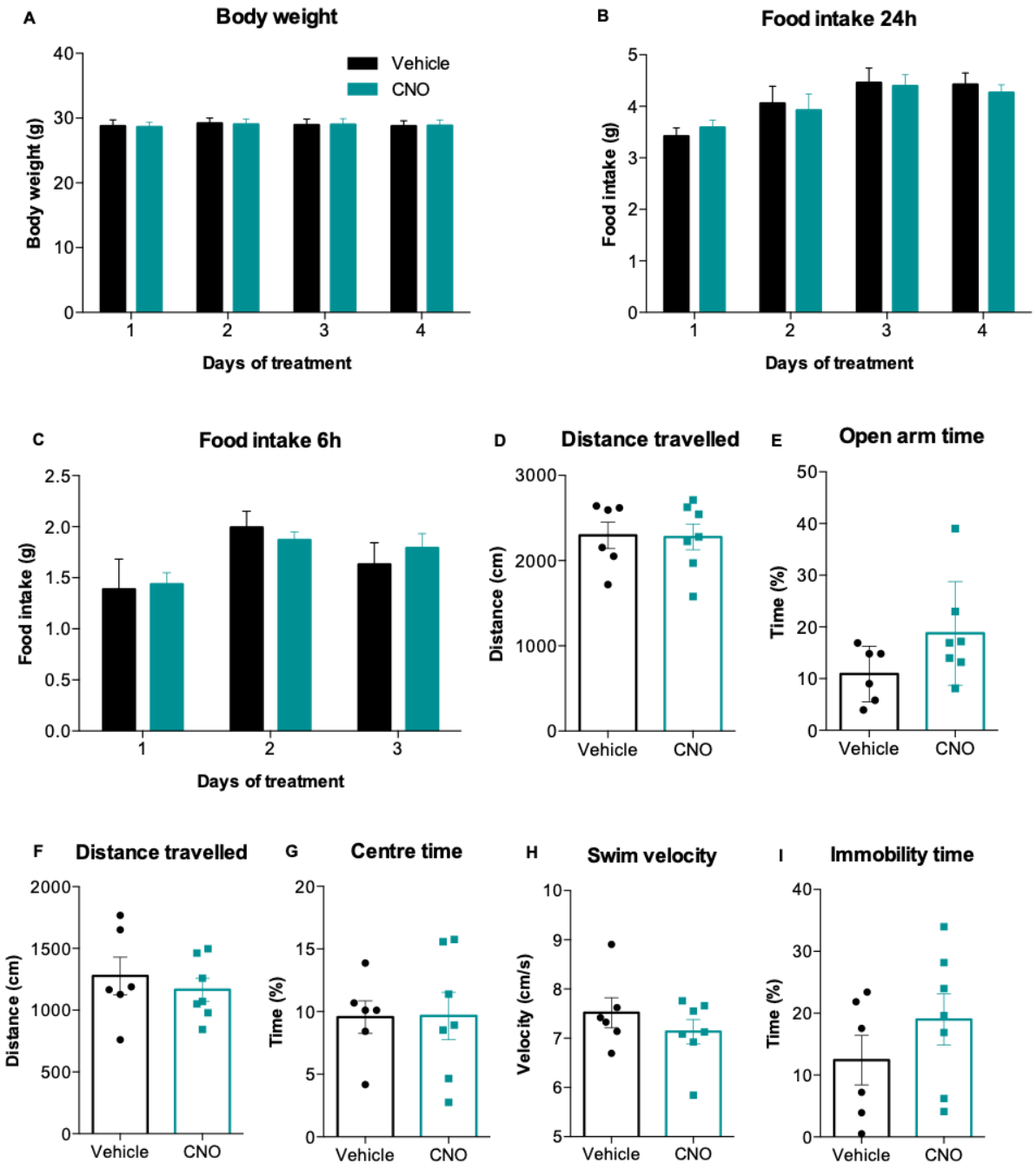


Figure S1. Validation of CNO (1mg/kg) versus vehicle effect in naïve non-virually injected mice.
(A) Daily body weight and (B) food intake over 4 days of treatment. (C) Daily food intake within 6 first hours following injection. (D) Total distance travelled in and (E) time spent in open arms of the elevated-plus maze (EPM). (F) Total distance travalled in and (G) time spent in the centre of the open field (OFT). (H) Mean velocity during the first 2 minutes and (I) time spent immobile during the remaining 4 minutes of the forced swim test (FST). 2-way ANOVA (A-C) and unpaired-t-test (D-I); n=6/group.

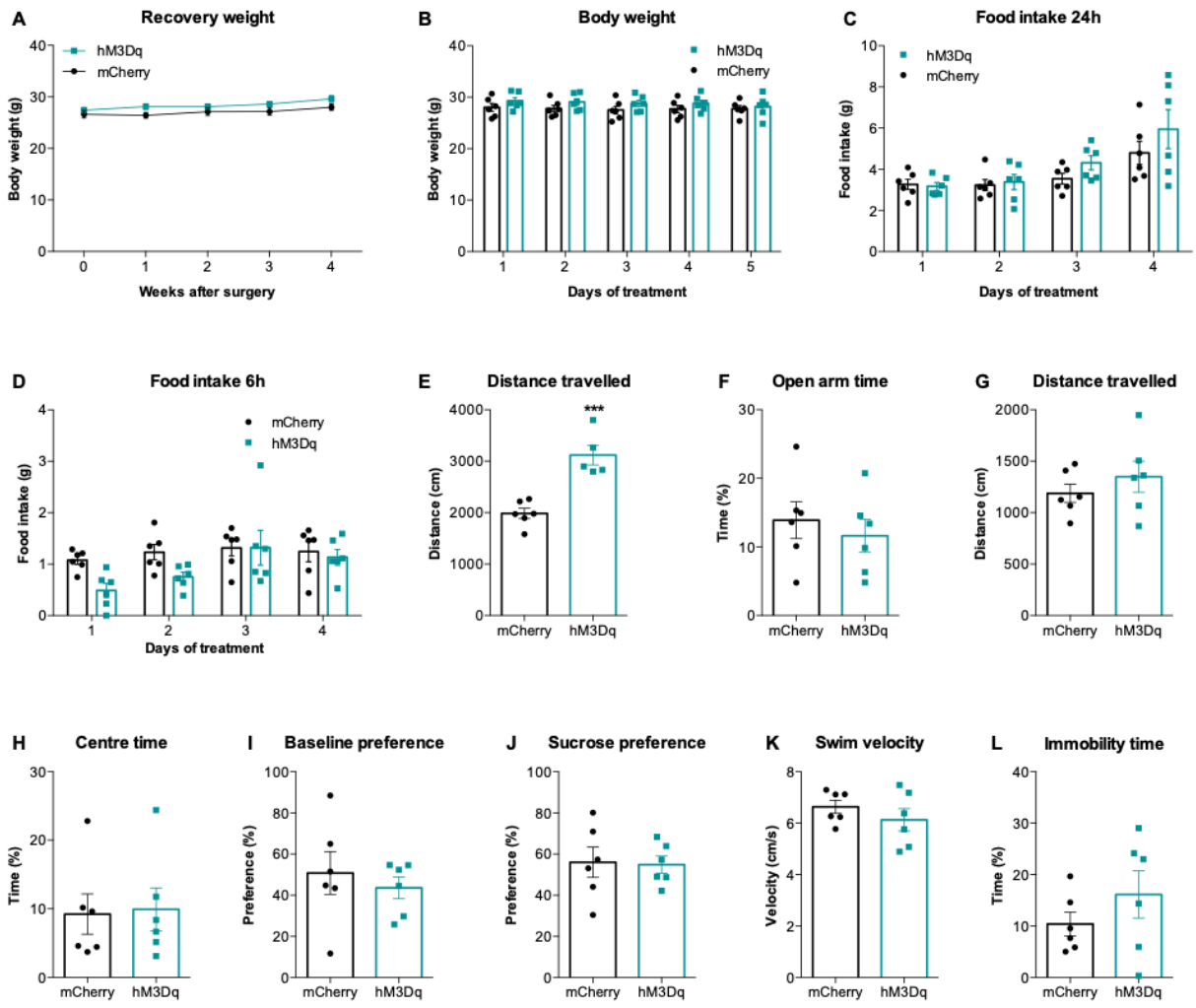


Figure S2. Validation of effect of CNO (1mg/kg) in naïve virally-injected mice.
(A) Weekly body weight after stereotaxic surgery. (B) Daily body weight and (C) food intake over days of treatment. (D) Daily food intake within 6 first hours following injection. (E) Total distance travelled in and (F) time spent in open arms of the elevated-plus maze (EPM). (G) Total distance travelled in and (H) time spent in the centre of the open field (OFT). Preference (I) between 2 water bottles and (J) for sucrose bottle. (K) Mean velocity during the first 2 minutes and (L) time spent immobile during the remaining 4 minutes of the forced swim test (FST). 2-way ANOVA (A-D) and unpaired t-test (E-L); n=6/group. ***p<0.005

3.4. Quatrième article

GLP-1/dexamethasone inhibits food reward without inducing mood and memory deficits in mice.

Léa Décarie-Spain∗[1], BSc, Alexandre Fisette∗[2], PhD, Zhimeng Zhu[3], PhD, Bin Yang[3,4], PhD, Richard D. DiMarchi[3,4], PhD, Matthias H. Tschöp[2,5], MD PhD, Brian Finan[3,4], PhD, Stephanie Fulton[1#], PhD, Christoffer Clemmensen[6#], PhD

[1]Montreal Diabetes Research Centre & CHUM Research Centre, University of Montreal, Quebec, Canada

[2]Institute for Diabetes and Obesity, Helmholtz Diabetes Center (HDC), Helmholtz Zentrum München & German Center for Diabetes Research (DZD), München-Neuherberg, Germany

[3]Department of Chemistry, Indiana University, Bloomington, IN, USA.

[4]Novo Nordisk Research Center Indianapolis, Indianapolis IN, USA

[5]Division of Metabolic Diseases, Department of Medicine, Technische Universität München, Munich, Germany.

[6]Novo Nordisk Foundation Center for Basic Metabolic Research, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark

∗These authors contributed equally

[#]Correspondence:

Christoffer Clemmensen; Novo Nordisk Foundation Center for Basic Metabolic Research, Blegdamsvej 3B, DK-2200 Copenhagen N, Denmark, Email: chc@sund.ku.dk

Stephanie Fulton; CRCHUM, 900 St-Denis, Montreal, QC, Canada, H1X 0A9, Email: stephanie.fulton@umontreal.ca

References: 50

Figures: 4

Tables: 2 (1 supplementary)

Running title: GLP-1/dexamethasone inhibits food reward

ABSTRACT

Background: Pharmacotherapies targeting motivational aspects of feeding and palatable food reward, while sparing mood and cognitive function, represent an alluring approach to reverse obesity and maintain weight loss in an obesogenic environment. A novel glucagon-like peptide-1/dexamethasone (GLP-1/Dexa) conjugate, developed to selectively activate glucocorticoid receptors in GLP-1 receptor-expressing cells was previously been shown to decrease food intake and lower body weight in obese mice. Here, we investigate if this novel pre-clinical drug candidate modulates the rewarding properties of food and whether GLP-1/Dexa affects behavioral indices of mood and memory.

Methods: C57Bl6 mice treated with the GLP-1/Dexa conjugate, GLP-1 or vehicle lever-pressed for HFHS food rewards in an operant task. Alterations in food-motivated behavior were also assessed following a diet withdrawal manipulation (switch to chow) in mice on a HFHS diet. The effects of repeated GLP-1/Dexa conjugate, GLP-1 or vehicle treatment on free-feeding intake, body weight, anxiodepressive behaviors, memory and mRNA expression of reward-relevant markers in the nucleus accumbens were also evaluated in mice fed a HFHS diet for 12 weeks.

Results: Mice treated with GLP-1 displayed a transient (4h) reduction in their motivation to lever press for HFHS reward, whereas treatment with equimolar doses of GLP-1/Dexa delivered a superior and sustained (20h) suppression of food-motivated behavior. GLP-1/Dexa also inhibited food reward following withdrawal from the HFHS diet. These benefits coincided with related transcriptional changes of dopaminergic markers in the nucleus accumbens. Importantly, repeated GLP-1/Dexa treatment during a HFHS diet caused weight loss without affecting anxiodepressive behavior and memory.

Conclusion: Via its actions to blunt the rewarding effects of palatable food without affecting mood and cognition, GLP-1-directed targeting of dexamethasone may serve as a promising and safe anti-obesity strategy.

Keywords: Obesity, food reward, appetite, GLP-1, co-agonist

1. INTRODUCTION

The prevalence of obesity continues to escalate worldwide and, in less than 40 years, obesity rates have doubled in more than 70 countries (Collaborators et al., 2017). Although the etiology of obesity is still incompletely understood, it is clear that ubiquitous access to palatable and energy-dense foods promotes overeating and excess body fat accumulation (Schwartz et al., 2017). Accordingly, therapies targeting hedonic and rewarding aspects of food intake might yield significant pharmacological efficacy to slow and/or reverse human obesity (Clemmensen et al., 2017). Importantly, in the pursuit of therapies targeting behavioral aspects of eating, it is vital to ensure that weight loss efficacy is disconnected from off-target neuropsychiatric events.

Long acting glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analogs produce significant weight loss in rodents and humans by suppressing food intake (Pi-Sunyer et al., 2015; Sisley et al., 2014). In line with the traditional understanding of energy homeostasis regulation, the effects of GLP-1 receptor (GLP-1R) signaling on feeding has predominantly been ascribed to receptor populations expressed in the hypothalamus and in the hindbrain (Hayes et al., 2011; Secher et al., 2014; Turton et al., 1996). However, GLP-1Rs are widely distributed across the CNS, including in regions known to be critical for feeding behavior (Heppner et al., 2015). In agreement, there is evidence to suggest that GLP-1R agonism alleviates obesity, in part, by reducing food reward (Alhadeff et al., 2012; Dickson et al., 2012; Dossat et al., 2011; Farr et al., 2016; ten Kulve et al., 2015; van Bloemendaal et al., 2015). However, the maximal efficacy of next generation GLP-1R agonists appears to be finite and limited to nearly ~10-15% body weight loss (O'Neil PM, 2018), and maximal dose limited due to adverse gastrointestinal events and elevations in heart rate (Dossat et al., 2011). Consequently, researchers are focusing on therapeutic strategies that can potentiate GLP-1 pharmacology without compromising safety (Finan et al., 2015).

Striving to boost the weight-lowering efficacy of GLP-1R agonism, we developed a pharmacological combinatorial approach based on the vision that certain peptide hormones might be suitable for selective tissue targeting of small molecules that provide independent, yet complementary metabolic benefits (Tschop et al., 2016). In a proof-of-principle study, GLP-1 was used as a shuttle to deliver estrogen actions to the CNS (Finan et al., 2012). More recently, we expanded this technology to couple GLP-1 with the glucocorticoid receptor agonist, dexamethasone (GLP-1/Dexa) (Quarta et al., 2017). GLP-1-directed targeting of glucocorticoid activity potently reverses diet-induced obesity and reverses central and systemic inflammation in mice, without exhibiting side-effects related to broad glucocorticoid signaling such as HPA axis inhibition. Notably, the anti-obesity effect of the GLP-1/Dexa conjugate was superior when the animals were maintained on a palatable high-fat, high sugar (HFHS) diet, suggesting that molecular integration of GLP-1 and glucocorticoid pharmacology might reverse obesity by altering certain aspects of food reward.

To test this hypothesis, we investigated the ability of GLP-1/Dexa to decrease food-motivated behavior. Given the link between weight loss pharmacotherapy and neuropsychiatric side effects (Dietrich et al., 2015), which is particularly evident with drugs affecting appetite (Dietrich and Horvath, 2012), we also assessed if chronic treatment with GLP-1/Dexa affected anxiodepressive behavior and memory. In comparison to GLP-1R mono-agonism, the GLP-1/Dexa conjugate displayed a superior impact on the long-term suppression of food-motivated behavior, without compromising certain mood-relevant and cognitive functions. Notably, GLP-1/Dexa counteracted the motivation to work for palatable high-calorie foods despite inducing a chronic negative energy balance, underscoring that this pharmacological approach might be particularly suitable for weight loss therapy in an obesogenic environment characterized by high food reward.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 Animals and diets

All procedures involving the use of animals were approved by the CRCHUM Animal Care Committee in accordance with Canadian Council on Animal Care guidelines. Eight weeks old C57BL/6J male mice from Jackson Laboratories were single-housed under reverse cycle (lights off at 10am) in environmentally controlled rooms (22-24°C) with ad libitum access to water and food. Mice were fed standard chow or high-fat, high sugar (HFHS) diet (D12331; Research Diets, New Brunswick, NJ. 58% kcal from fat, 25.5% kcal from carbohydrates, and 16.4% kcal from protein) as indicated.

2.2. In vivo pharmacology

The GLP-1/Dexa conjugate and its GLP-1 balanced analog were generated as previously described (Quarta et al., 2017). Of note, the GLP-1 analog (also used as the peptide vector for the Glp-1/Dexa conjugate) was shown to retain full potency at GLP-1 receptor and was protected from DPP-IV-mediated degradation (Finan et al., 2012). This GLP-1 analogue, referred to herein simply as "GLP-1 analogue," has an aminoisobutyric acid at position 2 to provide protection from dipeptidyl peptidase-4 (DPP-IV) mediated degradation, a glutamic acid substitution at position 16 to support receptor potency, and the C-terminal extension derived from the GLP-1 paralog Exendin-4 to support aqueous solubility and serve as a spacer to the cysteine residue to which the dexamethasone moiety is conjugated. The "GLP-1 analogue" is the free cysteine equivalent of the GLP-1/Dexa conjugate. Mice were treated with subcutaneous injections of the different compounds (100 nmol/kg of weight in a volume of 5 uL/g of body weight) or vehicle (saline), either 4h (30 mins prior to the onset of the dark cycle) or 20h (in the second half of the light cycle)

before behavioral testing, to respectively assess acute and prolonged effects. For long-term treatment, mice were injected subcutaneously daily for 11 days in the second half of the light cycle.

2.3 Chronic treatment study and pair-feeding

All 30 mice were fed a HFHS diet for 14 weeks. After the 12th week of diet, body weight-paired groups were formed within HFHS-fed mice and treated daily for 11 days with either GLP-1/Dexa, GLP-1 analogue alone, or vehicle. To dissociate the effects of food restriction from the benefits of GLP-1/Dexa, an additional group of pair-fed mice (n=10) was added to the long-term study. During the last 2 weeks of the long-term study, these HFHS-fed mice were food-restricted proportionally to the daily HFHS diet intake of mice receiving daily injections of GLP-1/Dexa (average of -32% of their daily caloric intake).

2.4 Operant conditioning

Mice (n=12) were trained to lever-press for 20mg HFHS food pellets (Bio-Serv, Frenchtown, NJ, USA) on a progressive ratio (PR) schedule as described previously (Sharma et al., 2012). Briefly, chow-fed mice were food-restricted to maintain 90% of their body weight and trained daily in an operant task to press one of two levers (active versus inactive) to receive a HFHS pellet over the course of 5 weeks (2 weeks in fixed ratio 1 (FR1), 1 week in FR1 with a 5 secs time-out, 1 week in FR5 and 1 week in progressive ratio (PR). Once stable responding in the PR task was achieved (<20% variability in breakpoint over 3 consecutive days), all mice were provided with ad libitum access to food and tested until responding stabilized.

To evaluate the effects of the GLP-1/Dexa conjugate, GLP-1 analogue and vehicle control on food reward, a within-subject design was employed with random and balanced delivery of each drug over a 3-week period. The impact of each drug on food motivated responding was assessed over 1 week, consisting of baseline testing on Day 1, followed by a 3-day period of treatment testing and then a 3-day “washout” period during which mice returned to their former body weight. This 3-week protocol was carried out twice, first to test mice 4-h post-injection and then to test mice 20-h post-injection.

Mice previously trained for PR in the operant task were fed a HFHS diet for 6 weeks and transitioned to standard chow diet to induce a state of palatable dietary withdrawal which is reported to last for at least 2 weeks (Sharma et al., 2013). The ability of GLP-1/Dexa to impact food motivation in context of enhanced food craving, was assessed by measuring breakpoint ratio values after diet withdrawal (switch to chow) relative to baseline values during the 6th week of HFHS diet regimen. We used a within-subject design with counter-balanced treatment presentation.

2.5 Behavioral testing

Mice from the long-term study were subjected to a series of behavioral assessments on days 6-9 of the 11-day treatment period. All tests occurred at the end of the dark phase and were carried out one day apart following the sequence listed below.

2.5.1 Forced swim test (FST)

Animals were placed in a water-filled recipient (1600mL of water at 23 ± 2□C) for 6 mins, as described previously (Sharma et al., 2013). The proportion of immobility versus swimming time during the last 4 mins of the test was used to assess behavioral despair, while velocity during the first 2 mins was measured to screen for locomotor deficits.

2.5.2 Elevated-plus maze (EPM)

Mice were placed in the center of an elevated plus-shaped platform (Med Associates, Inc., St Albans, VT, USA) and left free to explore for 5 mins, as described previously (Sharma & Fulton). The proportion of entries into the open arms of the maze relative to the close ones and the center region was used as an indicator of anxiety-like behavior.

2.5.3 Open field test (OFT)

Animals were placed into the corner of a squared arena (40x40x40cm) and left free to explore for 5 mins, as described previously (Sharma and Fulton, 2013). The proportion of entries into the center region relative to the periphery and wall areas was used as an indicator of anxiety-like behavior. Total distance travelled was also measured to screen for locomotor deficits.

2.5.4 Novel object recognition (NOR)

Mice were placed in the same arena used for the OFT and 2 identical objects were presented for 5 mins. Mice went back in their respective home cage and 1h later, were put back in the arena where one of the objects was replaced by a new one. The proportion of time spent investigating the novel object relative to the old one was used as an indicator of recognition memory. Mice had to reach a criterion of 10 secs of investigation per trial to be included.

2.5.5 Data analysis

The FST, EPM and OFT were video recorded and analyzed with the EthoVision software. The NOR trials were video recorded and manually scored by timing investigation for each object. Investigation was defined as sniffing the object.

2.6 Quantitative PCR

One month following their last treatment, the same animals used for operant tasks and withdrawn from HFHS diet were sacrificed by decapitation under isoflurane 20h following a single injection with GLP-1/Dexa or vehicle. Brains were harvested and snap frozen in isopentane. Tissue punches of NAc (core and shell combined) were obtained from frozen coronal sections (200mm) and RNA extracted using TRIzol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). cDNA was synthetized from 700ng of total RNA using random hexamers and M-MLV Reverse Transcriptase (Invitrogen). Real-time PCR was performed using the Rotor Gene SYBR Green PCR kit (Qiagen). Primers were designed using BLAST (U.S. National Library of Medicine) and synthesized by Integrated DNA Technologies, Inc. based on the sequences listed in Tab le 1. Data was extrapolated from standard curves and normalized to the housekeeping gene HPRT. Mean ± standard error of mean values for the co-agonist group are expressed in fold changes relative to vehicle normalized at 1.0.

2.7 Statistical analyses

Data were analyzed with GraphPad Prism 6 and are presented as mean ± standard error of the mean (SEM). To compare two groups, t-test were used, while one-way ANOVA (with repeated measures for within-subject design studies) with Bonferroni post-hoc test was used to compare three or more groups. A two-way ANOVA with repeated measures and Bonferroni post-hoc test was employed to assess the interaction of the GLP-1/Dexa conjugate treatment and time. Gene expression levels in the nucleus accumbens following injection of GLP-1/Dexa or vehicle were compared with an unpaired t-test. Fold change for food motivation following withdrawal and preference in the novel object recognition task were analyzed with a one sample t-test. Criterion for significance was set to $p<0.05$ in all comparisons.

3. RESULTS

3.1 Food-motivated behavior is reduced by GLP-1/Dexa

We first assessed the effects of a short-term 3-day treatment of GLP-1/Dexa on food-motivated behavior using both vehicle and a matched GLP-1 analog (herein referred to as “GLP-1 analogue”) as controls in a within-subject design experiment, with a washout period between the randomly assigned treatments that was sufficient to allow the mice to fully recover their basal body weight (Fig. 1a). A 3-day period of daily injections with GLP-1/Dexa induced a superior decrease in body weight compared to both vehicle and GLP-1 analogue-treated animals (-6.60% for GLP-1/Dexa versus +0.93% and -1.48% for vehicle and GLP-1 analogue, $p<0.001$ for both and $p=0.076$ for GLP-1 versus vehicle, Fig. 1b). Over the 3-day period, daily food intake was reduced by both GLP-1/Dexa and GLP-1 analogue relative to vehicle (-4.3kcal and -3.0kcal, respectively, $p<0.005$ for both, Fig. 1c). To examine the acute effect of GLP-1/Dexa on the motivation to work for palatable food reward, mice were exposed to the lever-press paradigm 4h after their daily injection. Both GLP-1/Dexa and GLP-1 analogue potently reduced the breakpoint ratio relative to

vehicle treatment (-70%, 73%, respectively, $p<0.01$ for both, Fig. 1d), indicative of a strong suppression of food-motivated behavior. To assess whether GLP-1/Dexa and GLP-1 analogue effects were persistent over time, we repeated the experimental paradigm and exposed the animals to the lever-press paradigm 20h after their daily injection. In this context, GLP-1 analogue failed to influence food motivation, whereas the efficacy of GLP-1/Dexa was retained and significantly superior to both vehicle and GLP-1 control treatments (-45%, $p<0.01$ relative to vehicle, -30%, $p<0.01$ relative to GLP-1, (Fig. 1e). Of note, the baseline breakpoint ratios and preference for active lever did not vary across treatments or in time (Table S1). In summary, these experiments highlight a superior ability of the conjugate to suppress food motivated-behavior.

3.2 GLP-1/Dexa alleviates increased motivation for food reward following high-fat, high sugar diet withdrawal

Dieting leads to a well-described increased motivation toward palatable food. We therefore evaluated whether the effects of GLP-1/Dexa on food-motivated behavior measured previously could dampen the motivation for food reward after withdrawal from a HFHS diet (Fig. 2a). Mice receiving a short-term 3-day treatment of GLP-1/Dexa during the dietary withdrawal period lost more weight than when treated with vehicle ($p<0.0001$ on days 1, 2 and 3, Fig. 2b), an effect associated with vastly reduced food intake ($p<0.0001$ on days 1, 2 and 3, Fig. 2c). Importantly, whereas vehicle treatment was linked with high motivation to work for sucrose after HFHS withdrawal in a lever-pressing paradigm (as demonstrated via a significant increase in breakpoint ratio values relative to pre-withdrawal measurements, 1.85, $p<0.05$), GLP-1/Dexa treatment counteracted this surge in motivation (breakpoint ratio relative values, 1.02, p=N.S.) (Fig. 2d). The ability of GLP-1/Dexa to alleviate diet-induced food cravings despite being in a highly negative energy state underlines the potential of the compound for counteracting weight regain.

3.3 Reward-related gene expression signature in the NAc is modulated by GLP-1/Dexa

Given the effects of GLP-1/Dexa on food motivation were observed after acute administration, we studied the transcriptional signature of dopamine receptors and enzymes involved in dopamine synthesis, which are markers associated with canonical food reward in the nucleus accumbens (NAc). A single injection of GLP-1/Dexa reduced NAc gene expression of the dopamine receptor 1 (-40%, $p<0.01$), tended to lower levels of the short isoform of the dopamine receptor 2 ($p=0.09$), and decreased expression of the long isoform of the dopamine receptor 2 (-46.8% relative to vehicle, $p<0.05$) (Fig. 3). These findings were not accompanied by changes in gene expression for the rate-limiting enzyme for dopamine synthesis tyrosine hydroxylase or the dopamine transporter. As the opioid system tightly interacts with dopamine signaling in the NAc, opioid receptor gene expression was also investigated. Treatment with GLP-1/Dexa specifically decreased gene expression of the kappa opioid receptor (-31.0% relative to vehicle, $p<0.05$), while expression levels of the delta and mu receptors remained unchanged. Finally, glucocorticoid (GC) receptor expression was decreased by GLP-1/Dexa conjugate treatment (-13.6% relative to vehicle, $p<0.05$), while no differences

were observed for the mineralocorticoid receptor. Altogether, these data suggest that systemic injection of GLP-1/Dexa can rapidly affect the expression of reward-related genes in the NAc.

3.4 GLP-1/Dexa promotes greater weight loss without impairing cognitive or affective functions.

High-fat feeding induces anxiodepressive-behaviors and cognitive impairments partly due to alterations in the CNS reward system (Sharma and Fulton, 2013; Volkow et al., 2013). In addition, anti-obesity therapies affecting the rewarding effects of food can also provoke deleterious mood and cognitive deficits (Binkley and Knowles, 2002; Taflinski and Chojnacka, 2000; Topol et al., 2010). In order to evaluate the neuropsychiatric safety of GLP-1/Dexa in the context of its anti-obesity properties, we exposed DIO mice to chronic treatment with GLP-1/Dexa while exposing them to a battery of behavioral tests (Fig. 4a).

Both GLP-1/Dexa and GLP-1 analogue elicited a reduction in obesity relative to vehicle-treated HFHS -fed controls, replicating relative efficacy of each compound as was previously published (Quarta et al., 2017). While 11-day treatment with GLP-1 analogue reduced body weight by 5.7% ($p=0.05$), GLP-1/Dexa induced a 11.3% weight loss ($p<0.0001$), and thus was significantly superior to GLP-1 analogue alone ($p<0.05$) (Fig. 4b-c). Although vehicle-treated mice that were pair-fed to GLP-1/Dexa-treated mice induced a significant weight loss (-8.5%, $p<0.001$), it did not reach the efficacy of GLP-1/Dexa treatment, thereby highlighting the food intake-independent beneficial effect of the compound. The GLP-1/Dexa conjugate had a superior effect on lowering overall caloric intake relative to GLP-1 analogue and vehicle treated mice (Fig. 4d-e).

GLP-1/Dexa had no impact on anxiety-like behavior as assessed via several behavioral tests performed during days 6-9 of the treatment period. While GLP-1/Dexa did not influence depressive behavior relative to vehicle treatment, immobility time in the FST was enhanced by pair-feeding relative to GLP-1 analogue and GLP-1/Dexa treatments ($p<0.05$). This indicates greater levels of behavioral despair (Fig. 4f), an effect not due to change in swimming ability as evidenced by unaltered velocity (Fig. 4g). No differences were found in frequency of entries into the open arms of the EPM (Fig. 4h), or in the center zone of the OFT (Fig. 4j). In addition, overall distance travelled was unchanged in both the EPM (Fig. 4i) and the OFT (Fig. 4k). Only pair-fed animals displayed increased preference for the novel object in the NOR (Fig. 4l) suggesting a reversal of cognitive deficits induced by HFHS diet. However, these results show that GLP-1/Dexa can potently induce weight loss without impairing cognitive or affective functions.

4. DISCUSSION

Encouraged by the idea that pharmacological targeting of food reward in combination with canonical anorectic and thermogenic pathways will provide superior efficacy to reverse obesity, we investigated the effects of a novel GLP-1/Dexa conjugate on food-motivated behaviors in mice. We demonstrate that GLP-1/Dexa has a potent and sustained effect on inhibiting palatable food reward in lean mice, and treatment counteracts the

heightened food motivation of obese mice switched from a palatable high-calorie diet to a low-calorie diet. Finally, we establish that the weight-lowering benefits of GLP-1/Dexa are dissociated from any adverse effects on memory and anxio-depressive behavior.

One of the central challenges in obesity treatment is that the bulk of individuals eventually regain most of the lost weight. It has been argued that weight loss and weight loss maintenance may be dissimilar biological challenges that require different pharmacology (Clemmensen et al., 2017). Targeted delivery of nuclear hormones may be an unconventional strategy to induce long-lasting structural changes that could counter the biological drive that favors weight regain. However, whether or not such a mechanism explains the sustained effect of GLP-1/Dexa to inhibit food reward requires further investigations.

As obesity is linked to an abundance of palatable food options, laboratory high-fat feeding and DIO models have a number of limitations with respect to mimicking the complexities of human overeating (Johnson and Wardle, 2014; Kleinert et al., 2018). Notably, the ability of GLP-1R agonism to inhibit food intake in rodents may be facilitated by the consistent composition of the diet (Mella et al., 2017). To fully unmask the capacity of GLP-1/Dexa to inhibit feeding and food reward it would be advantageous to use cafeteria-like diets with a variety of palatable, energy-dense foods (Ellacott et al., 2010; Sclafani and Springer, 1976). Moreover, the conditions of access to palatable food can trigger different type of behavioral adaptations (Di Segni et al., 2014). Pharmacological treatment of obesity and hyperphagia might thus show unequal weight loss efficacy according to the type of feeding paradigm.

In agreement with a large body of work, our results confirm that GLP-1R agonism potently inhibits food reward (Hayes and Schmidt, 2016; Mietlicki-Baase et al., 2014). In comparison with GLP-1 analogue, treatment with equimolar doses of GLP-1/Dexa exhibited a superior and sustained effect to dampen food reward. Importantly, this superior effect on weight loss and food motivation was observed in different feeding paradigms, with increased efficacy of GLP-1/Dexa over GLP-1 alone in animals either with free access to palatable food or in animals in a period of withdrawal from palatable food, where motivation toward palatable food is heightened. These findings substantiate recent work by Quarta et al. (Quarta et al., 2017) and suggest that the anti-obesity efficacy of GLP-1/Dexa is linked to the ability to inhibit hedonic overeating. However, increased drug exposure cannot fully be discounted as a contributing factor to the sustained effects. The acute transcriptional changes of dopaminergic genes in the NAc in response to GLP-1/Dexa treatment imply that GLP-1-directed targeting of glucocorticoid actions dampens food reward through modulation of canonical mesolimbic reward signaling. Exogenous glucocorticoids have previously been linked to enhanced memory consolidation and contextual learning of food cues (de Quervain et al., 2017; Zorawski and Killcross, 2002). Conversely, impairments in working memory have also been reported following glucocorticoid treatment, underlining possible dual modulatory effects on memory (Barsegyan et al., 2010; de Quervain et al., 2017). Our findings suggest that GLP-1R-selective targeting of dexamethasone appropriately exploits the dual

pharmacodynamics exhibited by this hormonal pairing on food-motivated behaviors, while circumventing potential glucocorticoid-induced adverse events on object recognition memory. However, in contrast to caloric restriction, which elicited an improvement in object recognition memory, GLP-1/Dexa treatment did not enhance memory in the DIO mice, despite potently lowering their body weight. Enhanced memory in response to caloric restriction may be a positive adaptation that have evolved to secure optimal foraging skills under food scarcity. Whether this positive adaptation is blocked by GLP-1/Dexa, or whether, for example, the drug-induced negative energy state is not in a similar fashion perceived as a potential starvation risk is speculative but should constitute an interesting topic for future study.

GLP-1R has a widespread expression profile in the brain and GLP-1R signaling in the VTA (Dickson et al., 2012; Hernandez et al., 2018; Schmidt et al., 2016), NAc (Dickson et al., 2012; Mietlicki-Baase et al., 2014), lateral hypothalamus (Lopez-Ferreras et al., 2018) hippocampus (Hsu et al., 2015; Hsu et al., 2017), NTS (Alhadeff and Grill, 2014; Alhadeff et al., 2017; Richard et al., 2015) and parabrachial nucleus (Alhadeff et al., 2014; Richard et al., 2014) can modulate food intake, behavior and reward. Previously we found that GLP-1/Dexa delivers potent anti-inflammatory actions in hypothalamic nuclei (Quarta et al., 2017). Others have shown that GLP-1-mediated targeting of the nuclear hormone estrogen signals through the supramammillary nucleus (Vogel et al., 2016) and the dorsal raphe nuclei (Cao et al., 2014) to inhibit food reward. Interestingly, infusion of corticosterone into the fourth ventricle attenuates cocaine self-administration via GLP-1R signaling in the VTA (Schmidt et al., 2016). Thus, coordinated delivery of dexamethasone to multiple discrete GLP-1R positive neuronal populations might underlie the herein observed effects on food-motivated behavior, but altered biodistribution such as enhanced CNS penetrance may also contribute to the effects observed here.

Although further studies are needed to determine the anatomical and molecular mechanisms driving the benefits of targeted dexamethasone on food reward, we demonstrate that the GLP-1/Dexa drug conjugate has a safe anxio-depressive profile in mice. The type 1 cannabinoid receptor (CB1R) inverse agonist Rimonabant which was discontinued due to severe adverse psychiatric effects (Christensen et al., 2007), serves as a reminder to meticulously ensure that the pharmacological benefits on food-motivated behaviors are appropriately uncoupled from adverse effects on anxiety and mood; which are frequently linked to neuropharmacology (Dietrich and Horvath, 2012). Some reports suggest that dexamethasone can induce depression-like behavior in mice (Wrobel et al., 2014), and that dexamethasone has a dose-dependent biphasic effect on anxiety via opioidergic neurons (Vafaei et al., 2008). Importantly, GLP-1-mediated targeted delivery of dexamethasone avoids these potential adverse effects on anxio-depressive behaviors. This likely reflects the restricted biodistribution governed by GLP-1R targeting, but could also reflect the relatively low systemic concentrations of dexamethasone introduced by the equimolar pairing with GLP-1.

There are several limitations to our study. As already pointed out, it remains enigmatic if the benefits of GLP-1/Dexa on food reward are mediated directly via GLP-1R positive neurons in the mesolimbic reward system or, for example, if GLP-1/Dexa acts via glutamatergic neurons in the circumventricular organs as a gateway to access behavioral neurocircuits (Adams et al., 2018). Furthermore, although we provide evidence for a superior efficacy of GLP-1/Dexa relative to GLP-1 mono-therapy on food reward, the lack of mono-therapeutic controls in every experimental condition preclude us from making broader conclusions pertaining to pharmacological synergy. Finally, we must acknowledge the limitations of assessing off-target effects on stress, anxiety and different types of memory in mice. Although we believe these findings are a step in the right direction, an expansion of the safety profile of GLP-1/Dexa is necessary prior to its clinical progression. In context, because GLP-1 treatment in humans is particularly dose-limited by adverse events such as nausea and vomiting, future studies should carefully address the aversion profile of GLP-1/Dexa.

5. CONCLUSIONS

Collectively, the present data demonstrate that targeted delivery of dexamethasone by GLP-1 potently inhibits palatable food reward and protects against weight rebound in the context of a negative energy balance. Importantly, GLP-1/Dexa induces benefits on food-motivated behavior that are uncoupled from several known adverse effects on stress, anxiety and memory. Future studies are needed to delineate the central mechanisms of action of GLP-1/Dexa and to determine the translational value of this novel anti-obesity drug candidate.

Funding and disclosures

C.C. receives funding from the Lundbeck Foundation (Fellowship: R238-2016-2859) and the Novo Nordisk Foundation (grant: NNF17OC0026114). SF holds a research scholar award from FRQS and research funding from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR). A.F. holds a Postdoctoral Fellowship from the CIHR (Funding reference number: 152588). L.D.S. is supported by a FRSQ doctoral fellowship.

Acknowledgements

We thank Diogo Fiuza and Laurie Martin for their assistance with behavioral testing and quantification of gene expression.

Declaration of Interest

Novo Nordisk Foundation Center for Basic Metabolic Research is an independent Research Center, based at the University of Copenhagen, Denmark and partially funded by an unconditional donation from the Novo Nordisk Foundation.

M.H.T has served as member of the Novo Nordisk advisory board and SAB member of ERX Pharmaceuticals. The Institute for Diabetes and Obesity cooperates with Novo Nordisk and Sanofi-Aventis. B.F. and R.D.D are currently employees of Novo Nordisk. All other authors declare no competing interests.

REFERENCES

Adams, J. M., Pei, H., Sandoval, D. A., Seeley, R. J., Chang, R. B., Liberles, S. D., Olson, D. P., 2018. Liraglutide Modulates Appetite and Body Weight Through Glucagon-Like Peptide 1 Receptor-Expressing Glutamatergic Neurons. Diabetes 67, 1538-1548.

Alhadeff, A. L., Baird, J. P., Swick, J. C., Hayes, M. R., Grill, H. J., 2014. Glucagon-like Peptide-1 receptor signaling in the lateral parabrachial nucleus contributes to the control of food intake and motivation to feed. Neuropsychopharmacology 39, 2233-2243.

Alhadeff, A. L., Grill, H. J., 2014. Hindbrain nucleus tractus solitarius glucagon-like peptide-1 receptor signaling reduces appetitive and motivational aspects of feeding. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 307, R465-470.

Alhadeff, A. L., Mergler, B. D., Zimmer, D. J., Turner, C. A., Reiner, D. J., Schmidt, H. D., Grill, H. J., Hayes, M. R., 2017. Endogenous Glucagon-like Peptide-1 Receptor Signaling in the Nucleus Tractus Solitarius is Required for Food Intake Control. Neuropsychopharmacology 42, 1471-1479.

Alhadeff, A. L., Rupprecht, L. E., Hayes, M. R., 2012. GLP-1 neurons in the nucleus of the solitary tract project directly to the ventral tegmental area and nucleus accumbens to control for food intake. Endocrinology 153, 647-658.

Barsegyan, A., Mackenzie, S. M., Kurose, B. D., McGaugh, J. L., Roozendaal, B., 2010. Glucocorticoids in the prefrontal cortex enhance memory consolidation and impair working memory by a common neural mechanism. Proc Natl Acad Sci U S A 107, 16655-16660.

Binkley, K., Knowles, S. R., 2002. Sibutramine and panic attacks. Am J Psychiatry 159, 1793-1794.

Cao, X., Xu, P., Oyola, M. G., Xia, Y., Yan, X., Saito, K., Zou, F., Wang, C., Yang, Y., Hinton, A., Jr., Yan, C., Ding, H., Zhu, L., Yu, L., Yang, B., Feng, Y., Clegg, D. J., Khan, S., DiMarchi, R., Mani, S. K., Tong, Q., Xu, Y., 2014. Estrogens stimulate serotonin neurons to inhibit binge-like eating in mice. J Clin Invest 124, 4351-4362.

Christensen, R., Kristensen, P. K., Bartels, E. M., Bliddal, H., Astrup, A., 2007. Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. Lancet 370, 1706-1713.

Clemmensen, C., Muller, T. D., Woods, S. C., Berthoud, H. R., Seeley, R. J., Tschop, M. H., 2017. Gut-Brain Cross-Talk in Metabolic Control. Cell 168, 758-774.

Collaborators, G. B. D. O., Afshin, A., Forouzanfar, M. H., Reitsma, M. B., Sur, P., Estep, K., Lee, A., Marczak, L., Mokdad, A. H., Moradi-Lakeh, M., Naghavi, M., Salama, J. S., Vos, T., Abate, K. H., Abbafati,

C., Ahmed, M. B., Al-Aly, Z., Alkerwi, A., Al-Raddadi, R., Amare, A. T., Amberbir, A., Amegah, A. K., Amini, E., Amrock, S. M., Anjana, R. M., Arnlov, J., Asayesh, H., Banerjee, A., Barac, A., Baye, E., Bennett, D. A., Beyene, A. S., Biadgilign, S., Biryukov, S., Bjertness, E., Boneya, D. J., Campos-Nonato, I., Carrero, J. J., Cecilio, P., Cercy, K., Ciobanu, L. G., Cornaby, L., Damtew, S. A., Dandona, L., Dandona, R., Dharmaratne, S. D., Duncan, B. B., Eshrati, B., Esteghamati, A., Feigin, V. L., Fernandes, J. C., Furst, T., Gebrehiwot, T. T., Gold, A., Gona, P. N., Goto, A., Habtewold, T. D., Hadush, K. T., Hafezi-Nejad, N., Hay, S. I., Horino, M., Islami, F., Kamal, R., Kasaeian, A., Katikireddi, S. V., Kengne, A. P., Kesavachandran, C. N., Khader, Y. S., Khang, Y. H., Khubchandani, J., Kim, D., Kim, Y. J., Kinfu, Y., Kosen, S., Ku, T., Defo, B. K., Kumar, G. A., Larson, H. J., Leinsalu, M., Liang, X., Lim, S. S., Liu, P., Lopez, A. D., Lozano, R., Majeed, A., Malekzadeh, R., Malta, D. C., Mazidi, M., McAlinden, C., McGarvey, S. T., Mengistu, D. T., Mensah, G. A., Mensink, G. B. M., Mezgebe, H. B., Mirrakhimov, E. M., Mueller, U. O., Noubiap, J. J., Obermeyer, C. M., Ogbo, F. A., Owolabi, M. O., Patton, G. C., Pourmalek, F., Qorbani, M., Rafay, A., Rai, R. K., Ranabhat, C. L., Reinig, N., Safiri, S., Salomon, J. A., Sanabria, J. R., Santos, I. S., Sartorius, B., Sawhney, M., Schmidhuber, J., Schutte, A. E., Schmidt, M. I., Sepanlou, S. G., Shamsizadeh, M., Sheikhbahaei, S., Shin, M. J., Shiri, R., Shiue, I., Roba, H. S., Silva, D. A. S., Silverberg, J. I., Singh, J. A., Stranges, S., Swaminathan, S., Tabares-Seisdedos, R., Tadese, F., Tedla, B. A., Tegegne, B. S., Terkawi, A. S., Thakur, J. S., Tonelli, M., Topor-Madry, R., Tyrovolas, S., Ukwaja, K. N., Uthman, O. A., Vaezghasemi, M., Vasankari, T., Vlassov, V. V., Vollset, S. E., Weiderpass, E., Werdecker, A., Wesana, J., Westerman, R., Yano, Y., Yonemoto, N., Yonga, G., Zaidi, Z., Zenebe, Z. M., Zipkin, B., Murray, C. J. L., 2017. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. N Engl J Med 377, 13-27.

de Quervain, D., Schwabe, L., Roozendaal, B., 2017. Stress, glucocorticoids and memory: implications for treating fear-related disorders. Nat Rev Neurosci 18, 7-19.

Di Segni, M., Patrono, E., Patella, L., Puglisi-Allegra, S., Ventura, R., 2014. Animal models of compulsive eating behavior. Nutrients 6, 4591-4609.

Dickson, S. L., Shirazi, R. H., Hansson, C., Bergquist, F., Nissbrandt, H., Skibicka, K. P., 2012. The glucagon-like peptide 1 (GLP-1) analogue, exendin-4, decreases the rewarding value of food: a new role for mesolimbic GLP-1 receptors. J Neurosci 32, 4812-4820.

Dietrich, M. O., Horvath, T. L., 2012. Limitations in anti-obesity drug development: the critical role of hunger-promoting neurons. Nat Rev Drug Discov 11, 675-691.

Dietrich, M. O., Zimmer, M. R., Bober, J., Horvath, T. L., 2015. Hypothalamic Agrp neurons drive stereotypic behaviors beyond feeding. Cell 160, 1222-1232.

Dossat, A. M., Lilly, N., Kay, K., Williams, D. L., 2011. Glucagon-like peptide 1 receptors in nucleus accumbens affect food intake. J Neurosci 31, 14453-14457.

Ellacott, K. L., Morton, G. J., Woods, S. C., Tso, P., Schwartz, M. W., 2010. Assessment of feeding behavior in laboratory mice. Cell Metab 12, 10-17.

Farr, O. M., Sofopoulos, M., Tsoukas, M. A., Dincer, F., Thakkar, B., Sahin-Efe, A., Filippaios, A., Bowers, J., Srnka, A., Gavrieli, A., Ko, B. J., Liakou, C., Kanyuch, N., Tseleni-Balafouta, S., Mantzoros, C. S., 2016. GLP-1 receptors exist in the parietal cortex, hypothalamus and medulla of human brains and the GLP-1 analogue liraglutide alters brain activity related to highly desirable food cues in individuals with diabetes: a crossover, randomised, placebo-controlled trial. Diabetologia 59, 954-965.

Finan, B., Clemmensen, C., Muller, T. D., 2015. Emerging opportunities for the treatment of metabolic diseases: Glucagon-like peptide-1 based multi-agonists. Mol Cell Endocrinol 418 Pt 1, 42-54.

Finan, B., Yang, B., Ottaway, N., Stemmer, K., Muller, T. D., Yi, C. X., Habegger, K., Schriever, S. C., Garcia-Caceres, C., Kabra, D. G., Hembree, J., Holland, J., Raver, C., Seeley, R. J., Hans, W., Irmler, M., Beckers, J., de Angelis, M. H., Tiano, J. P., Mauvais-Jarvis, F., Perez-Tilve, D., Pfluger, P., Zhang, L., Gelfanov, V., DiMarchi, R. D., Tschop, M. H., 2012. Targeted estrogen delivery reverses the metabolic syndrome. Nat Med 18, 1847-1856.

Hayes, M. R., Leichner, T. M., Zhao, S., Lee, G. S., Chowansky, A., Zimmer, D., De Jonghe, B. C., Kanoski, S. E., Grill, H. J., Bence, K. K., 2011. Intracellular signals mediating the food intake-suppressive effects of hindbrain glucagon-like peptide-1 receptor activation. Cell Metab 13, 320-330.

Hayes, M. R., Schmidt, H. D., 2016. GLP-1 influences food and drug reward. Curr Opin Behav Sci 9, 66-70.

Heppner, K. M., Kirigiti, M., Secher, A., Paulsen, S. J., Buckingham, R., Pyke, C., Knudsen, L. B., Vrang, N., Grove, K. L., 2015. Expression and distribution of glucagon-like peptide-1 receptor mRNA, protein and binding in the male nonhuman primate (Macaca mulatta) brain. Endocrinology 156, 255-267.

Hernandez, N. S., Ige, K. Y., Mietlicki-Baase, E. G., Molina-Castro, G. C., Turner, C. A., Hayes, M. R., Schmidt, H. D., 2018. Glucagon-like peptide-1 receptor activation in the ventral tegmental area attenuates cocaine seeking in rats. Neuropsychopharmacology.

Hsu, T. M., Hahn, J. D., Konanur, V. R., Lam, A., Kanoski, S. E., 2015. Hippocampal GLP-1 receptors influence food intake, meal size, and effort-based responding for food through volume transmission. Neuropsychopharmacology 40, 327-337.

Hsu, T. M., Noble, E. E., Liu, C. M., Cortella, A. M., Konanur, V. R., Suarez, A. N., Reiner, D. J., Hahn, J. D., Hayes, M. R., Kanoski, S. E., 2017. A hippocampus to prefrontal cortex neural pathway inhibits food motivation through glucagon-like peptide-1 signaling. Mol Psychiatry.

Johnson, F., Wardle, J., 2014. Variety, palatability, and obesity. Adv Nutr 5, 851-859.

Kleinert, M., Clemmensen, C., Hofmann, S. M., Moore, M. C., Renner, S., Woods, S. C., Huypens, P., Beckers, J., de Angelis, M. H., Schurmann, A., Bakhti, M., Klingenspor, M., Heiman, M., Cherrington, A. D., Ristow, M., Lickert, H., Wolf, E., Havel, P. J., Muller, T. D., Tschop, M. H., 2018. Animal models of obesity and diabetes mellitus. Nat Rev Endocrinol 14, 140-162.

Lopez-Ferreras, L., Richard, J. E., Noble, E. E., Eerola, K., Anderberg, R. H., Olandersson, K., Taing, L., Kanoski, S. E., Hayes, M. R., Skibicka, K. P., 2018. Lateral hypothalamic GLP-1 receptors are critical for the control of food reinforcement, ingestive behavior and body weight. Mol Psychiatry 23, 1157-1168.

Mella, R., Schmidt, C. B., Romagnoli, P. P., Teske, J. A., Perez-Leighton, C., 2017. The Food Environment, Preference, and Experience Modulate the Effects of Exendin-4 on Food Intake and Reward. Obesity (Silver Spring) 25, 1844-1851.

Mietlicki-Baase, E. G., Ortinski, P. I., Reiner, D. J., Sinon, C. G., McCutcheon, J. E., Pierce, R. C., Roitman, M. F., Hayes, M. R., 2014. Glucagon-like peptide-1 receptor activation in the nucleus accumbens core suppresses feeding by increasing glutamatergic AMPA/kainate signaling. J Neurosci 34, 6985-6992.

O'Neil PM, B. A., McGowan B, et al, 2018. A Randomized, Phase II, Placebo- and Active-Controlled Dose-Ranging Study of Semaglutide For Treatment of Obesity in Subjects Without Diabetes. ENDO 2018 (Abstract).

Pi-Sunyer, X., Astrup, A., Fujioka, K., Greenway, F., Halpern, A., Krempf, M., Lau, D. C., le Roux, C. W., Violante Ortiz, R., Jensen, C. B., Wilding, J. P., Obesity, S., Prediabetes, N. N. S. G., 2015. A Randomized, Controlled Trial of 3.0 mg of Liraglutide in Weight Management. N Engl J Med 373, 11-22.

Quarta, C., Clemmensen, C., Zhu, Z., Yang, B., Joseph, S. S., Lutter, D., Yi, C. X., Graf, E., Garcia-Caceres, C., Legutko, B., Fischer, K., Brommage, R., Zizzari, P., Franklin, B. S., Krueger, M., Koch, M., Vettorazzi, S., Li, P., Hofmann, S. M., Bakhti, M., Bastidas-Ponce, A., Lickert, H., Strom, T. M., Gailus-Durner, V., Bechmann, I., Perez-Tilve, D., Tuckermann, J., Hrabe de Angelis, M., Sandoval, D., Cota, D., Latz, E., Seeley, R. J., Muller, T. D., DiMarchi, R. D., Finan, B., Tschop, M. H., 2017. Molecular Integration of Incretin and Glucocorticoid Action Reverses Immunometabolic Dysfunction and Obesity. Cell Metab 26, 620-632 e626.

Richard, J. E., Anderberg, R. H., Goteson, A., Gribble, F. M., Reimann, F., Skibicka, K. P., 2015. Activation of the GLP-1 receptors in the nucleus of the solitary tract reduces food reward behavior and targets the mesolimbic system. PLoS One 10, e0119034.

Richard, J. E., Farkas, I., Anesten, F., Anderberg, R. H., Dickson, S. L., Gribble, F. M., Reimann, F., Jansson, J. O., Liposits, Z., Skibicka, K. P., 2014. GLP-1 receptor stimulation of the lateral parabrachial nucleus reduces food intake: neuroanatomical, electrophysiological, and behavioral evidence. Endocrinology 155, 4356-4367.

Schmidt, H. D., Mietlicki-Baase, E. G., Ige, K. Y., Maurer, J. J., Reiner, D. J., Zimmer, D. J., Van Nest, D. S., Guercio, L. A., Wimmer, M. E., Olivos, D. R., De Jonghe, B. C., Hayes, M. R., 2016. Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Activation in the Ventral Tegmental Area Decreases the Reinforcing Efficacy of Cocaine. Neuropsychopharmacology 41, 1917-1928.

Schwartz, M. W., Seeley, R. J., Zeltser, L. M., Drewnowski, A., Ravussin, E., Redman, L. M., Leibel, R. L., 2017. Obesity Pathogenesis: An Endocrine Society Scientific Statement. Endocr Rev 38, 267-296.

Sclafani, A., Springer, D., 1976. Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. Physiol Behav 17, 461-471.

Secher, A., Jelsing, J., Baquero, A. F., Hecksher-Sorensen, J., Cowley, M. A., Dalboge, L. S., Hansen, G., Grove, K. L., Pyke, C., Raun, K., Schaffer, L., Tang-Christensen, M., Verma, S., Witgen, B. M., Vrang, N., Bjerre Knudsen, L., 2014. The arcuate nucleus mediates GLP-1 receptor agonist liraglutide-dependent weight loss. J Clin Invest 124, 4473-4488.

Sharma, S., Fernandes, M. F., Fulton, S., 2013. Adaptations in brain reward circuitry underlie palatable food cravings and anxiety induced by high-fat diet withdrawal. Int J Obes (Lond) 37, 1183-1191.

Sharma, S., Fulton, S., 2013. Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. Int J Obes (Lond) 37, 382-389.

Sharma, S., Hryhorczuk, C., Fulton, S., 2012. Progressive-ratio responding for palatable high-fat and high-sugar food in mice. J Vis Exp, e3754.

Sisley, S., Gutierrez-Aguilar, R., Scott, M., D'Alessio, D. A., Sandoval, D. A., Seeley, R. J., 2014. Neuronal GLP1R mediates liraglutide's anorectic but not glucose-lowering effect. J Clin Invest 124, 2456-2463.

Taflinski, T., Chojnacka, J., 2000. Sibutramine-associated psychotic episode. Am J Psychiatry 157, 2057-2058.

ten Kulve, J. S., Veltman, D. J., van Bloemendaal, L., Barkhof, F., Deacon, C. F., Holst, J. J., Konrad, R. J., Sloan, J. H., Drent, M. L., Diamant, M., RG, I. J., 2015. Endogenous GLP-1 mediates postprandial reductions in activation in central reward and satiety areas in patients with type 2 diabetes. Diabetologia 58, 2688-2698.

Topol, E. J., Bousser, M. G., Fox, K. A., Creager, M. A., Despres, J. P., Easton, J. D., Hamm, C. W., Montalescot, G., Steg, P. G., Pearson, T. A., Cohen, E., Gaudin, C., Job, B., Murphy, J. H., Bhatt, D. L., Investigators, C., 2010. Rimonabant for prevention of cardiovascular events (CRESCENDO): a randomised, multicentre, placebo-controlled trial. Lancet 376, 517-523.

Tschop, M. H., Finan, B., Clemmensen, C., Gelfanov, V., Perez-Tilve, D., Muller, T. D., DiMarchi, R. D., 2016. Unimolecular Polypharmacy for Treatment of Diabetes and Obesity. Cell Metab 24, 51-62.

Turton, M. D., O'Shea, D., Gunn, I., Beak, S. A., Edwards, C. M., Meeran, K., Choi, S. J., Taylor, G. M., Heath, M. M., Lambert, P. D., Wilding, J. P., Smith, D. M., Ghatei, M. A., Herbert, J., Bloom, S. R., 1996. A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. Nature 379, 69-72.

Vafaei, A. A., Rashidy-Pour, A., Taherian, A. A., 2008. Peripheral injection of dexamethasone modulates anxiety related behaviors in mice: an interaction with opioidergic neurons. Pak J Pharm Sci 21, 285-289.

van Bloemendaal, L., Veltman, D. J., Ten Kulve, J. S., Groot, P. F., Ruhe, H. G., Barkhof, F., Sloan, J. H., Diamant, M., Ijzerman, R. G., 2015. Brain reward-system activation in response to anticipation and consumption of palatable food is altered by glucagon-like peptide-1 receptor activation in humans. Diabetes Obes Metab 17, 878-886.

Vogel, H., Wolf, S., Rabasa, C., Rodriguez-Pacheco, F., Babaei, C. S., Stober, F., Goldschmidt, J., DiMarchi, R. D., Finan, B., Tschop, M. H., Dickson, S. L., Schurmann, A., Skibicka, K. P., 2016. GLP-1 and estrogen conjugate acts in the supramammillary nucleus to reduce food-reward and body weight. Neuropharmacology 110, 396-406.

Volkow, N. D., Wang, G. J., Tomasi, D., Baler, R. D., 2013. Obesity and addiction: neurobiological overlaps. Obes Rev 14, 2-18.

Wrobel, A., Serefko, A., Wlaz, P., Poleszak, E., 2014. The depressogenic-like effect of acute and chronic treatment with dexamethasone and its influence on the activity of antidepressant drugs in the forced swim test in adult mice. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 54, 243-248.

Zorawski, M., Killcross, S., 2002. Posttraining glucocorticoid receptor agonist enhances memory in appetitive and aversive Pavlovian discrete-cue conditioning paradigms. Neurobiol Learn Mem 78, 458-464.

FIGURE LEGENDS

Figure 1. GLP-1/Dexa reduces food-motivated responding in a sustained manner.

(a) Experimental timeline design. Purple arrows represent injections. (b) Body weight loss relative to baseline over 3-day treatment with vehicle (black), GLP-1 (orange) and GLP-1/Dexa (green). (c) Average daily caloric intake of chow over 3-day treatment. (d) Breakpoint ratios for high-fat, high sugar (HFHS) rewards 4h following injection. (e) Breakpoint ratios for HFHS rewards 20h post-injection. One-way ANOVA, repeated measures, Bonferroni post hoc; (n=12/group). $**p<0.01$, $***p<0.005$, $****p<0.001$

Figure 2. GLP-1/Dexa alleviates heightened food reward following withdrawal from a high-fat, high sugar diet.

(a) Experimental timeline. (b) Body weight following daily injections with vehicle (black) and GLP-1/Dexa (green), (c) Cumulative caloric intake of chow diet with daily injections. (d) Relative breakpoint ratios for food rewards following withdrawal from the HFHS diet. Two-way ANOVA, repeated measures with Bonferroni post hoc (c, d) and one-sample t-test at 1.0 (d); (n=12/group). $*p>0.05$, $****p<0.001$.

Figure 3. Expression of reward-related genes in the nucleus accumbens is modulated by GLP-1/Dexa.

NAc gene expression for dopamine receptor 1 (D1r), dopamine receptor 2 short isoform (D2rsh), dopamine receptor 2 long isoform (D2rlg), tyrosine hydroxylase (TH), dopamine transporter (DAT), delta opioid receptor (Dor), kappa opioid receptor (Kor), mu opioid receptor (Mor), glucocorticoid receptor (Gr) and mineralocorticoid receptor (MR) following a single injection of vehicle (black) or GLP-1/Dexa (green) 20h prior to sacrifice. Two-tailed t-test (n=5/group); $*p<0.05$, $**p<0.01$.

Figure 4. GLP-1/Dexa promotes weight loss without impairing cognitive or affective functions in diet-induced obese mice.

(a) Experimental timeline. (b-c) Change in body weight and (d-e) cumulative caloric intake over 11-day period with daily s.c. injections of vehicle (black), GLP-1 (orange), GLP-1/Dexa (green) and vehicle mice pair-fed to GLP-1/Dexa (magenta) on HFHS diet. Effects on behavioral despair, anxiety-like behavior and cognition assessed by (f-g) forced swim test, (h-i) elevated plus maze, (j-k) open field test and (l) novel object recognition on days 6-10 of treatment period. One-way ANOVA, Bonferroni post-hoc (n=10/group); except (l) one-sample t-test, t=1.0. $*p<0.05$, $**p<0.01$, $***p<0.005$, $****p<0.001$.

FIGURES

Figure 1.

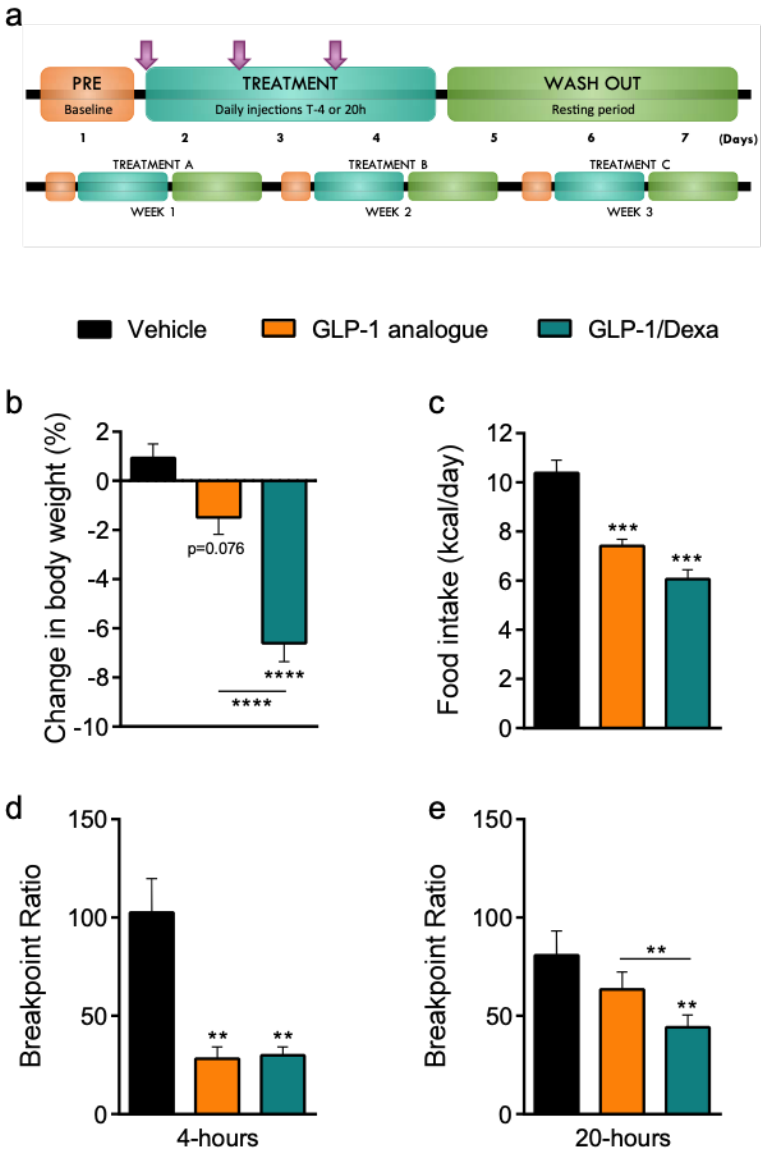


Figure 2.

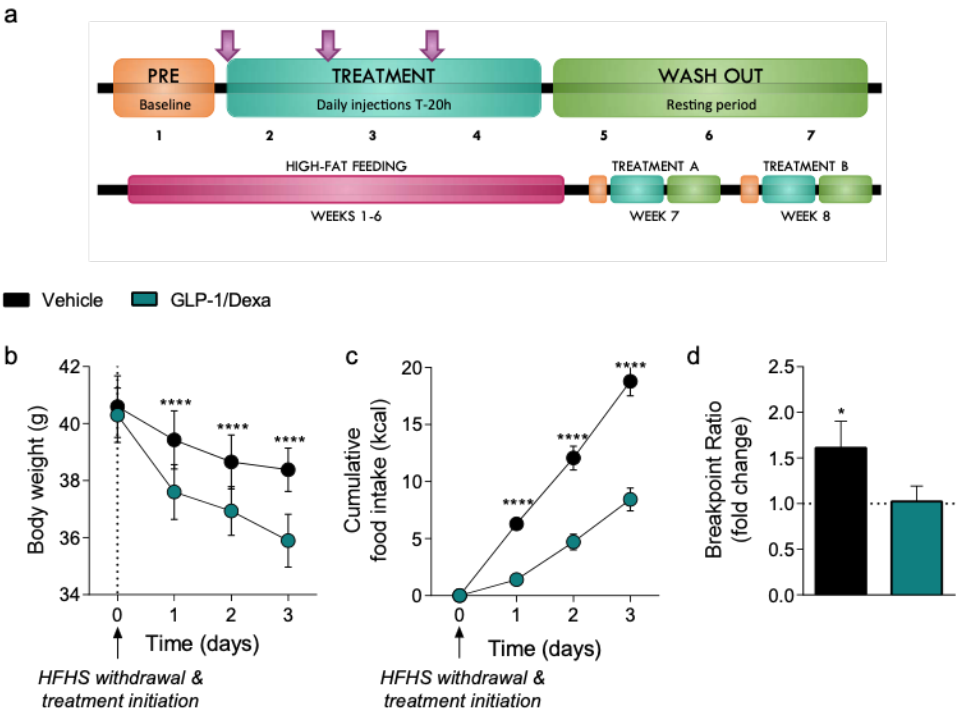

a
PRE
Baseline
TREATMENT
Daily injections T-20h
WASH OUT
Resting period
1
2
3
4
5
6
7
HIGH-FAT FEEDING
WEEKS 1-6
TREATMENT A
WEEK 7
TREATMENT B
WEEK 8
Vehicle
GLP-1/Dexa
b
Body weight (g)
Time (days)
HFHS withdrawal & treatment initiation
c
Cumulative food intake (kcal)
Time (days)
HFHS withdrawal & treatment initiation
d
Breakpoint Ratio (fold change)

Figure 3.

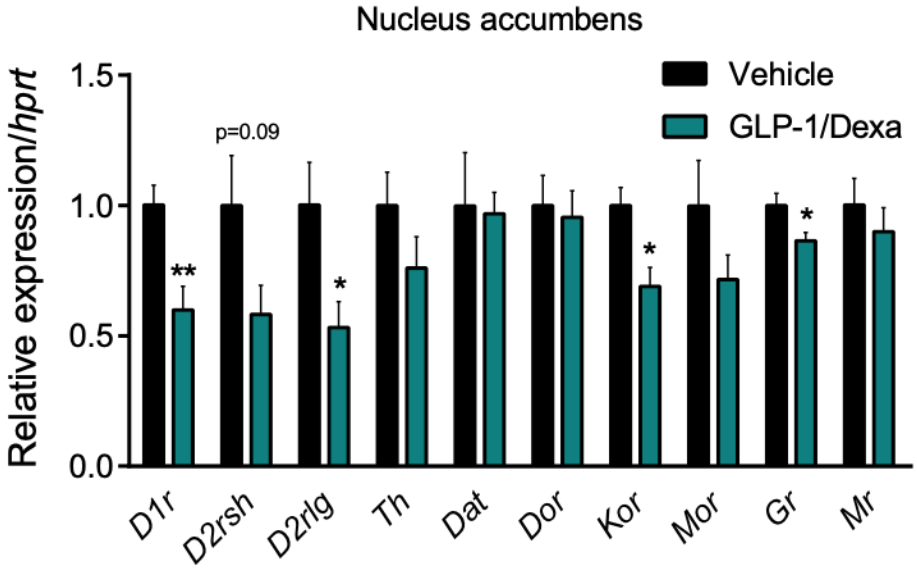
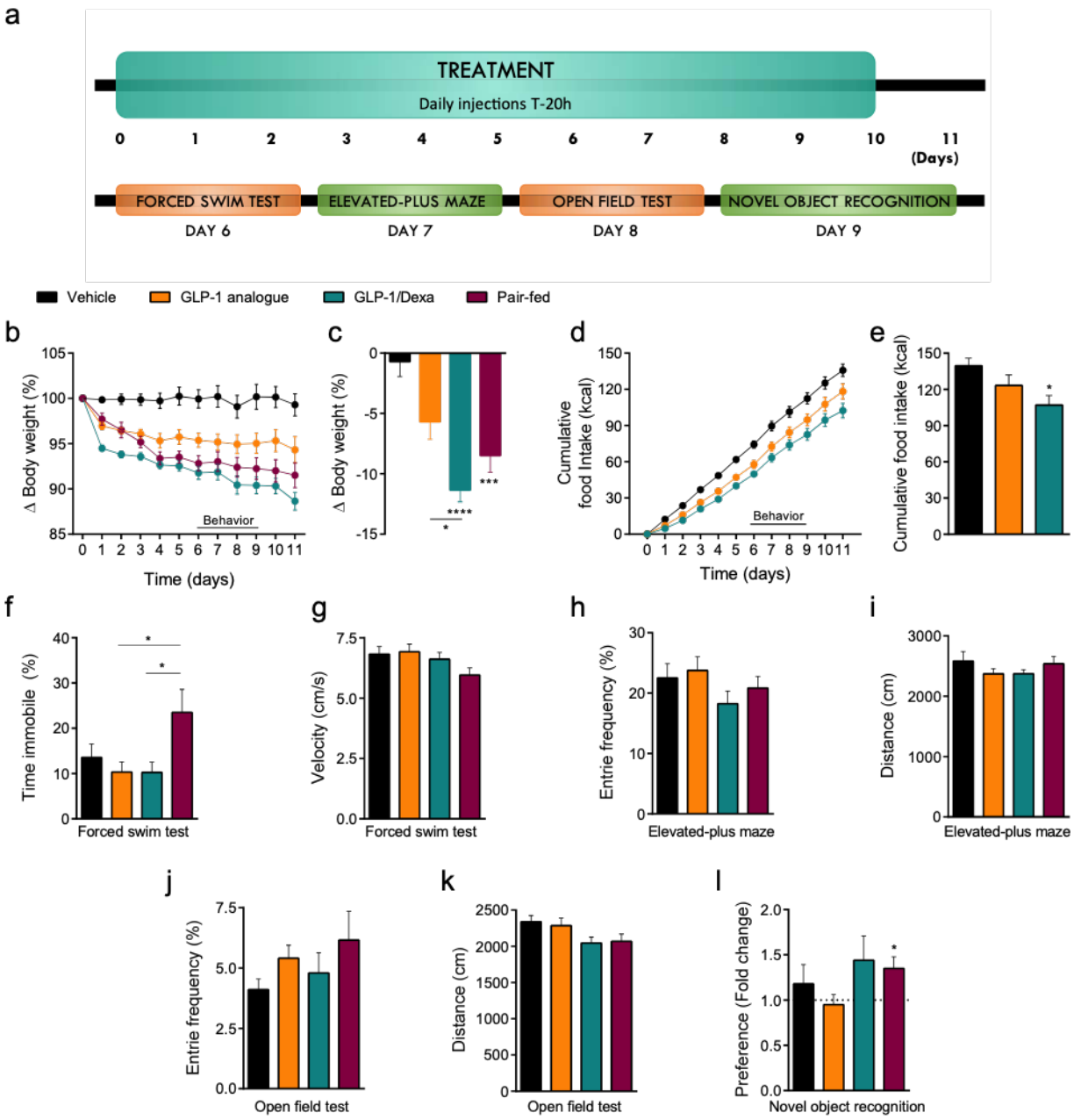

Nucleus accumbens
Vehicle
GLP-1/Dexa
Relative expression/hprt
1.5
1.0
0.5
0.0
p=0.09
**
*
*
*
D1r
D2rsh
D2rlg
Th
Dat
Dor
Kor
Mor
Gr
Mr

Figure 4.


a
TREATMENT
Daily injections T-20h
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11
(Days)
FORCED SWIM TEST
ELEVATED-PLUS MAZE
OPEN FIELD TEST
NOVEL OBJECT RECOGNITION
DAY 6
DAY 7
DAY 8
DAY 9
Vehicle
GLP-1 analogue
GLP-1/Dexa
Pair-fed
b
Δ Body weight (%)
Behavior
Time (days)
c
Δ Body weight (%)
d
Cumulative food Intake (kcal)
Behavior
Time (days)
e
Cumulative food intake (kcal)
f
Time immobile (%)
Forced swim test
g
Velocity (cm/s)
Forced swim test
h
Entrie frequency (%)
Elevated-plus maze
i
Distance (cm)
Elevated-plus maze
j
Entrie frequency (%)
Open field test
k
Distance (cm)
Open field test
l
Preference (Fold change)
Novel object recognition

Chapitre 4 – Discussion

L'objectif principal de cette thèse visait à identifier les mécanismes biologiques au NAc par lesquels l'obésité induite par la diète promeut l'expression de comportements anxiodépressifs chez la souris (Table 3). Nos résultats ont démontré un impact différentiel des acides gras saturés et monoinsaturés sur le développement d'un phénotype anxiodépressif, tant chez la souris femelle que chez la souris mâle. En dépit de phénotypes comportementaux similaires, l'activité de la voie inflammatoire NFkB au NAc ne modulait l'expression de ces comportements que chez la souris mâle. Chez la femelle, c'était plutôt des changements au niveau de l'estrogène circulante et de l'expression de ses récepteurs au NAc qui accompagnaient les conséquences anxiodépressives d'une diète riche en gras saturés.

Articles	Hypothèses	Conclusions
1	L'inflammation au noyau accumbens contribue au phénotype anxiodépressif induit par une diète riche en gras saturés chez la souris mâle.	L'inflammation au noyau accumbens contribue au phénotype anxiodépressif induit par une diète riche en gras saturés chez la souris mâle.
2	L'inflammation au noyau accumbens contribue au phénotype anxiodépressif induit par une diète riche en gras saturés chez la souris femelle.	L'inflammation au noyau accumbens **ne** contribue **pas** au phénotype anxiodépressif induit par une diète riche en gras saturés chez la souris femelle.
3	L'activation des neurones D1R du noyau accumbens prévient l'expression du phénotype anxiodépressif induit par une diète riche en gras saturés chez la souris mâle.	L'activation des neurones D1R du noyau accumbens prévient l'expression du phénotype dépressif **mais exacerbe le phénotype anxieux** induit par une diète riche en gras saturés chez la souris mâle.
4	Le composé GLP-1/Dexa favorise la perte de poids en inhibant la motivation alimentaire, sans induire de phénotype anxiodépressif ou de trouble cognitif.	Le composé GLP-1/Dexa favorise la perte de poids en inhibant la motivation alimentaire, sans induire de phénotype anxiodépressif ou de trouble cognitif.

Tableau 3. – Résumé des hypothèses et conclusions

Notre intérêt pour le NAc résulte de l'implication de la voie mésolimbique dans l'exécution de comportements motivés et les déficits hédoniques observés en dépression. Similairement aux modèles précliniques de dépression induite par le stress, nous avons démontré que le recrutement des neurones D1R du NAc protège contre le développement d'un phénotype dépressif induit par une diète riche en gras. Pour la première fois, nous avons mis en avant-plan une modulation bidirectionnelle des composantes anxieuses et dépressives de l'obésité induite par la diète par les neurones D1R du NAc. En ce qui a trait à la motivation alimentaire, nous avons montré que l'inhibition de la voie NFkB au NAc de souris mâles réduisait les comportements de recherche de sucrose. Dans une optique translationnelle, nous avons également investigué les propriétés d'un nouveau conjugué d'agonistes GLP-1/dexaméthasone à diminuer la motivation alimentaire. Nous avons

observé, qu'en plus d'être efficace pour la perte de poids et l'inhibition de motivation alimentaire, l'action de ce conjugué s'accompagne de changements dans l'expression de gènes dopaminergiques au NAc et n'induit pas de comportements anxiodépressifs ou de déficit cognitif.

4.1. Obésité et dépression

Nos travaux vont de pair avec les publications du domaine usant également la combinaison classique de souris mâles adultes et d'une diète riche en gras (178,245,316–322). Bien que la prédominance de cette combinaison facilite la réplication des données et l'élimination de facteurs confondants, elle entrave à la transposition de ces observations fondamentales à la réalité clinique qui est bien plus hétérogène. Même au sein des diverses études chez le rongeur, on peut dénoter une certaine variabilité dans la relation entre l'obésité et la dépression en fonctions de différents paramètres d'étude.

4.1.1. Modèles d'obésité chez le rongeur

L'obésité résultant d'une mutation monogénique n'est responsable que d'une très faible proportion des cas d'obésité chez l'humain. Toutefois, l'usage de souris transgénique ayant une mutation dans le gène de production de la leptine (ob/ob) ou le récepteur à la leptine (db/db) a grandement contribué à l'avancement des connaissances en métabolisme. À l'instar de l'obésité induite par la diète, ces animaux ne requièrent pas une alimentation dense en énergie afin de prendre du poids et développer des dysfonctions métaboliques. Similairement à nos observations, les souris ob/ob présentent un temps d'immobilité accru en FST (137) ainsi qu'une préférence amoindrie pour le sucrose, rappelant le phénotype anhédonique typique des animaux susceptibles au stress chronique (323). Chez les db/db, le temps d'immobilité est également augmenté en FST (324,325) et une réduction du temps passé au centre en OFT (325). L'explosion des études de séquençage du génome a permis l'identification de plusieurs gènes impliqués en obésité et mènera probablement à la génération de nombreux autres modèles d'obésité monogénique tel que le ADCY3 (326).

Le plus souvent, l'obésité résulte d'une combinaison de facteurs incluant les habitudes de vie et particulièrement les choix alimentaires. Chez le rongeur, ce phénomène est répliqué par l'usage d'une diète riche en gras, mais dont la composition en acides gras saturés et en sucrose varie considérablement d'un groupe de recherche à un autre. Nous avons employé des diètes faites sur mesure à base d'huile d'olive ou d'huile de palme afin d'isoler les acides gras monoinsaturés et saturés respectivement. Cependant, le lard est couramment utilisé comme base lipidique et celui-ci composé à la fois d'acides gras monoinsaturés et saturés ce qui peut tempérer les phénotypes métaboliques et comportementaux issus de ce régime. Par exemple, il a fallu 16 semaines de diète riche en gras à base de lard pour observer un effet sur l'anxiété et aucun

effet n'a été noté sur les comportements dépressifs (318). Sans jamais être exposés à une diète riche en gras, des rats avec accès à une solution de sucrose à 20% pour une durée de 24 semaines développent également des comportements anxieux (125). La popularité croissante du régime cétogène peint un portrait péjoratif de la consommation de glucides en prônant les lipides comme inoffensifs pour la santé. Cependant, les excès lipidiques comme de sucrose mènent tous deux à des conséquences métaboliques et cognitives et leur combinaison est encore plus dommageable (327,328). Chez l'humain, c'est la combinaison des patrons alimentaires de consommation de sucres simples et d'acides gras saturés qui prédit la sévérité des symptômes dépressifs (329). On peut donc dire que la surconsommation chronique de sucre et/ou de gras – particulièrement les acides gras saturés - est associée au développement de comportements anxiodépressifs avec un délai d'apparition et une sévérité des effets dépendants de la composition de la diète.

Une autre variable est la durée de la diète qui va inévitablement dicter l'étendue de la prise de poids. Contrairement aux humains et la classification en fonction de l'indice de masse corporelle, il n'y a pas de barème qui détermine le degré de surpoids ou d'obésité chez le rongeur. Au-delà d'un enjeu de vocabulaire, ce manque de précision peut ajouter de la variabilité dans les conséquences de l'obésité induite par la diète. Par exemple, l'impact d'une diète riche en gras sur le système dopaminergique varie selon le pourcentage de prise de poids des rongeurs par rapport au groupe contrôle (330), ce qui complique l'interprétation des résultats lorsque ce facteur n'est pas pris en compte. La durée d'un régime riche en gras et en sucre peut aussi influencer le profil comportemental, de façon indépendante au gain de poids. L'exposition de courte durée (<5 semaines) aux aliments palatables peut avoir un effet anxiolytique alors que les conséquences anxiodépressives apparaissent après plusieurs semaines (>12 semaines) de la même diète (320,331,332). Cette divergence pourrait s'expliquer par le développement de modifications épigénétiques par une diète riche en gras et en sucre qui requiert un certain délai ou encore, d'un point de vue évolutif, l'impact des aliments palatables pourraient être modulés en fonction du statut métabolique. Nos résultats vont de pair avec une consommation prolongée d'un régime riche en acides gras saturés. Le temps d'exposition à une diète riche en gras et/ou en sucre est donc un facteur à prendre en compte dans l'étude des impacts comportementaux de la consommation d'aliments palatables.

Obésité ne rime pas toujours avec dysfonctions métaboliques; les humains obèses mais métaboliquement sains constituent une sous-catégorie d'individus qui présentent un risque amoindri de développer un trouble dépressif comparativement à ceux souffrant du syndrome métabolique (116,306,333). Similairement, chez le rat, l'exposition à la diète à base d'huile de palme induit une prise de poids modeste, sans indications d'altérations métaboliques, mais n'a pas d'impact sur les comportements anxiodépressifs (174). Les animaux développant des comportements anxiodépressifs suite à un régime riche en gras présentent généralement au moins quelques éléments du syndrome métabolique, la plus communément rapportée étant l'intolérance au glucose (125,245,317,318,332,334). Ainsi, les altérations métaboliques peuvent prédire la susceptibilité

aux complications anxiodépressives et leur présence est influencée par la composition lipidique ainsi de la durée d'exposition à la diète obésogène.

Il y a donc plusieurs facteurs à prendre en compte lorsqu'on parle de modèle d'obésité chez le rongeur. Toutefois, une relation entre l'obésité et les comportements anxiodépressifs peut être observée à travers différents modèles génétiques et de diète riche en gras. Particulièrement, l'accès prolongé à un régime riche en gras et en sucre et le développement de dysfonctions métaboliques accentuent les déficits affectifs associés à l'obésité.

4.1.2. Modèles de dépression chez le rongeur

Tout comme pour l'obésité, les mécanismes neurobiologiques de la dépression peuvent être étudier chez le rongeur via différents paradigmes. Nous exposons nos animaux à un régime démontré comme pouvant induire des comportements anxiodépressifs, mais la plupart des études travaillent sur la dépression en dehors d'un contexte d'obésité.

L'exposition répétée au stress et, en particulier, la réaction de chacun au stress joue un rôle majeur dans le développement de la dépression (303). En particulier, la chronicité et l'imprévisibilité d'un stress accroissent son ampleur et c'est ce qui rend le modèle de stress chronique aussi efficace pour induire un phénotype dépressif chez le rongeur (335). Les agressions interpersonnelles sont également reproduites chez le rongeur avec le modèle de défaite sociale (336). Ces paradigmes diffèrent grandement de notre modèle de dépression co-morbide à l'obésité et le stress chronique est associé à des altérations neuronales au PFC (337,338) ou à une réduction de la neurogénèse au HPC (339). Néanmoins, chez le rat, la défaite sociale induit des adaptations glutamatergiques dans le VTA qui sous-tendent la vulnérabilité du système de la récompense en situation de stress (36). De plus, d'autres rapportent que l'expression de l'anhédonie au sucrose suite au stress chronique est dépendante de la morphologie dendritique des neurones de projection (62,297) ou de modifications épigénétiques (340) au NAc. Les paradigmes de dépression médiée par le stress chronique pointent donc à différentes régions du système limbique, incluant des altérations au NAc.

La consommation d'aliments palatables peut servir de réconfort tout comme elle peut contribuer au développement de comportements anxiodépressifs. Les études combinant un modèle de stress chronique avec l'exposition à une diète riche en gras permettent de mieux explorer cette dynamique. À noter qu'il est plus facile de jumeler un modèle d'obésité induite par la diète au paradigme de stress chronique plutôt que celui de défaite sociale en raison de la différence de taille requise entre l'animal agresseur et l'animal testé dans le modèle de défaite sociale. Toutefois, il est possible d'exposer des souris au paradigme de défaite sociale en contexte de diète riche en gras en permettant un accès restreint aux aliments palatables qui limite la prise de poids. Alors que certains auteurs rapportent un effet anxiolytique d'un régime obésogène (39,145,341), d'autres démontrent des comportements anxiodépressifs plus sévères lorsque le stress

chronique est jumelé à l'obésité (342,343). Pertinemment, Isingrini et al. (2010) présentent la combinaison obésité et stress comme un modèle de résistance à la fluoxétine. Dans notre cas, nous avons assumé un impact pro-dépressif et anxiogène, en raison de la durée de la diète et le développement de dysfonctions métaboliques. De plus, notre groupe a déjà montré que l'exposition à une diète riche en gras potentialise la réponse de l'axe HPA suite à une immobilisation (225), suggérant que l'obésité potentialise la susceptibilité au stress, du moins de façon aiguë.

Un autre modèle préclinique impliquant l'axe HPA est celui du traitement répété à la CORT, induisant un phénotype dépressif réversible par l'administration chronique d'antidépresseurs (344). Il est possible que ce paradigme ne soit réalisable que chez la souris mâle (345). L'exposition prolongée à des niveaux élevés de CORT est nuisible pour la plasticité synaptique au HPC (346). L'activité de l'axe HPA influence également le circuit de la récompense et l'administration de CRF au NAc induit un phénotype dépressif chez le rat (37). En plus d'induire l'expression de comportements dépressifs, l'exposition répétée à la CORT réduit la sensibilité à l'insuline (347). Chez des animaux exposés à la fois à la CORT et à une diète riche en gras, l'amélioration de la sensibilité à l'insuline corrèle avec une réduction des comportements anxiodépressifs (348). Le recrutement de l'axe HPA pourrait être un mécanisme commun à l'obésité et le stress chronique pour induire le phénotype dépressif.

Bien que notre approche diffère par l'absence de manipulations stressantes et l'utilisation d'une diète riche en gras saturés, nous obtenons un phénotype comportemental similaire dans les tests de FST, SPT et SIT. Nous observons également une augmentation des comportements anxieux dans les tests de EPM et de OFT, ce qui concorde avec ce qui est rapporté dans les études combinant stress et obésité. Il semblerait que le EPM et le OFT ne soient typiquement pas employés dans les études utilisant les paradigmes de stress chronique et de défaite sociale potentiellement en raison de la spécificité de ces tests aux molécules anxiolytiques plutôt qu'antidépresseurs (349). Toutefois, considérant la prévalence de symptômes anxieux tant chez les individus dépressifs que chez les personnes obèses, nous évaluons un phénotype anxiodépressif chez nos souris obèses. On peut donc dire que notre modèle de dépression associée à l'obésité réplique certains comportements observés chez les animaux susceptibles au stress chronique en plus de la résistance à l'insuline suite au traitement chronique à la CORT.

4.1.3. Différences sexuelles

Nos travaux rapportent une différence sexuelle majeure au niveau de la neuroinflammation et son rôle dans la pathogénèse dépressive en contexte d'obésité chez la souris. La dépression et l'anxiété sont plus fréquemment diagnostiqués chez les femmes (350) et malgré une proportion équitable entre les deux sexes au niveau mondial, les femmes sont plus sujettes d'entrer dans la catégorie d'obésité sévère dans les pays non-industrialisés (351). Néanmoins, cette prédominance du sexe féminin est loin d'être représentée en

recherche biomédicale, ce qui entrave au développement de nouvelles molécules thérapeutiques et rend plus ardue l'interprétation de résultats chez les femelles en fonction de la littérature existante. Il faut noter que certains protocoles expérimentaux doivent être adaptés pour être employés avec des femelles. Par exemple, une version allégée du modèle de stress chronique est appliquée en raison de la susceptibilité accrue des souris femelles au stress (352). La défaite sociale est basée sur les comportements d'agression envers un sujet du même sexe, des comportements qui ne sont pas naturellement observés chez les femelles (353). Dans notre cas, la résistance des souris femelles à l'obésité a justifié l'extension de la période d'exposition à une diète riche en gras de 12 à 24 semaines. Ce dédoublement de la durée ne permet pas une comparaison directe entre nos mâles et nos femelles, toutefois, notre objectif demeurait d'évaluer l'impact de l'obésité induite par la diète chez chaque sexe. Ce faisant, les durées de diète respectives ont mené à une prise de poids similaire chez les deux sexes.

Les manifestations classiques de la dépression diffèrent entre les hommes et les femmes, ce qui mène à se questionner sur la spécificité des tests comportementaux employés quant au sexe des rongeurs. Par exemple, il n'est pas clair si le sexe peut prédire la réponse aux antidépresseurs, toutefois, les femmes entretiennent une relation étroite avec les molécules ciblant la sérotonine, particulièrement avant la ménopause (354). Similairement aux agents sérotoninergiques, l'estrogène favorise l'expression de marqueurs de plasticité, notamment au HPC, pouvant influencer ainsi les fonctions affectives et cognitives (355–357). Nos travaux se concentrent sur le NAc, mais les régions du cerveau impliquées en dépression chez la femme pourrait différencier de l'homme. De ce fait, chez la souris femelle, le PFC est particulièrement sensible aux effets délétères du stress chronique (358,359). Tout de même, le NAc semble impliqué en dépression induite par le stress chronique chez les deux sexes, via des mécanismes moléculaires pouvant diverger (209,352,360). Il est donc probable que l'absence d'effets inflammatoires au NAc observé chez les femelles découlent de l'implication d'un autre mécanisme dans cette même région.

Initialement, nous nous attendions à un mécanisme neuro-inflammatoire conjoint au NAc de nos mâles et femelles considérant leur phénotype comportemental identique suite à l'exposition à une diète riche en gras saturés. Cependant, les études chez le rongeur démontrent que la sensibilité aux réponses inflammatoires diffère entre les deux sexes. Par exemple, il a été rapporté qu'au niveau des comportements dépressifs, les rates sont moins sensibles que les mâles au traitement par LPS (361). D'un point de vue moléculaire également, la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique est préservée chez la jeune souris femelle suite à une injection périphérique de LPS (362). Cette observation va de pair avec les actions anti-inflammatoires de l'estrogène sur les cellules gliales (363,364) et suggère qu'une alimentation riche en gras saturés induit un phénotype anxiodépressif autrement que via une augmentation l'inflammation au NAc des femelles. Notamment, contrairement aux mâles où l'inhibition de la voie pro-inflammatoire NFkB réduit l'étendue des comportements anxiodépressifs, c'est plutôt l'activation de cette même voie, au NAc, qui diminue

la susceptibilité au stress chronique chez la souris femelle (365). On pourrait supposer que l'estrogène protège les femelles contre l'activité inflammatoire de la voie NFkB, tout en permettant la transcription de gènes impliqués dans d'autres fonctions comme la plasticité. Par exemple, la potentialisation à long-terme au striatum requiert notamment la signalisation à l'estrogène (366). Une interaction entre l'estrogène et la voie NFkB au NAc de souris femelles pourrait induire des adaptations neuronales influençant l'expression de comportements anxiodépressifs. Dans tous les cas, l'absence d'inflammation au NAc de souris femelles laisse la porte ouverte à une multitude d'autres mécanismes dans l'induction du phénotype anxiodépressif en diète riche en gras saturés.

Un mécanisme par lequel l'estrogène peut influencer la neurotransmission au NAc est via la stabilisation de ses récepteurs à la membrane cytoplasmique grâce aux modifications post-translationnelles d'acylation ou de palmitoylation. Chez la femelle, les récepteurs ERa et ERb sont palmitoylés et s'associent, à la membrane, avec les récepteurs glutamatergiques métabotropiques du NAc pour moduler les fonctions de récompense (367). Une hypothèse à tester serait donc qu'une diète riche en gras saturés – à base d'huile de palme – promeut l'expression de comportements anxiodépressifs chez la souris femelle via une augmentation de la palmitoylation des récepteurs ERa et/ou ERb. En s'associant aux récepteurs glutamatergiques métabotropiques, la signalisation à l'estrogène pourrait perturber l'équilibre entre l'activité des neurones D1R et D2R du NAc. Évidemment, ceci n'est que spéculatif, mais d'avantage d'études incluant le sexe féminin sont requises pour un portrait de la dépression représentatif de la réalité clinique. Un point important pour l'identification de cibles thérapeutiques demeure que l'observation d'un phénotype comportemental similaire entre les deux sexes ne garantit pas une même mécanistique sous-jacente.

4.1.4. Différences développementales

Brièvement, un autre facteur pouvant influencer la réponse aux régimes obésogènes est le stade de développement au cours duquel débute l'exposition. L'obésité juvénile connaît une croissance fulgurante ces dernières années et des dysfonctions métaboliques sont observables chez certains enfants même avant qu'ils n'atteignent la puberté (368). En comparant des animaux ayant débuté leur régime obésogène au moment du sevrage (P21) à ceux l'ayant initié à l'âge adulte (<P60), des chercheurs ont identifié l'adolescence comme une période de vulnérabilité aux déficits cognitifs associés à l'obésité (369,370). Contrairement à nos travaux avec initiation de la diète à l'âge adulte, l'observation d'un phénotype anxiodépressif requiert un traitement au LPS afin de potentialiser la neuro-inflammation (371). L'introduction d'une diète riche en gras au cours d'une période de croissance majeure pourrait freiner les conséquences affectives de l'obésité, sans toutefois épargner les fonctions cognitives recrutant le PFC et le HPC.

De façon générale, nos résultats corrèlent avec les observations rapportées dans la littérature, en ce qui concerne l'induction d'un phénotype anxiodépressif par l'obésité induite par la diète chez le rongeur adulte.

Les prochaines sections traiteront des mécanismes sous-tendant la relation obésité et dépression, tels qu'observés dans nos travaux et dans la littérature.

4.2. Mécanismes inflammatoires

L'inflammation est un thème majeur de cet ouvrage et elle est abordée au sens large, sans grande distinction entre les types cellulaires impliqués. L'obésité est un état d'inflammation généralisée, cependant, certains processus inflammatoires peuvent être plus néfaste que d'autres pour le contrôle métabolique ainsi que pour les fonctions affectives.

4.2.1. Origine de l'inflammation

Tel que décrit dans l'introduction, la suralimentation cause une hypertrophie des adipocytes et les cellules immunitaires associés à ces derniers relâchent des cytokines pro-inflammatoires, mais les nutriments eux-mêmes peuvent induire une réponse immunitaire, sans pour autant passer par la lipogénèse. Par exemple, des expériences in vitro démontrent que les acides gras saturés peuvent activer la voie de transcription NFkB dans les macrophages (97) alors que l'acide oléique inhibe cette même voie dans les microglies traitées au LPS (110). Ces observations suggèrent un impact aiguë des acides gras qui serait indépendant du développement de l'obésité. Toutefois, ces conditions en culture ne sont pas représentatives d'un système physiologique et il est beaucoup plus probable que ce soit des acides gras endogènes qui agissent sur les macrophages.

La qualité de notre alimentation affecte la composition de notre flore intestinale et l'obésité est associée à un déséquilibre dans la population bactérienne intestinale avec une prédominance des bactéries à gram négatif produisant le LPS (372). Il s'en suit une réponse immunitaire et la libération de cytokines pro-inflammatoires pouvant atteindre le système nerveux central par la circulation sanguine, mais le nerf vague permet également un accès direct. La stimulation du nerf vague est d'ailleurs une option thérapeutique pour les symptômes dépressifs, en plus de démontrer des effets anti-inflammatoires chez les patients souffrant de maladies auto-immunes (254). En transplantant la flore intestinale de souris nourries avec une diète riche en gras chez des souris contrôles, des chercheurs ont observé l'expression de comportements anxieux ainsi de marqueurs inflammatoires au cerveau, et ce, en l'absence de différences de poids corporel (373). La consommation d'une diète riche en gras affecte également la concentration de messagers lipidiques, tels que les éthanolamides, et l'un d'eux, l'oléoyléthanolamide, est impliqué dans la relâche de dopamine au striatum suite à la détection de nutriments dans l'intestin (374). Les altérations de la flore intestinale par une alimentation riche en gras peuvent donc induire une réponse inflammatoire qui va éventuellement altérer les fonctions

nerveuses ou directement influencer la signalisation dopaminergique, deux mécanismes impliqués dans l'expression de comportements anxiodépressifs.

À l'instar des études sur le microbiome intestinal, d'autres scientifiques ont plutôt exploré le rôle joué par les cellules immunitaires périphériques en effectuant des transplantations de moelle osseuse provenant de souris transgéniques. L'invalidation du gène de l'interleukine-6 (IL6) dans les cellules hématopoïétiques favorise un phénotype de résilience suite à la défaite sociale (375). Récemment, il a été démontré que l'induction d'un stress métabolique que dans une sous-catégorie de lymphocytes T était suffisant pour provoquer un phénotype anxieux chez la souris (376). Ensemble, ces études démontrent que l'inflammation, isolée à différents niveaux, peut induire un phénotype similaire à celui que nous observons. Les processus immunitaires agissant via un système de cascades, la synergie de plusieurs acteurs contribuent à l'étendue et à la chronicité de la réponse inflammatoire. Il reste à savoir si tous ces mécanismes ciblent également le NAc et si notre intervention pour inhiber la voie NFkB aurait un impact similaire avec ces autres modèles d'inflammation.

4.2.2. Rôles des cellules gliales

Le promoteur que nous avons employé pour notre approche virale chez les mâles avait un large spectre d'infection et ne ciblait pas une population cellulaire particulière. Notre intervention ne permettait donc pas d'élucider la contribution relative des neurones versus des cellules gliales, par exemple. Pourtant, ces cellules ont un impact crucial sur la propagation de la réponse inflammatoire et les conséquences de l'obésité sur le cerveau. Au niveau de l'hypothalamus, l'activité de la voie NFkB spécifiquement dans les astrocytes est requise pour le développement de l'obésité et de neuro-inflammation chez la souris exposée à une diète riche en gras (247). L'inhibition de cette même voie dans les microglies du MBH limite la prise de poids en situation de régime obésogène et, à l'opposé, l'activation de cette voie de transcription induit une prise de poids et l'infiltration de cellules immunitaires périphériques chez des animaux nourris avec une diète contrôle (377). Les microglies répondent également au stress chronique et adoptent un profil pro-inflammatoire typiquement chez la souris mâle, tel que démontré au PFC (378). Dans une même optique, l'invalidation du gène STAT3 dans les microglies prévient le développement de comportement anxiodépressifs suite à un stress chronique possiblement via un remodelage synaptique au PFC (379). Il est possible que nous aurions obtenu des résultats différents en étudiant le rôle de l'activation de la voie NFkB spécifiquement dans les astrocytes ou les microglies quant au développement d'un phénotype anxiodépressif en obésité.

L'observation de changements morphologiques chez les cellules gliales est souvent considérée comme un processus pathologique, cependant les astrocytes et les microglies ont plusieurs fonctions autres que la propagation de la réponse inflammatoire. Par exemple, les astrocytes sont grandement impliqués dans le métabolisme des lipides et ainsi influence la morphologie dendritique (380,381). Les astrocytes captent

également le glutamate extracellulaire pour le convertir en glutamine, prévenant l'excito-toxicité un processus pouvant être perturbé dans le NAc et le PFC de mâles et femelles, respectivement, suite à l'exposition à un stress chronique (382). L'activité phagocytaire des microglies est cruciale en présence de pathogènes, tout comme elle joue un rôle important dans la régulation de la synaptogénèse et le retrait de débris cellulaires en conditions neurodégénératives (242,383,384). La gliose réactionnelle que nous avons observé chez nos mâles était considérée un indice de neuro-inflammation induite par la diète riche en gras saturés. Toutefois, considérant leurs nombreux rôles, l'absence de ces cellules gliales, au moins en contexte d'obésité induite par la diète, pourrait mener à des répercussions bien plus sévères.

4.2.3. Intégrité de la barrière hémato-encéphalique

La semi-perméabilité de la barrière hémato-encéphalique permet une limitation sélective des molécules d'origine périphérique accédant au système nerveux central. Tout comme pour l'obésité, le stress chronique a été associé à une atteinte à l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique, chez le rat, avec réduction de l'expression de protéines de jonctions serrées au HPC ainsi qu'à l'AMY (385,386) Alors que certains auteurs avancent que ce phénomène ne peut être répliqué chez la souris (387), d'autres démontrent une perte de perméabilité suite à la défaite sociale (388,389). Chez l'humain, l'expression génique d'une protéine de jonction serrée était réduite spécifiquement au NAc des sujets dépressifs et cette même protéine module la susceptibilité à la défaite sociale chez la souris (390). Il est possible que l'inflammation observée au NAc de nos souris nourries avec une diète riche en gras saturés résulte d'une perméabilité accrue au niveau de la barrière hémato-encéphalique, facilitant l'infiltration de molécules périphériques. Il n'est pas clair si la préservation de l'intégrité de la barrière serait suffisante pour bloquer le développement de processus inflammatoires au NAc, dans notre cas, considérant la diffusion des lipides et le transport de nombreux marqueurs métaboliques au travers la membrane.

Néanmoins, les altérations au niveau de la barrière hémato-encéphalique en cas d'obésité induite par la diète pourraient avoir des répercussions majeures sur métabolisme et les fonctions nerveuses. Le fonctionnement adéquat de la barrière permet de maintenir un flux adéquat de nutriments aux cellules du cerveau (391) et il a été démontré que l'exposition aiguë à une diète riche en gras réduit l'expression du transporteur du glucose sur les cellules endothéliales, mais que la relâche d'un facteur de croissance par les macrophages permet de rétablir l'entrée du glucose à long-terme, sans quoi des déficits cognitifs sont observables (392). Une réduction du métabolisme du glucose par le cerveau précède les symptômes cognitifs dans la maladie d'Alzheimer (393). Ceci mène à se questionner sur le rôle joué par ces macrophages à court-terme et si l'hypoactivité pouvant être observé dans différentes régions du cerveau en dépression implique une altération dans le transport du glucose. Chez le rat nourri avec une diète riche en gras, la sévérité de l'anhédonie au sucrose corrèle négativement l'utilisation de glucose au thalamus ainsi qu'au striatum (394). On ne peut donc pas exclure l'hypothèse que, via des altérations au niveau de la

barrière hémato-encéphalique, l'obésité est associée à une baisse d'utilisation de glucose au NAc, favorisant l'expression de comportements anxiodépressifs.

Bref, il est clair que l'inflammation module l'expression de comportements anxiodépressifs chez les mâles, toutefois la séquence d'événements reliant l'ingestion d'aliments riches en gras saturés et l'apparition de marqueurs inflammatoires au NAc n'a pas été identifiée. Il existe différents mécanismes par lesquels les acides gras alimentaires peuvent influencer le système immunitaire et la neurotransmission, cependant, les effets les plus marqués sont probablement ceux impliquant un débalancement homéostatique prolongé comme tel est le cas en obésité.

4.3. Circuit méso-cortico-limbique

Nos efforts se sont concentrés sur la voie dopaminergique méso-limbique et plus précisément le NAc, en raison de l'implication de cette structure dans les déficits hédoniques en dépression et la motivation alimentaire. Des travaux antérieurs au sein du laboratoire avaient également mis en évidence le NAc comme une région sujette aux adaptations neuronales et suggéraient une fonction des neurones D1R altérée en condition de diète riche en gras (225,232). Toutefois, le VTA envoie également des projections vers le PFC qui pourraient contribuer aux comportements que nous observons. De plus, les neurones D2R peuvent également être affectés par l'obésité et leurs actions ne sont pas nécessairement antagonistes à celles des D1R comme le suggère les circuits locomoteurs des ganglions de la base.

4.3.1. Voie méso-corticale

Les neurones D1R du PFC sont activés par la prise alimentaire et leur recrutement stimule à son tour la consommation de nourriture via une interaction avec l'AMY (395). L'exposition à une diète riche en gras a été associée à une réduction de l'expression protéique de D1R ainsi qu'un métabolisme accru de la dopamine au PFC (396). Récemment, la stimulation des neurones D1R et non D2R du PFC a été démontré comme produisant un effet antidépresseur durable en contexte non-obésogène (397). Ces deux études laissent présager que les neurones D1R du PFC jouent un rôle similaire à ce que nous avons observé au NAc et l'interaction entre ces deux structures pourrait être altérée en situation d'obésité. Par exemple, la disponibilité des récepteurs D2R au striatum corrèle avec l'activité métabolique au PFC chez les individus obèses, suggérant une réduction du contrôle inhibiteur cortical sur les fonctions striatales (398). En dépression, les concentrations plasmatiques de CRP sont prédictives d'une connectivité réduite entre le PFC et le NAc (263). Il est donc possible que les récepteurs dopaminergiques du PFC soient également

impliqués dans le phénotype comportemental que nous observons, particulièrement compte-tenu des interactions entre le PFC et le NAc.

4.3.2. Implication des neurones D2R

En conditions d'exposition à une diète palatable, il a été démontré que la réduction de l'expression des D2R au striatum contribuent au développement de comportements alimentaires compulsifs (399). Une observation qui va de pair avec la corrélation négative entre l'indice de masse corporelle et la disponibilité des D2R au NAc (219), quoique la relation entre les D2R et l'obésité demeure controversée (400). Le recrutement des neurones D2R du NAc serait relié à une aversion du risque et limiterait l'impulsivité (401). Cette théorie sous-tend les changements épigénétiques associés au D2R chez les femmes diagnostiquées avec une condition psychiatrique de laquelle l'impulsivité fait partie intégrante (402).

L'activation des neurones D1R est classiquement associé à l'exécution de comportements motivés, il a été démontré que l'inactivation des neurones D2R post-synaptiques du NAc est requise pour le conditionnement aversif (403). Cette vision rigide des rôles des neurones D1R et D2R du NAc est remise en question avec plusieurs évidences que l'activité des deux récepteurs contribue à la motivation alimentaire et à l'apprentissage aversif (404). Le paradigme de défaite sociale, cependant, démontre des effets divergents de l'activation de ces deux classes de neurones sur la susceptibilité à développer des comportements dépressifs (405). On ne peut donc pas immédiatement assumer des actions antagonistes des neurones D1R et D2R du NAc, quoique leur activation est associée à des effets différentiels en dépression.

En activant les neurones D1R du NAc, chez nos souris obèses, nous avons observé une accentuation des comportements anxieux en EPM et OFT, deux tests non employés dans l'étude précédente. Il n'est pas clair si ce phénotype anxieux fait suite à l'activité accrue des neurones D1R du NAc ou un recrutement inadéquat des neurones D2R. Les souris transgéniques invalidées pour le D2R présentent également un phénotype anxieux (406) et l'activation des neurones D2R du NAc contribue à l'apaisement suite à un stress (70). Chez l'humain, l'expression du gène Slc6a15 est réduite spécifiquement dans les neurones D2R du NAc d'individus dépressifs et sa surexpression chez la souris favorise la résilience au stress (407). Il reste à vérifier si l'activation des neurones D2R du NAc augmente également l'expression de comportements dépressifs chez nos animaux nourris avec une diète riche en gras saturés et si, à l'opposé, nous pouvons obtenir un effet anxiolytique.

4.3.3. Susceptibilité des neurones D1R

Omettant un rôle potentiel pour les neurones D2R du NAc dans le phénotype anxieux induit par l'obésité, une question qui demeure non-résolue concerne la susceptibilité des neurones D1R et non D2R aux effets délétères d'une diète riche en gras saturés. Les neurones D1R pourraient-ils être préférentiellement affectés par l'inflammation? Il a été démontré que la dopamine inhibait le recrutement de l'inflammasome via le

recrutement des récepteurs D1R (408). L'activation des récepteurs D1R chez la souris limite l'inflammation et l'œdème dans un modèle d'hémorragie intracérébrale (409). Dans ce cas-ci, l'amélioration des comportements dépressifs que nous observons est-elle conséquente à la réduction de l'inflammation au NAc par l'activation des neurones D1R? Des mesures de marqueurs inflammatoires dans le NAc de nos animaux permettront de vérifier si les effets comportementaux observés sont dépendants d'une réduction de l'inflammation. Dans un premier temps, cette analyse pourrait se faire par quantification de l'expression de gènes pro-inflammatoires tel qu'effectué dans le premier article. Par la suite, si des mesures plus ciblées sont requises, il serait intéressant d'isoler les neurones D1R du NAc par cytométrie en flux, immunoprécipitation ou encore purification de ribosomes pour ensuite obtenir un portrait de l'expression de marqueurs inflammatoires dans les neurones D1R du NAc en condition de diète riche en gras saturés et/ou suite la chimiogénétique.

En l'absence de processus inflammatoire, les neurones D1R du NAc seraient-ils également ciblés par une diète riche en gras saturés? Nous n'avons pas investigué le rôle des neurones D1R chez nos souris femelles, mais la littérature suggère que l'estrogène entretient une relation particulière avec les récepteurs dopaminergiques. En culture cellulaire, le traitement avec un agoniste D1R augmente l'expression génique de l'aromatase (410). Chez le rongeur, l'administration d'estrogène accroît rapidement la relâche de dopamine au NAc et celle-ci varie en fonction du cycle hormonal (411). Le traitement à l'estrogène est également associé à une augmentation de la disponibilité des D2R au NAc via l'activation des ERb (412). Les récepteurs à l'estrogène peuvent être palmitoylés et s'associer avec des récepteurs glutamatergiques métabotropiques favorisant ainsi des adaptations neuronales qui peuvent augmenter la sensibilité aux psychostimulants (413). Si la palmitoylation des récepteurs à l'estrogène au NAc est accrue chez nos souris nourries avec la diète riche en gras saturés, celle-ci pourrait déséquilibrer l'activité des neurones D1R versus D2R et favoriser l'expression de comportements anxiodépressifs.

Ceci dit, l'activité dopaminergique au NAc est influencée par d'autres structures, telles que celles de la voie méso-corticale. Nos résultats pointent vers des effets antidépresseurs mais anxiogéniques du recrutement des neurones D1R du NAc chez des animaux nourris avec une diète riche en gras saturés chez les souris mâles. Cette observation ne nous permet pas d'exclure une contribution des neurones D2R, particulièrement considérant leur rôle dans l'inhibition de l'aversion. De plus, l'absence d'inflammation au NAc de nos souris femelles n'exclut pas la possibilité que le recrutement des neurones D1R améliore le phénotype dépressif.

4.4. Perspectives thérapeutiques

Malgré les nombreuses avancées en neuroscience, la réalité clinique demeure que, pour la majorité des patients dépressifs, la réponse au premier traitement pharmacologique proposé est insatisfaisante (414). S'en suit un processus de titrage et souvent d'essai/erreur afin de trouver une molécule et une dose thérapeutique, un processus qui s'étend sur plusieurs mois considérant le délai entre l'administration de la première dose et l'apparition d'effets bénéfiques. La résistance au traitement est plus fréquente chez les personnes vivant avec des problématiques à la fois de santé mentale et de santé physique, et l'obésité est encore plus commune chez ce sous-type de patients dépressifs (9). L'identification de molécules permettant de cibler à la fois les symptômes dépressifs et d'ordre métaboliques diminuerait le double fardeau reposant sur les épaules des patients et du système de santé public.

4.4.1. Endotypes dépressifs

Jusqu'à présent, les manifestations de la dépression ont été classifiées selon la direction de l'expression de certains symptômes, tel qu'est le cas avec le continuum de la dépression mélancolique vers le sous-type atypique (304). La présence de symptômes anxieux, également, est un élément de pronostic important et peut guider le choix de l'agent pharmacologique (415). Existe-t-il d'autres paramètres, indépendants de la symptomatologie, qui pourraient prédire la réponse thérapeutique à certains traitements? Par exemple, l'usage de molécules anti-inflammatoires, comme agent unique ou en ajout à un antidépresseur conventionnel, est d'un grand intérêt clinique considérant la relation solide entre l'inflammation et les symptômes dépressifs (416). Cependant, si nos observations chez la souris femelle corrèlent avec la réalité humaine, l'approche anti-inflammatoire aura-t-elle la même efficacité chez un homme que chez une femme en âge de procréer? L'obésité est-elle associée à une pathophysiologie dépressive distincte de celle d'un individu métaboliquement sain? La magnitude des facteurs biologiques, environnementaux et sociaux influençant le développement de la dépression ne permet pas de classifier les patients dans des groupes homogènes, mais l'intégration de particularités physiologiques pourrait identifier des sous-types dépressifs prédisant la réponse à certains traitements. De ce fait, des chercheurs ont démontré que c'est le patron de connectivité neurale et non le profil symptomatologique qui prédit la réponse thérapeutique à la stimulation transcrânienne du PFC (417).

4.4.2. Polypharmacie

L'augmentation – le processus d'ajouter un traitement médicamenteux à un autre déjà en cours afin de potentialiser son impact thérapeutique – est fréquemment employée suite à l'absence de réponse à un antidépresseur classique. Généralement, des antidépresseurs de classes différente sont combinés ou un antipsychotique est ajouté (418). L'usage de molécules ciblant le système nerveux central pour le traitement de l'obésité ouvre la porte à de nombreuses opportunités en matière de gestion commune du poids et des symptômes affectifs. Cette proximité entre les mécanismes neurobiologiques impliqués en régulation de l'appétit et des émotions est malheureusement bien illustrée par le retrait du marché de l'agoniste inverse des

récepteurs aux endocannabinoïdes (419). Bien que ses effets sur le poids soient modestes, la combinaison de naltrexone (antagoniste opioïde employé en toxicomanie) et de bupropion (inhibiteur de la recapture de la dopamine et de la norépinéphrine employé en dépression) induit une perte de poids durable chez les individus obèses et souffrant d'altérations métaboliques, en plus de pouvoir réduire les compulsions alimentaires et les symptômes dépressifs (420).

Outre la potentialisation des efficacités thérapeutiques, la combinaison de molécules peut également diminuer les effets secondaires. La construction du co-agoniste GLP-1/dexaméthasone que nous avons testé permet de limiter les actions de la dexaméthasone aux cellules exprimant un récepteur au GLP-1. Ainsi, les conséquences de la dexaméthasone sur la résistance à l'insuline et l'adiposité sont évitées, permettant l'administration de cette molécule chez des souris nourries avec une diète riche en gras. Bien que nous n'ayons pas observé d'amélioration dans les tests d'anxiété et de dépression, l'absence d'effets néfastes sur le métabolisme et les comportements anxiodépressifs démontre un potentiel pour ce nouveau conjugué comme traitement de l'obésité. L'agoniste du GLP-1 a également été associé avec l'estrogène, délivrant ainsi cette hormone aux cellules du système nerveux central, ce qui pourrait faciliter la perte de poids sans pour autant favoriser le développement de tumeurs hormono-dépendantes (421). Considérant l'effet de l'estrogène sur la motivation, il serait intéressant de vérifier le potentiel de ce co-agoniste sur les comportements anxiodépressifs en obésité. D'autres hormones nucléaires pourraient également être associées au GLP-1 en vue d'obtenir des actions plus ciblées. Éventuellement, l'identification d'agonistes exprimés moins largement à travers le cerveau que le GLP-1 pourrait permettre la livraison de molécules quasi-directement aux régions affectées. Bien qu'elle ne soit pas directement applicable à l'humain, la recherche fondamentale identifie des mécanismes moléculaires faisant défaut en dépression et/ou en obésité et, ainsi, oriente l'industrie pharmaceutique et les chercheurs cliniciens vers les molécules au potentiel le prometteur.

Chapitre 5 – Conclusion

L'obésité, l'anxiété et la dépression sont des enjeux majeurs de notre siècle et les interactions entre le métabolisme et les fonctions nerveuses compliquent la prise en charge de ces conditions médicales. Les individus obèses sont plus à risque, non seulement, de présenter des symptômes anxieux et dépressifs, mais également d'être résistants aux antidépresseurs conventionnels. À leurs tours, les déficits motivationnels et le stress favorisent l'adoption de comportements alimentaires mésadaptés et entravent à la gestion du poids corporel. Les mécanismes biologiques communs à l'obésité ainsi qu'aux troubles anxieux et de l'humeur offrent une opportunité de développement pour de nouvelles approches thérapeutiques. Nos travaux chez le rongeur nourri avec une diète riche en gras saturés ont permis d'identifier certaines altérations au NAc, par lesquelles l'obésité favorise l'expression de comportements anxiodépressifs et la motivation alimentaire. L'utilisation de souris mâles et femelles révèle un dimorphisme sexuel, non pas dans le phénotype comportemental, mais dans les processus moléculaires sous-tendant les comportements anxiodépressifs induits par une diète riche en gras saturés. Ce type d'observation appelle à la vigilance dans les assomptions pouvant être faites entre les deux sexes quant au potentiel thérapeutique de nouvelles molécules.

Les résultats que nous avons obtenus ouvrent la voie à plusieurs autres questions de recherche en vue d'approfondir notre compréhension des adaptations moléculaires au NAc reliant l'obésité, la dépression et l'anxiété. La contribution de l'estrogène sur les comportements anxiodépressifs chez la femelle mérite d'être mieux investiguée, particulièrement à ce qui a trait au phénomène de palmitoylation qui permet d'expliquer les différences sexuelles en toxicomanie. Chez le mâle, la modulation bidirectionnelle des comportements anxieux et dépressifs par l'activation des neurones D1R du NAc est un phénomène nouveau et il faudrait vérifier si la modulation de l'anxiété implique les neurones D2R. De plus, il reste à voir si l'amélioration du phénotype dépressif par le recrutement des neurones D1R est un processus indépendant de la réduction de l'inflammation au NAc. L'obtention de ces données peindra un portrait plus complet des altérations au NAc modulant la susceptibilité accrue aux déficits anxiodépressifs induits par une diète riche en gras saturés chez la souris mâle et femelle.

L'obésité, au même titre que les troubles anxieux et de l'humeur, est largement stigmatisée comme un choix personnel et un manque de volonté. Les études chez l'humain et chez l'animal mettent en lumière des adaptations neuronales, discréditant la préconception que ces conditions médicales découlent uniquement de la bonne volonté. Les choix alimentaires que nous posons sont de bons prédicteurs de notre état de santé métabolique et mental, mais ces décisions sont dépendantes du fonctionnement adéquat de diverses régions du cerveau. À une ère où les aliments palatables sont plus accessibles que les ingrédients non-transformés

et que, paradoxalement, le nombre de ‘coachs’ en nutrition sans appartenance à un ordre professionnel est en plein essor, ne soyons pas étonnés de la confusion de la population générale par rapport aux recommandations nutritives. La prise en charge de l’obésité, et encore plus en cas de comorbidité psychiatrique, requière une intervention pluridisciplinaire permettant d’adresser les aspects métaboliques et motivationnels. La neuroscience nutritionnelle est un domaine de recherche en pleine expansion dont l’application clinique sera un atout important face aux défis que posent les maladies chroniques dans notre société.

Références bibliographiques

1. Statistique Canada. Tableau 13-10-0096-01 Caractéristiques de la santé, estimations annuelles. 2018.

2. Friedrich MJ. Depression Is the Leading Cause of Disability Around the World. JAMA [Internet]. 2017 Apr 18 [cited 2020 Jan 10];317(15):1517. Available from: http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2017.3826

3. Tsuang MT, Taylor L, Faraone S V. An overview of the genetics of psychotic mood disorders. J Psychiatr Res [Internet]. 2004 Jan 1 [cited 2020 Jan 11];38(1):3–15. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022395603000967?via%3Dihub

4. Devane CL, Chiao E, Franklin M, Kruep EJ. Anxiety disorders in the 21st century: status, challenges, opportunities, and comorbidity with depression. Am J Manag Care [Internet]. 2005 Oct [cited 2020 Jan 11];11(12 Suppl):S344-53. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16236016

5. Bystritsky A, Kerwin L, Feusner JD, Vapnik T. A pilot controlled trial of bupropion XL versus escitalopram in generalized anxiety disorder. Psychopharmacol Bull [Internet]. 2008 [cited 2020 Jan 11];41(1):46–51. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18362870

6. Lesage A, Bernèche F, Bordeleau M. Étude sur la santé mentale et le bien-être des adultes québécois : une synthèse pour soutenir l'action. Enquête sur la santé dans les collectivités canadiennes (cycle 1.2). Québec; 2010.

7. Luppino FS, de Wit LM, Bouvy PF, Stijnen T, Cuijpers P, Penninx BW, et al. Overweight, obesity and depression: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. Arch Gen Psychiatry. 2010;67(3):10.

8. Amiri S, Behnezhad S. Obesity and anxiety symptoms: a systematic review and meta-analysisAdipositas und Angstsymptome: systematische Review und Metaanalyse. neuropsychiatrie [Internet]. 2019 Feb 18 [cited 2019 Feb 28]; Available from: http://link.springer.com/10.1007/s40211-019-0302-9

9. Rizvi SJ, Grima E, Tan M, Rotzinger S, Lin P, Mcintyre RS, et al. Treatment-resistant depression in primary care across Canada. Can J Psychiatry [Internet]. 2014 Jul [cited 2020 Jan 9];59(7):349–57. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25007419

10. Hao Y, Ge H, Sun M, Gao Y. Selecting an Appropriate Animal Model of Depression. Int J Mol Sci [Internet]. 2019 Sep 28 [cited 2019 Oct 3];20(19):4827. Available from: https://www.mdpi.com/1422-0067/20/19/4827

11. Campos AC, Fogaca M V., Aguiar DC, Guimaraes FS, Campos AC, Fogaca M V., et al. Animal models of anxiety disorders and stress. Rev Bras Psiquiatr [Internet]. 2013 [cited 2020 Feb 12];35(suppl 2):S101–11. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462013000600006&lng=en&tlng=en

12. Locke AE, Kahali B, Berndt SI, Justice AE, Pers TH, Day FR, et al. Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. Nature [Internet]. 2015 [cited 2019 Jan 30];518(7538):197. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4382211/

13. Vainik U, Dagher A, Realo A, Colodro-Conde L, Mortensen EL, Jang K, et al. Personality-obesity associations are driven by narrow traits: A meta-analysis. Obes Rev [Internet]. 2019 Apr 15 [cited 2020 Jan 11];20(8):obr.12856. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/obr.12856

14. Sternson SM, Eiselt A-K. Three Pillars for the Neural Control of Appetite. Annu Rev Physiol [Internet]. 2017 [cited 2017 Feb 2];79(1):annurev-physiol-021115-104948. Available from: www.annualreviews.org

15. Blouet C, Schwartz GJ. Hypothalamic nutrient sensing in the control of energy homeostasis [Internet]. Vol. 209, Behavioural Brain Research. Elsevier; 2010 [cited 2019 Mar 18]. p. 1–12. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432809007505?via%3Dihub

16. Choi YH, Fujikawa T, Lee J, Reuter A, Kim KW. Revisiting the ventral medial nucleus of the hypothalamus: The roles of SF-1 neurons in energy homeostasis. Front Neurosci [Internet]. 2013 [cited 2019 Mar 19];7(7 MAY):71. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23675313

17. Musatov S, Chen W, Pfaff DW, Mobbs C V, Yang X-J, Clegg DJ, et al. Silencing of estrogen receptor alpha in the ventromedial nucleus of hypothalamus leads to metabolic syndrome. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2007 Feb 13 [cited 2019 Mar 19];104(7):2501–6. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17284595

18. Xu Y, Nedungadi TP, Zhu L, Sobhani N, Irani BG, Davis KE, et al. Distinct hypothalamic neurons mediate estrogenic effects on energy homeostasis and reproduction. Cell Metab [Internet]. 2011 Oct 5 [cited 2017 Jun 18];14(4):453–65. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21982706

19. Stuber GD, Wise RA. Lateral hypothalamic circuits for feeding and reward [Internet]. Vol. 19, Nature Neuroscience. NIH Public Access; 2016 [cited 2019 Mar 24]. p. 198–205. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26814589

20. Sweeney P, Yang Y. Neural Circuit Mechanisms Underlying Emotional Regulation of Homeostatic Feeding [Internet]. Vol. 28, Trends in Endocrinology and Metabolism. NIH Public Access; 2017 [cited 2019 Feb 25]. p. 437–48. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28279562

21. Volkow ND, Wang GJ, Baler RD. Reward, dopamine and the control of food intake: implications for obesity. Trends Cogn Sci [Internet]. 2010/11/27. 2011;15(1):37–46. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21109477

22. Oginsky MF, Goforth PB, Nobile CW, Lopez-Santiago L, Ferrario CR. Eating "Junk-Food" Produces Rapid and Long-Lasting Increases in NAc CP-AMPA Receptors; Implications for Enhanced Cue-Induced Motivation and Food Addiction. Neuropsychopharmacology [Internet]. 2016;41(February):1–25. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27383008

23. Kanoski SE, Grill HJ. Hippocampus Contributions to Food Intake Control: Mnemonic, Neuroanatomical, and Endocrine Mechanisms [Internet]. Vol. 81, Biological Psychiatry. NIH Public Access; 2017 [cited 2019 Mar 24]. p. 748–56. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26555354

24. Wassum KM, Izquierdo A. The basolateral amygdala in reward learning and addiction [Internet]. Vol. 57, Neuroscience and Biobehavioral Reviews. NIH Public Access; 2015 [cited 2016 Oct 22]. p. 271–83. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26341938

25. Yizhar O, Klavir O. Reciprocal amygdala–prefrontal interactions in learning [Internet]. Vol. 52, Current Opinion in Neurobiology. Elsevier Current Trends; 2018 [cited 2019 Mar 24]. p. 149–55. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959438818300813?via%3Dihub

26. Rudebeck PH, Saunders RC, Prescott AT, Chau LS, Murray EA. Prefrontal mechanisms of behavioral flexibility, emotion regulation and value updating. Nat Neurosci [Internet]. 2013/06/25. 2013;16(8):1140–5. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23792944

27. Ehrlich S, Geisler D, Ritschel F, King JA, Seidel M, Boehm I, et al. Elevated cognitive control over reward processing in recovered female patients with anorexia nervosa. J Psychiatry Neurosci [Internet]. 2015 Sep [cited 2020 Jan 11];40(5):307–15. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26107161

28. Nieh EH, Vander Weele CM, Matthews GA, Presbrey KN, Wichmann R, Leppla CA, et al. Inhibitory Input from the Lateral Hypothalamus to the Ventral Tegmental Area Disinhibits Dopamine Neurons and Promotes Behavioral Activation. Neuron [Internet]. 2016 [cited 2019 Mar 15];90(6):1286–98. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27238864

29. Nieh EH, Matthews GA, Allsop SA, Presbrey KN, Leppla CA, Wichmann R, et al. Decoding neural

circuits that control compulsive sucrose seeking. Cell [Internet]. 2015 Jan 29 [cited 2019 Mar 15];160(3):528–41. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25635460

30. Meye FJ, Adan RAH. Feelings about food: The ventral tegmental area in food reward and emotional eating [Internet]. Vol. 35, Trends in Pharmacological Sciences. Elsevier Current Trends; 2014 [cited 2019 Feb 25]. p. 31–40. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165614713002113?via%3Dihub

31. Volkow ND, Wise RA, Baler R. The dopamine motive system: implications for drug and food addiction. Nat Rev Neurosci [Internet]. 2017 Dec 16 [cited 2019 Nov 8];18(12):741–52. Available from: http://www.nature.com/articles/nrn.2017.130

32. Gibson EL. The psychobiology of comfort eating: implications for neuropharmacological interventions. Behav Pharmacol [Internet]. 2012;23(5–6):442–60. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22854304

33. Patterson ZR, Abizaid A. Stress induced obesity: lessons from rodent models of stress. Front Neurosci [Internet]. 2013/07/31. 2013;7:130. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23898237

34. Torres SJ, Nowson CA. Relationship between stress, eating behavior, and obesity. Nutrition [Internet]. 2007/09/18. 2007;23(11–12):887–94. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17869482

35. Daftary SS, Panksepp J, Dong Y, Saal DB. Stress-induced, glucocorticoid-dependent strengthening of glutamatergic synaptic transmission in midbrain dopamine neurons. Neurosci Lett [Internet]. 2009 Mar 20 [cited 2018 Apr 16];452(3):273–6. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19348737

36. Stelly CE, Pomrenze MB, Cook JB, Morikawa H. Repeated social defeat stress enhances glutamatergic synaptic plasticity in the VTA and cocaine place conditioning. Elife [Internet]. 2016 Jul 4 [cited 2017 Oct 8];5(2016JULY):e15448. Available from: http://elifesciences.org/lookup/doi/10.7554/eLife.15448

37. Chen YW, Rada P V, Butzler BP, Leibowitz SF, Hoebel BG. Corticotropin-releasing factor in the nucleus accumbens shell induces swim depression, anxiety, and anhedonia along with changes in local dopamine/acetylcholine balance. Neuroscience [Internet]. 2012/01/17. 2012;206:155–66. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22245501

38. Dallman MF, Pecoraro NC, la Fleur SE. Chronic stress and comfort foods: self-medication and

abdominal obesity. Brain Behav Immun [Internet]. 2005 Jul [cited 2015 Oct 9];19(4):275–80. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889159104001527

39. Ortolani D, Oyama LM, Ferrari EM, Melo LL, Spadari-Bratfisch RC. Effects of comfort food on food intake, anxiety-like behavior and the stress response in rats. Physiol Behav [Internet]. 2011 Jul 6 [cited 2016 Jan 18];103(5):487–92. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031938411001478

40. Walsh JJ, Friedman AK, Sun H, Heller EA, Ku SM, Juarez B, et al. Stress and CRF gate neural activation of BDNF in the mesolimbic reward pathway. Nat Neurosci [Internet]. 2014;17(1):27–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24270188

41. Hamon M, Blier P. Monoamine neurocircuitry in depression and strategies for new treatments. Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry [Internet]. 2013 Aug 1 [cited 2019 Nov 8];45:54–63. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278584613000754?via%3Dihub

42. Chaudhury D, Liu H, Han M-H. Neuronal correlates of depression. Cell Mol Life Sci [Internet]. 2015 Dec [cited 2020 Jul 11];72(24):4825–48. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26542802

43. Harmer CJ, Duman RS, Cowen PJ. How do antidepressants work? New perspectives for refining future treatment approaches. The lancet Psychiatry [Internet]. 2017 [cited 2020 Jul 13];4(5):409–18. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28153641

44. Berton O, Nestler EJ. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. Nat Rev Neurosci [Internet]. 2006 Feb 1 [cited 2017 Jul 2];7(2):137–51. Available from: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrn1846

45. Ng J, Papandreou A, Heales SJ, Kurian MA. Monoamine neurotransmitter disorders—clinical advances and future perspectives. Nat Rev Neurol [Internet]. 2015 Oct 22 [cited 2019 Nov 8];11(10):567–84. Available from: http://www.nature.com/articles/nrneurol.2015.172

46. Okaty BW, Commons KG, Dymecki SM. Embracing diversity in the 5-HT neuronal system. Nat Rev Neurosci [Internet]. 2019 Jul 4 [cited 2019 Nov 8];20(7):397–424. Available from: http://www.nature.com/articles/s41583-019-0151-3

47. Bot M, Chan MK, Jansen R, Lamers F, Vogelzangs N, Steiner J, et al. Serum proteomic profiling of major depressive disorder. Transl Psychiatry [Internet]. 2015 Jul 14 [cited 2019 Mar 31];5(7):e599. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26171980

48. Meyer JH. Neurochemical Imaging and Depressive Behaviours. Curr Top Behav Neurosci [Internet].

2013 [cited 2019 Mar 27];14:101–34. Available from: http://link.springer.com/10.1007/7854_2012_219

49. Barton DA, Esler MD, Dawood T, Lambert EA, Haikerwal D, Brenchley C, et al. Elevated Brain Serotonin Turnover in Patients With Depression. Arch Gen Psychiatry [Internet]. 2008 Jan 1 [cited 2020 Jan 11];65(1):38. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18180427

50. Liu MY, Yin CY, Zhu LJ, Zhu XH, Xu C, Luo CX, et al. Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. Nat Protoc [Internet]. 2018 Jul 9 [cited 2018 Sep 13];13(7):1686–98. Available from: http://www.nature.com/articles/s41596-018-0011-z

51. Wang L, Zhou C, Zhu D, Wang X, Fang L, Zhong J, et al. Serotonin-1A receptor alterations in depression: a meta-analysis of molecular imaging studies. BMC Psychiatry [Internet]. 2016 Dec 13 [cited 2020 Jan 11];16(1):319. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27623971

52. Murrough JW, Henry S, Hu J, Gallezot JD, Planeta-Wilson B, Neumaier JF, et al. Reduced ventral striatal/ventral pallidal serotonin1B receptor binding potential in major depressive disorder. Psychopharmacology (Berl) [Internet]. 2011 Feb [cited 2019 Mar 31];213(2–3):547–53. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20480149

53. Boutourlinsky K, Fernández S, Narboux-Nême N, Doly S, Maroteaux L, Moutkine I, et al. 5-HT2B receptors are required for serotonin-selective antidepressant actions. Mol Psychiatry [Internet]. 2011 Feb [cited 2019 Mar 27];17(2):154–63. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22158014

54. Carhart-Harris RL, Nutt DJ. Serotonin and brain function: a tale of two receptors. J Psychopharmacol [Internet]. 2017 [cited 2019 Nov 8];31(9):1091–120. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28858536

55. Nautiyal KM, Hen R. Serotonin receptors in depression: from A to B. F1000Research [Internet]. 2017 [cited 2019 Mar 4];6:123. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28232871

56. Zeeb FD, Higgins GA, Fletcher PJ. The Serotonin 2C Receptor Agonist Lorcaserin Attenuates Intracranial Self-Stimulation and Blocks the Reward-Enhancing Effects of Nicotine. ACS Chem Neurosci [Internet]. 2015/03/18. 2015;6(7):1231–40. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25781911

57. Zha W, Ho HTB, Hu T, Hebert MF, Wang J. Serotonin transporter deficiency drives estrogen-dependent obesity and glucose intolerance. Sci Rep [Internet]. 2017 [cited 2019 Mar 27];7(1):1137. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28442777

58. Kasper JM, Booth RG, Peris J. Serotonin-2C receptor agonists decrease potassium-stimulated GABA release in the nucleus accumbens. Synapse [Internet]. 2015 Feb [cited 2015 Nov 24];69(2):78–85. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25382408

59. Chaudhury D, Walsh JJ, Friedman AK, Juarez B, Ku SM, Koo JW, et al. Rapid regulation of depression-related behaviours by control of midbrain dopamine neurons. Nature [Internet]. 2013;493(7433):532–6. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23235832

60. McLean A, Rubinsztein JS, Robbins TW, Sahakian BJ. The effects of tyrosine depletion in normal healthy volunteers: Implications for unipolar depression. Psychopharmacology (Berl) [Internet]. 2004 Jan 1 [cited 2019 Apr 1];171(3):286–97. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s00213-003-1586-8

61. Hasler G, Luckenbaugh DA, Snow J, Meyers N, Waldeck T, Geraci M, et al. Reward Processing After Catecholamine Depletion in Unmedicated, Remitted Subjects with Major Depressive Disorder. Biol Psychiatry [Internet]. 2009 [cited 2019 Apr 1];66(3):201–5. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3073352/pdf/nihms280810.pdf

62. Rothwell PE, Grueter BA, Huang KW, Malenka RC, Lim BK. Anhedonia requires MC4R-mediated synaptic adaptations in nucleus accumbens. Nature [Internet]. 2012 Jul 11 [cited 2018 Dec 21];487(7406):183–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22785313

63. Heshmati M, Russo SJ. Anhedonia and the Brain Reward Circuitry in Depression. Curr Behav Neurosci Reports [Internet]. 2015 Sep [cited 2017 Jan 28];2(3):146–53. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26525751

64. Ford CP. The role of D2-autoreceptors in regulating dopamine neuron activity and transmission. Neuroscience [Internet]. 2014 Dec 12 [cited 2019 Nov 8];282:13–22. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24463000

65. Francis TC, Lobo MK. Emerging Role for Nucleus Accumbens Medium Spiny Neuron Subtypes in Depression [Internet]. Vol. 81, Biological Psychiatry. 2017 [cited 2017 Jun 13]. p. 645–53. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.09.007

66. Admon R, Kaiser RH, Dillon DG, Beltzer M, Goer F, Olson DP, et al. Dopaminergic Enhancement of Striatal Response to Reward in Major Depression. Am J Psychiatry [Internet]. 2017 Apr 1 [cited 2019 Apr 2];174(4):378–86. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27771973

67. Zweifel LS, Fadok JP, Argilli E, Garelick MG, Jones GL, Dickerson TMK, et al. Activation of dopamine neurons is critical for aversive conditioning and prevention of generalized anxiety. Nat Neurosci

[Internet]. 2011 [cited 2019 Apr 3];14(5):620–8. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3083461/

68. Zarrindast M-R, Khakpai F. The modulatory role of dopamine in anxiety-like behavioral. Arch Iran Med [Internet]. 2015 [cited 2019 Apr 3];18(9):591–603. Available from: http://www.ams.ac.ir/AIM/NEWPUB/15/18/9/009.pdf

69. Kahnt T, Tobler PN. Dopamine regulates stimulus generalization in the human hippocampus. Elife [Internet]. 2016 Feb 2 [cited 2017 Oct 8];5(FEBRUARY2016):e12678. Available from: http://elifesciences.org/lookup/doi/10.7554/eLife.12678

70. Mayer D, Kahl E, Uzuneser TC, Fendt M. Role of the mesolimbic dopamine system in relief learning. Neuropsychopharmacology [Internet]. 2018 Jul 5 [cited 2019 Dec 11];43(8):1651–9. Available from: http://www.nature.com/articles/s41386-018-0020-1

71. Qi J, Zhang S, Wang HL, Barker DJ, Miranda-Barrientos J, Morales M. VTA glutamatergic inputs to nucleus accumbens drive aversion by acting on GABAergic interneurons. Nat Neurosci [Internet]. 2016 [cited 2019 Nov 7];19(5):725–33. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27019014

72. Croft H, Houser TL, Jamerson BD, Leadbetter R, Bolden-Watson C, Donahue R, et al. Effect on body weight of bupropion sustained-release in patients with major depression treated for 52 weeks. Clin Ther [Internet]. 2002 [cited 2019 Apr 3];24(4):662–72. Available from: https://pdf.sciencedirectassets.com/272059/1-s2.0-S0149291800X00525/1-s2.0-S0149291802851414/main.pdf?x-amz-security-token=AgoJb3JpZ2luX2VjEAkaCXVzLWVhc3QtMSJIMEYCIQCvr6FSFMBucPZN%2BW%2BA%2FLOei3w%2FbxKOnbfiWxMwy%2FjEIQIhALVqBkuSUtiFY2AWPKI7zwHde5EJ14Dv3G

73. Randall PA, Lee CA, Podurgiel SJ, Hart E, Yohn SE, Jones M, et al. Bupropion increases selection of high effort activity in rats tested on a progressive ratio/chow feeding choice procedure: Implications for treatment of effort-related motivational symptoms. Int J Neuropsychopharmacol [Internet]. 2015 Oct 31 [cited 2019 Apr 3];18(2):1–11. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25575584

74. Janhunen SK, la Fleur SE, Adan RA. Blocking alpha2A adrenoceptors, but not dopamine receptors, augments bupropion-induced hypophagia in rats. Obes (Silver Spring) [Internet]. 2013/07/31. 2013;21(12):E700-8. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23894096

75. Sara SJ. The locus coeruleus and noradrenergic modulation of cognition. Nat Rev Neurosci [Internet]. 2009 Mar 4 [cited 2019 Nov 8];10(3):211–23. Available from:

http://www.nature.com/articles/nrn2573

76. Maletic V, Eramo A, Gwin K, Offord SJ, Duffy RA. The role of norepinephrine and its α-adrenergic receptors in the pathophysiology and treatment of major depressive disorder and schizophrenia: A systematic Review [Internet]. Vol. 8, Frontiers in Psychiatry. Frontiers Media SA; 2017 [cited 2019 Apr 5]. p. 42. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28367128

77. Kuffel A, Eikelmann S, Terfehr K, Mau G, Kuehl LK, Otte C, et al. Noradrenergic blockade and memory in patients with major depression and healthy participants. Psychoneuroendocrinology [Internet]. 2014 Feb 1 [cited 2019 Apr 5];40(1):86–90. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453013004046?via%3Dihub

78. Moriguchi S, Yamada M, Takano H, Nagashima T, Takahata K, Yokokawa K, et al. Norepinephrine transporter in major depressive disorder: A PET study. Am J Psychiatry [Internet]. 2017 Jan 15 [cited 2019 Apr 3];174(1):36–41. Available from: http://ajp.psychiatryonline.org/doi/10.1176/appi.ajp.2016.15101334

79. Purvis EM, Klein AK, Ettenberg A. Lateral habenular norepinephrine contributes to states of arousal and anxiety in male rats. Behav Brain Res [Internet]. 2018 Jul 16 [cited 2019 Apr 6];347:108–15. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432817319812?via%3Dihub

80. Sun Y, Hunt S, Sah P. Norepinephrine and Corticotropin-Releasing Hormone: Partners in the Neural Circuits that Underpin Stress and Anxiety [Internet]. Vol. 87, Neuron. Cell Press; 2015 [cited 2019 Apr 6]. p. 468–70. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896627315006443?via%3Dihub

81. Goddard AW, Ball SG, Martinez J, Robinson MJ, Yang CR, Russell JM, et al. Current perspectives of the roles of the central norepinephrine system in anxiety and depression [Internet]. Vol. 27, Depression and Anxiety. John Wiley & Sons, Ltd; 2010 [cited 2019 Apr 5]. p. 339–50. Available from: http://doi.wiley.com/10.1002/da.20642

82. Billes SK, Cowley MA. Catecholamine Reuptake Inhibition Causes Weight Loss by Increasing Locomotor Activity and Thermogenesis. Neuropsychopharmacology [Internet]. 2008 May 8 [cited 2019 Apr 7];33(6):1287–97. Available from: http://www.nature.com/articles/1301526

83. HAINER V, KABRNOVA K, ALDHOON B, KUNESOVA M, WAGENKNECHT M. Serotonin and Norepinephrine Reuptake Inhibition and Eating Behavior. Ann N Y Acad Sci [Internet]. 2006 Nov 1 [cited 2019 Nov 11];1083(1):252–69. Available from:

http://doi.wiley.com/10.1196/annals.1367.017

84. Siebenhofer A, Jeitler K, Horvath K, Berghold A, Posch N, Meschik J, et al. Long-term effects of weight-reducing drugs in people with hypertension. Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 2016 Mar 2 [cited 2019 Nov 11];(3). Available from: http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD007654.pub4

85. Tchernof A, Després J-P. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. Physiol Rev [Internet]. 2013 Jan [cited 2014 Sep 14];93(1):359–404. Available from: http://physrev.physiology.org/content/93/1/359.abstract

86. Mazon JN, de Mello AH, Ferreira GK, Rezin GT. The impact of obesity on neurodegenerative diseases [Internet]. Vol. 182, Life Sciences. Pergamon; 2017 [cited 2019 Apr 7]. p. 22–8. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002432051730276X?via%3Dihub

87. Bocarsly ME, Fasolino M, Kane GA, LaMarca EA, Kirschen GW, Karatsoreos IN, et al. Obesity diminishes synaptic markers, alters microglial morphology, and impairs cognitive function. Proc Natl Acad Sci [Internet]. 2015 Dec 22 [cited 2017 Sep 27];112(51):201511593. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26644559

88. Lopresti AL, Drummond PD. Obesity and psychiatric disorders: commonalities in dysregulated biological pathways and their implications for treatment. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry [Internet]. 2013/05/21. 2013;45:92–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23685202

89. Schneider M, Levant B, Martin R, Gulbins E, Kornhuber J, Muller CP. Lipids in psychiatric disorders and preventive medicine. Neurosci Biobehav Rev [Internet]. 2016 [cited 2017 Feb 15];[Epub ahead of print]. Available from: http://dx.doi.org/%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.06.002

90. Magnan C, Levin BE, Luquet S. Brain lipid sensing and the neural control of energy balance. Mol Cell Endocrinol. 2015;

91. Santé Canada. Guide alimentaire canadien. 2019; Available from: https://guide-alimentaire.canada.ca/fr/

92. Briggs MA, Petersen KS, Kris-Etherton PM. Saturated Fatty Acids and Cardiovascular Disease: Replacements for Saturated Fat to Reduce Cardiovascular Risk. Healthc (Basel, Switzerland) [Internet]. 2017 Jun 21 [cited 2019 Nov 11];5(2). Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28635680

93. Weijers RNM. Membrane flexibility, free fatty acids, and the onset of vascular and neurological lesions in type 2 diabetes. J Diabetes Metab Disord [Internet]. 2015 [cited 2019 Nov 11];15:13. Available

from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27123439

94. Maric T, Woodside B, Luheshi GN. The effects of dietary saturated fat on basal hypothalamic neuroinflammation in rats. Brain Behav Immun [Internet]. 2013/10/01. 2013; Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24075847

95. Naznin F, Toshinai K, Waise TM, NamKoong C, Md Moin AS, Sakoda H, et al. Diet-induced obesity causes peripheral and central ghrelin resistance by promoting inflammation. J Endocrinol [Internet]. 2015/05/29. 2015;226(1):81–92. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26016745

96. Milanski M, Degasperi G, Coope A, Morari J, Denis R, Cintra DE, et al. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. J Neurosci [Internet]. 2009;29(2):359–70. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19144836

97. Huang S, Rutkowsky JM, Snodgrass RG, Ono-Moore KD, Schneider DA, Newman JW, et al. Saturated fatty acids activate TLR-mediated proinflammatory signaling pathways. J Lipid Res [Internet]. 2012/07/07. 2012;53(9):2002–13. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22766885

98. Benoit SC, Kemp CJ, Elias CF, Abplanalp W, Herman JP, Migrenne S, et al. Palmitic acid mediates hypothalamic insulin resistance by altering PKC-theta subcellular localization in rodents. J Clin Invest [Internet]. 2009;119(9):2577–89. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19726875

99. Valdearcos M, Robblee MM, Benjamin DI, Nomura DK, Xu AW, Koliwad SK. Microglia dictate the impact of saturated fat consumption on hypothalamic inflammation and neuronal function. Cell Rep [Internet]. 2014;9(6):2124–38. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25497089

100. Kleinridders A, Schenten D, Konner AC, Belgardt BF, Mauer J, Okamura T, et al. MyD88 signaling in the CNS is required for development of fatty acid-induced leptin resistance and diet-induced obesity. Cell Metab [Internet]. 2009;10(4):249–59. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19808018

101. Cheng L, Yu Y, Szabo A, Wu Y, Wang H, Camer D, et al. Palmitic acid induces central leptin resistance and impairs hepatic glucose and lipid metabolism in male mice. J Nutr Biochem [Internet]. 2015 May [cited 2017 Jun 27];26(5):541–8. Available from: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0955286315000273

102. Moon ML, Joesting JJ, Lawson MA, Chiu GS, Blevins NA, Kwakwa KA, et al. The saturated fatty

acid, palmitic acid, induces anxiety-like behavior in mice. Metabolism [Internet]. 2014 Sep [cited 2015 Nov 16];63(9):1131–40. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4151238&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

103. Mu L, Mukamal KJ, Naqvi AZ. Erythrocyte saturated fatty acids and systemic inflammation in adults. Nutrition [Internet]. 2014/10/05. 2014;30(11–12):1404–8. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25280420

104. Lai JS, Oldmeadow C, Hure AJ, McEvoy M, Hiles SA, Boyle M, et al. Inflammation mediates the association between fatty acid intake and depression in older men and women. Nutr Res [Internet]. 2016;36(3):234–45. Available from: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0271531715002973

105. Tsuboi H, Watanabe M, Kobayashi F, Kimura K, Kinae N. Associations of depressive symptoms with serum proportions of palmitic and arachidonic acids, and alpha-tocopherol effects among male population--a preliminary study. Clin Nutr [Internet]. 2013;32(2):289–93. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22901744

106. Billingsley HE, Carbone S, Lavie CJ. Dietary Fats and Chronic Noncommunicable Diseases. Nutrients [Internet]. 2018 Sep 30 [cited 2019 Nov 11];10(10). Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30274325

107. Soriguer F, Rojo-Martínez G, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiú E, Caballero-Díaz F, et al. Olive oil has a beneficial effect on impaired glucose regulation and other cardiometabolic risk factors. Di@bet.es study. Eur J Clin Nutr [Internet]. 2013 Sep 17 [cited 2016 Dec 15];67(9):911–6. Available from: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ejcn.2013.130

108. Teres S, Barcelo-Coblijn G, Benet M, Alvarez R, Bressani R, Halver JE, et al. Oleic acid content is responsible for the reduction in blood pressure induced by olive oil. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2008/09/06. 2008;105(37):13811–6. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18772370

109. Carrillo C, Cavia Mdel M, Alonso-Torre S. Role of oleic acid in immune system; mechanism of action; a review. Nutr Hosp [Internet]. 2012;27(4):978–90. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23165533

110. Oh YT, Lee JY, Lee J, Kim H, Yoon KS, Choe W, et al. Oleic acid reduces lipopolysaccharide-induced expression of iNOS and COX-2 in BV2 murine microglial cells: Possible involvement of

reactive oxygen species, p38 MAPK, and IKK/NF-κB signaling pathways. Neurosci Lett [Internet]. 2009 [cited 2017 Dec 31];464(2):93–7. Available from: https://ac.els-cdn.com/S0304394009011203/1-s2.0-S0304394009011203-main.pdf?_tid=7e7dd344-ee73-11e7-9271-00000aab0f27&acdnat=1514756727_aea9bded6fb7954b2e49cc36e4986abc

111. Pase CS, Teixeira AM, Roversi K, Dias VT, Calabrese F, Molteni R, et al. Olive oil-enriched diet reduces brain oxidative damages and ameliorates neurotrophic factor gene expression in different life stages of rats. J Nutr Biochem [Internet]. 2015/07/15. 2015; Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26168701

112. Obici S, Feng Z, Morgan K, Stein D, Karkanias G, Rossetti L. Central Administration of Oleic Acid Inhibits Glucose Production and Food Intake. Diabetes. 2002;51:5.

113. Sartorius T, Ketterer C, Kullmann S, Balzer M, Rotermund C, Binder S, et al. Monounsaturated fatty acids prevent the aversive effects of obesity on locomotion, brain activity, and sleep behavior. Diabetes [Internet]. 2012 Jul [cited 2015 Nov 23];61(7):1669–79. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3379681&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

114. Sánchez-Villegas A, Martínez-González M, Estruch R, Salas-Salvadó J, Corella D, Covas M, et al. Mediterranean dietary pattern and depression: the PREDIMED randomized trial. BMC Med [Internet]. 2013 Jan [cited 2015 Apr 14];11(1):208. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3848350&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

115. García-Toro M, Vicens-Pons E, Gili M, Roca M, Serrano-Ripoll MJ, Vives M, et al. Obesity, metabolic syndrome and Mediterranean diet: Impact on depression outcome. J Affect Disord [Internet]. 2016 [cited 2017 Jun 27];194:105–8. Available from: http://ac.els-cdn.com/S0165032715310557/1-s2.0-S0165032715310557-main.pdf?_tid=8c3ad9ee-5b6d-11e7-92e0-00000aacb361&acdnat=1498591352_77ca972efa9a0c0663c185225f3f1068

116. Jokela M, Hamer M, Singh-Manoux A, Batty GD, Kivimaki M. Association of metabolically healthy obesity with depressive symptoms: pooled analysis of eight studies. Mol Psychiatry [Internet]. 2013/12/04. 2014;19(8):910–4. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24296976

117. Bazinet RP, Layé S. Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease. Nat Rev Neurosci [Internet]. 2014 [cited 2016 Nov 9];15(12):771–85. Available from: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrn3820

118. Abdelhamid AS, Martin N, Bridges C, Brainard JS, Wang X, Brown TJ, et al. Polyunsaturated fatty acids for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. Cochrane database Syst Rev [Internet]. 2018 [cited 2019 Nov 12];7(7):CD012345. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30019767

119. Grosso G, Galvano F, Marventano S, Malaguarnera M, Bucolo C, Drago F, et al. Omega-3 fatty acids and depression: scientific evidence and biological mechanisms. Oxid Med Cell Longev [Internet]. 2014/04/24. 2014;2014:313570. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24757497

120. Jadoon A, Chiu CC, McDermott L, Cunningham P, Frangou S, Chang CJ, et al. Associations of polyunsaturated fatty acids with residual depression or anxiety in older people with major depression. J Affect Disord [Internet]. 2012;136(3):918–25. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22113178

121. Beydoun MA, Fanelli Kuczmarski MT, Beydoun HA, Rostant OS, Evans MK, Zonderman AB. Associations of the Ratios of n-3 to n-6 Dietary Fatty Acids With Longitudinal Changes in Depressive Symptoms Among US Women. Am J Epidemiol [Internet]. 2015;181(9):691–705. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25855645

122. Petersen MC, Shulman GI. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. Physiol Rev [Internet]. 2018 [cited 2019 Nov 13];98(4):2133–223. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30067154

123. Murray S, Tulloch A, Gold MS, Avena NM. Hormonal and neural mechanisms of food reward, eating behaviour and obesity. Nat Rev Endocrinol [Internet]. 2014/06/25. 2014;10(9):540–52. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24958311

124. Speed N, Saunders C, Davis AR, Owens WA, Matthies HJG, Saadat S, et al. Impaired striatal Akt signaling disrupts dopamine homeostasis and increases feeding. PLoS One [Internet]. 2011 Jan 28 [cited 2015 Oct 5];6(9):e25169. Available from: http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0025169

125. Velasco M, Rebolledo-solleiro D, Rolda G, Zambrano E, Hiriart M, Pe M. Increased anxiety-like behavior is associated with the metabolic syndrome in non-stressed rats. PLoS One [Internet]. 2017 [cited 2017 Jun 27];12(5):1–21. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28463967

126. Zemdegs J, Quesseveur G, Jarriault D, Pénicaud L, Fioramonti X, Guiard BP. High fat diet-induced metabolic disorders impairs serotonergic function and anxiety-like behaviours in mice. Br J Pharmacol [Internet]. 2015;n/a-n/a. Available from: http://doi.wiley.com/10.1111/bph.13343

127. Kleinridders A, Cai W, Cappellucci L, Ghazarian A, Collins WR, Vienberg SG, et al. Insulin resistance in brain alters dopamine turnover and causes behavioral disorders. Proc Natl Acad Sci [Internet]. 2015 Mar 17 [cited 2016 Nov 9];112(11):3463–8. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25733901

128. Chong ACN, Vogt MC, Hill AS, Brüning JC, Zeltser LM. Central insulin signaling modulates hypothalamus-pituitary-adrenal axis responsiveness. Mol Metab [Internet]. 2015 Feb [cited 2019 Apr 17];4(2):83–92. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25685696

129. Ryan JP, Sheu LK, Critchley HD, Gianaros PJ. A neural circuitry linking insulin resistance to depressed mood. Psychosom Med [Internet]. 2012 Jun [cited 2019 Mar 31];74(5):476–82. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22434915

130. Zemdegs J, Martin H, Pintana H, Bullich S, Manta S, Marqués MA, et al. Metformin promotes anxiolytic and antidepressant-like responses in insulin-resistant mice by decreasing circulating branched-chain amino acids. J Neurosci [Internet]. 2019 Jun 3 [cited 2019 Jul 16];2904–18. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31160539

131. Rasgon NL, Kenna HA, Williams KE, Powers B, Wroolie T, Schatzberg AF. Rosiglitazone add-on in treatment of depressed patients with insulin resistance: a pilot study. ScientificWorldJournal [Internet]. 2010/03/02. 2010;10:321–8. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20191245

132. Kashani L, Omidvar T, Farazmand B, Modabbernia A, Ramzanzadeh F, Tehraninejad ES, et al. Does pioglitazone improve depression through insulin-sensitization? Results of a randomized double-blind metformin-controlled trial in patients with polycystic ovarian syndrome and comorbid depression. Psychoneuroendocrinology [Internet]. 2012/09/25. 2013;38(6):767–76. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22999261

133. Sutton AK, Myers MG, Olson DP. The Role of PVH Circuits in Leptin Action and Energy Balance. Annu Rev Physiol [Internet]. 2016 [cited 2019 Feb 25];78(1):207–21. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26863324

134. Hommel JD, Trinko R, Sears RM, Georgescu D, Liu ZW, Gao XB, et al. Leptin Receptor Signaling in Midbrain Dopamine Neurons Regulates Feeding. Neuron. 2006;51(6):801–10.

135. Fulton S, Pissios P, Manchon R, Stiles L, Frank L, Pothos EN, et al. Leptin Regulation of the Mesoaccumbens Dopamine Pathway. Neuron. 2006;51(6):811–22.

136. Opland DM, Leinninger GM, Myers MG, Jr. Modulation of the mesolimbic dopamine system by leptin. Brain Res [Internet]. 2010 Sep 2 [cited 2019 Feb 25];1350:65–70. Available from:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20417193

137. Yamada N, Katsuura G, Ochi Y, Ebihara K, Kusakabe T, Hosoda K, et al. Impaired CNS leptin action is implicated in depression associated with obesity. Endocrinology [Internet]. 2011/04/28. 2011;152(7):2634–43. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21521746

138. Macht VA, Vazquez M, Petyak CE, Grillo CA, Kaigler K, Enos RT, et al. Leptin resistance elicits depressive-like behaviors in rats. Brain Behav Immun [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2019 Apr 19];60:151–60. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889159116304718?via%3Dihub

139. Aguliar-Valles A, Kim J, Jung S, Woodside B, Luheshi GN. Role of brain transmigrating neutrophils in depression-like behavior during systemic infection. Mol Psychiatry [Internet]. 2013/10/16. 2013; Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24126927

140. Stranahan AM, Hao S, Dey A, Yu X, Baban B. Blood-brain barrier breakdown promotes macrophage infiltration and cognitive impairment in leptin receptor-deficient mice. J Cereb Blood Flow Metab [Internet]. 2016 [cited 2020 Jun 18];36(12):2108–21. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27034250

141. La Cava A. Leptin in inflammation and autoimmunity. Cytokine [Internet]. 2017 [cited 2020 Jun 23];98:51–8. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27916613

142. Milaneschi Y, Lamers F, Bot M, Drent ML, Penninx BWJH. Leptin Dysregulation Is Specifically Associated With Major Depression With Atypical Features: Evidence for a Mechanism Connecting Obesity and Depression. Biol Psychiatry [Internet]. 2017 May 1 [cited 2019 Oct 15];81(9):807–14. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322315009518?via%3Dihub

143. Abizaid A, Liu Z-W, Andrews ZB, Shanabrough M, Borok E, Elsworth JD, et al. Ghrelin modulates the activity and synaptic input organization of midbrain dopamine neurons while promoting appetite. J Clin Invest [Internet]. 2006 Dec [cited 2019 Nov 2];116(12):3229–39. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17060947

144. King SJ, Isaacs AM, O'Farrell E, Abizaid A. Motivation to obtain preferred foods is enhanced by ghrelin in the ventral tegmental area. Horm Behav [Internet]. 2011 Nov 1 [cited 2019 Nov 2];60(5):572–80. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0018506X11001887?via%3Dihub

145. Finger BC, Dinan TG, Cryan JF. High-fat diet selectively protects against the effects of chronic social

stress in the mouse. Neuroscience [Internet]. 2011 Sep 29 [cited 2015 Nov 5];192:351–60. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306452211007822

146. Lockie SH, Dinan T, Lawrence AJ, Spencer SJ, Andrews ZB. Diet-induced obesity causes ghrelin resistance in reward processing tasks. Psychoneuroendocrinology [Internet]. 2015 Aug 11 [cited 2015 Sep 2];62:114–20. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26292268

147. Spencer SJ, Xu L, Clarke MA, Lemus M, Reichenbach A, Geenen B, et al. Ghrelin Regulates the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis and Restricts Anxiety After Acute Stress. Biol Psychiatry [Internet]. 2012 Sep 15 [cited 2019 Nov 13];72(6):457–65. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322312002375?via%3Dihub

148. Anderberg RH, Hansson C, Fenander M, Richard JE, Dickson SL, Nissbrandt H, et al. The Stomach-Derived Hormone Ghrelin Increases Impulsive Behavior. Neuropsychopharmacology [Internet]. 2016 [cited 2016 Jul 20];41(5):1199–209. Available from: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/npp.2015.297

149. Iceta S, Julien B, Seyssel K, Lambert-Porcheron S, Segrestin B, Blond E, et al. Ghrelin concentration as an indicator of eating-disorder risk in obese women. Diabetes Metab [Internet]. 2019 Apr 1 [cited 2019 Nov 13];45(2):160–6. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1262363618300089?via%3Dihub

150. Chuang J-C, Perello M, Sakata I, Osborne-Lawrence S, Savitt JM, Lutter M, et al. Ghrelin mediates stress-induced food-reward behavior in mice. J Clin Invest [Internet]. 2011 Jul [cited 2019 Nov 13];121(7):2684–92. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21701068

151. Patterson ZR, Khazall R, MacKay H, Anisman H, Abizaid a. Central Ghrelin Signaling Mediates the Metabolic Response of C57BL/6 Male Mice to Chronic Social Defeat Stress. Endocrinology [Internet]. 2013;154(3):1080–91. Available from: http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/en.2012-1834

152. Lutter M, Sakata I, Osborne-Lawrence S, Rovinsky SA, Anderson JG, Jung S, et al. The orexigenic hormone ghrelin defends against depressive symptoms of chronic stress. Nat Neurosci [Internet]. 2008 Jul [cited 2019 Nov 13];11(7):752–3. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18552842

153. Huang H-J, Zhu X-C, Han Q-Q, Wang Y-L, Yue N, Wang J, et al. Ghrelin alleviates anxiety- and depression-like behaviors induced by chronic unpredictable mild stress in rodents. Behav Brain Res [Internet]. 2017 May 30 [cited 2019 Nov 13];326:33–43. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432816309214?via%3Dihub

154. Abizaid A. Stress and obesity: The ghrelin connection [Internet]. Vol. 31, Journal of Neuroendocrinology. 2019 [cited 2019 Nov 6]. p. e12693. Available from: file:///Users/leads/Downloads/Abizaid-2019-Journal_of_Neuroendocrinology (1).pdf

155. Drucker DJ. The biology of incretin hormones [Internet]. Vol. 3, Cell Metabolism. Cell Press; 2006 [cited 2019 Feb 6]. p. 153–65. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1550413106000283?via%3Dihub

156. Sisley S, Gutierrez-Aguilar R, Scott M, D'Alessio DA, Sandoval DA, Seeley RJ. Neuronal GLP1R mediates liraglutide's anorectic but not glucose-lowering effect. J Clin Invest [Internet]. 2014 Jun [cited 2017 Jun 18];124(6):2456–63. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24762441

157. de Lartigue G. Role of the vagus nerve in the development and treatment of diet-induced obesity. J Physiol [Internet]. 2016 [cited 2019 Apr 23];594(20):5791–815. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26959077

158. Clemmensen C, Mu TD, Woods SC, Berthoud H-R, Seeley RJ, Tscho MH. Review Gut-Brain Cross-Talk in Metabolic Control. Cell [Internet]. 2017 [cited 2017 Apr 30];168(5):758–774. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2017.01.025

159. Hemmer A, Maiter D, Buysschaert M, Preumont V. Long-term effects of GLP-1 receptor agonists in type 2 diabetic patients: A retrospective real-life study in 131 patients. Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2019 Feb 1];13(1):332–6. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871402118303515?via%3Dihub

160. Buse JB, Rosenstock J, Sesti G, Schmidt WE, Montanya E, Brett JH, et al. Liraglutide once a day versus exenatide twice a day for type 2 diabetes: a 26-week randomised, parallel-group, multinational, open-label trial (LEAD-6). Lancet [Internet]. 2009 Jul 4 [cited 2019 Feb 1];374(9683):39–47. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673609606590?via%3Dihub

161. Le Roux CW, Astrup A, Fujioka K, Greenway F, Lau DCW, Van Gaal L, et al. 3 years of liraglutide versus placebo for type 2 diabetes risk reduction and weight management in individuals with prediabetes: a randomised, double-blind trial. Lancet [Internet]. 2017 Apr 8 [cited 2019 Feb 1];389(10077):1399–409. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673617300697?via%3Dihub

162. Liu S, Borgland SL. Regulation of the mesolimbic dopamine circuit by feeding peptides [Internet]. Vol. 289, Neuroscience. Pergamon; 2015 [cited 2019 Feb 25]. p. 19–42. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306452215000032?via%3Dihub

163. Hayes MR, Schmidt HD. GLP-influences food and drug reward [Internet]. Vol. 9, Current Opinion in Behavioral Sciences. NIH Public Access; 2016 [cited 2018 Apr 16]. p. 66–70. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27066524

164. López-Ferreras L, Richard JE, Noble EE, Eerola K, Anderberg RH, Olandersson K, et al. Lateral hypothalamic GLP-1 receptors are critical for the control of food reinforcement, ingestive behavior and body weight. Mol Psychiatry [Internet]. 2018 [cited 2019 May 28];23(5):1157–68. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28894301

165. Sharma AN, Ligade SS, Sharma JN, Shukla P, Elased KM, Lucot JB. GLP-1 receptor agonist liraglutide reverses long-term atypical antipsychotic treatment associated behavioral depression and metabolic abnormalities in rats. Metab Brain Dis [Internet]. 2014/07/16. 2015;30(2):519–27. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25023888

166. Weina H, Yuhu N, Christian H, Birong L, Feiyu S, Le W. Liraglutide attenuates the depressive- and anxiety-like behaviour in the corticosterone induced depression model via improving hippocampal neural plasticity. Brain Res [Internet]. 2018 Sep 1 [cited 2019 Nov 18];1694:55–62. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899318302257?via%3Dihub

167. Liu W, Liu J, Huang Z, Cui Z, Li L, Liu W, et al. Possible role of GLP-1 in antidepressant effects of metformin and exercise in CUMS mice. J Affect Disord [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2020 Jan 12];246:486–97. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032718314137?via%3Dihub

168. Pozzi M, Mazhar F, Peeters GGAM, Vantaggiato C, Nobile M, Clementi E, et al. A systematic review of the antidepressant effects of glucagon-like peptide 1 (GLP-1) functional agonists: Further link between metabolism and psychopathology: Special Section on “Translational and Neuroscience Studies in Affective Disorders”. Section Editor, Maria Nobile MD, PhD. This Section of JAD focuses on the relevance of translational and neuroscience studies in providing a better understanding of the neural basis of affective disorders. The main aim is to briefly summaries relevant resear. J Affect Disord [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2019 Nov 18];257:774–8. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032719305932?via%3Dihub

169. Incollingo Rodriguez AC, Epel ES, White ML, Standen EC, Seckl JR, Tomiyama AJ. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation and cortisol activity in obesity: A systematic review [Internet]. Vol. 62, Psychoneuroendocrinology. Pergamon; 2015 [cited 2019 Apr 17]. p. 301–18. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453015008872?via%3Dihub

170. Schorr M, Lawson EA, Dichtel LE, Klibanski A, Miller KK. Cortisol measures across the weight

spectrum. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. 2015 Sep [cited 2019 Apr 17];100(9):3313–21. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26171799

171. Al-Safi ZA, Polotsky A, Chosich J, Roth L, Allshouse AA, Bradford AP, et al. Evidence for disruption of normal circadian cortisol rhythm in women with obesity. Gynecol Endocrinol [Internet]. 2018 Apr [cited 2019 Apr 17];34(4):336–40. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29068243

172. Pavlatou MG, Vickers KC, Varma S, Malek R, Sampson M, Remaley AT, et al. Circulating cortisol-associated signature of glucocorticoid-related gene expression in subcutaneous fat of obese subjects. Obesity [Internet]. 2013 May [cited 2019 Apr 17];21(5):960–7. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23784897

173. Wester VL, Staufenbiel SM, Veldhorst MAB, Visser JA, Manenschijn L, Koper JW, et al. Long-term cortisol levels measured in scalp hair of obese patients. Obesity [Internet]. 2014 Sep 1 [cited 2019 Apr 17];22(9):1956–8. Available from: http://doi.wiley.com/10.1002/oby.20795

174. Hryhorczuk C, Décarie-Spain L, Sharma S, Daneault C, Rosiers C Des, Alquier T, et al. Saturated high-fat feeding independent of obesity alters hypothalamus-pituitary-adrenal axis function but not anxiety-like behaviour. Psychoneuroendocrinology [Internet]. 2017;83(November 2016):142–9. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453016309647

175. Abildgaard A, Lund S, Hougaard KS. Chronic high-fat diet increases acute neuroendocrine stress response independently of prenatal dexamethasone treatment in male rats. Acta Neuropsychiatr [Internet]. 2014/08/22. 2014;26(1):8–18. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25142095

176. Park E, Kim JY, Lee JH, Jahng JW. Increased depression-like behaviors with dysfunctions in the stress axis and the reward center by free access to highly palatable food. Neuroscience [Internet]. 2014;262:31–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24406442

177. de Kloet AD, Krause EG, Solomon MB, Flak JN, Scott KA, Kim DH, et al. Adipocyte glucocorticoid receptors mediate fat-to-brain signaling. Psychoneuroendocrinology [Internet]. 2015/03/27. 2015;56:110–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25808702

178. Sivanathan S, Thavartnam K, Arif S, Elegino T, McGowan PO. Chronic high fat feeding increases anxiety-like behaviour and reduces transcript abundance of glucocorticoid signalling genes in the hippocampus of female rats. Behav Brain Res [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2015 Nov 9];286:265–70. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432815001151

179. Laryea G, Schütz G, Muglia LJ. Disrupting Hypothalamic Glucocorticoid Receptors Causes HPA Axis Hyperactivity and Excess Adiposity. Mol Endocrinol [Internet]. 2013 Oct [cited 2019 Apr 17];27(10):1655–65. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23979842

180. Nieuwenhuizen AG, Rutters F. The hypothalamic-pituitary-adrenal-axis in the regulation of energy balance. Physiol Behav [Internet]. 2008/02/16. 2008;94(2):169–77. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18275977

181. Adam TC, Epel ES. Stress, eating and the reward system. Physiol Behav [Internet]. 2007 Jul 24 [cited 2015 Apr 20];91(4):449–58. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031938407001278

182. Rosenberg N, Bloch M, Ben Avi I, Rouach V, Schreiber S, Stern N, et al. Cortisol response and desire to binge following psychological stress: comparison between obese subjects with and without binge eating disorder. Psychiatry Res [Internet]. 2012/10/23. 2013;208(2):156–61. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23083917

183. Goldsammler M, Merhi Z, Buyuk E. Role of hormonal and inflammatory alterations in obesity-related reproductive dysfunction at the level of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis [Internet]. Vol. 16, Reproductive Biology and Endocrinology. BioMed Central; 2018 [cited 2019 May 7]. p. 45. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29743077

184. Davidsen L, Vistisen B, Astrup A. Impact of the menstrual cycle on determinants of energy balance: a putative role in weight loss attempts. Int J Obes [Internet]. 2007 Dec 7 [cited 2019 Nov 19];31(12):1777–85. Available from: http://www.nature.com/articles/0803699

185. Blakemore J, Naftolin F. Aromatase: Contributions to Physiology and Disease in Women and Men. Physiology [Internet]. 2016 [cited 2017 May 31];31(4):258–69. Available from: http://physiologyonline.physiology.org/content/nips/31/4/258.full.pdf

186. Freedman DS, Khan LK, Serdula MK, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS. Relation of age at menarche to race, time period, and anthropometric dimensions: the Bogalusa Heart Study. Pediatrics [Internet]. 2002 Oct 1 [cited 2020 Jan 12];110(4):e43. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12359816

187. Jain A, Polotsky AJ, Rochester D, Berga SL, Loucks T, Zeitlian G, et al. Pulsatile Luteinizing Hormone Amplitude and Progesterone Metabolite Excretion Are Reduced in Obese Women. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. 2007 Jul 1 [cited 2019 Nov 19];92(7):2468–73. Available from: https://academic.oup.com/jcem/article/92/7/2468/2598160

188. Wade GN, Schneider JE, Li HY. Control of fertility by metabolic cues. Am J Physiol Metab [Internet]. 2017 [cited 2018 Jul 9];270(1):E1–19. Available from: www.physiology.org/journal/ajpendo

189. Seif MW, Diamond K, Nickkho-Amiry M. Obesity and menstrual disorders. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol [Internet]. 2015 May 1 [cited 2019 May 8];29(4):516–27. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1521693414002223?via%3Dihub

190. Siiteri PK. Adipose tissue as a source of hormones. Am J Clin Nutr [Internet]. 1987 Jan 1 [cited 2019 Nov 19];45(1):277–82. Available from: https://academic.oup.com/ajcn/article/45/1/277-282/4694899

191. Setji TL, Brown AJ. Polycystic ovary syndrome: update on diagnosis and treatment. Am J Med [Internet]. 2014 Oct [cited 2016 May 14];127(10):912–9. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002934314003568

192. Saito K, He Y, Yang Y, Zhu L, Wang C, Xu P, et al. PI3K in the ventromedial hypothalamic nucleus mediates estrogenic actions on energy expenditure in female mice. Sci Rep [Internet]. 2016 [cited 2019 Jan 24];6. Available from: www.nature.com/scientificreports

193. Morselli E, Fuente-Martin E, Finan B, Kim M, Frank A, Garcia-Caceres C, et al. Hypothalamic PGC-1α protects against high-fat diet exposure by regulating ERα. Cell Rep [Internet]. 2014 Oct 23 [cited 2016 Mar 6];9(2):633–45. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4223650&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

194. Xu P, Cao X, He Y, Zhu L, Yang Y, Saito K, et al. Estrogen receptor-α in medial amygdala neurons regulates body weight. J Clin Invest [Internet]. 2015 [cited 2019 Jan 24];125(7):2861–76. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4563687/pdf/JCI80941.pdf

195. Cao X, Xu P, Oyola MG, Xia Y, Yan X, Saito K, et al. Estrogens stimulate serotonin neurons to inhibit binge-like eating in mice. J Clin Invest [Internet]. 2014 Oct [cited 2018 Apr 27];124(10):4351–62. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25157819

196. Leeners B, Geary N, Tobler PN, Asarian L. Ovarian hormones and obesity. Hum Reprod Update [Internet]. 2017 [cited 2019 Jan 24];23(3):300–21. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5850121/pdf/dmw045.pdf

197. Richard JE, L??pez-Ferreras L, Anderberg RH, Olandersson K, Skibicka KP. Estradiol is a critical regulator of food-reward behavior. Psychoneuroendocrinology [Internet]. 2017 [cited 2017 Jun 9];78:193–202. Available from: http://ac.els-cdn.com/S0306453016306722/1-s2.0-

S0306453016306722-main.pdf?_tid=47936c26-4d48-11e7-8fe0-00000aacb362&acdnat=1497036029_433e555dba51e66c14c1df8c27f240b9

198. Dreher J-C, Schmidt PJ, Kohn P, Furman D, Rubinow D, Berman KF. Menstrual cycle phase modulates reward-related neural function in women. Proc Natl Acad Sci [Internet]. 2007 Feb 13 [cited 2016 Jul 20];104(7):2465–70. Available from: http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0605569104

199. Smith CT, Sierra Y, Oppler SH, Boettiger CA. Ovarian Cycle Effects on Immediate Reward Selection Bias in Humans: A Role for Estradiol. J Neurosci [Internet]. 2014 Apr 16 [cited 2016 Jul 20];34(16):5468–76. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24741037

200. Diekhof EK. Be quick about it. Endogenous estradiol level, menstrual cycle phase and trait impulsiveness predict impulsive choice in the context of reward acquisition. Horm Behav. 2015;74:186–93.

201. Thomas J, Météreau E, Déchaud H, Pugeat M, Dreher JC. Hormonal treatment increases the response of the reward system at the menopause transition: A counterbalanced randomized placebo-controlled fMRI study. Psychoneuroendocrinology. 2014;50:167–80.

202. Rubinow DR, Schmidt PJ. Gonadal steroid regulation of mood: The lessons of premenstrual syndrome. Front Neuroendocrinol. 2006;27(2):210–6.

203. Daendee S, Thongsong B, Kalandakanond-Thongsong S. Effects of time of estrogen deprivation on anxiety-like behavior and GABAA receptor plasticity in ovariectomized rats. Behav Brain Res [Internet]. 2013 Jun 1 [cited 2016 Mar 9];246:86–93. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432813001411

204. Walf AA, Frye CA. Estradiol reduces anxiety- and depression-like behavior of aged female mice. Physiol Behav [Internet]. 2010 [cited 2019 Jan 24];99(2):169–74. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3618443/pdf/nihms452821.pdf

205. Walf AA, Koonce C, Manley K, Frye CA. Proestrous compared to diestrous wildtype, but not estrogen receptor beta knockout, mice have better performance in the spontaneous alternation and object recognition tasks and reduced anxiety-like behavior in the elevated plus and mirror maze. Behav Brain Res [Internet]. 2009 Jan 23 [cited 2019 Feb 7];196(2):254–60. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18926853

206. Ramos-Ortolaza DL, Doreste-Mendez RJ, Alvarado-Torres JK, Torres-Reveron A. Ovarian hormones modify anxiety behavior and glucocorticoid receptors after chronic social isolation stress. Behav Brain

Res [Internet]. 2017 [cited 2017 May 31];328:115–22. Available from: www.elsevier.com/locate/bbr

207. Ryan J, Ancelin ML. Polymorphisms of estrogen receptors and risk of depression: Therapeutic implications [Internet]. Vol. 72, Drugs. Springer International Publishing; 2012 [cited 2019 Mar 31]. p. 1725–38. Available from: http://link.springer.com/10.2165/11635960-000000000-00000

208. Perlman WR, Tomaskovic-Crook E, Montague DM, Webster MJ, Rubinow DR, Kleinman JE, et al. Alteration in estrogen receptor alpha mRNA levels in frontal cortex and hippocampus of patients with major mental illness. Biol Psychiatry [Internet]. 2005 [cited 2016 Jul 27];58(10):812–24. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16112656

209. Lorsch ZS, Loh YHE, Purushothaman I, Walker DM, Parise EM, Salery M, et al. Estrogen receptor α drives pro-resilient transcription in mouse models of depression. Nat Commun [Internet]. 2018 Mar 16 [cited 2018 Jul 15];9(1):1116. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29549264

210. Tomihara K, Soga T, Nomura M, Korach KS, Gustafsson J-A, Pfaff DW, et al. Effect of ER-beta gene disruption on estrogenic regulation of anxiety in female mice. Physiol Behav [Internet]. 2009 Feb 16 [cited 2016 Mar 9];96(2):300–6. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2705464&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

211. Walf AA, Koonce CJ, Frye CA. Adult female wildtype, but not oestrogen receptor β knockout, mice have decreased depression-like behaviour during pro-oestrus and following administration of oestradiol or diarylpropionitrile. J Psychopharmacol [Internet]. 2009 Jun [cited 2019 Feb 7];23(4):442–50. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18562442

212. Sasayama D, Sugiyama N, Yonekubo S, Pawlak A, Murasawa H, Nakamura M, et al. Novel oestrogen receptor β-selective ligand reduces obesity and depressive-like behaviour in ovariectomized mice. Sci Rep [Internet]. 2017 [cited 2017 Aug 1];7:1–8. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5498485/pdf/41598_2017_Article_4946.pdf

213. Green E, Jacobson A, Haase L, Murphy C. Reduced nucleus accumbens and caudate nucleus activation to a pleasant taste is associated with obesity in older adults. Brain Res [Internet]. 2011 Apr 22 [cited 2015 Jul 16];1386:109–17. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3086067&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

214. Stice E, Yokum S, Blum K, Bohon C. Weight gain is associated with reduced striatal response to

palatable food. J Neurosci [Internet]. 2010 Sep 29 [cited 2015 Aug 7];30(39):13105–9. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2967483&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

215. Burger KS, Stice E. Frequent ice cream consumption is associated with reduced striatal response to receipt of an ice cream-based milkshake. Am J Clin Nutr [Internet]. 2012 Apr [cited 2015 Nov 3];95(4):810–7. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3302359&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

216. Stoeckel LE, Kim J, Weller RE, Cox JE, Cook EW, Horwitz B. Effective connectivity of a reward network in obese women. Brain Res Bull [Internet]. 2009 Aug 14 [cited 2015 Aug 5];79(6):388–95. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3441054&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

217. Stice E, Spoor S, Bohon C, Veldhuizen MG, Small DM. Relation of reward from food intake and anticipated food intake to obesity: a functional magnetic resonance imaging study. J Abnorm Psychol [Internet]. 2008 Nov [cited 2015 Apr 10];117(4):924–35. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2681092&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

218. Volkow ND, Wang GJ, Tomasi D, Baler RD. The addictive dimensionality of obesity. Biol Psychiatry [Internet]. 2013/02/05. 2013;73(9):811–8. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23374642

219. Guo J, Simmons WK, Herscovitch P, Martin A, Hall KD. Striatal dopamine D2-like receptor correlation patterns with human obesity and opportunistic eating behavior. Mol Psychiatry [Internet]. 2014 Oct [cited 2015 Sep 14];19(10):1078–84. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/mp.2014.102

220. van de Giessen E, Celik F, Schweitzer DH, van den Brink W, Booij J. Dopamine D2/3 receptor availability and amphetamine-induced dopamine release in obesity. J Psychopharmacol [Internet]. 2014 Sep 1 [cited 2015 Oct 5];28(9):866–73. Available from: http://jop.sagepub.com/content/28/9/866.long

221. Carlin J, Hill-Smith TE, Lucki I, Reyes TM. Reversal of dopamine system dysfunction in response to high-fat diet. Obesity [Internet]. 2013 Dec 29 [cited 2015 Oct 5];21(12):2513–21. Available from:

http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3700634&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

222. Geiger BM, Haburcak M, Avena NM, Moyer MC, Hoebel BG, Pothos EN. Deficits of mesolimbic dopamine neurotransmission in rat dietary obesity. Neuroscience [Internet]. 2009 Apr 10 [cited 2015 Jun 26];159(4):1193–9. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2677693&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

223. Zhang C, Wei N-L, Wang Y, Wang X, Zhang J-G, Zhang K. Deep brain stimulation of the nucleus accumbens shell induces anti-obesity effects in obese rats with alteration of dopamine neurotransmission. Neurosci Lett [Internet]. 2015 Mar 4 [cited 2015 Oct 5];589:1–6. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304394015000245

224. Hansen HH, Jensen MM, Overgaard A, Weikop P, Mikkelsen JD. Tesofensine induces appetite suppression and weight loss with reversal of low forebrain dopamine levels in the diet-induced obese rat. Pharmacol Biochem Behav [Internet]. 2013 Sep [cited 2015 Aug 22];110:265–71. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009130571300186X

225. Sharma S, Fulton S. Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. Int J Obes [Internet]. 2013;37(3):382–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22508336

226. Vucetic Z, Carlin JL, Totoki K, Reyes TM. Epigenetic dysregulation of the dopamine system in diet-induced obesity. J Neurochem [Internet]. 2012 Mar [cited 2015 Sep 26];120(6):891–8. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3296832&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

227. Ong ZY, Wanasuria AF, Lin MZ, Hiscock J, Muhlhausler BS. Chronic intake of a cafeteria diet and subsequent abstinence. Sex-specific effects on gene expression in the mesolimbic reward system. Appetite [Internet]. 2013/02/14. 2013;65:189–99. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23402719

228. Robinson MJ, Burghardt PR, Patterson CM, Nobile CW, Akil H, Watson SJ, et al. Individual Differences in Cue-Induced Motivation and Striatal Systems in Rats Susceptible to Diet-Induced Obesity. Neuropsychopharmacology [Internet]. 2015 Mar 12 [cited 2015 Oct 5];40(9):2113–23. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/npp.2015.71

229. Huang X-F, Yu Y, Zavitsanou K, Han M, Storlien L. Differential expression of dopamine D2 and D4

receptor and tyrosine hydroxylase mRNA in mice prone, or resistant, to chronic high-fat diet-induced obesity. Brain Res Mol Brain Res [Internet]. 2005 Apr 27 [cited 2015 Sep 17];135(1–2):150–61. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169328X0400628X

230. Fordahl SC, Locke JL, Jones SR. High Fat Diet Augments Amphetamine Sensitization in Mice: Role of Feeding Pattern, Obesity, and Dopamine Terminal Changes. Neuropharmacology [Internet]. 2016 [cited 2019 May 7];109:170. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4970886/

231. Collins GT, Chen Y, Tschumi C, Rush EL, Mensah A, Koek W, et al. Effects of consuming a diet high in fat and/or sugar on the locomotor effects of acute and repeated cocaine in male and female C57BL/6J mice. Exp Clin Psychopharmacol [Internet]. 2015 [cited 2015 Nov 15];23(4):228–37. Available from: http://psycnet.apa.orgjournals/pha/23/4/228

232. Hryhorczuk C, Florea M, Rodaros D, Poirier I, Daneault C, Des Rosiers C, et al. Dampened Mesolimbic Dopamine Function and Signaling by Saturated but not Monounsaturated Dietary Lipids. Neuropsychopharmacology [Internet]. 2015/07/15. 2015; Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26171719

233. Morales L, Del Olmo N, Valladolid-Acebes I, Fole A, Cano V, Merino B, et al. Shift of circadian feeding pattern by high-fat diets is coincident with reward deficits in obese mice. PLoS One [Internet]. 2012/05/10. 2012;7(5):e36139. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22570696

234. Davis JF, Tracy AL, Schurdak JD, Tschop MH, Lipton JW, Clegg DJ, et al. Exposure to elevated levels of dietary fat attenuates psychostimulant reward and mesolimbic dopamine turnover in the rat. Behav Neurosci [Internet]. 2008/12/03. 2008;122(6):1257–63. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19045945

235. Tornatore L, Thotakura AK, Bennett J, Moretti M, Franzoso G. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation. Trends Cell Biol [Internet]. 2012/09/22. 2012;22(11):557–66. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22995730

236. Lumeng CN, Saltiel AR. Inflammatory links between obesity and metabolic disease [Internet]. Vol. 121, Journal of Clinical Investigation. American Society for Clinical Investigation; 2011 [cited 2017 Apr 26]. p. 2111–7. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21633179

237. Cazettes F, Cohen JI, Yau PL, Talbot H, Convit A. Obesity-mediated inflammation may damage the brain circuit that regulates food intake. Brain Res [Internet]. 2011;1373:101–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21146506

238. Lasselin J, Magne E, Beau C, Aubert A, Dexpert S, Carrez J, et al. Low-grade inflammation is a major contributor of impaired attentional set shifting in obese subjects. Brain Behav Immun. 2016;58:63–8.

239. Baufeld C, Osterloh A, Prokop S, Miller KR, Heppner FL. High-fat diet-induced brain region-specific phenotypic spectrum of CNS resident microglia. Acta Neuropathol [Internet]. 2016;132(3):361–75. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27393312

240. Thaler JP, Yi CX, Schur EA, Guyenet SJ, Hwang BH, Dietrich MO, et al. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. J Clin Invest [Internet]. 2012;122(1):153–62. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22201683

241. Quan N, Banks WA. Brain-immune communication pathways. Brain Behav Immun [Internet]. 2007/07/03. 2007;21(6):727–35. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17604598

242. Gadani SP, Walsh JT, Lukens JR, Kipnis J. Dealing with Danger in the CNS: The Response of the Immune System to Injury. Neuron [Internet]. 2015 [cited 2016 Jul 26];87:47–62. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2015.05.019

243. Jayaraman A, Lent-Schochet D, Pike CJ. Diet-induced obesity and low testosterone increase neuroinflammation and impair neural function. J Neuroinflammation [Internet]. 2014 Jan [cited 2015 Nov 9];11:162. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4190446&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

244. De Souza CT, Araujo EP, Bordin S, Ashimine R, Zollner RL, Boschero AC, et al. Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. Endocrinology [Internet]. 2005;146(10):4192–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16002529

245. Almeida-Suhett CP, Graham A, Chen Y, Deuster P. Behavioral changes in male mice fed a high-fat diet are associated with IL-1β expression in specific brain regions. Physiol Behav [Internet]. 2017 [cited 2017 Jun 27];169:130–40. Available from: http://ac.els-cdn.com/S0031938416310630/1-s2.0-S0031938416310630-main.pdf?_tid=f91fce62-5b6c-11e7-9c6e-00000aab0f02&acdnat=1498591105_d3cf0468a15bc7a99547c62acadc7200

246. Sobesky JL, Barrientos RM, De May HS, Thompson BM, Weber MD, Watkins LR, et al. High-fat diet consumption disrupts memory and primes elevations in hippocampal IL-1β, an effect that can be

prevented with dietary reversal or IL-1 receptor antagonism. Brain Behav Immun [Internet]. 2014 Nov [cited 2015 Nov 9];42:22–32. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889159114001822

247. Douglass JD, Dorfman MD, Fasnacht R, Shaffer LD, Thaler JP. Astrocyte IKKβ/NF-κB signaling is required for diet-induced obesity and hypothalamic inflammation. Mol Metab [Internet]. 2017 [cited 2017 Feb 16]; Available from: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877816302885

248. Berkseth KE, Guyenet SJ, Melhorn SJ, Lee D, Thaler JP, Schur EA, et al. Hypothalamic gliosis associated with high-fat diet feeding is reversible in mice: A combined immunohistochemical and magnetic resonance imaging study. Endocrinology. 2014;155(8):2858–67.

249. Carlin JL, Grissom N, Ying Z, Gomez-Pinilla F, Reyes TM. Voluntary exercise blocks Western diet-induced gene expression of the chemokines CXCL10 and CCL2 in the prefrontal cortex. Brain Behav Immun. 2016;

250. Hao S, Dey A, Yu X, Stranahan AM. Dietary obesity reversibly induces synaptic stripping by microglia and impairs hippocampal plasticity. Brain Behav Immun [Internet]. 2015 Aug 31 [cited 2015 Nov 6]; Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889159115300076

251. Erion JR, Wosiski-Kuhn M, Dey A, Hao S, Davis CL, Pollock NK, et al. Obesity elicits interleukin 1-mediated deficits in hippocampal synaptic plasticity. J Neurosci [Internet]. 2014;34(7):2618–31. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24523551

252. Buckman LB, Hasty AH, Flaherty DK, Buckman CT, Thompson MM, Matlock BK, et al. Obesity induced by a high-fat diet is associated with increased immune cell entry into the central nervous system. Brain Behav Immun [Internet]. 2013/07/09. 2014;35:33–42. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23831150

253. Elahy M, Lam V, Pallebage-Gamarallage MM, Giles C, Mamo JCL, Takechi R. Nicotine Attenuates Disruption of Blood-Brain Barrier Induced by Saturated-Fat Feeding in Wild-Type Mice. Nicotine Tob Res [Internet]. 2015;1436–41. Available from: http://ntr.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/ntr/ntv044

254. Browning KN, Verheijden S, Boeckxstaens GE. The Vagus Nerve in Appetite Regulation, Mood, and Intestinal Inflammation. Gastroenterology [Internet]. 2017 [cited 2019 Nov 19];152(4):730–44. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27988382

255. Wasilczuk KM, Bayer KC, Somann JP, Albors GO, Sturgis J, Lyle LT, et al. Modulating the Inflammatory Reflex in Rats Using Low-Intensity Focused Ultrasound Stimulation of the Vagus Nerve.

Ultrasound Med Biol [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2019 Nov 19];45(2):481–9. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301562918304022?via%3Dihub

256. Cai D. Neuroinflammation and neurodegeneration in overnutrition-induced diseases. Trends Endocrinol Metab [Internet]. 2013;24(1):40–7. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23265946

257. Posey KA, Clegg DJ, Printz RL, Byun J, Morton GJ, Vivekanandan-Giri A, et al. Hypothalamic proinflammatory lipid accumulation, inflammation, and insulin resistance in rats fed a high-fat diet. AJP Endocrinol Metab [Internet]. 2008 Dec 30 [cited 2015 Oct 15];296(5):E1003–12. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2681305&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

258. Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling. Cell [Internet]. 2008/02/13. 2008;132(3):344–62. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18267068

259. Chen LF, Greene WC. Shaping the nuclear action of NF-kappaB. Nat Rev Mol Cell Biol [Internet]. 2004/05/04. 2004;5(5):392–401. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15122352

260. Castanon N, Luheshi G, Layé S. Role of neuroinflammation in the emotional and cognitive alterations displayed by animal models of obesity [Internet]. Vol. 9, Frontiers in Neuroscience. Frontiers Media SA; 2015 [cited 2016 Nov 9]. p. 229. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26190966

261. Smith RS. The macrophage theory of depression. Med Hypotheses. 1991;36(2):5.

262. Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. Nat Rev Neurosci [Internet]. 2007/12/13. 2008;9(1):46–56. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18073775

263. Felger JC, Li Z, Haroon E, Woolwine BJ, Jung MY, Hu X, et al. Inflammation is associated with decreased functional connectivity within corticostriatal reward circuitry in depression. Mol Psychiatry [Internet]. 2016;21(10):1358–65. Available from: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/mp.2015.168

264. Stone EA, Lehmann ML, Lin Y, Quartermain D. Depressive behavior in mice due to immune stimulation is accompanied by reduced neural activity in brain regions involved in positively motivated behavior. Biol Psychiatry [Internet]. 2006/07/04. 2006;60(8):803–11. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16814258

265. Christoffel DJ, Golden SA, Heshmati M, Graham A, Birnbaum S, Neve RL, et al. Effects of inhibitor of kappaB kinase activity in the nucleus accumbens on emotional behavior. Neuropsychopharmacology [Internet]. 2012;37(12):2615–23. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22781845

266. Felger JC. Imaging the role of inflammation in mood and anxiety-related disorders. Curr Neuropharmacol [Internet]. 2017 [cited 2019 Feb 25];15(5):533–58. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29173175

267. Felger JC, Treadway MT. Inflammation Effects on Motivation and Motor Activity: Role of Dopamine [Internet]. Vol. 42, Neuropsychopharmacology. Nature Publishing Group; 2017 [cited 2019 Feb 25]. p. 216–41. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27480574

268. Haroon E, Fleischer CC, Felger JC, Chen X, Woolwine BJ, Patel T, et al. Conceptual convergence: increased inflammation is associated with increased basal ganglia glutamate in patients with major depression. Mol Psychiatry [Internet]. 2016;21(10):1351–7. Available from: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/mp.2015.206

269. Tayefi M, Shafiee M, Kazemi-Bajestani SMR, Esmaeili H, Darroudi S, Khakpouri S, et al. Depression and anxiety both associate with serum level of hs-CRP: A gender-stratified analysis in a population-based study. Psychoneuroendocrinology [Internet]. 2017 [cited 2017 Jun 27];81:63–9. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2017.02.035

270. Kramer NE, Cosgrove VE, Dunlap K, Subramaniapillai M, McIntyre RS, Suppes T. A clinical model for identifying an inflammatory phenotype in mood disorders [Internet]. Vol. 113, Journal of Psychiatric Research. Pergamon; 2019 [cited 2019 Apr 19]. p. 148–58. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022395618309087?via%3Dihub

271. Rigobon A V, Kanagasabai T, Taylor VH. Obesity moderates the complex relationships between inflammation, oxidative stress, sleep quality and depressive symptoms. BMC Obes [Internet]. 2018 [cited 2019 Apr 19];5(1):32. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30524737

272. Pierce GL, Kalil GZ, Ajibewa T, Holwerda SW, Persons J, Moser DJ, et al. Anxiety independently contributes to elevated inflammation in humans with obesity. Obesity [Internet]. 2016 Dec [cited 2017 Jan 24]; Available from: http://doi.wiley.com/10.1002/oby.21698

273. Salari-Moghaddam A, Keshteli AH, Afshar H, Esmaillzadeh A, Adibi P. Association between dietary inflammatory index and psychological profile in adults. Clin Nutr [Internet]. 2018 Oct 27 [cited 2019 Apr 19]; Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261561418324865?via%3Dihub

274. Vrieze E, Demyttenaere K, Bruffaerts R, Hermans D, Pizzagalli DA, Sienaert P, et al. Dimensions in major depressive disorder and their relevance for treatment outcome. J Affect Disord [Internet]. 2014 Feb [cited 2017 Jul 9];155(1):35–41. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24210628

275. Cao B, Zhu J, Zuckerman H, Rosenblat JD, Brietzke E, Pan Z, et al. Pharmacological interventions targeting anhedonia in patients with major depressive disorder: A systematic review. Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry [Internet]. 2019 Jun 8 [cited 2019 Nov 21];92:109–17. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278584618309175?via%3Dihub

276. Spinhoven P, van Hemert AM, Penninx BW. Repetitive negative thinking as a predictor of depression and anxiety: A longitudinal cohort study. J Affect Disord [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2019 Nov 21];241:216–25. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032718305032?via%3Dihub

277. Fairhall SL, Sharma S, Magnusson J, Murphy B. Memory related dysregulation of hippocampal function in major depressive disorder. Biol Psychol [Internet]. 2010 Dec [cited 2017 Jul 6];85(3):499–503. Available from: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301051110002334

278. Urban EJ, Charles ST, Levine LJ, Almeida DM. Depression history and memory bias for specific daily emotions. PLoS One [Internet]. 2018 [cited 2019 May 20];13(9):e0203574. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30192853

279. Beevers CG, Clasen PC, Enock PM, Schnyer DM. Attention bias modification for major depressive disorder: Effects on attention bias, resting state connectivity, and symptom change. J Abnorm Psychol [Internet]. 2015 Aug [cited 2019 Nov 21];124(3):463–75. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25894440

280. Ramirez S, Liu X, MacDonald CJ, Moffa A, Zhou J, Redondo RL, et al. Activating positive memory engrams suppresses depression-like behaviour. Nature [Internet]. 2015 Jun 18 [cited 2019 May 20];522(7556):335–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26085274

281. Marsh L, Edginton T, Conway M, Loveday C. Positivity bias in past and future episodic thinking: Relationship with anxiety, depression, and retrieval-induced forgetting. Q J Exp Psychol [Internet]. 2019 Mar 20 [cited 2019 May 20];72(3):508–22. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29364056

282. Xie H, Jiang D, Zhang D. Individuals with depressive tendencies experience difficulty in forgetting negative material: two mechanisms revealed by ERP data in the directed forgetting paradigm. Sci Rep [Internet]. 2018 [cited 2019 May 20];8(1):1113. Available from:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29348422

283. Zhang D, Xie H, Liu Y, Luo Y. Neural correlates underlying impaired memory facilitation and suppression of negative material in depression. Sci Rep [Internet]. 2016 [cited 2019 May 20];6:37556. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27857199

284. Gerritsen L, Rijpkema M, van Oostrom I, Buitelaar J, Franke B, Fernández G, et al. Amygdala to hippocampal volume ratio is associated with negative memory bias in healthy subjects. Psychol Med [Internet]. 2012 Feb 11 [cited 2019 May 20];42(2):335–43. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S003329171100122X/type/journal_article

285. Siegle GJ, Thompson W, Carter CS, Steinhauer SR, Thase ME. Increased Amygdala and Decreased Dorsolateral Prefrontal BOLD Responses in Unipolar Depression: Related and Independent Features. BPS [Internet]. [cited 2017 Jul 9];61:198–209. Available from: http://ac.els-cdn.com/S0006322306007931/1-s2.0-S0006322306007931-main.pdf?_tid=992ef7a6-64dd-11e7-b770-00000aacb362&acdnat=1499629038_6b8e05cde4a5d3b0f1617ec555ccb6bf

286. Zhong M, Wang X, Xiao J, Yi J, Zhu X, Liao J, et al. Amygdala hyperactivation and prefrontal hypoactivation in subjects with cognitive vulnerability to depression. Biol Psychol [Internet]. 2011 [cited 2017 Jul 9];88(2–3):233–42. Available from: http://ac.els-cdn.com/S0301051111001967/1-s2.0-S0301051111001967-main.pdf?_tid=7b4d037c-64dd-11e7-9dd5-00000aab0f26&acdnat=1499628987_d4950d919fee8b1a290ce88eb0c8fa5a

287. Hidese S, Ota M, Matsuo J, Ishida I, Hiraishi M, Yoshida S, et al. Association of obesity with cognitive function and brain structure in patients with major depressive disorder. J Affect Disord [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2019 Apr 19];225:188–94. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032717305104?via%3Dihub

288. Restivo MR, McKinnon MC, Frey BN, Hall GB, Syed W, Taylor VH. The impact of obesity on neuropsychological functioning in adults with and without major depressive disorder. PLoS One [Internet]. 2017 [cited 2019 Apr 19];12(5):e0176898. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28475603

289. Privitera GJ, McGrath HK, Windus BA, Doraiswamy PM. Eat now or later: self-control as an overlapping cognitive mechanism of depression and obesity. PLoS One [Internet]. 2015 [cited 2019 Apr 19];10(3):e0123136. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25811652

290. Wroolie TE, Kenna HA, Singh MK, Rasgon NL. Association between insulin resistance and cognition in patients with depressive disorders: Exploratory analyses into age-specific effects. J Psychiatr Res [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2019 Apr 19];60:65–72. Available from:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002239561400291X?via%3Dihub

291. Young CB, Chen T, Nusslock R, Keller J, Schatzberg AF, Menon V. Anhedonia and general distress show dissociable ventromedial prefrontal cortex connectivity in major depressive disorder. Transl Psychiatry [Internet]. 2016 [cited 2019 Nov 21];6(5):e810. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27187232

292. Vrieze E, Pizzagalli DA, Demyttenaere K, Hompes T, Sienaert P, De Boer P, et al. Reduced reward learning predicts outcome in major depressive disorder. Biol Psychiatry [Internet]. 2013 Apr 1 [cited 2017 Jul 9];73(7):639–45. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23228328

293. Treadway MT, Zald DH. Reconsidering anhedonia in depression: Lessons from translational neuroscience. Vol. 35, Neuroscience and Biobehavioral Reviews. 2011. p. 537–55.

294. Nutt DJ. The Journal of Clinical. J Clin Psychiatry [Internet]. 2008 Apr 30 [cited 2019 Nov 8];69(suppl E1):4–7. Available from: http://www.psychiatrist.com/jcp/article/pages/2008/v69e01/v69e0101.aspx

295. Schlaepfer TE, Cohen MX, Frick C, Kosel M, Brodesser D, Axmacher N, et al. Deep brain stimulation to reward circuitry alleviates anhedonia in refractory major depression. Neuropsychopharmacology [Internet]. 2008 [cited 2017 Jul 9];33(2):368–77. Available from: https://www.nature.com/npp/journal/v33/n2/pdf/1301408a.pdf

296. Krishnan V, Han MH, Graham DL, Berton O, Renthal W, Russo SJ, et al. Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. Cell [Internet]. 2007/10/25. 2007;131(2):391–404. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17956738

297. Bessa JM, Morais M, Marques F, Pinto L, Palha JA, Almeida OF, et al. Stress-induced anhedonia is associated with hypertrophy of medium spiny neurons of the nucleus accumbens. Transl Psychiatry [Internet]. 2013/06/06. 2013;3:e266. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23736119

298. Francis TC, Chandra R, Friend DM, Finkel E, Dayrit G, Miranda J, et al. Priority Communication Nucleus Accumbens Medium Spiny Neuron Subtypes Mediate Depression-Related Outcomes to Social Defeat Stress. Biol Psychiatry [Internet]. 2015 [cited 2017 Jun 13];77(3):212–22. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.07.021

299. Deisseroth K, Kalanithi P, Grosenick L, Amatya D, Ferenczi EA, Glover GH, et al. Prefrontal cortical regulation of brainwide circuit dynamics and reward-related behavior. Science (80-) [Internet].

2015 Jan 1 [cited 2017 Jul 6];351(6268):aac9698–aac9698. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26722001

300. Bagot RC, Parise EM, Peña CJ, Zhang HX, Maze I, Chaudhury D, et al. Ventral hippocampal afferents to the nucleus accumbens regulate susceptibility to depression. Nat Commun [Internet]. 2015 Dec 8 [cited 2018 Aug 29];6(1):7062. Available from: http://www.nature.com/articles/ncomms8062

301. Simmons WK, Burrows K, Avery JA, Kerr KL, Bodurka J, Savage CR, et al. Depression-related increases and decreases in appetite: Dissociable patterns of aberrant activity in reward and interoceptive neurocircuitry. Am J Psychiatry [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2017 Jul 6];173(4):418–28. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26806872

302. Cerit H, Christensen K, Moondra P, Klibanski A, Goldstein JM, Holsen LM. Divergent associations between ghrelin and neural responsivity to palatable food in hyperphagic and hypophagic depression. J Affect Disord [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2019 Oct 31];242:29–38. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165032717322383?via%3Dihub

303. Gold PW. The organization of the stress system and its dysregulation in depressive illness. Mol Psychiatry [Internet]. 2015 [cited 2017 Jun 27];20(1):32–47. Available from: https://www.nature.com/mp/journal/v20/n1/pdf/mp2014163a.pdf

304. Juruena MF, Bocharova M, Agustini B, Young AH. Atypical depression and non-atypical depression: Is HPA axis function a biomarker? A systematic review [Internet]. Vol. 233, Journal of Affective Disorders. Elsevier; 2018 [cited 2019 Oct 21]. p. 45–67. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032717306912?via%3Dihub

305. Lasserre AM, Strippoli M-PF, Glaus J, Gholam-Rezaee M, Vandeleur CL, Castelao E, et al. Prospective associations of depression subtypes with cardio-metabolic risk factors in the general population. Mol Psychiatry [Internet]. 2016 Oct 11 [cited 2016 Nov 9]; Available from: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/mp.2016.178

306. Hinnouho GM, Singh-Manoux A, Gueguen A, Matta J, Lemogne C, Goldberg M, et al. Metabolically healthy obesity and depressive symptoms: 16-year follow-up of the Gazel cohort study. PLoS One [Internet]. 2017 [cited 2017 Jun 27];12(4):e0174678. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28384219

307. Lamers F, Milaneschi Y, De Jonge P, Giltay EJ, Penninx BWJH. Metabolic and inflammatory markers: Associations with individual depressive symptoms. Psychol Med [Internet]. 2018 May 11 [cited 2019 Apr 19];48(7):1102–10. Available from:

https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0033291717002483/type/journal_article

308. Milaneschi Y, Lamers F, Peyrot WJ, Baune BT, Breen G, Dehghan A, et al. Genetic Association of Major Depression With Atypical Features and Obesity-Related Immunometabolic Dysregulations. JAMA psychiatry [Internet]. 2017 [cited 2019 Oct 15];74(12):1214–25. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29049554

309. Strawbridge R, Arnone D, Danese A, Papadopoulos A, Herane Vives A, Cleare AJ. Inflammation and clinical response to treatment in depression: A meta-analysis. Eur Neuropsychopharmacol [Internet]. 2015/07/15. 2015; Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26169573

310. Chang S-H, Stoll CRT, Song J, Varela JE, Eagon CJ, Colditz GA. The effectiveness and risks of bariatric surgery: an updated systematic review and meta-analysis, 2003-2012. JAMA Surg [Internet]. 2014 Mar [cited 2019 Nov 21];149(3):275–87. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24352617

311. Vitiello A, Angrisani L, Santonicola A, Iovino P, Pilone V, Forestieri P. Bariatric Surgery Versus Lifestyle Intervention in Class I Obesity: 7–10-Year Results of a Retrospective Study. World J Surg [Internet]. 2019 Mar 14 [cited 2019 Nov 21];43(3):758–62. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s00268-018-4847-8

312. Ahmed K, Penney N, Darzi A, Purkayastha S. Taste Changes after Bariatric Surgery: a Systematic Review. Obes Surg [Internet]. 2018 Oct 31 [cited 2019 Nov 3];28(10):3321–32. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30062466

313. Gill H, Kang S, Lee Y, Rosenblat JD, Brietzke E, Zuckerman H, et al. The long-term effect of bariatric surgery on depression and anxiety [Internet]. Vol. 246, Journal of Affective Disorders. Elsevier; 2019 [cited 2019 Feb 28]. p. 886–94. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032718321463?via%3Dihub

314. Mitchell JE, King WC, Chen JY, Devlin MJ, Flum D, Garcia L, et al. Course of depressive symptoms and treatment in the longitudinal assessment of bariatric surgery (LABS-2) study. Obes (Silver Spring) [Internet]. 2014/03/19. 2014;22(8):1799–806. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24634371

315. Booth H, Khan O, Prevost AT, Reddy M, Charlton J, Gulliford MC. Impact of bariatric surgery on clinical depression. Interrupted time series study with matched controls. J Affect Disord [Internet]. 2015/01/13. 2015;174:644–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25577158

316. Strekalova T, Evans M, Costa-Nunes J, Bachurin S, Yeritsyan N, Couch Y, et al. Tlr4 upregulation

in the brain accompanies depression- and anxiety-like behaviors induced by a high-cholesterol diet. Brain Behav Immun [Internet]. 2015;48:42–7. Available from: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159115000574

317. Dutheil S, Ota KT, Wohleb ES, Rasmussen K, Duman RS. High-Fat Diet Induced Anxiety and Anhedonia: Impact on Brain Homeostasis and Inflammation. Neuropsychopharmacology [Internet]. 2016 [cited 2016 Jul 20];41(7):1874–87. Available from: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/npp.2015.357

318. Zemdegs J, Quesseveur G, Jarriault D, Pénicaud L, Fioramonti X, Guiard BP. High-fat diet-induced metabolic disorders impairs 5-HT function and anxiety-like behavior in mice. Br J Pharmacol [Internet]. 2016 [cited 2019 Jul 16];173(13):2095–110. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26472268

319. Soto M, Herzog C, Pacheco JA, Fujisaka S, Bullock K, Clish CB, et al. Gut microbiota modulate neurobehavior through changes in brain insulin sensitivity and metabolism. Mol Psychiatry [Internet]. 2018 Dec [cited 2019 Apr 4];23(12):2287–301. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29910467

320. Xu L, Xu S, Lin L, Gu X, Fu C, Fang Y, et al. High-fat Diet Mediates Anxiolytic-like Behaviors in a Time-dependent Manner Through the Regulation of SIRT1 in the Brain. Neuroscience [Internet]. 2018 Feb 21 [cited 2019 Dec 22];372:237–45. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306452218300046?via%3Dihub

321. Hassan AM, Mancano G, Kashofer K, Fröhlich EE, Matak A, Mayerhofer R, et al. High-fat diet induces depression-like behaviour in mice associated with changes in microbiome, neuropeptide Y, and brain metabolome. Nutr Neurosci [Internet]. 2019 Dec 2 [cited 2020 Jan 9];22(12):877–93. Available from: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1028415X.2018.1465713

322. Vagena E, Ryu JK, Baeza-Raja B, Walsh NM, Syme C, Day JP, et al. A high-fat diet promotes depression-like behavior in mice by suppressing hypothalamic PKA signaling. Transl Psychiatry [Internet]. 2019 [cited 2020 Jan 9];9(1):141. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31076569

323. Wang Y, Xu J, Liu Y, Li Z, Li X. TLR4-NF-κB Signal Involved in Depressive-Like Behaviors and Cytokine Expression of Frontal Cortex and Hippocampus in Stressed C57BL/6 and ob/ob Mice. Neural Plast [Internet]. 2018 [cited 2019 Apr 19];2018:7254016. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29765402

324. Sharma AN, Elased KM, Lucot JB. Rosiglitazone treatment reversed depression- but not psychosis-like behavior of db/db diabetic mice. J Psychopharmacol [Internet]. 2012 May 12 [cited 2019 Dec 22];26(5):724–32. Available from: http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0269881111434620

325. Liu W, Liu J, Xia J, Xue X, Wang H, Qi Z, et al. Leptin receptor knockout-induced depression-like behaviors and attenuated antidepressant effects of exercise are associated with STAT3/SOCS3 signaling. Brain Behav Immun [Internet]. 2017 Mar 1 [cited 2020 Jan 12];61:297–305. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889159117300016?via%3Dihub

326. Saeed S, Bonnefond A, Tamanini F, Mirza MU, Manzoor J, Janjua QM, et al. Loss-of-function mutations in ADCY3 cause monogenic severe obesity. Nat Genet [Internet]. 2018 Feb 8 [cited 2019 Dec 22];50(2):175–9. Available from: http://www.nature.com/articles/s41588-017-0023-6

327. Ramos-Romero S, Hereu M, Atienza L, Casas J, Jáuregui O, Amézqueta S, et al. Mechanistically different effects of fat and sugar on insulin resistance, hypertension, and gut microbiota in rats. Am J Physiol - Endocrinol Metab [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2019 Dec 22];314(6):E552–63. Available from: https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpendo.00323.2017

328. Abbott KN, Arnott CK, Westbrook RF, Tran DMD. The effect of high fat, high sugar, and combined high fat-high sugar diets on spatial learning and memory in rodents: A meta-analysis. Neurosci Biobehav Rev [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2019 Dec 22];107:399–421. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014976341930123X?via%3Dihub

329. Vermeulen E, Stronks K, Snijder MB, Schene AH, Lok A, de Vries JH, et al. A combined high-sugar and high-saturated-fat dietary pattern is associated with more depressive symptoms in a multi-ethnic population: the HELIUS (Healthy Life in an Urban Setting) study. Public Health Nutr [Internet]. 2017 Sep 20 [cited 2019 Dec 22];20(13):2374–82. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1368980017001550/type/journal_article

330. Décarie-Spain L, Hryhorczuk C, Fulton S. Dopamine signalling adaptations by prolonged high-fat feeding. Curr Opin Behav Sci. 2016;9:136–43.

331. Krishna S, Lin Z, de La Serre CB, Wagner JJ, Harn DH, Pepples LM, et al. Time-dependent behavioral, neurochemical, and metabolic dysregulation in female C57BL/6 mice caused by chronic high-fat diet intake. Physiol Behav [Internet]. 2016 Feb 4 [cited 2016 Feb 20];157:196–208. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031938416300518

332. Sweeney P, O'Hara K, Xu Z, Yang Y. HFD-induced energy states-dependent bidirectional control of

anxiety levels in mice. Int J Obes [Internet]. 2017 [cited 2017 Jun 27]; Available from: https://www.nature.com/ijo/journal/vaop/ncurrent/pdf/ijo2017112a.pdf

333. Hamer M, Batty GD, Kivimaki M. Risk of future depression in people who are obese but metabolically healthy: the English longitudinal study of ageing. Mol Psychiatry [Internet]. 2012/04/25. 2012;17(9):940–5. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22525487

334. Kurhe Y, Mahesh R, Devadoss T. QCM-4, a 5-HT(3) receptor antagonist ameliorates plasma HPA axis hyperactivity, leptin resistance and brain oxidative stress in depression and anxiety-like behavior in obese mice. Biochem Biophys Res Commun [Internet]. 2014/12/03. 2015;456(1):74–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25446100

335. Willner P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage. Neurobiol Stress [Internet]. 2017 Feb [cited 2020 Jan 9];6:78–93. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28229111

336. Hammels C, Pishva E, De Vry J, van den Hove DLA, Prickaerts J, van Winkel R, et al. Defeat stress in rodents: From behavior to molecules. Neurosci Biobehav Rev [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2020 Jan 9];59:111–40. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763415002663?via%3Dihub

337. McKlveen JM, Morano RL, Fitzgerald M, Zoubovsky S, Cassella SN, Scheimann JR, et al. Chronic Stress Increases Prefrontal Inhibition: A Mechanism for Stress-Induced Prefrontal Dysfunction. Biol Psychiatry [Internet]. 2016 Nov [cited 2017 Jul 6];80(10):754–64. Available from: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000632231632234X

338. Dwyer JM, Maldonado-Avilés JG, Lepack AE, DiLeone RJ, Duman RS. Ribosomal protein S6 kinase 1 signaling in prefrontal cortex controls depressive behavior. Proc Natl Acad Sci U S A. 2015;112(19):6188–93.

339. Cheng Y, Rodriguiz RM, Murthy SR, Senatorov V, Thouennon E, Cawley NX, et al. Neurotrophic factor-alpha1 prevents stress-induced depression through enhancement of neurogenesis and is activated by rosiglitazone. Mol Psychiatry [Internet]. 2014/10/22. 2015;20(6):744–54. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25330741

340. Lepack AE, Bagot RC, Peña CJ, Loh Y-HE, Farrelly LA, Lu Y, et al. Aberrant H3.3 dynamics in NAc promote vulnerability to depressive-like behavior. Proc Natl Acad Sci [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2017 Sep 27];113(44):12562–7. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27791098

341. Krolow R, Noschang CG, Arcego D, Andreazza AC, Peres W, Gonçalves CA, et al. Consumption of a palatable diet by chronically stressed rats prevents effects on anxiety-like behavior but increases oxidative stress in a sex-specific manner. Appetite [Internet]. 2010 Aug [cited 2016 Jan 18];55(1):108–16. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195666310000863

342. Isingrini E, Camus V, Le Guisquet A-M, Pingaud M, Devers S, Belzung C. Association between repeated unpredictable chronic mild stress (UCMS) procedures with a high fat diet: a model of fluoxetine resistance in mice. PLoS One [Internet]. 2010 Apr 28 [cited 2019 Nov 2];5(4):e10404. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20436931

343. Yang JL, Liu DX, Jiang H, Pan F, Ho CS, Ho RC. The Effects of High-fat-diet Combined with Chronic Unpredictable Mild Stress on Depression-like Behavior and Leptin/LepRb in Male Rats. Sci Rep [Internet]. 2016 [cited 2019 Dec 22];6:35239. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27739518

344. Gourley SL, Taylor JR. Recapitulation and reversal of a persistent depression-like syndrome in rodents. Curr Protoc Neurosci [Internet]. 2009 Oct [cited 2019 Dec 30];Chapter 9:Unit 9.32. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19802817

345. Mekiri M, Gardier AM, David DJ, Guilloux J-P. Chronic corticosterone administration effects on behavioral emotionality in female c57bl6 mice. Exp Clin Psychopharmacol [Internet]. 2017 [cited 2019 Dec 30];25(2):94–104. Available from: http://doi.apa.org/getdoi.cfm?doi=10.1037/pha0000112

346. Wosiski-Kuhn M, Erion JR, Gomez-Sanchez EP, Gomez-Sanchez CE, Stranahan AM. Glucocorticoid receptor activation impairs hippocampal plasticity by suppressing BDNF expression in obese mice. Psychoneuroendocrinology [Internet]. 2014 Apr [cited 2019 Apr 17];42:165–77. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24636513

347. van Donkelaar EL, Vaessen KRD, Pawluski JL, Sierksma AS, Blokland A, Cañete R, et al. Long-term corticosterone exposure decreases insulin sensitivity and induces depressive-like behaviour in the C57BL/6NCrl mouse. PLoS One [Internet]. 2014 [cited 2019 Dec 30];9(10):e106960. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25310187

348. Liu W, Zhai X, Li H, Ji L. Depression-like behaviors in mice subjected to co-treatment of high-fat diet and corticosterone are ameliorated by AICAR and exercise. J Affect Disord [Internet]. 2014 Mar 1 [cited 2019 Dec 30];156:171–7. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032713008513?via%3Dihub

349. Bourin M. Animal models for screening anxiolytic-like drugs: a perspective. Dialogues Clin Neurosci [Internet]. 2015 Sep [cited 2020 Jan 9];17(3):295–303. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26487810

350. Stickel S, Wagels L, Wudarczyk O, Jaffee S, Habel U, Schneider F, et al. Neural correlates of depression in women across the reproductive lifespan – An fMRI review. J Affect Disord [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2019 Nov 19];246:556–70. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032718311455?via%3Dihub

351. Chooi YC, Ding C, Magkos F. The epidemiology of obesity. Metabolism [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2020 Jan 9];92:6–10. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002604951830194X?via%3Dihub

352. Brancato A, Bregman D, Ahn HF, Pfau ML, Menard C, Cannizzaro C, et al. Sub-chronic variable stress induces sex-specific effects on glutamatergic synapses in the nucleus accumbens. Neuroscience [Internet]. 2017 [cited 2019 Dec 14];350:180–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28323008

353. Logan RW. Adapting Social Defeat Stress for Female Mice Using Species-Typical Interfemale Aggression [Internet]. Vol. 86, Biological Psychiatry. Elsevier; 2019 [cited 2020 Jan 9]. p. e31–2. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322319316191?via%3Dihub

354. Sramek JJ, Murphy MF, Cutler NR. Sex differences in the psychopharmacological treatment of depression. Dialogues Clin Neurosci [Internet]. 2016 Dec [cited 2017 Jun 6];18(4):447–57. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28179816

355. Bayer J, Rune G, Schultz H, Tobia MJ, Mebes I, Katzler O, et al. The effect of estrogen synthesis inhibition on hippocampal memory. Psychoneuroendocrinology. 2015;56:213–25.

356. Azcoitia I, Arevalo MA, Garcia-Segura LM. Neural-derived estradiol regulates brain plasticity. Journal of Chemical Neuroanatomy [Internet]. 2016 [cited 2017 May 31]; Available from: http://ac.els-cdn.com/S089106181630237X/1-s2.0-S089106181630237X-main.pdf?_tid=b7c4cc4c-4663-11e7-bd0d-00000aacb361&acdnat=1496278155_7f2d387d9fbba287e8f327dec7d2abb6

357. Chhibber A, Woody SK, Karim Rumi MA, Soares MJ, Zhao L. Estrogen receptor β deficiency impairs BDNF–5-HT 2A signaling in the hippocampus of female brain: A possible mechanism for menopausal depression. Psychoneuroendocrinology [Internet]. 2017 [cited 2017 Jun 9];82:107–16. Available from: http://ac.els-cdn.com/S0306453016309398/1-s2.0-S0306453016309398-

main.pdf?_tid=a186c0ae-4d46-11e7-a105-00000aab0f26&acdnat=1497035321_1702fd4a1c6b929a81a5b3bda29bfc2e

358. Shepard R, Page CE, Coutellier L. Sensitivity of the prefrontal GABAergic system to chronic stress in male and female mice: Relevance for sex differences in stress-related disorders. Neuroscience [Internet]. 2016 Sep [cited 2017 Jul 6];332:1–12. Available from: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306452216302779

359. Karisetty BC, Joshi PC, Kumar A, Chakravarty S. Sex differences in the effect of chronic mild stress on mouse prefrontal cortical BDNF levels: a role of major ovarian hormones. Neuroscience [Internet]. 2017 [cited 2017 Jun 9];356:89–101. Available from: http://ac.els-cdn.com/S0306452217303457/1-s2.0-S0306452217303457-main.pdf?_tid=816d4cd4-4d46-11e7-af51-00000aab0f02&acdnat=1497035267_97b06544ffa30f5c3aa52201d63896e1

360. Hodes GE, Pfau ML, Purushothaman I, Ahn HF, Golden SA, Christoffel DJ, et al. Sex Differences in Nucleus Accumbens Transcriptome Profiles Associated with Susceptibility versus Resilience to Subchronic Variable Stress. J Neurosci [Internet]. 2015 Dec 16 [cited 2017 Jun 14];35(50):16362–76. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26674863

361. Pitychoutis PM, Nakamura K, Tsonis PA, Papadopoulou-Daifoti Z. Neurochemical and behavioral alterations in an inflammatory model of depression: sex differences exposed. Neuroscience [Internet]. 2009 Apr 10 [cited 2016 Mar 9];159(4):1216–32. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306452209001705

362. Maggioli E, McArthur S, Mauro C, Kieswich J, Kusters DHM, Reutelingsperger CPM, et al. Estrogen protects the blood-brain barrier from inflammation-induced disruption and increased lymphocyte trafficking. Brain Behav Immun [Internet]. 2016 Jan [cited 2016 Apr 8];51:212–22. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889159115300040

363. Spence RD, Hamby ME, Umeda E, Itoh N, Du S, Wisdom AJ, et al. Neuroprotection mediated through estrogen receptor- in astrocytes. Proc Natl Acad Sci [Internet]. 2011 May 24 [cited 2017 Jun 18];108(21):8867–72. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21555578

364. Villa A, Vegeto E, Poletti A, Maggi A. Estrogens, Neuroinflammation and Neurodegeneration. Endocr Rev [Internet]. 2016 May 19 [cited 2016 May 22];er20161007. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27196727

365. LaPlant Q, Chakravarty S, Vialou V, Mukherjee S, Koo JW, Kalahasti G, et al. Role of Nuclear Factor kappaB in Ovarian Hormone-Mediated Stress Hypersensitivity in Female Mice. Biol Psychiatry [Internet]. 2009 May 15 [cited 2017 Jun 14];65(10):874–80. Available from:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19251249

366. Tozzi A, de Iure A, Tantucci M, Durante V, Quiroga-Varela A, GiampÃ C, et al. Endogenous 17Î²-estradiol is required for activity-dependent long-term potentiation in the striatum: interaction with the dopaminergic system. Front Cell Neurosci [Internet]. 2015 [cited 2017 May 31];9:192. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26074768

367. Tonn Eisinger KR, Larson EB, Boulware MI, Thomas MJ, Mermelstein PG. Membrane estrogen receptor signaling impacts the reward circuitry of the female brain to influence motivated behaviors. Steroids [Internet]. 2018 May 1 [cited 2018 Apr 26];133:53–9. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039128X17302246?via%3Dihub

368. Kumar S, Kelly AS. Review of Childhood Obesity: From Epidemiology, Etiology, and Comorbidities to Clinical Assessment and Treatment. Mayo Clin Proc [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2020 Jan 9];92(2):251–65. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002561961630595X?via%3Dihub

369. Boitard C, Cavaroc A, Sauvant J, Aubert A, Castanon N, Laye S, et al. Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. Brain Behav Immun [Internet]. 2014;40:9–17. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24662056

370. Labouesse MA, Lassalle O, Richetto J, Iafrati J, Weber-Stadlbauer U, Notter T, et al. Hypervulnerability of the adolescent prefrontal cortex to nutritional stress via reelin deficiency. Mol Psychiatry [Internet]. 2016 [cited 2017 Jul 1];22:961–71. Available from: https://www.nature.com/mp/journal/v22/n7/pdf/mp2016193a.pdf

371. Andre C, Dinel AL, Ferreira G, Laye S, Castanon N. Diet-induced obesity progressively alters cognition, anxiety-like behavior and lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior: focus on brain indoleamine 2,3-dioxygenase activation. Brain Behav Immun [Internet]. 2014/04/01. 2014;41:10–21. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24681251

372. Patist CM, Stapelberg NJC, Du Toit EF, Headrick JP. The brain-adipocyte-gut network: Linking obesity and depression subtypes. Cogn Affect Behav Neurosci [Internet]. 2018 Dec 15 [cited 2019 Nov 13];18(6):1121–44. Available from: http://link.springer.com/10.3758/s13415-018-0626-0

373. Bruce-Keller AJ, Salbaum JM, Luo M, Blanchard E, Taylor CM, Welsh DA, et al. Obese-type gut microbiota induce neurobehavioral changes in the absence of obesity. Biol Psychiatry [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2017 Jul 17];77(7):607–15. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25173628

374. Tellez LA, Medina S, Han W, Ferreira JG, Licona-Limon P, Ren X, et al. A gut lipid messenger links excess dietary fat to dopamine deficiency. Science (80-). 2013;341:4.

375. Hodes GE, Pfau ML, Leboeuf M, Golden SA, Christoffel DJ, Bregman D, et al. Individual differences in the peripheral immune system promote resilience versus susceptibility to social stress. Proc Natl Acad Sci [Internet]. 2014 Nov 11 [cited 2017 Sep 27];111(45):16136–41. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25331895

376. Fan K-Q, Li Y-Y, Wang H-L, Mao X-T, Guo J-X, Wang F, et al. Stress-Induced Metabolic Disorder in Peripheral CD4+ T Cells Leads to Anxiety-like Behavior. Cell [Internet]. 2019 Oct 31 [cited 2019 Nov 13];179(4):864-879.e19. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31675497

377. Valdearcos M, Douglass JD, Robblee MM, Dorfman MD, Stifler DR, Bennett ML, et al. Microglial Inflammatory Signaling Orchestrates the Hypothalamic Immune Response to Dietary Excess and Mediates Obesity Susceptibility. Cell Metab [Internet]. 2017 Jul 5 [cited 2019 Apr 23];26(1):185-197.e3. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28683286

378. Bollinger JL, Bergeon Burns CM, Wellman CL. Differential effects of stress on microglial cell activation in male and female medial prefrontal cortex. Brain Behav Immun [Internet]. 2016 Feb [cited 2017 Jul 6];52:88–97. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26441134

379. Kwon SH, Han JK, Choi M, Kwon YJ, Kim SJ, Yi EH, et al. Dysfunction of microglial STAT3 alleviates depressive behavior via neuron-microglia interactions. Neuropsychopharmacology [Internet]. 2017 [cited 2017 Aug 14];42(10):2072–86. Available from: https://www.nature.com/npp/journal/v42/n10/pdf/npp201793a.pdf

380. Ebrahimi M, Yamamoto Y, Sharifi K, Kida H, Kagawa Y, Yasumoto Y, et al. Astrocyte-expressed FABP7 regulates dendritic morphology and excitatory synaptic function of cortical neurons. Glia [Internet]. 2016 Jan [cited 2017 Feb 15];64(1):48–62. Available from: http://doi.wiley.com/10.1002/glia.22902

381. van Deijk ALF, Camargo N, Timmerman J, Heistek T, Brouwers JF, Mogavero F, et al. Astrocyte lipid metabolism is critical for synapse development and function in vivo. Glia [Internet]. 2017 Apr [cited 2017 Feb 15];65(4):670–82. Available from: http://doi.wiley.com/10.1002/glia.23120

382. Rappeneau V, Blaker A, Petro JR, Yamamoto BK, Shimamoto A. Disruption of the Glutamate-Glutamine Cycle Involving Astrocytes in an Animal Model of Depression for Males and Females. Front Behav Neurosci [Internet]. 2016 [cited 2017 Jan 24];10:231. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28018190

383. Sominsky L, De Luca S, Spencer SJ. Microglia: Key players in neurodevelopment and neuronal plasticity. Int J Biochem Cell Biol [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2020 Jan 7];94:56–60. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357272517303035?via%3Dihub#bib0080

384. Fu R, Shen Q, Xu P, Luo JJ, Tang Y. Phagocytosis of microglia in the central nervous system diseases. Mol Neurobiol [Internet]. 2014 Jun [cited 2020 Jan 7];49(3):1422–34. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24395130

385. Sántha P, Veszelka S, Hoyk Z, Mészáros M, Walter FR, Tóth AE, et al. Restraint Stress-Induced Morphological Changes at the Blood-Brain Barrier in Adult Rats. Front Mol Neurosci [Internet]. 2015 [cited 2020 Jan 7];8:88. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26834555

386. Xu G, Li Y, Ma C, Wang C, Sun Z, Shen Y, et al. Restraint Stress Induced Hyperpermeability and Damage of the Blood-Brain Barrier in the Amygdala of Adult Rats. Front Mol Neurosci [Internet]. 2019 [cited 2020 Jan 7];12:32. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30814927

387. Roszkowski M, Bohacek J. Stress does not increase blood-brain barrier permeability in mice. J Cereb Blood Flow Metab [Internet]. 2016 [cited 2020 Jan 7];36(7):1304–15. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27146513

388. Rodríguez-Arias M, Montagud-Romero S, Rubio-Araiz A, Aguilar MA, Martín-García E, Cabrera R, et al. Effects of repeated social defeat on adolescent mice on cocaine-induced CPP and self-administration in adulthood: integrity of the blood-brain barrier. Addict Biol [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2020 Jan 7];22(1):129–41. Available from: http://doi.wiley.com/10.1111/adb.12301

389. Lehmann ML, Weigel TK, Cooper HA, Elkahloun AG, Kigar SL, Herkenham M. Decoding microglia responses to psychosocial stress reveals blood-brain barrier breakdown that may drive stress susceptibility. Sci Rep [Internet]. 2018 [cited 2020 Jan 7];8(1):11240. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30050134

390. Menard C, Pfau ML, Hodes GE, Kana V, Wang VX, Bouchard S, et al. Social stress induces neurovascular pathology promoting depression. Nat Neurosci [Internet]. 2017 Dec 13 [cited 2018 Jan 4];20(12):1752–60. Available from: http://www.nature.com/articles/s41593-017-0010-3

391. Banks WA. The blood–brain barrier as an endocrine tissue. Nat Rev Endocrinol [Internet]. 2019 Aug 24 [cited 2020 Jan 7];15(8):444–55. Available from: http://www.nature.com/articles/s41574-019-0213-7

392. Jais A, Solas M, Backes H, Chaurasia B, Kleinridders A, Theurich S, et al. Myeloid-Cell-Derived

VEGF Maintains Brain Glucose Uptake and Limits Cognitive Impairment in Obesity. Cell [Internet]. 2016 Apr 27 [cited 2016 May 3];165(4):882–95. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867416303312

393. Daulatzai MA. Cerebral hypoperfusion and glucose hypometabolism: Key pathophysiological modulators promote neurodegeneration, cognitive impairment, and Alzheimer's disease. J Neurosci Res [Internet]. 2017 Apr 1 [cited 2020 Jan 7];95(4):943–72. Available from: http://doi.wiley.com/10.1002/jnr.23777

394. Hu H, Xu Y, Liu C, Zhao H, Zhang H, Wang L. [Behaviors and brain glucose metabolism in a rat hyperlipidemia model with depression from chronic unpredictable mild stress]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi [Internet]. 2014 Jun 24 [cited 2015 Oct 5];94(24):1894–8. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25154997

395. Land BB, Narayanan NS, Liu R-J, Gianessi C a, Brayton CE, M Grimaldi D, et al. Medial prefrontal D1 dopamine neurons control food intake. Nat Neurosci [Internet]. 2014;17(2):248–53. Available from: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nn.3625

396. Wakabayashi C, Numakawa T, Ooshima Y, Hattori K, Kunugi H. Possible role of the dopamine D1 receptor in the sensorimotor gating deficits induced by high-fat diet. Psychopharmacology (Berl) [Internet]. 2015 Sep 11 [cited 2015 Nov 13]; Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26359228

397. Hare BD, Shinohara R, Liu RJ, Pothula S, Dileone RJ, Duman RS. Optogenetic stimulation of medial prefrontal cortex Drd1 neurons produces rapid and long-lasting antidepressant effects. [cited 2019 Feb 18]; Available from: https://doi.org/10.1038/s41467-018-08168-9

398. Volkow ND, Wang G-J, Telang F, Fowler JS, Thanos PK, Logan J, et al. Low dopamine striatal D2 receptors are associated with prefrontal metabolism in obese subjects: possible contributing factors. Neuroimage [Internet]. 2008 Oct 1 [cited 2015 Nov 3];42(4):1537–43. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2659013&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

399. Johnson PM, Kenny PJ. Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. Nat Neurosci [Internet]. 2010/03/30. 2010;13(5):635–41. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20348917

400. Karlsson HK, Tuominen L, Tuulari JJ, Hirvonen J, Parkkola R, Helin S, et al. Obesity is associated with decreased μ-opioid but unaltered dopamine D2 receptor availability in the brain. J Neurosci

[Internet]. 2015 Mar 4 [cited 2015 Oct 5];35(9):3959–65. Available from: http://www.jneurosci.org/content/35/9/3959.long

401. Zalocusky KA, Ramakrishnan C, Lerner TN, Davidson TJ, Knutson B, Deisseroth K. Nucleus accumbens D2R cells signal prior outcomes and control risky decision-making. Nature [Internet]. 2016 Mar 31 [cited 2019 Nov 7];531(7596):642–6. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27007845

402. Groleau P, Joober R, Israel M, Zeramdini N, Deguzman R, Steiger H. Methylation of the dopamine D2 receptor (DRD2) gene promoter in women with a bulimia-spectrum disorder: Associations with borderline personality disorder and exposure to childhood abuse. J Psychiatr Res [Internet]. 2013/10/26. 2013; Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24157248

403. Hikida T, Yawata S, Yamaguchi T, Danjo T, Sasaoka T, Wang Y, et al. Pathway-specific modulation of nucleus accumbens in reward and aversive behavior via selective transmitter receptors. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2013 Jan 2 [cited 2015 Dec 14];110(1):342–7. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3538201&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

404. Soares-Cunha C, Coimbra B, Sousa N, Rodrigues AJ. Reappraising striatal D1- and D2-neurons in reward and aversion. Neurosci Biobehav Rev [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2019 Nov 19];68:370–86. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763416301816?via%3Dihub

405. Francis TC, Chandra R, Friend DM, Finkel E, Dayrit G, Miranda J, et al. Nucleus Accumbens Medium Spiny Neuron Subtypes Mediate Depression-Related Outcomes to Social Defeat Stress. Biol Psychiatry [Internet]. 2015 Feb [cited 2017 Feb 19];77(3):212–22. Available from: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000632231400554X

406. Sim H-R, Choi T-Y, Lee HJ, Kang EY, Yoon S, Han P-L, et al. Role of dopamine D2 receptors in plasticity of stress-induced addictive behaviours. Nat Commun [Internet]. 2013 Jan 12 [cited 2015 Dec 14];4:1579. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/ncomms2598

407. Chandra R, Francis TC, Nam H, Riggs LM, Engeln M, Rudzinskas S, et al. Reduced Slc6a15 in Nucleus Accumbens D2-Neurons Underlies Stress Susceptibility. J Neurosci [Internet]. 2017 [cited 2017 Jun 13];37(27):6527–38. Available from: http://www.jneurosci.org/content/jneuro/early/2017/06/02/JNEUROSCI.3250-16.2017.full.pdf

408. Yan Y, Jiang W, Liu L, Wang X, Ding C, Tian Z, et al. Dopamine Controls Systemic Inflammation through Inhibition of NLRP3 Inflammasome. Cell [Internet]. 2015/01/17. 2015;160(1–2):62–73.

Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25594175

409. Wang T, Nowrangi D, Yu L, Lu T, Tang J, Han B, et al. Activation of dopamine D1 receptor decreased NLRP3-mediated inflammation in intracerebral hemorrhage mice. J Neuroinflammation [Internet]. 2018 Dec 4 [cited 2020 Jan 8];15(1):2. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29301581

410. Xing L, Esau C, Trudeau VL. Direct regulation of aromatase B expression by 17??-estradiol and dopamine D1 receptor agonist in adult radial glial cells. Front Neurosci [Internet]. 2016 Jan 12 [cited 2017 Mar 26];9(JAN):504. Available from: http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fnins.2015.00504/abstract

411. Almey A, Milner TA, Brake WG. Estrogen receptors in the central nervous system and their implication for dopamine-dependent cognition in females [Internet]. Vol. 74, Hormones and Behavior. NIH Public Access; 2015 [cited 2017 Feb 24]. p. 125–38. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26122294

412. Le Saux M, Morissette M, Di Paolo T. ERβ mediates the estradiol increase of D2 receptors in rat striatum and nucleus accumbens. Neuropharmacology [Internet]. 2006 Mar 1 [cited 2020 Jan 8];50(4):451–7. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028390805003655?via%3Dihub

413. Tonn Eisinger KR, Gross KS, Head BP, Mermelstein PG. Interactions between estrogen receptors and metabotropic glutamate receptors and their impact on drug addiction in females. Hormones and Behavior [Internet]. 2018 Mar 10 [cited 2018 Apr 23]; Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0018506X18300217?via%3Dihub

414. John Rush A, Trivedi MH, Wisniewski SR, Nierenberg AA, Stewart JW, Warden D, et al. Acute and Longer-Term Outcomes in Depressed Outpatients Requiring One or Several Treatment Steps: A STAR*D Report. Am J Psychiatry [Internet]. 2006 [cited 2017 Jul 2];16311. Available from: http://ajp.psychiatryonline.org/doi/pdf/10.1176/ajp.2006.163.11.1905

415. Gaspersz R, Nawijn L, Lamers F, Penninx BWJH. Patients with anxious depression: overview of prevalence, pathophysiology and impact on course and treatment outcome. Curr Opin Psychiatry [Internet]. 2018 Jan [cited 2020 Jan 9];31(1):17–25. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29120914

416. Kohler O, Benros ME, Nordentoft M, Farkouh ME, Iyengar RL, Mors O, et al. Effect of anti-inflammatory treatment on depression, depressive symptoms, and adverse effects: a systematic review

and meta-analysis of randomized clinical trials. JAMA Psychiatry [Internet]. 2014/10/17. 2014;71(12):1381–91. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25322082

417. Drysdale AT, Grosenick L, Downar J, Dunlop K, Mansouri F, Meng Y, et al. Resting-state connectivity biomarkers define neurophysiological subtypes of depression. Nat Med [Internet]. 2017 [cited 2016 Dec 7];23(1):28–38. Available from: http://www.nature.com.gate2.inist.fr/nm/journal/v23/n1/full/nm.4246.html

418. McIntyre RS, Filteau M-J, Martin L, Patry S, Carvalho A, Cha DS, et al. Treatment-resistant depression: Definitions, review of the evidence, and algorithmic approach. J Affect Disord [Internet]. 2014 Mar 1 [cited 2020 Jan 9];156:1–7. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165032713007854?via%3Dihub

419. Topol EJ, Bousser M-G, Fox KA, Creager MA, Depres J-P, Easton JD, et al. Rimonabant for prevention of cardiovascular events (CRESCENDO): a randomised, multicentre, placebo-controlled trial. Lancet. 2010;376:7.

420. Billes SK, Sinnayah P, Cowley MA. Naltrexone/bupropion for obesity: an investigational combination pharmacotherapy for weight loss. Pharmacol Res [Internet]. 2014/04/24. 2014;84:1–11. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24754973

421. Vogel H, Wolf S, Rabasa C, Rodriguez-Pacheco F, Babaei CS, Stöber F, et al. GLP-1 and estrogen conjugate acts in the supramammillary nucleus to reduce food-reward and body weight. Neuropharmacology [Internet]. 2016 [cited 2017 Apr 21];110:396–406. Available from: http://ac.els-cdn.com/S0028390816303355/1-s2.0-S0028390816303355-main.pdf?_tid=4e4e8b64-26a5-11e7-8368-00000aab0f6b&acdnat=1492787888_cece934065269511272d43d8d4bff7e7