

Université de Montréal

**Impact des acides gras alimentaires sur le système
dopaminergique mésolimbique :
Effets différentiels des acides gras saturés et mono-insaturés**

par

Cécile Hryhorczuk

Département de Physiologie Moléculaire et Intégrative

Faculté de Médecine

Thèse présentée à la Faculté de Médecine

en vue de l'obtention du grade de

Docteur en Physiologie

Juin 2016

© Cécile Hryhorczuk, 2016

Résumé

Les comportements motivés dont l'addiction aux drogues d'abus, mettent en jeu le système dopaminergique mésolimbique. Aussi connu sous le nom de système de la récompense, celui-ci comprend les neurones à dopamine de l'aire tegmentale ventrale qui projettent, entre autres, vers le noyau accumbens. Tout comme les neurones de l'hypothalamus, les neurones à dopamine de l'aire tegmentale ventrale répondent aux hormones telles que la leptine, l'insuline et la ghréline pour modifier la prise alimentaire, la motivation ou encore le tonus dopaminergique. Ceci indique que le système dopaminergique mésolimbique est sensible aux signaux hormonaux circulants et suggère que les neurones de l'aire tegmentale ventrale pourraient percevoir les signaux métaboliques comme le glucose ou les acides gras. De plus, plusieurs études chez les humains et les rongeurs démontrent que l'obésité et les diètes riches en gras affectent négativement la fonction dopaminergique mésolimbique.

Étant donné les lacunes qui demeurent quant aux mécanismes impliqués dans la dysfonction du système dopaminergique mésolimbique induite par la nourriture riche en gras, nous avons cherché à évaluer les effets de l'acide oléique et de l'acide palmitique, deux des acides gras les plus abondants dans l'organisme et l'alimentation contemporaine, sur le système de la récompense. Ces deux acides gras, l'un saturé (acide palmitique) et l'autre mono-insaturé (acide oléique), se distinguent par leurs effets différentiels sur la prise alimentaire, la signalisation hormonale ou encore leur métabolisme intracellulaire mais aussi sur la santé cardiovasculaire et mentale.

Nous avons dans un premier temps évalué la capacité du système dopaminergique mésolimbique à détecter les acides gras. Nous avons comparé les effets de l'injection d'acide oléique ou d'acide palmitique dans l'aire tegmentale ventrale sur la prise alimentaire, la motivation et l'activité électrique des neurones à dopamine de l'aire tegmentale ventrale. Nos résultats montrent que l'acide oléique, mais pas l'acide palmitique, diminue la prise alimentaire et le comportement motivé. L'acide oléique inhibe également l'activité électrique des neurones à dopamine, ces effets semblent dépendre de son entrée dans la cellule. De plus, nous montrons que les neurones à dopamine de l'aire tegmentale ventrale expriment plusieurs

gènes de protéines importantes pour le transport et le métabolisme des acides gras et qu'ils sont capables de d'incorporer les acides gras.

Nous avons dans un second temps évalué les effets de l'acide oléique et de l'acide palmitique dérivés de l'alimentation. Nous avons soumis des rats à l'une de ces trois diètes : une riche en gras enrichie en acide oléique, une riche en gras enrichie en acide palmitique ou une contrôle faible en gras. Après huit semaines, et en l'absence d'obésité ou d'altérations métaboliques majeures, la diète enrichie en acide palmitique, mais pas la diète isocalorique enrichie en acide oléique, induit une hyposensibilité aux effets récompensants et locomoteurs de l'amphétamine, associée, entre autres, à la diminution de la signalisation du récepteur à la dopamine D1R et de l'expression du transporteur de la dopamine.

Nous avons finalement exploré l'impact de ces diètes sur l'activité de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien. Les résultats montrent que la diète enrichie en acide palmitique altère aussi la fonction de l'axe et l'expression de plusieurs gènes cibles des corticostéroïdes, sans toutefois modifier le comportement anxieux.

Ce travail de doctorat vient compléter les connaissances sur les dysfonctions du système dopaminergique mésolimbique induites par la nourriture riche en gras. Il met en lumière les effets différentiels des classes d'acides gras et les mécanismes par lesquels ils modulent les comportements motivés et alimentaires. De façon chronique, avant l'apparition d'obésité et d'altérations métaboliques, les acides gras saturés, et non les acides gras mono-insaturés, issus de l'alimentation perturbent le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien et réduisent la fonction dopaminergique. Ceci pourrait contribuer à perpétuer la recherche et la prise de ce type d'acides gras afin de compenser ce déficit.

Mots-clés : aire tegmentale ventrale, noyau accumbens, dopamine, acides gras, motivation, homéostasie énergétique, axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien, corticostérone.

Abstract

The mesolimbic dopamine system, also known as the reward system, is well recognized for its role in motivated reward-related behaviours such as drug addiction. It consists of dopamine neurons originating in the ventral tegmental area that project, among others, to the nucleus accumbens. Similar to neurons in the hypothalamus, dopamine neurons in the ventral tegmental area can detect circulating hormones such as leptin, insulin and ghrelin to adjust food intake, motivation and dopamine tone. This suggests that they could also perceive nutritional signals like glucose and fatty acids. Moreover, several lines of evidence exist showing that palatable food enriched in fat and obesity reduce mesolimbic dopamine function.

Given the many unknowns regarding the mechanisms of obesity-induced dopamine dysfunction, and given that fatty acids differentially influence cardiovascular and mental health according to their class, we sought to determine the effects of the monounsaturated fatty acid oleic acid and the saturated fatty acid palmitic acid, two of the most abundant fatty acids in the body and foods, on mesolimbic dopamine function. Notably palmitic acid and oleic acid differ in their intracellular metabolic fate as well as in their effects on food intake and leptin and insulin signaling at the level of the hypothalamus.

We first evaluated the fatty acid sensing properties of the mesolimbic dopamine system. We looked at the effects of the injection of oleic acid or palmitic acid in the ventral tegmental area on food intake, motivation and dopamine neurons activity. Our results demonstrate that oleic acid, but not palmitic acid, reduces basal and motivated feeding behavior and neuronal activity. Those effects seem to be dependent on its entry into the cell. Moreover, using a neurons culture system we show that dopamine neurons can uptake fatty acids.

We then examined the effect of food-derived oleic and palmitic acid on mesolimbic dopamine function. We assigned rats to a low-fat control diet or to one or the other of a high-fat diet: one enriched in oleic acid or one enriched in palmitic acid. The two high-fat diets are isocaloric and differed only in the fat source. Following eight weeks of feeding, the palmitic

acid-enriched high-fat diet, but not the oleic acid-enriched diet, decreased the sensitivity to the rewarding and locomotor-sensitizing effects of amphetamine. This was associated with a reduction of dopamine receptor D1R signaling and dopamine transporter expression. Importantly this occurred independently of weight gain and hormonal changes.

Lastly, we explored the impact of those diets on the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. Results show that the saturated fat diet alters the function of the axis as well as the expression of several key genes targeted by glucocorticoids in the hypothalamus but without affecting anxiety-related behavior.

This work provides further insight into how the mesolimbic dopamine system is altered by high-fat food consumption. It brings light to the differential effects of two classes of fatty acids and the mechanisms by which they modulate food intake and motivation. The prolonged intake of saturated fat, but not mono-unsaturated fat, disrupts the hypothalamus-pituitary-adrenal axis and decreases mesolimbic dopamine function prior to the onset of obesity and major metabolic alterations. Dysfunction of dopaminergic systems induced by saturated fat consumption could promote further intake of such palatable food as a means to compensate for reward hyposensitivity.

Keywords : ventral tegmental area, nucleus accumbens, dopamine, fatty acids, reward, energy homeostasis, hypothalamus-pituitary-adrenal axis, corticosterone.

Table des matières

RÉSUMÉ	2
ABSTRACT	4
TABLE DES MATIÈRES	6
LISTE DES FIGURES	9
LISTE DES SIGLES	10
REMERCIEMENTS	13
BILAN SCIENTIFIQUE	14
INTRODUCTION	15
1. LE SYSTÈME DOPAMINERGIQUE MÉSOLIMBIQUE	18
1.1 Anatomie du système dopaminergique mésolimbique	19
1.1.1 L'aire tegmentale ventrale	19
1.1.2 Le striatum.....	21
1.1.2.1 Le striatum dorsal.....	21
1.1.2.2 Le noyau accumbens	22
1.1.3 Amygdale, hippocampe et cortex préfrontal.....	24
1.2 Métabolisme et signalisation dopaminergique	25
1.2.1 Synthèse de la dopamine	25
1.2.2 Libération	26
1.2.3 Recapture	26
1.2.4 Dégradation enzymatique	27
1.2.5 Les récepteurs à la dopamine.....	29
1.2.5.1 Fonction et expression	29
1.2.5.1.1 Récepteurs de la classe D1.....	30
1.2.5.1.2 Récepteurs de la classe D2.....	30
1.2.5.2 Signalisation intracellulaire	32
1.3 Modulation de l'activité du système dopaminergique mésolimbique	34
1.3.1 Par les drogues	34
1.3.2 Par la nourriture	39
1.3.2.1 Dans le cadre de l'obésité	40
1.3.2.1.1 Modifications cellulaires	40
1.3.2.1.2 Altérations de la signalisation intracellulaire	41

1.3.2.2	Modulation endocrine.....	42
1.3.2.2.1	Leptine	42
1.3.2.2.2	Insuline.....	43
1.3.2.2.3	Autres facteurs.....	44
1.3.2.3	Modulation nutritionnelle.....	44
1.3.2.3.1	Glucose	44
1.3.2.3.2	Acides aminés	45
1.3.2.3.3	Acides gras	46
2.	LES ACIDES GRAS.....	46
2.1	Structure des acides gras.....	46
2.2	Les acides gras dans l'alimentation	47
2.2.1	Caractéristiques de deux régimes : l'un traditionnel, l'autre contemporain.....	47
2.2.1.1	Le régime occidental	47
2.2.1.2	Le régime méditerranéen.....	48
2.2.2	Agencement des acides gras fournis par l'alimentation.....	49
2.3	Les acides gras dans l'organisme	49
2.3.1	Répartition tissulaire	50
2.3.1.1	Répartition périphérique.....	50
2.3.1.2	Répartition dans le système nerveux central	51
2.3.2	Métabolisme périphérique.....	52
2.3.2.1	Voie exogène des lipides	53
2.3.2.2	Voie endogène des lipides	55
2.3.3	Détection centrale.....	56
2.3.3.1	Passage de la barrière hémato-encéphalique.....	56
2.3.3.2	Entrée dans la cellule	57
2.3.3.2.1	Transport passif ou flip-flop.....	57
2.3.3.2.2	Transport facilité.....	58
2.3.3.3	Transport intra-cellulaire	59
2.3.3.3.1	Prise en charge.....	59
2.3.3.3.2	Devenir.....	62
2.3.3.4	Régulation de l'homéostasie énergétique par la détection centrale des acides gras	63
3.	STRESS ET PRISE ALIMENTAIRE.....	65
3.1	La réponse au stress	65
3.1.1	Le système nerveux sympathique	65
3.1.2	L'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien	66
3.1.2.1	Cascade d'activation	66
3.1.2.2	Patron de sécrétion des glucocorticoïdes	67
3.1.2.3	Les récepteurs aux glucocorticoïdes	68

3.1.2.4 Biodisponibilité des glucocorticoïdes	70
3.2 Stress et prise alimentaire	71
OBJECTIFS ET MÉTHODOLOGIE	74
RÉSULTATS	79
ARTICLE 1 : EFFETS DE L'INJECTION AIGUE D'ACIDES GRAS SUR LE COMPORTEMENT ALIMENTAIRE, MOTIVÉ ET LA TRANSMISSION DOPAMINERGIQUE	81
ARTICLE 2 : EFFETS DES ACIDES GRAS ALIMENTAIRES SUR LA FONCTION DOPAMINERGIQUE MÉSOLIMBIQUE	110
ARTICLE 3 : EFFETS DES ACIDES GRAS ALIMENTAIRES SUR L'AXE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSAIRE-SURRÉNALIEN	139
DISCUSSION GENERALE	159
CONCLUSION	169
BIBLIOGRAPHIE	173

Liste des figures

FIGURE 1 : REPRESENTATION DES PRINCIPALES CONNEXIONS DOPAMINERGIQUES, GABAERGIQUES ET GLUTAMATERGIQUES DES COMPOSANTS DU SYSTEME DOPAMINERGIQUE MESOLIMBIQUE	25
FIGURE 2 : METABOLISME DE LA DOPAMINE.....	28
FIGURE 3 : VOIES DE SIGNALISATION ENGAGÉES PAR LA DOPAMINE ET LES RÉCEPTEURS DE TYPE D1 ET D2.	32
FIGURE 4 : VOIES MÉTABOLIQUES DES LIPOPROTÉINES IMPLIQUÉES DANS LE TRANSPORT DES LIPIDES ALIMENTAIRES ET ENDOGÈNES..	53
FIGURE 5 : MODELE DE TRANSPORT PASSIF, DIT DE <i>FLIP-FLOP</i> , DES ACIDES GRAS A TRAVERS LES MEMBRANES PLASMIQUES..	58
FIGURE 6 : TRANSPORT MEMBRANAIRE ET DEVENIR INTRA-CELLULAIRE DES ACIDES GRAS.....	61

Liste des sigles

11 β -HSD : 11 β -hydroxysteroïde déshydrogénase
AC : adénylate cyclase
ACBP: *acyl-CoA binding protein*
ACTH : hormone corticotrope
AG : acide gras
AGMI : acide gras mono-insaturé
AGPI : acide gras poly-insaturé
AgRP : *agouti-related peptide*
AGS : acide gras saturé
AMPA : acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique
AO : acide oléique
AP : acide palmitique
ARC : noyau arqué de l'hypothalamus
CDK5 : *cyclin-dependent kinase 5*
COMT : catéchol-amine-O-méthyltransférase
CORT : corticostérone
CPP : *conditioned place preference*
CREB : *cAMP response element-binding protein*
CRH : corticolibérine
D1R : récepteur à la dopamine de type 1
D2R : récepteur à la dopamine de type 2
DA : dopamine
DARPP-32 : *cAMP-regulated phosphoprotein, Mr 32kDa*
DAT : transporteur de la dopamine
DEX : dexaméthasone
EPM: *elevated plus maze*
FABP : *fatty acid binding protein*
FAT : *fatty acid translocase*

FATP : *fatty acid transport protein*
GC : glucocorticoïdes
GR : récepteur aux glucocorticoïdes
HDL: lipoprotéine de haute densité
HHS : (axe) hypothalamo-hypophysaire-surrénalien
LDL: lipoprotéine de faible densité
LPL : lipoprotéine lipase
MAO : monoamine oxidase
mPFC : cortex préfrontal médian
MR : récepteur aux minéralocorticoïdes
MSN : *medium spiny neuron*
NA : noyau accumbens
NAc : noyau accumbens *core*
NAs : noyau accumbens *shell*
NPY : neuropeptide Y
NTS : noyau du tractus solitaire
OFT : *open-field test*
PA : prise alimentaire
PKA : protéine kinase A
POMC : pro-opiomélanocortine
PP-1 : protéine phosphatase 1
PPAR : *peroxisome proliferator-activated receptor*
PVN : noyau paraventriculaire de l'hypothalamus
RCPG : récepteur couplé aux protéines G
SDM : système dopaminergique mésolimbique
SNC : système nerveux central
TH : tyrosine hydroxylase
VLDL : lipoprotéine de très faible densité
VMAT2 : *vesicular monoamine transporter 2*
VMN: noyau ventro-médian de l'hypothalamus
VTA : aire tegmentale ventrale

A ma mère et ma sœur, pour leur support et amour inconditionnels.

Remerciements

J'aimerais tout d'abord remercier les membres du jury, Drs Fernandes, Dagher, Laplante et Levy d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Comme une thèse n'est pas l'œuvre d'un seul individu, je voudrais aussi remercier les personnes qui ont contribué à ce travail.

Mes superviseurs, Stephanie et Thierry, je pourrais écrire bien des mots mais d'aucun ne suffirait à exprimer toute ma reconnaissance. Je ne pourrais être plus satisfaite d'avoir choisi de traverser l'Atlantique pour poursuivre l'aventure académique avec vous. Autant sur le plan professionnel que personnel, j'ai pu compter sur votre soutien. Je ne changerais rien à cette expérience et n'aurais pu rêver mieux comme superviseurs.

Les membres des laboratoires Alquier et Fulton : les anciens, avec qui cette aventure a débuté, Fernanda, Sandeep, Bouchra et les actuels, avec qui je partage ces derniers moments, Décarie (☝), Physette (best ping-pong partner ever), Khalil (très intense au tap ball) et Demi (sans qui nous serions un peu perdu), sans oublier ceux qui sont passés par là entre temps, Steph A, Steph T et Dominique.

Les membres passés et actuels des labos voisins. Les Poitout : Bader, Caro, Ghislaine, Hasna, Karl, Mourad, Sylvie, Valentine, Valérie ; les Prentki : Alix, Camille, Erik, Johane, José, Marie-Line, Mélanie, Pegah, Roxane, Yves, Zhao ; et les autres : Alex, Alexia, Carole, Cris, Estelle, Manon, Paul, Sophie, Thomas, Vicky. A un moment ou à un autre, j'ai pu bénéficier d'une oreille attentive, d'un conseil, d'une aide. Vous tous avez contribué à cette expérience et à créer l'ambiance unique partagée par nos labos.

Le plus important : ma mère, un exemple de force et de résilience, qui m'a donné la possibilité de faire ce parcours, et ma sœur, dont l'écoute et l'optimisme m'ont aidé à passer au travers de bien des épreuves.

Et pour enfin répondre à la fameuse question que tout le monde me pose depuis si longtemps : « quand est-ce que tu finis??? ». Hé bien voilà, je crois que c'est maintenant.

Bilan scientifique

Les travaux présentés dans cette thèse ont fait l'objet d'un article publié :

Dampened mesolimbic dopamine function and signaling by saturated but not monounsaturated dietary lipids. Hryhorczuk C, Florea M, Rodaros D, Poirier I, Daneault C, Des Rosiers C, Arvanitogiannis A, Alquier T and Fulton S. *Neuropsychopharmacology*. 2015 Aug. doi: 10.1038/npp.2015.207

Et de deux articles en préparation :

Oleic acid in the ventral tegmental area inhibits feeding, food reward and dopamine tone. Hryhorczuk C, Sheng Z, Giguère N, Ducrot C, Trudeau LE, Routh V, Alquier T and Fulton S. En préparation pour soumission à *Journal of Neuroscience*.

Saturated high-fat feeding independent of obesity alters hypothalamus-pituitary-adrenal axis function but not anxiety-like behavior. Hryhorczuk C, Daneault C, Sharma S, Des Rosiers C, Alquier T and Fulton S. En préparation pour soumission à *Journal of Neuroendocrinology*.

J'ai également participé à l'écriture de trois revues :

Dopamine signalling adaptations by prolonged high-fat feeding. Hryhorczuk C, Décarie-Spain L, Fulton S. *Current Opinions in Behavioral Science*. 2016 Jun; 9 (136-143).

Metabolic disturbances connecting obesity and depression. Hryhorczuk C, Sharma S, Fulton SE. *Frontiers in Neuroscience*. 2013 Oct 7; 7:177.

Nutritional regulation of food reward. Fernandes MF, Sharma S, Hryhorczuk C, Auguste S, Alquier T and Fulton S. *Canadian Journal of Diabetes*. 2013 Aug; 37(4):260-8

Enfin j'ai collaboré aux travaux d'autres étudiants et post-doctorants dans les laboratoires de S. Fulton et T. Alquier :

Central agonism of GPR120/FFAR4 inhibits food intake, food reward and anxiety-like behavior. Auguste A, Fisette A, Fernandes MFA, Hryhorczuk C, Poitout V, Alquier A, and Fulton S. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2016 Feb pii: pyw014. doi: 10.1093/ijnp/pyw014

Leptin suppresses the rewarding effects of running via STAT3 signaling in dopamine neurons. Fernandes MFA, Matthys D, Hryhorczuk C, Sharma S, Mogra S, Alquier T and Fulton S. *Cell Metabolism*. 2015 Oct 6; 22(4):741-9.

Glucose regulates hypothalamic long-chain fatty acid metabolism via AMP-activated kinase (AMPK) in neurons and astrocytes. Taïb B, Bouyakdan K, Hryhorczuk C, Rodaros D, Fulton S, Alquier T. *The Journal of Biological Chemistry*. 2013 Dec 27; 288(52):37216-29

Progressive ratio responding for palatable high-fat & high-sugar food in mice. Sharma, S., Hryhorczuk, C., Fulton, S. *Journal of Visualized Experiments*. 2012 May 3; (63):e3754

Introduction

Un concept fondamental à l'étude de cette thèse est l'homéostasie. Celle-ci correspond à la capacité de l'organisme à maintenir un équilibre interne en dépit de conditions externes variables. Plusieurs paramètres dont la glycémie et le poids corporel sont soumis à cette régulation et sont maintenus constants grâce à un équilibre entre les apports et les dépenses d'énergie.

Les apports en énergie proviennent exclusivement de l'alimentation et sont fournis par les glucides, les lipides, les protéines. Les dépenses correspondent à l'énergie dépensée quotidiennement par l'organisme lors des processus de métabolisme basal, d'activité physique, volontaire et involontaire, et de thermogénèse (post-prandiale et adaptative au froid). Les dépenses varient selon le sexe, l'âge, le poids ainsi que la proportion de masse grasse et de masse musculaire; il est cependant estimé que le métabolisme basal représente entre 60 et 75%, l'activité physique entre 15 et 30% et la thermogénèse 8 à 12% de la dépense énergétique journalière (Donahoo, Levine et al. 2004). Si l'équilibre entre les apports et les dépenses est déplacé vers l'un ou l'autre des côtés de la balance pondérale, celle-ci s'en trouve altérée : de manière positive dans le cas d'un surplus en apports et/ou de dépenses insuffisantes ou de manière négative dans le cas d'apports en énergie insuffisants et/ou d'un excès de dépenses. Si ce déséquilibre est maintenu pendant un certain temps, peuvent alors apparaître des désordres métaboliques tels qu'une cachexie suite à l'anorexie ou un surpoids voire une obésité en cas de surconsommation de nourriture.

La prise alimentaire (PA) est un processus complexe qui implique un dialogue constant entre plusieurs organes de la périphérie tels que ceux de la sphère gastro-intestinale et le tissu adipeux, et le système nerveux central (SNC). Par le biais de différents neuropeptides et hormones, ceux-ci s'informent mutuellement sur le statut énergétique de l'organisme. Au niveau du SNC, de nombreuses régions fortement inter-connectées forment un réseau élaboré capable d'ajuster la PA dans le but de maintenir un équilibre homéostatique. Historiquement, les études s'intéressant aux mécanismes centraux de la PA se sont principalement concentrées sur le rôle de l'hypothalamus, dont la fonction capitale est maintenant largement reconnue (Anand and Brobeck 1951, Anand and Brobeck 1951). Sa localisation à proximité de l'organe circumventriculaire qu'est l'éminence médiane, lui confère un accès privilégié aux signaux hormonaux et nutritionnels circulants. De plus, ses connexions réciproques avec le

rhombencéphale dont le noyau du tractus solitaire (NTS) qui relaie les informations provenant des afférences vagales, le garde informé en tout temps de la condition de la sphère viscérale. L'hypothalamus est ainsi un site primaire de convergence et d'intégration des signaux nutritionnels et un des premiers, avec le tronc cérébral, à être informé du statut énergétique de l'organisme. Cependant les caractéristiques multimodales de la PA, qui n'est pas uniquement stimulée par les besoins en énergie de l'organisme mais également par les émotions, l'apprentissage et les expériences, nécessitent l'implication d'autres régions cérébrales. Ainsi diverses structures corticales (cortex gustatif, olfactif, préfrontal) et limbiques (hippocampe, amygdale, striatum) participent aux aspects sensoriel, mnémonique, émotionnel, motivationnel et hédonique de la PA (Berthoud 2002).

Parmi les régions extra-hypothalamiques impliquées dans la régulation de la PA, le système dopaminergique mésolimbique (SDM) régule la prise de nourriture suivant ses propriétés hédoniques et récompensantes. Le SDM comprend les neurones à dopamine (DA) de l'aire tegmentale ventrale (*ventral tegmental area*, VTA) qui projettent vers le noyau accumbens (NA). Il n'est pas impliqué dans le plaisir provoqué par l'ingestion de nourriture à proprement dit, qui met plutôt en jeu les opioïdes et les endocannabinoïdes au niveau du NA et du pallidum ventral (Pecina, Smith et al. 2006). L'activité du SDM reflète plutôt la motivation, l'effort qu'un organisme est prêt à fournir pour obtenir une récompense, ici la nourriture. Même si les circuits neuronaux engagés se chevauchent, le plaisir ressenti suite à une récompense et la motivation à l'obtenir seraient deux notions complémentaires mais distinctes selon la théorie avancée par Kent Berridge (Berridge, Robinson et al. 2009).

La nourriture savoureuse riche en gras et/ou en sucre est particulièrement plaisante et récompensante. Sa consommation active plusieurs circuits neuronaux dont le SDM. Mais certains facteurs d'ordre génétique ou environnemental (susceptibilité génique, publicité, émotions) peuvent causer une consommation de ce type de nourriture supérieure aux besoins énergétiques de l'organisme. Et lorsque celle-ci surpasse trop souvent les contrôles hypothalamiques de la PA, cela peut mener à un dérèglement des circuits neuronaux, à la recherche et à la consommation excessive de nourriture et au développement de l'obésité. De nombreuses études ont démontré que le SDM participe à la régulation de la PA, qu'il est la cible des signaux hormonaux circulants et qu'il est impliqué dans l'étiologie de l'obésité. Par

exemple, certaines mutations dans les gènes codant pour un type de récepteurs à la DA peuvent provoquer une vulnérabilité à la prise de poids (Burger and Stice 2011). A l'inverse, l'obésité induite par la nourriture réduit l'expression de ces récepteurs au niveau du NA autant chez les rongeurs que chez les humains (Wang, Volkow et al. 2001, Johnson and Kenny 2010). Par contre, il subsiste plusieurs points à éclaircir, car bien que les connaissances sur la façon dont le statut métabolique et les signaux hormonaux circulants influencent l'activité du SDM et le comportement alimentaire s'améliorent, il existe très peu de données quant aux effets des acides gras (AG) spécifiquement qui sont présents dans la nourriture.

Ce chapitre d'introduction sera composé de trois parties. Je détaillerai tout d'abord l'organisation anatomique du SDM, le métabolisme et la signalisation dopaminergique ainsi que sa régulation par les signaux hormonaux. La section suivante traitera des AG, de leur distribution dans l'alimentation et l'organisme, leur métabolisme et la détection au niveau du cerveau. Enfin, je discuterai de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien (HHS) et du lien qui existe entre le stress et la PA.

1. Le système dopaminergique mésolimbique

Les neurones à DA du VTA qui projettent vers le NA (la partie ventrale du striatum) constituent le SDM. Des projections mineures innervent également l'amygdale, l'hippocampe et les tubercules olfactifs. L'importance des neurones à DA du VTA a d'abord été mise en évidence dans les phénomènes d'accoutumance aux drogues d'abus (Koob 1992). Mais tout comme la cocaïne, l'amphétamine (AMPH) ou encore l'alcool, la consommation de nourriture provoque la libération de DA dans le NA (Di Chiara and Imperato 1985, Imperato, Mulas et al. 1986, Hernandez and Hoebel 1988, Carboni, Imperato et al. 1989, Boileau, Assaad et al. 2003). De par son rôle dans le renforcement positif, le SDM est aussi connu sous le nom de circuit de la récompense.

Il existe deux autres voies dopaminergiques prenant leur origine dans le mésencéphale. La première, la voie mésocorticale, a également le VTA pour origine et innerve principalement des régions corticales comme le cortex préfrontal médian (*medial prefrontal cortex*, mPFC) (Bjorklund and Dunnett 2007). Elle aurait un rôle dans l'étiologie de la schizophrénie (Kambeitz, Abi-Dargham et al. 2014). Les voies mésocorticale et mésolimbique

sont parfois regroupées sous le terme mésocorticolimbique. La seconde, la voie nigrostriée, a pour origine les neurones à DA de la portion *pars compacta* de la substance noire et le noyau rétrosubstantiel et a pour cible le striatum dorsal (composé du noyau caudé et du putamen) et le globus pallidus. Elle est connue pour son importance dans le contrôle moteur et sa dégénérescence dans la maladie de Parkinson (Moore 2003) mais est aussi impliquée dans l'apprentissage et le développement des habitudes (Everitt and Robbins 2005).

1.1 Anatomie du système dopaminergique mésolimbique

1.1.1 L'aire tegmentale ventrale

Le VTA se situe à la base du mésencéphale et peut se diviser en cinq régions définies selon des critères anatomiques et fonctionnels. On retrouve en position latérale le noyau parabrachial pigmentosus et le noyau paranigral, riches en cellules dopaminergiques. En position médiane se trouvent le noyau interfasciculaire, le noyau linéaire rostral et le noyau linéaire caudal (Phillipson 1979, Phillipson 1979, Phillipson 1979). Plus récemment deux nouvelles régions ont été définies : l'aire du réflexe parafasciculaire dans la portion rostrale et le noyau tegmental rostromédial, riche en neurones GABAergiques, dans la partie la plus caudale (Ikemoto 2007, Zhou, Fields et al. 2009, Kaufling, Veinante et al. 2009). Cette diversité structurale s'accompagne d'une diversité cellulaire et fonctionnelle, détaillées dans la revue de Sanchez-Catalan, Kaufling *et al.* (2014).

Le VTA est composé de neurones de nature GABAergique, glutamatergique et dopaminergique (Li, Qi et al. 2013). La majorité des neurones (~55-65%) est de nature dopaminergique, les neurones GABAergiques et glutamatergiques représentant ~30% et 5% respectivement (Margolis, Lock et al. 2006, Nair-Roberts, Chatelain-Badie et al. 2008). Une petite proportion de neurones à DA est capable de libérer du GABA ou du glutamate (Yamaguchi, Wang et al. 2011, Tritsch, Oh et al. 2014).

Les neurones dopaminergiques contenus dans le VTA constituent un regroupement appelé « aire A10 ». Dix-huit aires ont été répertoriées, regroupant divers noyaux noradrénergiques (A1 à A7) et dopaminergiques (A8 à A18) (Dahlstrom and Fuxe 1964). Alors que les premières études ont établi le nombre de neurones dopaminergiques aux

environs de 20000 (Swanson 1982, German and Manaye 1993), des travaux plus récents estiment leur nombre à 40000 chez le rat (Nair-Roberts, Chatelain-Badie et al. 2008). Ce nombre augmente avec l'évolution phylogénique (German, Schlusberg et al. 1983).

Dans son ensemble, le VTA est innervé par un grand nombre de structures du SNC, principalement le striatum, le pallidum ventral, l'hypothalamus latéral et l'aire pré-optique (Yetnikoff, Lavezzi et al. 2014, Menegas, Bergan et al. 2015) (Figure 1). Bien que les neurones à DA présentent une activité électrique endogène, dite *pacemaker* (Khaliq and Bean 2010), celle-ci est régulée *via* des afférences excitatrices et inhibitrices. Les afférences glutamatergiques proviennent du mPFC, du noyau tegmental latérodorsal, du noyau pédonculopontin, de l'habenula latérale, de l'hypothalamus latéral et du noyau dorsal du raphé (Geisler, Derst et al. 2007, Morikawa and Paladini 2011, Russo and Nestler 2013, Qi, Zhang et al. 2014). Les afférences GABAergiques proviennent quant à elles du pallidum ventral et du NA (Waddington and Cross 1978, Groenewegen, Berendse et al. 1993) mais il n'est pas clair si elles ciblent les neurones à DA. Certaines études ont cependant montré que l'activité de ces derniers est bel et bien sous l'influence GABAergique (Johnson and North 1992, Mathon, Lesscher et al. 2005). L'amygdale et la substance grise périaqueducule envoient à la fois des projections excitatrices et inhibitrices (Kaufling, Veinante et al. 2009, Omelchenko and Sesack 2010). Il existe également un contrôle inhibiteur au sein même du VTA par l'entremise d'interneurones GABAergiques (Bayer Pickel 1991, Omelchenko 2009) en plus d'un mécanisme d'auto-inhibition *via* les autorécepteurs D2 par les neurones dopaminergiques eux-mêmes (Cragg and Greenfield 1997).

Les neurones du VTA innervent une large portion des structures cérébrales. Ils envoient des projections, *via* le faisceau médian télencéphalique vers le striatum, les tubercules olfactifs, le septum latéral, l'amygdale, l'hippocampe, le mPFC, le pallidum ventral, le cortex moteur ou encore l'habenula latérale (Li, Takada et al. 1993, Gaykema and Zaborszky 1996, Gasbarri, Sulli et al. 1997, Shammah-Lagnado, Alheid et al. 1999, Hasue and Shammah-Lagnado 2002, Del-Fava, Hasue et al. 2007, Hosp, Pekanovic et al. 2011). Les neurones du VTA sont ségrégués selon le site de projection. Par exemple, les neurones à DA qui innervent le noyau basolatéral de l'amygdale, le mPFC et la portion médiane du NA se situent dans la partie médiane du VTA (noyaux parabrachial pigmentosus, paranigral et

interfasciculaire). Ceux qui innervent la partie latérale du NA se trouvent quant à eux dans le VTA latéral (Lammel, Lim et al. 2014). La ségrégation anatomique est parfois subtile mais les caractéristiques électrophysiologiques et moléculaires sont plus marquées (Kim, Ghazizadeh et al. 2014, Lammel, Lim et al. 2014). Ces singularités sont mentionnées en détails dans la revue de Yetnikoff, Lavezzi et al. (2014).

La richesse de ses connexions fait que le VTA est impliqué dans une multitude de fonctions en lien avec le contrôle des comportements émotionnel et motivationnel (Nestler and Carlezon 2006, Ikemoto and Bonci 2014, Meye and Adan 2014).

1.1.2 Le striatum

Le striatum fait partie d'un ensemble de structures appelé les ganglions de la base. Il s'agit d'un ensemble de structures constitué du striatum, du globus pallidus, de la substance noire (*pars reticulata* et *pars compacta*) et du noyau sous-thalamique. Elles sont l'intermédiaire entre les aires corticales et les aires responsables de la planification et l'exécution des réponses motrices (Gerfen and Bolam 2010).

Les neurones qui composent le striatum sont en grande majorité (95%) des neurones de type GABAergique de taille moyenne présentant de nombreuses épines dendritiques (*medium spiny neurons*, MSN) (Kemp and Powell 1971, Tepper and Bolam 2004). Ils sont la cible de la plus grande partie des afférences corticales. Les 5% restant correspondent à des interneurons de nature GABAergique ou cholinergique (Kawaguchi, Wilson et al. 1995). Ils ne projettent pas au-delà du striatum mais connectent avec les MSN.

Les MSN sont répartis de manière homogène au sein du striatum mais on distingue tout de même trois régions anatomiques aux connexions parfois similaires mais aux fonctions distinctes. Il s'agit du noyau caudé et du putamen, qui forment le striatum dorsal et du NA, qui est compris dans la portion ventrale du striatum.

1.1.2.1 Le striatum dorsal

Le striatum dorsal reçoit des afférences excitatrices, inhibitrices et neuropeptidergiques des aires motrices, prémotrices, préfrontales et limbiques du cortex, du thalamus, du globus pallidus, de la substance noire, du noyau dorsal du raphé, du locus ceruleus, du noyau

pédonculopontin, de l'hippocampe, de l'amygdale, du VTA et de la substance noire (Nakano, Kayahara et al. 2000). Par ailleurs, il existe une distinction fonctionnelle entre les deux régions qui composent le striatum dorsal. Le noyau caudé est innervé majoritairement par les régions corticales préfrontales alors que le putamen reçoit principalement des afférences des régions corticales motrices et somatosensorielles. Chez les primates, cette séparation est aussi de nature structurale, car le noyau caudé et le putamen sont séparés par la capsule interne. Chez les rongeurs cette séparation structurale n'existe pas mais les distinctions fonctionnelles demeurent (Gerfen and Bolam 2010).

Les efférences du striatum dorsal se distinguent également de manière fonctionnelle. En effet, les MSN sont divisés en deux catégories. La première projette de façon monosynaptique vers la portion interne du globus pallidus et la substance noire *pars reticulata* et exprime les récepteurs à la DA de type D1R et la substance P et la dynorphine comme neuropeptides. La seconde population de MSN est aussi connectée avec la portion interne du globus pallidus et la substance noire *pars reticulata*, mais de façon indirecte, *via* la portion externe du globus pallidus et le noyau sous-thalamique. Elle exprime les récepteurs D2R et l'enképhaline (Gerfen and Surmeier 2011, Wall, De La Parra et al. 2013). Ces deux populations constituent respectivement les voies directe et indirecte des ganglions de la base et ont des effets opposés sur la génération des mouvements : la voie directe les facilite alors que la voie indirecte les inhibent (Calabresi, Picconi et al. 2014). Une petite portion (6%) de neurones exprime à la fois D1R et D2R (Bertran-Gonzalez, Bosch et al. 2008).

Site majeur d'afférences corticales, le striatum dorsal a un rôle particulier dans le relais des informations cognitives liées au comportement motivé pour les transformer en action, en habitudes. Dans le contexte de la prise de drogues, le striatum dorsal est impliqué dans la transition de la prise volontaire vers un usage répété, l'accoutumance et la compulsion (Everitt and Robbins 2005).

1.1.2.2 *Le noyau accumbens*

L'organisation du NA est comparable à celle du striatum dorsal avec cependant quelques originalités. Hormis celles provenant du mésencéphale (la substance noire innervant préférentiellement le striatum dorsal et le VTA innervant le NA), les afférences sont similaires

à celles du striatum dorsal, mais avec une prédominance pour celles provenant du cortex préfrontal, de l'hippocampe et de l'amygdale (Haber 2011) (Figure 1). Comme le striatum dorsal, le NA est divisé en deux régions : une partie centrale située autour de la commissure antérieure que l'on nomme *core* (NAc), pour le cœur, et une partie *shell* (NAs), qui forme une sorte de coquille autour du NAc. La distinction entre les deux noyaux se fait sur les bases de l'expression de la calbindine D28K (Jongen-Rêlo, Voorn et al. 1994). La ségrégation entre les MSN exprimant D1R et ceux exprimant D2R est toujours présente dans le NA, et la proportion de neurones exprimant les deux récepteurs semble plus importante que dans le striatum dorsal (15-30%) (Perreault, Hasbi et al. 2010). Néanmoins les proportions respectives sont les mêmes dans la portion *core* et *shell* (50% de neurones exprimant D1R, 40% exprimant D2R et 10% exprimant les deux) (Valjent, Bertran-Gonzalez et al. 2009). Bien qu'il y ait un certain recoupement, le NAs et le NAc peuvent se distinguer par leur afférences et efférences.

Les portions médianes du NAc et du NAs sont innervées par les neurones à DA du VTA médian postérieur. Le NAs latéral reçoit quant à lui des projections du VTA latéral (Lammel, Lim et al. 2014). Il en va de même pour les régions corticales qui innervent séparément le NAs et le NAc, et les noyaux de l'amygdale dont les projections suivent un gradient médian-latéral (McDonald 1991, Brog, Salyapongse et al. 1993, Wright, Beijer et al. 1996). L'hippocampe projette préférentiellement vers le NAs (Friedman, Aggleton et al. 2002). Il existe également une innervation réciproque entre le NAc et le NAs (van Dongen, Deniau et al. 2005).

Les projections du NA se font principalement vers le VTA et la substance noire *pars reticulata* pour les MSN exprimant D1R et vers le pallidum ventral pour ceux exprimant D2R (Smith, Lobo et al. 2013) (Figure 1). Concernant les projections vers le VTA et la substance noire, la dichotomie entre le NAs et le NAc est également présente (Berendse, Groenewegen et al. 1992). Le NA projette aussi vers l'hypothalamus latéral, le noyau de la strie terminale et le noyau pédonculopontin (Groenewegen, Wright et al. 1999).

Bien que le NA dans son ensemble soit impliqué dans les phénomènes de récompense et comportements motivés, les connexions distinctes du NAc et au NAs leur confèrent des caractéristiques fonctionnelles différentes. Le NAs joue un rôle dans le renforcement positif engendré par les drogues. En effet, les psychostimulants entraîne la libération de DA

préférentiellement dans le NAs. Les stimuli aversifs entraînent la libération de DA plutôt dans le NAc (Di Chiara 2002).

1.1.3 Amygdale, hippocampe et cortex préfrontal

L'amygdale, l'hippocampe et le mPFC sont trois autres cibles des neurones à DA du VTA (Figure 1). Ces régions ne font pas partie du SDM à proprement parlé mais prennent tout de même part au contrôle des comportements motivés. Elles envoient vers le NA des afférences glutamatergiques qui, lorsque stimulées, renforcent la recherche de drogue (Stuber, Sparta et al. 2011, Britt, Benaliouad et al. 2012). Leur dysfonctionnement peut d'ailleurs provoquer une vulnérabilité à la rechute, notamment dans un contexte de stress ou d'anxiété chez les personnes aux prises avec un problème de dépendance (Marchant, Kaganovsky et al. 2015, Goodman and Packard 2016).

C'est *via* l'amygdale, particulièrement le noyau basolatéral, que le cerveau attribue une valeur émotionnelle positive ou négative à la nourriture, afin de renforcer la recherche de la récompense ou au contraire l'éviter (Wassum and Izquierdo 2015). Siège de fonctions cognitives supérieures, le mPFC est important pour les fonctions exécutives. A travers ses connections avec diverses régions limbiques, il détermine l'intensité du désir d'un aliment, la motivation à l'obtenir et planifie et coordonne les mouvements en conséquence (Goldstein and Volkow 2011). Enfin, l'hippocampe met en mémoire et renforce les valeurs émotionnelles, motivationnelles mais aussi post-ingestives attribuées à la nourriture suivant l'apprentissage et les expériences (Kanoski and Grill 2015). De nombreuses études ont rapporté une activité anormale de ces zones cérébrales dans des cas d'obésité (Cornier, McFadden et al. 2013), supportant ainsi la notion que l'addiction et l'obésité affectent des réseaux similaires (Volkow, Wang et al. 2012).

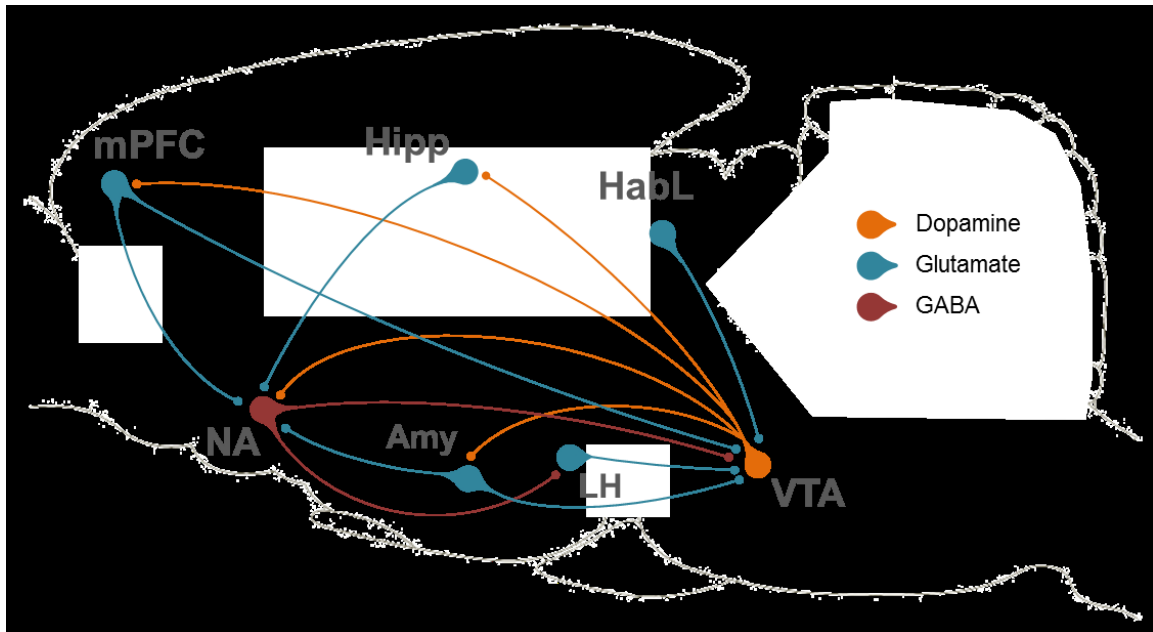


Figure 1: Représentation des principales connexions dopaminergiques, GABAergiques et glutamatergiques des composants du système dopaminergique mésolimbique. Amy : amygdale, HabL : habénula latérale, Hipp : hippocampe, LH : hypothalamus latéral, mPFC : cortex préfrontal médian, NA : noyau accumbens, VTA : aire tegmentale ventrale. Adapté de Russo & Nestler 2013.

1.2 Métabolisme et signalisation dopaminergique

1.2.1 Synthèse de la dopamine

La présence de DA dans le cerveau fut démontrée pour la première fois à la fin des années 1950 grâce aux travaux d'Arvid Carlsson (Carlsson, Lindqvist et al. 1958). La DA fait partie de la classe des catécholamines, de même que l'adrénaline et la noradrénaline. Le précurseur de leur synthèse est la tyrosine (Figure 2). La première étape menant à la synthèse de DA consiste en l'hydroxylation de la L-tyrosine en L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) par la tyrosine hydroxylase (TH). Celle-ci est l'enzyme limitante à la synthèse de DA (Levitt, Spector et al. 1965). Son activité dépend d'un rétrocontrôle négatif par les catécholamines ainsi que de la phosphorylation de résidus sérine par plusieurs kinases dont la protéine kinase c-AMP dépendante (PKA) (Dunkley, Bobrovskaya et al. 2004). La L-DOPA issue de cette première réaction est ensuite décarboxylée par la L-DOPA décarboxylase pour

former la DA. La DA sert de précurseur à la synthèse de noradrénaline et d'adrénaline (Figure 2).

Au niveau des corps cellulaires et de l'arborisation dendritique la DA est stockée dans des vésicules par le *vesicular monoamine transporter 2* (VMAT2). VMAT2 est également le transporteur utilisé pour emmagasiner la noradrénaline, l'adrénaline, l'histamine et la sérotonine (Eiden and Weihe 2011).

1.2.2 Libération

La DA stockée dans les vésicules présynaptiques peut être libérée de façon constitutive, c'est-à-dire en l'absence de stimulus, grâce à l'activité *pacemaker* mentionnée plus haut, ou suite à l'arrivée d'un train de potentiels d'action. L'entrée de calcium dans le neurone entraîne sa dépolarisation et l'arrimage des vésicules à la membrane plasmique. Ce processus s'effectue par l'entremise des protéines de la famille des SNARE telles que la syntaxine, la synaptobrevine et SNAP-25 (Fisher and Braun 2000, Fortin, Desrosiers et al. 2006). S'en suit l'exocytose de DA dans la fente synaptique. Celle-ci peut se faire tant au niveau axonal que somatodendritique (Bjorklund and Lindvall 1975, Geffen, Jessell et al. 1976, Cheramy, Leviel et al. 1981). Cette dernière permet aux neurones de réguler eux-mêmes la libération de DA axonale (Lacey, Mercuri et al. 1987, Pucak and Grace 1994).

1.2.3 Recapture

La majorité de la DA présente dans la fente synaptique est capturée par le neurone présynaptique afin d'être recyclée et emmagasinée dans les vésicules synaptiques. Ce mécanisme met en jeu le transporteur de la DA (*dopamine transporter*, DAT) (Figure 3).

DAT est fortement exprimé dans les corps cellulaires et les dendrites des neurones à DA du VTA, avec une expression préférentielle sur la membrane plasmique des dendrites distales, ce qui en fait le site majeur de recapture de la DA dans le VTA (Nirenberg, Chan et al. 1997). Au niveau du NA, il est exprimé dans les axones positifs pour la TH, sans distinction entre le NAc et le NAs. Cependant, les axones innervant le NAs présentent une plus faible densité de DAT comparé au NAc (Nirenberg, Chan et al. 1997). De plus, DAT est non pas exprimé dans l'espace synaptique, mais à distance des synapses (Nirenberg, Chan et

al. 1997). Cette particularité anatomique permettrait de limiter la diffusion de la DA en dehors de l'espace synaptique. Dans le cas du NAs particulièrement, la plus faible densité de DAT signifie une diffusion plus large (Jones, O'Dell et al. 1996) mais aussi probablement une sensibilité différente aux psychostimulants comme l'AMPH. DAT est aussi exprimé dans d'autres systèmes dopaminergiques, tels que les neurones à DA de la substance noire, le striatum dorsal, le globus pallidus, l'amygdale et une portion du noyau arqué de l'hypothalamus (Ciliax, Heilman et al. 1995, Richtand, Kelsoe et al. 1995, Hersch, Yi et al. 1997, Turiault, Parnaudeau et al. 2007).

DAT est le produit d'un seul gène, mais subit la modification post-traductionnelle qu'est la N-glycosylation. Cette régulation post-traductionnelle est importante notamment pour la stabilité et l'adressage des protéines à la membrane (Lis and Sharon 1993). DAT contient trois sites de glycosylation qui font augmenter son poids moléculaire (Torres, Carneiro et al. 2003). C'est ainsi qu'on distingue trois formes : une immature non-glycosylée (50KDa), une intermédiaire partiellement glycosylée (64KDa) et une mature glycosylée (75-80KDa). La glycosylation augmente la stabilité de DAT à la membrane et sa capacité de transport mais la forme non-glycosylée est tout de même capable de transporter la DA (Li, Chen et al. 2004, Afonso-Oramas, Cruz-Muros et al. 2009).

1.2.4 Dégradation enzymatique

La plus grande partie de la dégradation de la DA se fait par la monoamine oxydase (MAO), dont il existe deux isoformes, la MAO-A et la MAO-B (Bach, Lan et al. 1988), présentes au niveau de la membrane externe mitochondriale. La DA est dégradée en majorité par l'isoforme A chez le rat et par l'isoforme B chez l'humain (Napolitano, Cesura et al. 1995). L'action de la MAO aboutit à la formation de *3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde* converti par la suite en acide 3,4-dihydroxyphenylacétique.

Une moindre proportion de l'oxydation se fait par la catéchol-O-méthyltransférase (COMT). Elle existe sous deux formes : liée à la membrane ou soluble dans le cytoplasme (Myohanen, Schendzielorz et al. 2010). Son activité aboutit à la formation de 3-méthoxytyramine et d'acide homovanillique. La COMT peut également catalyser la

métabolisation d'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique en acide homovanillique (Figure 2). Les métabolites sont par la suite excrétés dans le liquide céphalorachidien.

Les cellules gliales et les astrocytes participent également à la recapture et à la dégradation de la DA, dû à la présence de DAT (Karakaya, Kipp et al. 2007), MAO (Mallajosyula, Kaur et al. 2008) et COMT (Myohanen, Schendzielorz et al. 2010) dans ceux-ci.

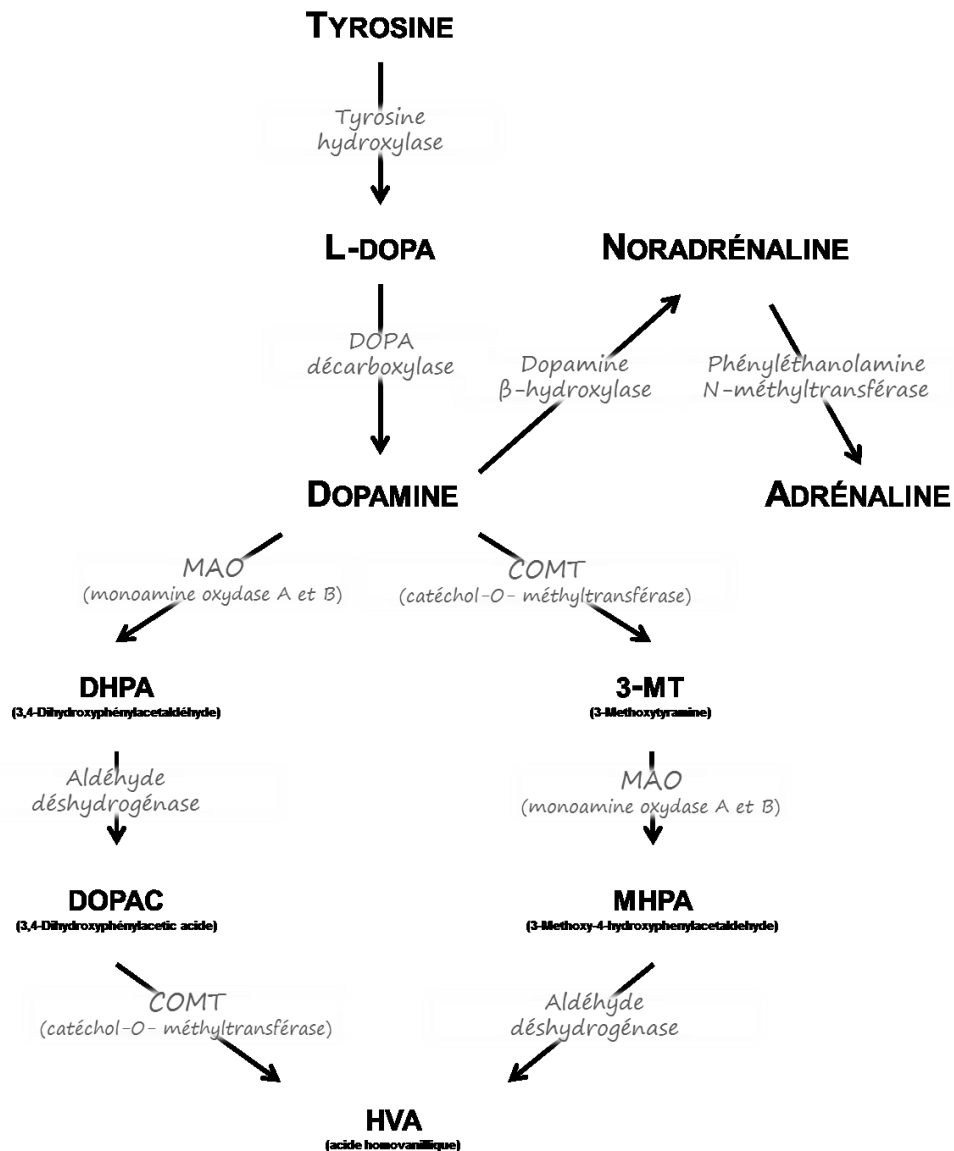


Figure 2 : Métabolisme de la dopamine.

1.2.5 Les récepteurs à la dopamine

1.2.5.1 Fonction et expression

Une fois libérée dans la fente synaptique, la DA active les récepteurs à la DA. Ils font partie de la famille des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). Les protéines G sont des hétéro-trimères composées des sous-unités $G\alpha$, $G\beta$ et $G\gamma$, liées à la membrane, avec pour fonction la transduction intra-cellulaire du signal. Elles modulent l'activité de plusieurs effecteurs dont l'adénylate cyclase et la phospholipase C *via* la génération de seconds messagers comme l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc), l'inositol triphosphate et le diacylglycérol (Missale, Nash et al. 1998). Une description plus détaillée de la signalisation intracellulaire sera faite dans la section suivante.

Les récepteurs à la DA sont impliqués dans une myriade de fonctions. La liste est exhaustive mais on peut quand même mentionner leur implication dans l'activité locomotrice, la motivation, la prise alimentaire, le sommeil et diverses fonctions cognitive, olfactive, visuelle et hormonale. Plusieurs pathologies sont liées à une dysfonction dopaminergique, les plus connues étant sans doute la maladie de Parkinson et l'accoutumance aux drogues d'abus. Mais de par la vaste couverture dopaminergique du cerveau, plusieurs autres désordres sont attribués au moins en partie à des perturbations de la fonction dopaminergique comme la dépression, la schizophrénie ou encore le trouble du déficit de l'attention (Iversen and Iversen 2007).

Il existe cinq récepteurs à la DA chez les mammifères, de D1 à D5. Ils sont encodés par cinq gènes différents, la séquence protéique des récepteurs variant entre 387 et 475 acides aminés chez le rat, mais présentant une grande homologie des domaines trans-membranaires (entre 50 et 80%). Leur expression est région-spécifique et varie au cours du développement (Araki, Sims et al. 2007). Les récepteurs sont organisés en deux classes, basées selon leur effet sur la protéine effectrice adénylate cyclase. La classe D1 comprend D1R et D5R : ils sont couplés positivement à l'adénylate cyclase. A l'inverse, les récepteurs de la classe D2, qui comportent D2R, D3R et D4R, y sont couplés négativement (Spano, Govoni et al. 1978, Keabian and Calne 1979, Tiberi, Jarvie et al. 1991, Vallone, Picetti et al. 2000, Abizaid, Liu et al. 2006) (Figure 3).

1.2.5.1.1 Récepteurs de la classe D1

Les récepteurs de la classe D1 sont couplés positivement à l'adénylate cyclase et stimulent ainsi la production d'AMPc. Les D1R sont peu exprimés par les neurones dopaminergiques eux-mêmes mais le sont abondamment dans les aires cibles : les bulbes olfactifs, la substance noire, l'hippocampe, le cortex, le thalamus, certaines aires hypothalamiques et le striatum, notamment par les populations de MSN comme mentionné précédemment.

Les niveaux d'expression des D5R sont moins importants que ceux des D1R mais n'en demeurent pas moins ubiquitaire : on les trouve dans le striatum, le cortex, l'hypothalamus, l'hippocampe et les tubercules olfactifs (Khan, Gutierrez et al. 2000). Fait intéressant, les D5R ont une affinité pour la DA bien plus grande que les D1R (Sunahara, Guan et al. 1991). L'augmentation de leur expression dans le cortex frontal de personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer et sa présence dans les astrocytes pourrait jouer un rôle dans l'étiologie de cette maladie (Kumar and Patel 2007).

1.2.5.1.2 Récepteurs de la classe D2

Les récepteurs D2R sont très exprimés dans le striatum dorsal, le NA et les tubercules olfactifs. On les retrouve aussi dans le VTA, la substance noire, l'hippocampe, l'hypothalamus, l'amygdale et différentes aires corticales (Missale, Nash et al. 1998, Vallone, Picetti et al. 2000, Araki, Sims et al. 2007). Il existe deux isoformes des récepteurs : la forme courte D2S (pour *short*) et la forme longue D2L. La différence résulte d'un épissage alternatif menant à l'addition de 29 acides aminés à la forme longue (Giros, Sokoloff et al. 1989). Les D2S sont retrouvés sur les neurones à DA eux-mêmes (Montmayeur, Bausero et al. 1991). Les D2L sont retrouvés au niveau post-synaptique, sur les MSN et les interneurons GABAergiques et cholinergiques du striatum (De Mei, Ramos et al. 2009).

Les récepteurs D3R sont retrouvés à la fois sur les neurones pré- et post-synaptiques de plusieurs régions limbiques : le NA, les tubercules olfactifs et dans une moindre mesure dans la substance noire, le VTA et l'hippocampe (Sokoloff, Giros et al. 1992). Par contre ils sont

exprimés par des populations neuronales différentes de celles qui expriment D2R. Comme la forme courte des D2 mais dans une moindre mesure, les D3R exprimés sur les neurones pré-synaptiques participent à la régulation de la sécrétion de DA (Joseph, Wang et al. 2002). Il existe plusieurs isoformes chez le rat, mais une seule est fonctionnelle (Sokoloff, Giros et al. 1992, Sokoloff, Diaz et al. 2006).

Les récepteurs D4R se retrouvent principalement sur les neurones post-synaptiques mais sont peu exprimés relativement aux autres récepteurs à la DA. Ils sont très abondants dans la rétine, le cortex, l'hypothalamus et l'hypophyse mais moins au niveau des ganglions de la base (Di Ciano, Grandy et al. 2014). Alors qu'il existe une seule forme chez le rat, on trouve un grand polymorphisme chez l'humain. Leur sensibilité aux drogues antipsychotiques fait des D4R une cible privilégiée pour le traitement de la schizophrénie et des troubles de l'attention (Rondou, Haegeman et al. 2010).

En plus d'être exprimés par les neurones, les récepteurs à la DA sont aussi exprimés par les cellules gliales (Miyazaki, Asanuma et al. 2004, Kumar and Patel 2007, Mastroeni, Grover et al. 2009). Mais ils ne sont pas exclusivement localisés dans le système nerveux central. On les retrouve aussi en périphérie où ils participent entre autres à la régulation de la fonction rénale, hypophysaire, surrénale et gastro-intestinale (Amenta, Ricci et al. 2002).

Des études mentionnent que plusieurs récepteurs à la DA peuvent former des homo- et hétéromères. Dans le NA notamment, la majorité (90%) des neurones exprimant à la fois D1R et D2R expriment en fait un hétéro-dimère D1-D2 (Perreault, Hasbi et al. 2010). Ailleurs dans les systèmes dopaminergiques il existe aussi des complexes D1-D3 et D2-D4. Ces dimères existent en conditions basales mais divers stimuli ou états pathologiques peuvent affecter leur formation. La particularité de ces formations est qu'elle engage des voies de signalisation différentes de celles des récepteurs seuls. L'utilisation de molécules agonistes ou antagonistes propres à un récepteur unique ou un dimère permet alors de favoriser une voie plutôt qu'une autre et de cibler spécifiquement les effecteurs (Beaulieu, Espinoza et al. 2015).

Comme tous les RCPG, plusieurs modifications post-traductionnelles régulent l'expression et la signalisation des récepteurs à la DA. La palmitoylation des D1R et D2R est

notamment étudiée pour son rôle dans la désensibilisation des récepteurs (Ng, O'Dowd et al. 1994, Kong, Verma et al. 2011).

1.2.5.2 Signalisation intracellulaire

Tel que déjà évoqué, les récepteurs à la DA font partie de la famille des RCPG. La voie de signalisation par les protéines G et l'adénylate cyclase a été très étudiée mais les récepteurs à la DA signalent également indépendamment des protéines G, *via* les β -arrestines et la phospholipase C par exemple (Beaulieu, Espinoza et al. 2015). Toutefois pour ce travail, nous nous concentrerons sur la voie des RCPG, présentée dans la figure 3.

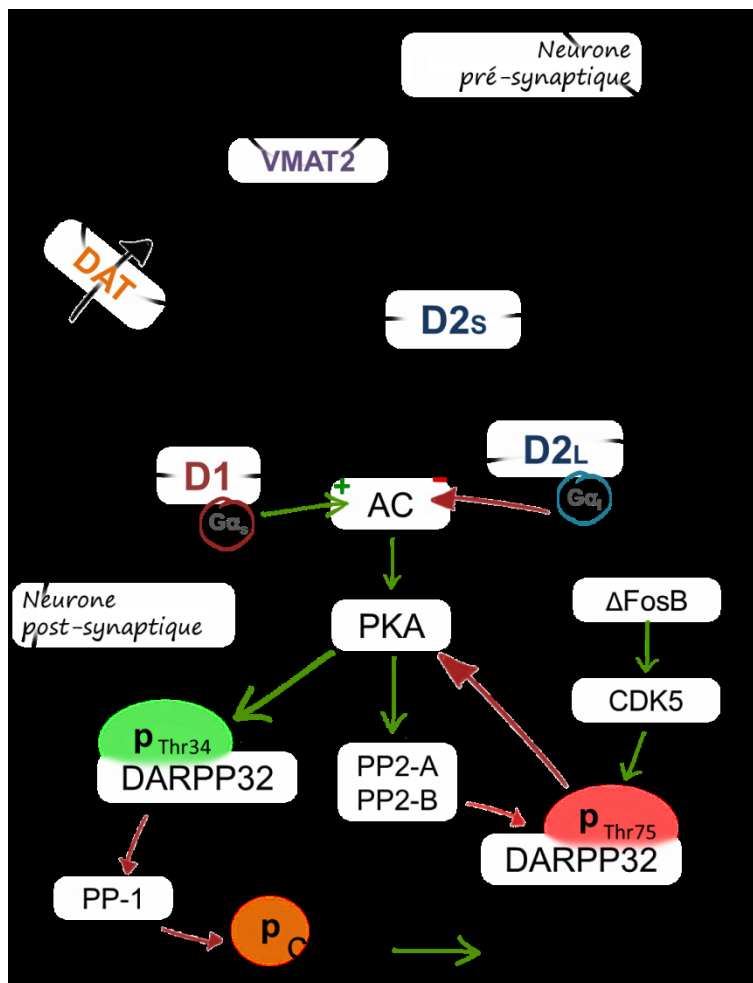


Figure 3 : Voies de signalisation engagées par la dopamine et les récepteurs de type D1 et D2. AC : adénylate cyclase, CDK5 : cyclin-dependent kinase 5, CREB : cAMP response element-

binding protein, DARPP-32 : cAMP-regulated phosphoprotein, Mr 32kDa, DAT : transporteur de la dopamine, D1 : récepteur à la dopamine D1, D2L : forme longue du récepteur à la dopamine D2, D2S : forme courte du récepteur à la dopamine D2, PKA : protéine kinase A, PP-1 : protein phosphatase 1, PP2 : protein phosphatase 2, VMAT2 : transporteur vésiculaire des mono-amines.

Les récepteurs à la DA sont séparés en deux classes suivant qu'ils activent (classe D1) ou inhibent (classe D2) l'adenylate cyclase. Ils sont ainsi distingués car les récepteurs de type D1 sont couplés aux sous-unités $G\alpha_s$ qui stimulent l'adenylate cyclase alors que les récepteurs de type D2 sont couplés aux sous-unités $G\alpha_i$ qui inhibent l'adenylate cyclase (Spano, Govoni et al. 1978, Keabian and Calne 1979).

La stimulation de l'adenylate cyclase par les récepteurs D1R mène à la production d'AMPc qui active ensuite la PKA, qui agit sur plusieurs substrats pour moduler la signalisation dopaminergique. C'est le cas de la protéine *dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein, Mr 32kDa* (DARPP-32), une molécule intégratrice considérée comme un acteur majeur de la signalisation dopaminergique et très étudiée en ce sens. DARPP-32 est très exprimé par les MSN (Ouimet, Langley-Gullion et al. 1998) du striatum dorsal et du NA. La stimulation des récepteurs D1R favorise la phosphorylation en thréonine 34 par la PKA (Nishi, Bibb et al. 2000). DARPP-32^{Thr34} devient alors un inhibiteur de la protéine phosphatase 1 (PP-1) (Hemmings, Greengard et al. 1984), levant ainsi l'inhibition sur différents facteurs de transcription tels que *cAMP response element-binding protein* (CREB), un des médiateurs de la plasticité synaptique et moléculaire dopaminergique (Briand and Blendy 2010). Parallèlement à la phosphorylation de DARPP-32^{Thr34}, la PKA stimule celle de deux phosphatases : la protéine phosphatase 2 A et la protéine phosphatase 2 B (calcineurine), qui déphosphorylent DARPP-32 en thréonine 75 (King, Huang et al. 1984, Nishi, Snyder et al. 1999), un régulateur négatif de l'activité de la PKA (Nishi, Bibb et al. 2000).

La signalisation pro-dopaminergique D1/PKA/ DARPP-32^{Thr34}/PP-1 est inversée dans les neurones exprimant les récepteurs D2R, où d'une part le couplage aux protéines $G\alpha_i$ inhibe l'adenylate cyclase et où d'autre part leur stimulation favorise la phosphorylation en thréonine

75 par la *cyclin-dependent kinase* (CDK5), consolidant l'inhibition sur la PKA (Bibb, Snyder et al. 1999, Nishi, Bibb et al. 2000). L'expression de CDK5 est sous le contrôle du facteur de transcription Δ FosB et il a été montré que l'administration chronique de psychostimulants stimule leur activité et expression à tous les deux (Bibb, Chen et al. 2001, McClung and Nestler 2003, Mlewski, Krapacher et al. 2008). La signalisation *via* D2R peut donc être qualifiée « d'anti-dopaminergique ».

Bien d'autres facteurs agissant sur cette fine balance de phosphorylation et de déphosphorylation de DARPP-32 régulent la signalisation dopaminergique, que l'on peut trouver en détails dans la revue de Svenningsson et *al.* (2004).

En conséquence, la DA a un effet stimulant sur la signalisation dopaminergique lorsqu'elle agit *via* les D1R mais inhibiteur lorsqu'elle agit *via* les D2R. Les effets opposés des récepteurs sur la signalisation dopaminergique peuvent également s'expliquer par la différence d'affinité qu'ils présentent pour la DA. Les récepteurs D1R ont une affinité faible pour la DA (Sunahara, Guan et al. 1991) et sont préférentiellement recrutés lors d'élévation des concentrations de DA lors de la libération phasique (Grace, Floresco et al. 2007). A l'inverse les D2R ont une plus grande affinité pour la DA et la liaison tonique permet d'atténuer le tonus dopaminergique basal (Missale, Nash et al. 1998).

Par ailleurs, il existe un système d'auto-contrôle de la transmission dopaminergique au niveau pré-synaptique par les D2S. *Via* l'inhibition de l'adénylate cyclase, ils limitent la phosphorylation de TH en sérine 40 et régulent ainsi négativement la synthèse de DA (Lindgren, Xu et al. 2001). De plus, ils limitent la libération de DA, possiblement *via* la modulation de canaux calciques (Benoit-Marand, Borrelli et al. 2001).

1.3 Modulation de l'activité du système dopaminergique mésolimbique

1.3.1 Par les drogues

L'identification d'un circuit de la récompense s'est faite au même moment où le groupe d'A. Carlsson montrait que la DA était présente dans le cerveau en tant que neurotransmetteur. Dans les années 1950, les travaux de stimulation intra-crânienne et d'auto-administration par Olds et Milner, où les rats devaient appuyer sur un levier pour se stimuler

électriquement ou s'administrer des drogues, ont permis de localiser plusieurs régions cérébrales associées au plaisir et au renforcement positif (Olds and Milner 1954, Olds and Olds 1958). Il a notamment été découvert l'importance du faisceau médian télencéphalique dans ces comportements, qui correspond aux fibres de projection des neurones du VTA vers ses cibles corticales et striatales telles que le NA (Olds 1958). Par la suite, la caractérisation moléculaire de ce circuit par le groupe de Dahlström en démontrait la nature dopaminergique (Hillarp, Fuxe et al. 1966).

L'avènement des techniques de microdialyse et de voltammétrie chez le rat (Plotsky, Wightman et al. 1977, Millar, Stamford et al. 1985, Rice, Oke et al. 1985) a permis plus tard de détecter une augmentation de la concentration de DA dans le NA suite à l'administration de substances communément utilisées et abusées par l'humain: alcool (Di Chiara and Imperato 1985), nicotine (Imperato, Mulas et al. 1986), cocaïne et AMPH (Di Chiara and Imperato 1988, Carboni, Imperato et al. 1989, Pettit and Justice Jr 1989). Cela a aussi été démontré par des techniques d'imagerie chez les primates (Drevets, Price et al. 1999, Bradberry, Barrett-Larimore et al. 2000) et les humains (Drevets, Gautier et al. 2001, Leyton, Boileau et al. 2002, Boileau, Assaad et al. 2003).

Plusieurs études ont, et continuent de concorder à soutenir la localisation striatale et la nature dopaminergique de la réponse aux drogues. Le groupe de Wise montrait que l'altération de la machinerie dopaminergique, *via* l'utilisation d'agonistes dopaminergiques ou le blocage des D2R, empêchait le renforcement positif par l'AMPH et la cocaïne (De Wit and Wise 1977, Yokel and Wise 1978). Les lésions pharmacologiques du NA, *via* l'injection de 6-hydroxydopamine (6-OHDA), éliminait la capacité des rats à s'auto-administrer de la cocaïne ou de l'AMPH (Lyness, Friedle et al. 1979, Roberts, Koob et al. 1980) et bloquait la réponse locomotrice induite par celles-ci (Kelly and Iversen 1976). Cette distinction étant au-delà des questions abordées dans cette thèse, je réfère le lecteur à la revue de Gaetano Di Chiara (Di Chiara, Bassareo et al. 2004). Enfin, l'utilisation d'agonistes ou d'antagonistes des D1R et D2R montre que l'altération de la signalisation dopaminergique dans le NA affecte le renforcement positif induit par les drogues (Phillips, Robbins et al. 1994, Ikemoto, Glazier et al. 1997, Welter, Vallone et al. 2007, Steinberg, Boivin et al. 2014).

Même si la conséquence de la consommation de substances accoutumantes est l'augmentation de la concentration de DA dans l'espace extracellulaire du NA, leurs modes d'action varient. Certaines substances, comme la nicotine et les opioïdes contribuent à la libération de DA de façon indirecte. La nicotine agit sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine présents sur les neurones à DA et GABA et les terminaisons GABAergiques et glutamatergiques du VTA pour moduler la balance excitatrice et inhibitrice (Xi, Spiller et al. 2009). Les opioïdes comme l'héroïne et la morphine agissent *via* les récepteurs μ sur les interneurons GABA du VTA, levant ainsi l'inhibition sur les neurones à DA (Ting and van der Kooy 2012). D'autres substances comme l'AMPH et la cocaïne agissent directement sur la machinerie dopaminergique présente au niveau du NA pour élever la concentration de DA. Compte-tenu de notre étude, je détaillerai ici les mécanismes d'action de l'AMPH. Pour plus de détails sur les modes d'actions d'autres substances telles la cocaïne, l'éthanol ou les opioïdes, je réfère le lecteur à la revue de David Sulzer (Sulzer 2011).

AMPH est la contraction d'Alpha-MéthylPHÉnéThylAMINE. Il existe plusieurs substances apparentées chimiquement à l'AMPH (dont la métamphétamine, le méthylphénidate et une vingtaine d'autres) qui forment ainsi la famille des amphétamines. A l'état naturel, des arbustes comme le khat et l'éphédra chinois dont les feuilles sont utilisées dans la médecine traditionnelle africaine et orientale, contiennent des dérivés d'AMPH. La forme synthétique de l'AMPH fut créée par un chimiste roumain en 1887 (Edeleano 1887). Les premières utilisations pharmaceutiques sont apparues à partir de 1932 pour le traitement de la narcolepsie, de la schizophrénie ou encore la naupathie (mal de mer). Mais ses effets neurotoxiques et d'accoutumance n'ont pas tardé à être découverts (Guttman and Sargent 1937, Lemere 1966). Cependant sous contrôle médical, l'AMPH et certains dérivés sont encore aujourd'hui utilisés pour le traitement de la narcolepsie et des troubles du déficit de l'attention avec hyperactivité (Sulzer, Sonders et al. 2005).

Les propriétés psychostimulantes et récompensantes de l'AMPH reposent sur sa capacité à augmenter la concentration de DA dans le NA (Di Chiara and Imperato 1988, Carboni, Imperato et al. 1989, Di Chiara, Tanda et al. 1993), ceci en modulant différentes fonctions de la machinerie dopaminergique. L'AMPH est un substrat de DAT, et comme la DA, elle est transportée dans la terminaison pré-synaptique (Zacsek, Culp et al. 1991). Sa

présence intracellulaire provoque le déversement dans le cytosol de la DA contenue dans les vésicules, possiblement *via* son interaction avec VMAT2 (Jones, Gainetdinov et al. 1998, Partilla, Dempsey et al. 2006). De plus, l'AMPH empêche la recapture et provoque le transport inverse de la DA à travers DAT, c'est à dire qu'elle est libérée dans la fente synaptique au lieu d'être capturée (Axelrod 1971, Sulzer, Chen et al. 1995, Pifl, Agneter et al. 1999). L'AMPH stimule également la phosphorylation de DAT, qui, *via* l'activation de la protéine kinase C (PKC), pourrait provoquer un changement de conformation du transporteur et engendrer l'efflux de DA (Robertson, Matthies et al. 2009). Enfin, l'AMPH favorise la synthèse de DA (*via* la stimulation de TH) et réduit sa dégradation (*via* l'inhibition des enzymes MAO) (Mantle, Tipton et al. 1976, Larsen, Fon et al. 2002).

Ainsi, de façon aiguë, l'AMPH agit comme un agoniste indirect des récepteurs à la DA en stimulant sa libération et le circuit de la récompense. Mais de façon prolongée, cette relâche de DA entraîne des changements moléculaires et structuraux, modifiant la communication cellulaire et perturbant les cascades de signalisation intracellulaire notamment au niveau du NA.

Premièrement, l'exposition chronique à l'AMPH altère la fonction neuronale par des changements d'ordre transcriptionnel. Elle stimule l'expression de deux facteurs de transcription très étudiés au niveau du striatum, CREB et Δ FosB (Turgeon, Pollack et al. 1997, Conversi, Orsini et al. 2011). Leur accumulation dans les MSN, surtout celle de Δ FosB, est un des mécanismes les mieux décrits et suggérés pour expliquer la persistance des changements géniques suite à l'exposition aux drogues, même après une longue période d'abstinence (Nestler 2012). On trouve parmi leurs gènes cibles FABP7 et BDNF pour CREB et NF κ B et CDK5 pour Δ FosB (McClung and Nestler 2003), dont l'expression et l'activité sont augmentées chez les animaux sensibilisés à l'AMPH (Kuo, Chen et al. 2012, Singer, Neugebauer et al. 2014, Mlewski, Arias et al. 2016). Les facteurs de transcription impliqués ne sont pas connus mais l'exposition prolongée à l'AMPH stimule également l'expression de la forme courte des récepteurs D2 dans le VTA (Giordano, Satpute et al. 2006). Les auteurs de cette étude, la seule ayant examiné l'expression des récepteurs D2 au niveau génique suite à la sensibilisation à l'AMPH, ne rapportent cependant aucun changement au niveau du NA. Cela peut sembler surprenant car un résultat constamment rapporté chez les personnes accoutumées

aux drogues est une diminution de l'expression des D2R, autant chez les humains (Volkow, Fowler et al. 1990, Wang, Volkow et al. 1997, Volkow, Chang et al. 2001, Martinez, Greene et al. 2009) que chez les rats sensibilisés (Chen, Su et al. 1999). Il faut toutefois noter qu'un manque d'effet sur l'expression génique ne signifie pas que celle de la protéine ne puisse pas être affectée : une plus grande internalisation ou dégradation peuvent expliquer la réduction des récepteurs D2.

CREB et Δ FosB régulent également l'excitabilité des neurones du NA *via* la modulation de l'expression de sous-unités de récepteurs GABAergiques et glutamatergiques respectivement (Ang, Chen et al. 2001, Bibb, Chen et al. 2001, McClung and Nestler 2003, Mlewski, Arias et al. 2016). La plasticité glutamatergique dans le VTA et le NA, particulièrement celle des récepteurs à l'alpha-amino-3-hydroxy-5-méthylisozazol-4-propionate (AMPA), est un phénomène caractéristique des comportements addictifs (van Huijstee and Mansvelder 2014). La phosphorylation par la PKA du résidu sérine 845 de la sous-unité GluR1 (pGluR1^{Ser845}) facilite l'adressage des récepteurs AMPA à la membrane. Ces récepteurs AMPA sont plus perméables au calcium et facilitent ainsi les courants excitateurs (Man, Sekine-Aizawa et al. 2007, Ferrario, Loweth et al. 2011). Ces mécanismes consolidant la transmission glutamatergique sont bien décrits chez les animaux sensibilisés à la cocaïne et expliqueraient la vulnérabilité à la rechute (Boudreau and Wolf 2005, Loweth, Tseng et al. 2014). Il existe cependant peu de travaux portant sur les effets de l'AMPH. L'injection unique d'AMPH induit bien la phosphorylation de GluR1^{Ser845} dans le NA mais l'administration prolongée a peu d'effets sur l'expression membranaire des récepteurs AMPA (Valjent, Pascoli et al. 2005, Nelson, Milovanovic et al. 2009). Sans se pencher sur les niveaux d'expression, une étude plus récente a néanmoins montré par électrophysiologie que l'administration prolongée d'AMPH augmente la transmission excitatrice *via* les récepteurs AMPA (Jedynak, Hearing et al. 2016). En somme, même si les conclusions manquent quant à la plasticité glutamatergique induite par l'AMPH, les expériences de sensibilisation croisée supportent des mécanismes communs entre la cocaïne et l'AMPH (Bonate, Swann et al. 1997, Liu, Morgan et al. 2007).

Enfin, l'administration répétée d'AMPH induit des changements morphologiques, une réorganisation dendritique (allongements des dendrites et augmentation du nombre d'épines

dendritiques) des MSN du NA. La grande majorité des afférences, en particulier glutamatergiques, se faisant sur les dendrites, l'augmentation de la surface dendritique s'ajoute à la facilitation de la transmission glutamatergique pour renforcer la signalisation excitatrice (Robinson and Kolb 2004).

Cette neuro-plasticité est similaire aux processus moléculaires impliqués dans la potentialisation et la dépression à long-terme, qui sous-tendent l'apprentissage et la formation de la mémoire. C'est ainsi que la prise prolongée engendre une mémoire moléculaire qui, par le renforcement des effets récompensants des drogues, favorisent la recherche et la consommation de drogues.

1.3.2 Par la nourriture

La décision de manger et l'effort à investir pour obtenir la nourriture sont des facteurs intrinsèques à la survie de l'organisme. Le plaisir ressenti lors de la consommation est un facteur additionnel qui permet de perpétuer ce comportement. Il est maintenant admis que diverses substances, synthétiques et naturelles, avec un pouvoir addictif comme les drogues, l'alcool, le sexe et la nourriture partagent une base dopaminergique commune. De plus en plus d'études rapportent également que la consommation excessive de nourriture savoureuse, de par ses propriétés plaisantes et récompensantes, provoque des adaptations neuronales similaires à celles induites par les drogues d'abus (Kenny 2011).

C'est à la fin des années 1980 que les premières études de microdialyse ont permis de montrer que le simple fait de consommer de la nourriture entraîne la libération de DA dans le NA chez le rat (Hernandez and Hoebel 1988, Yoshida, Yokoo et al. 1992) et ceci est d'autant plus vrai pour la nourriture riche en gras ou le sucre (Bassareo and Di Chiara 1999, Hajnal, Smith et al. 2004, Rada, Avena et al. 2005, Liang, Hajnal et al. 2006, Fallon, Shearman et al. 2007, Geiger, Haburcak et al. 2009, Rada, Avena et al. 2012). Chez les humains, c'est grâce aux études d'imagerie que l'on a pu observer l'activation des régions cérébrales impliquées dans les aspects gustatif, affectif et motivationnel de la PA suite à la consommation de chocolat, dont la libération de DA dans le striatum (Small, Zatorre et al. 2001, Small, Jones-Gotman et al. 2003).

1.3.2.1 Dans le cadre de l'obésité

Dans le contexte actuel d'abondance et de facilité d'accès à des aliments riches en calories, la consommation de nourriture riche en calories, au-delà des besoins énergétiques, perturbe les réseaux responsables du contrôle de l'homéostasie énergétique et affecte le SDM. Lorsque ce comportement est fréquent, cela peut mener à une consommation compulsive, un peu comme c'est le cas pour l'addiction, au gain de poids et contribuer au développement de maladies cardiométaboliques et désordres psychologiques associés au surpoids (Bale et al, 2010; Hryhorczuk et al, 2013; Lai et al, 2014).

1.3.2.1.1 Modifications cellulaires

A l'instar des drogues d'abus, la nourriture riche en calories affecte la machinerie dopaminergique du circuit mésolimbique. Comme nous le verrons, même s'ils demeurent hétérogènes, les résultats chez les rongeurs rendus obèses par la diète rapportent de façon générale une diminution du tonus dopaminergique au niveau du NA.

Premièrement, l'exposition chronique entraîne la production de moins de DA, l'expression de l'enzyme TH étant diminuée dans le NA et le VTA (Li, South et al. 2009, Vucetic, Kimmel et al. 2010, Carlin, Hill-Smith et al. 2013, Sharma, Fernandes et al. 2013, Sharma and Fulton 2013), diminuant ainsi la quantité de DA disponible (Geiger, Haburcak et al. 2009, Carlin, Hill-Smith et al. 2013). De ce fait, les neurones à DA finissent par libérer moins de DA dans le NA suite à l'ingestion de nourriture standard (Geiger, Haburcak et al. 2009) ou riche en gras (Tellez, Medina et al. 2013). Par contre, l'activité électrique en elle-même des neurones à DA du VTA ne semble pas affectée par l'obésité induite par la diète (Koyama, Kawaharada et al. 2013, Koyama, Mori et al. 2014).

De plus, bien que les études mentionnent des résultats assez hétérogènes, l'expression et la fonction de DAT semblent altérées. Les auteurs rapportent soit l'augmentation (Carlin, Hill-Smith et al. 2013), la diminution (Huang, Zavitsanou et al. 2006, Vucetic, Carlin et al. 2012, Carlin, Hill-Smith et al. 2013) ou aucun changement (Huang, Zavitsanou et al. 2006, Ong, Wanasuria et al. 2013, Robinson, Burghardt et al. 2015) de l'expression de DAT au niveau de l'ARN messenger. Évaluée par la réponse comportementale à l'AMPH ou la cocaïne, il n'est pas clair non plus dans quelle mesure la fonction de DAT est altérée (Davis, Tracy et

al. 2008, Speed, Saunders et al. 2011, Morales, Del Olmo et al. 2012, Collins, Chen et al. 2015, Lockie, Dinan et al. 2015, Robinson, Burghardt et al. 2015). Cependant, deux études ont fait état d'une diminution de la clairance de DA dans le striatum dorsal (Hansen, Jensen et al. 2013, Labouesse, Stadlbauer et al. 2013), signe d'une fonction réduite. Par contre, aucune étude n'a encore examiné ce paramètre au niveau du NA.

Enfin, ce sont les récepteurs à la DA qui sont touchés. L'expression des D1R est réduite tant au niveau génique que protéique (Vucetic, Carlin et al. 2012, Carlin, Hill-Smith et al. 2013, Ong, Wanasuria et al. 2013, Sharma and Fulton 2013, Zhang, Wei et al. 2015). De même, les rats obèses semblent exprimer moins d'ARN messenger de D2R dans le NA (Li, South et al. 2009, Vucetic, Carlin et al. 2012, Carlin, Hill-Smith et al. 2013, Zhang, Wei et al. 2015) mais certaines études ne rapportent aucun changement (Huang, Yu et al. 2005, Huang, Zavitsanou et al. 2006, Vucetic, Carlin et al. 2012, Hansen, Jensen et al. 2013, Ong, Wanasuria et al. 2013). Une étude a décrit une augmentation au niveau protéique (Sharma and Fulton 2013). Mais comme la plupart des études, ce résultat ne prenait pas en compte les différentes isoformes des récepteurs D2 et tel que précisé par les auteurs, il ne suggère rien sur la fonctionnalité. Par contre, un résultat souvent décrit dans la littérature est un déficit striatal, proportionnel à l'indice de masse corporel, en récepteurs D2 chez les personnes obèses (Wang, Volkow et al. 2001, Volkow, Wang et al. 2008, Guo, Simmons et al. 2014), de façon similaire aux personnes accoutumées aux drogues (Wang, Volkow et al. 2004).

1.3.2.1.2 Altérations de la signalisation intracellulaire

D'autres preuves que la nourriture partage une base dopaminergique commune avec les drogues d'abus proviennent des altérations dans les cascades de signalisation intracellulaire mises en jeu par l'activation des récepteurs à la DA.

A l'instar de l'exposition aux psychostimulants où ils contrôlent leurs propriétés motivationnelles, la consommation de diète riche en gras altère l'expression des facteurs de transcriptions CREB et Δ FosB dans le NA (Teegarden, Scott et al. 2009, Bocarsly and Avena 2013, Sharma, Fernandes et al. 2013, Sharma and Fulton 2013). En particulier, l'augmentation de Δ FosB dans le striatum promouvrait la consommation compulsive de nourriture savoureuse (Velazquez-Sanchez, Ferragud et al. 2014). Il en est de même pour leurs cibles, notamment

CDK5, pDARPP-32^{Thr75} (Teegarden, Scott et al. 2009) et BDNF. La consommation de nourriture palatable stimule également la phosphorylation de GluR1^{Ser845} et donc l'insertion membranaire des récepteurs AMPA dans le NA (Rauggi, Scheggi et al. 2005, Peng, Ziff et al. 2011). Ces altérations sont mieux comprises et décrites de façon beaucoup plus détaillées dans le cadre de la consommation des drogues que dans le contexte de la prise et de la recherche de nourriture. On peut toutefois noter les similarités entre les deux comportements. Comme pour la consommation de drogues, cette plasticité représente des altérations de long-terme qui feraient en sorte d'augmenter les propriétés récompensantes et motivationnelles de la nourriture riche en calories et seraient un facteur de risque pour le maintien de la consommation.

1.3.2.2 Modulation endocrine

En présence d'obésité, les mécanismes responsables de la diminution de la fonction dopaminergique suite à la prise prolongée de nourriture riche en gras impliquent possiblement les régulateurs hormonaux de la balance énergétique. Ils sont capables d'influencer les comportements alimentaires et motivés par la modulation du tonus dopaminergique, ce qui pourrait expliquer la consommation inadéquate de nourriture au-delà des besoins de l'organisme, tant au niveau qualitatif que quantitatif.

1.3.2.2.1 Leptine

La leptine est produite par le tissu adipeux de façon proportionnelle à la masse adipeuse (Considine, Sinha et al. 1996). Infusée dans le VTA, où les récepteurs sont exprimés par les neurones à DA (Fulton, Pissios et al. 2006, Hommel, Trinko et al. 2006), elle réduit l'activité électrique des neurones dopaminergiques (Hommel, Trinko et al. 2006) et la PA (Hommel, Trinko et al. 2006, Morton, Blevins et al. 2009). Elle diminue également la sensibilité de la fonction dopaminergique comme en atteste la hausse du seuil de stimulation électrique intra-crânienne (Bruijnzeel, Corrie et al. 2011). Ainsi en conditions normales, la leptine réduit la PA et le comportement motivé. Mais elle perd ses capacités chez les sujets avec un poids excessif, bien que les niveaux soient élevés. En effet, les rats obèses perdent la sensibilité aux effets anorexiques de l'injection de leptine dans le VTA (Bruijnzeel, Qi et al. 2013). L'obésité s'accompagne donc d'une résistance aux effets centraux de la leptine au

niveau du VTA, comme cela a aussi été décrit dans l'hypothalamus (Matheny, Shapiro et al. 2011). De façon similaire chez les personnes obèses, l'activation du striatum ventral suite à la présentation d'images de nourriture corrèle positivement avec les niveaux plasmatiques de leptine (Grosshans, Vollmert et al. 2012), suggérant une désensibilisation aux effets anorectiques de la leptine. La diminution des niveaux circulants de leptine *via* la perte de poids restaure la sensibilité des régions cérébrales impliquées dans l'aspect homéostatique et hédonique de la prise alimentaire dont le NA (Rosenbaum, Sy et al. 2008, Hinkle, Cordell et al. 2013). Preuves additionnelles qu'une sensibilité à la leptine appropriée est nécessaire à une fonction mésolimbique normale, les souris *ob/ob*, exemptes de leptine, hyperphagiques et obèses, expriment moins de TH dans les neurones à DA et ont une concentration de DA basale et stimulée réduite dans le NA. Ces souris sont également moins sensibles aux effets locomoteurs et récompensants de l'AMPH (Fulton, Pissios et al. 2006). Par contre, l'ablation des récepteurs à la leptine dans le VTA augmente les propriétés motivationnelles et la consommation de nourriture savoureuse (Hommel, Trinko et al. 2006, Davis, Choi et al. 2011). Ainsi, une signalisation altérée, de part une absence ou une résistance à la leptine, réduit les propriétés récompensantes des drogues mais augmente celle de la nourriture, favorisant donc la prise de poids et les atteintes au niveau du SDM.

1.3.2.2.2 Insuline

L'insuline a des propriétés similaires à celles de la leptine. Elle est produite par les cellules β du pancréas en réponse à l'élévation de la glycémie mais aussi proportionnellement à la masse grasse (Polonsky, Given et al. 1988). L'insuline stimule l'activité électrique de la moitié des neurones dopaminergiques et l'infusion dans le VTA réduit la PA et augmente le seuil de stimulation électrique intra-crânienne (Figlewicz, Bennett et al. 2008, Bruijnzeel, Corrie et al. 2011, Mebel, Wong et al. 2012, Labouebe, Liu et al. 2013), possiblement *via* l'augmentation de la clairance de la DA, l'insuline favorisant l'expression et l'insertion de DAT à la membrane (Figlewicz, Szot et al. 1994, Mebel, Wong et al. 2012). Elle réduit aussi l'activité exploratoire associée à l'anticipation de nourriture (Labouebe, Liu et al. 2013) et limite sa consommation (Mebel, Wong et al. 2012). A l'instar des récepteurs à la leptine, l'ablation des récepteurs à l'insuline dans les neurones dopaminergiques provoque une hyperphagie, le gain de poids et la baisse de la réponse locomotrice suite à l'injection de

cocaïne (Konner, Hess et al. 2011). Et comme pour la leptine, l'obésité limite l'action de l'insuline au niveau central. Par exemple, l'ingestion de glucose n'active plus les récepteurs à insuline dans le NA de rats devenus obèses et ceux-ci perdent la préférence normalement exhibée pour une solution de glucose (Woods, Guttman et al. 2016). Similairement chez les humains, l'activation du striatum suite à l'administration d'insuline est réduite chez les personnes résistantes à l'insuline (Anthony, Reed et al. 2006).

1.3.2.2.3 Autres facteurs

Il existe une multitude d'autres facteurs endocriniens capables de moduler l'activité du SDM (Fernandes, Sharma et al. 2013, Liu and Borgland 2015). Plusieurs ont des effets comparables à la leptine et à l'insuline lorsque injectés dans le VTA, c'est-à-dire de réduire la prise et le comportement alimentaire motivé, tels que le GLP-1 (Dickson, Shirazi et al. 2012), la cholécystokinine (Blevins, Stanley et al. 2000). D'autres hormones ont des effets opposés et stimulent le SDM et la PA. Telle la ghréline dont les niveaux augmentent à l'approche d'un repas, qui stimule l'activité électrique des neurones à DA du VTA, augmente la concentration de DA dans le NA (Abizaid, Liu et al. 2006) et favorise la prise, la préférence et la motivation pour la nourriture savoureuse (Egecioglu, Jerlhag et al. 2010, Perello, Sakata et al. 2010, King, Isaacs et al. 2011, Skibicka, Hansson et al. 2012).

1.3.2.3 Modulation nutritionnelle

Comparativement aux hormones, les connaissances sur la façon dont les macronutriments affectent individuellement le SDM sont plutôt limitées.

1.3.2.3.1 Glucose

Le glucose est la source d'énergie la plus importante pour le cerveau et afin de maintenir l'homéostasie, le SNC doit s'assurer que les concentrations plasmatiques soient toujours de l'ordre physiologique de 3 à 6mM. Les mécanismes de régulation (production hépatique de glucose par exemple) sont contrôlés par plusieurs régions cérébrales dont le tronc cérébral et l'hypothalamus où se trouvent des neurones dont l'activité électrique est modifiée par la concentration extracellulaire de glucose (Penicaud, Leloup et al. 2006). Des données émergentes montrent que le SDM ou encore l'amygdale seraient d'autres sites potentiels de

contrôle (Marty, Dallaporta et al. 2007, Diepenbroek, Serlie et al. 2013). L'infusion intragastrique d'une solution de glucose stimule la libération de DA dans le NA, alors que l'infusion de l'analogue non-métabolisable 2-désoxyglucose inhibe cette libération dans le striatum (Ren, Ferreira et al. 2010) suggérant l'existence de mécanismes de détection du glucose. En accord avec ces résultats, une étude avait auparavant démontré l'existence de neurones sensibles aux variations de glucose (Papp, Lukats et al. 2007). Même si la majorité y est insensible, le glucose active (15%) ou inhibe (11%) certains neurones du NA. Les auteurs dénotaient aussi une régionalisation de leur expression, avec les neurones inhibés par le glucose se trouvant préférentiellement dans le NAs et ceux excités dans le NAc, en accord avec la dichotomie fonctionnelle généralement décrite pour ces deux sous-régions. Par contre, il n'a pas encore été montré à ce jour l'existence de neurones sensibles au glucose dans le VTA.

1.3.2.3.2 Acides aminés

Les régions cérébrales sensibles aux variations de concentrations protéiques sont les mêmes que celles qui sont sensibles aux signaux hormonaux, à savoir l'hypothalamus et le tronc cérébral (Faipoux, Tome et al. 2008). Les diètes riches en protéines ont un effet satiétogène (Latner and Schwartz 1999, Bensaid, Tome et al. 2002) alors que celles faibles en protéines favorise la prise de nourriture savoureuse (Griffioen-Roose, Mars et al. 2012). Quelques études se sont intéressées aux effets d'acides aminés en particulier et démontrent qu'ils peuvent également affecter les circuits neuronaux régulateurs de l'humeur et de la PA, comme le tryptophane qui améliore l'humeur chez des jeunes femmes en santé (Kroes, van Wingen et al. 2014) alors qu'une déplétion favorise la prise alimentaire sucrée chez les personnes en surpoids (Pagoto, Spring et al. 2009). De plus, un repas carencé en tyrosine, le précurseur de la DA, réduit bien la teneur en tyrosine du NA, mais n'affecte ni la concentration extracellulaire basale de DA ni le plaisir ou la motivation pour la nourriture. Par contre, le manque de tyrosine bloque la libération de DA stimulée par l'AMPH (McTavish, Cowen et al. 1999, Hardman, Herbert et al. 2012). Ces quelques études se limitent toutefois à des interventions uniques et il reste à déterminer de façon plus spécifique l'impact d'une déficience chronique sur la fonction dopaminergique.

1.3.2.3.3 Acides gras

Comme pour le glucose, il existe dans l'hypothalamus des neurones sensibles aux AG, dont l'activité électrique varie en fonction de leur concentration (Wang, Cruciani-Guglielmacci et al. 2006, Le Foll, Irani et al. 2009). Les AG injectés au niveau central diminuent de façon transitoire la PA (Obici, Feng et al. 2002, Schwinkendorf, Tsatsos et al. 2011) et l'aspect qualitatif semble important. Par contre, au moment où j'ai commencé mon doctorat, il n'existait aucune information quant aux effets individuels de différents types d'AG sur la fonction dopaminergique mésolimbique ou les mécanismes impliqués. Afin d'appréhender pleinement le sujet de ce projet, il me semble important de présenter les AG, leurs répartitions dans l'alimentation et l'organisme, leur métabolisme périphérique et détection centrale.

2. Les acides gras

2.1 Structure des acides gras

Les AG sont des chaînes d'hydrocarbures qui s'achèvent par un acide carboxylique. Il existe des AG à courte chaîne (2 à 6 atomes de carbone), à chaîne moyenne (8 à 12 atomes de carbone), à chaîne longue (14 à 18 atomes de carbone) ou à très longue chaîne (20 à 26 atomes de carbone). Les AG se distinguent aussi par la présence et le nombre de double liaison entre atomes de carbone. On distingue alors les AG saturés (AGS) et les AG insaturés. Les AGS comme l'acide palmitique (AP) se caractérisent par l'absence de double liaison. Les AG insaturés comprennent une ou plusieurs doubles liaisons entre deux atomes de carbone. Les AG insaturés ω -9 comme l'acide oléique (AO) contiennent une seule double liaison au niveau du 9^{ème} carbone et sont qualifiés d'AG mono-insaturés (AGMI). Les AG poly-insaturés (AGPI) contiennent quant à eux plusieurs doubles liaisons. Ils peuvent être de type ω -3 comme l'acide α -linoléique où la première double liaison se situe au niveau du 3^{ème} carbone, ou de type ω -6, comme l'acide arachidonique, où la première double liaison se trouve au niveau du 6^{ème} carbone. Il existe aussi les AG *trans*, présents en faible quantité à l'état naturel dans certaines viandes et produits laitiers. Ils sont aussi produits industriellement par le processus d'hydrogénation qui conduit à leur saturation (suppression des doubles liaisons) (Sommerfeld 1983).

Les mammifères sont capables de synthétiser eux-mêmes plusieurs AG à partir de l'acide palmitique, premier produit issu de la lipogénèse. D'autres AG, qualifiés d'essentiels, ne sont pas synthétisés par l'organisme et proviennent exclusivement de l'alimentation (noix, poissons et certaines huiles végétales). C'est le cas des AGPI acide linoléique et acide α -linoléique, précurseurs de la synthèse d'autres AGPI tels que l'acide arachidonique et l'acide docosahéaénoïque (Rustan and Drevon 2001).

2.2 Les acides gras dans l'alimentation

2.2.1 Caractéristiques de deux régimes : l'un traditionnel, l'autre contemporain

La révolution industrielle qui s'est opérée en Occident au cours du siècle dernier s'est accompagnée de l'augmentation de l'apport en glucides et de la diminution de l'apport total en AG. Cependant la proportion d'AGS par rapport aux AG insaturés ainsi que le ratio AGPI ω -6/ ω -3, typiquement élevé dans la diète nord-américaine, a augmenté (Simopoulos 2002, Lloyd-Jones, Adams et al. 2010). Certains pays ont néanmoins réussi à plus ou moins maintenir les habitudes alimentaires qui existaient avant l'ère industrielle, notamment sur le continent européen. Cette tendance tend néanmoins à disparaître avec « l'occidentalisation » des habitudes alimentaires des pays d'Europe et d'Afrique du Nord, notamment ceux du pourtour méditerranéen (Garcia-Closas, Berenguer et al. 2006).

2.2.1.1 Le régime occidental

Le fromage, la viande rouge, le lait, les huiles, la glace, les gâteaux/biscuits et le beurre représentent plus de 50% des apports en AGS du régime occidental/nord-américain (Cotton, Subar et al. 2004). Ce type de diète est largement consommé en Amérique du Nord, en Europe de l'Ouest, mais aussi dans plusieurs pays d'Orient, d'Asie et en voie de développement. De par les aliments consommés, le régime occidental contient beaucoup d'AGS (notamment l'AP) et peu d'AG insaturés comme les AGPI ω -3 (Kris-Etherton, Harris et al. 2002, Simopoulos 2002, Trumbo, Schlicker et al. 2002). Ce type de régime est généralement reconnu pour être délétère pour la santé cardiovasculaire (Tchernof and Després 2013, Myles 2014) et les fonctions cognitives (Takechi, Galloway et al. 2010, Kanoski and Davidson 2011). La diminution des apports en AGS se révèle être bénéfique pour l'organisme. En

Finlande par exemple, où le climat et les ressources favorisent la consommation d'AGS, il a été démontré l'amélioration de la santé cardiovasculaire de la cohorte suivie suite à la réduction de la consommation de gras, en particulier de type saturé (Aro and Becker 2010).

De nombreux produits consommés dans la diète occidentale contiennent également des AG *trans*, ces AG dont l'hydrogénation augmente la stabilité à température ambiante. On les trouve dans la nourriture transformée industriellement comme les biscuits, les pâtisseries, les produits surgelés et les produits frits avec des huiles transformées. Les recommandations nutritionnelles sont de limiter leur consommation à cause de leur risque athérogénique élevé (Health-Canada. 2006, de Souza, Mente et al. 2015, Ganguly and Pierce 2015).

2.2.1.2 *Le régime méditerranéen*

Les pays entourant la mer Méditerranée (Italie, Grèce, Croatie) mais également le Japon ont plutôt une histoire de consommation de nourriture faible en AGS et AG *trans* (Keys, Menotti et al. 1986). La cuisine traditionnelle méditerranéenne se caractérise par une consommation élevée en huile d'olive, noix, graines, fruits, légumes et poissons et une consommation faible de viande rouge, produits raffinés et autres sucreries (Willett, Sacks et al. 1995). Les apports sont ainsi riches en AGMI (en AO) et en AGPI de type ω -3, de part un ratio plus faible ω -6/ ω -3 (Kris-Etherton, Eckel et al. 2001). A l'inverse du régime occidental, le régime méditerranéen est reconnu pour être protecteur de la santé cardiovasculaire (autant chez des individus sains que présentant déjà des problèmes métaboliques et cardiovasculaires) et mentale (Sanchez-Villegas, Martinez-Gonzalez et al. 2013, Ros, Martinez-Gonzalez et al. 2014, Martinez-Gonzalez, Salas-Salvado et al. 2015). Bien que de nombreux pays tendent à s'éloigner du régime méditerranéen, d'autres, notamment en Amérique et Europe du Nord, essaient de favoriser l'adhérence à ce régime (da Silva, Bach-Faig et al. 2009). Il a d'ailleurs été récemment déterminé que l'adhérence au régime méditerranéen réduirait les coûts de santé engendrés par les traitements des maladies coronariennes et cardiovasculaires au Canada et aux États-Unis, et possiblement d'autres pays (Abdullah, Jones et al. 2015).

La composition en AG de la diète consommée est importante à prendre en considération car la qualité du gras, plutôt que la quantité totale, serait un facteur de risque de maladies cardiovasculaires, comme le démontre cette étude où des hommes nourris avec un

régime faible en gras ou un riche en gras contenant tous 2 une proportion égale d'AGS, AGMI et AGPI ont des taux de cholestérol similaire (Nelson, Schmidt et al. 1995). De même, une diète riche en gras mais équilibrée en sorte de gras (un tiers de chacun des types, saturé, mono-insaturé et poly-insaturés) améliore la fonction vasculaire et réduit les signes d'inflammation chez des femmes obèses (Silver, Kang et al. 2014). De par les compositions respectives des deux types de régime discutés, l'AP, l'AO et l'acide linoléique sont les trois AG les plus présents dans l'alimentation.

2.2.2 Agencement des acides gras fournis par l'alimentation

Les AG provenant de l'alimentation se trouvent en grande majorité (95%) sous la forme de triglycérides qui sont un assemblage de trois AG estérifiés et d'une molécule de glycérol. Le reste peut se trouver en tant que :

- diglycérides, un ensemble de deux AG liés à une molécule de glycérol, retrouvés dans les huiles végétales en plus ou moins grande proportion,
- phospholipides, dont la structure est similaire aux diglycérides : deux AG liés à une molécule de glycérol mais à laquelle est joint un groupement phosphate,
- esters de cholestérol, où la fonction hydroxyle de la molécule de cholestérol est estérifiée par un AG,
- et AG libres (Michalski, Genot et al. 2013).

2.3 Les acides gras dans l'organisme

Le glucose et les corps cétoniques (dans certaines conditions particulières comme l'allaitement et le jeûne prolongé) représentent les sources primaires d'énergie de l'organisme. Mais les AG représentent la forme majeure de réserve d'énergie. La masse grasse d'un corps en santé représente 20 à 30% du poids total (Mean Percentage Body Fat by Age Group and Sex in the United States, NHNES Survey. 2009, Anjos, Teixeira Fda et al. 2013, Lowry and Tomiyama 2015). Évidemment ces chiffres varient aussi en fonction de l'âge, du sexe, de l'ethnicité, de la condition physique, ou encore des conditions métaboliques. Les AG servent aussi à la composition des membranes cellulaires, à la signalisation cellulaire et l'adressage protéique.

2.3.1 Répartition tissulaire

2.3.1.1 Répartition périphérique

Le tissu adipeux est la source majeure de réserve d'énergie où sont stockées, en conditions homéostatiques, de 10 à 25% des réserves lipidiques totales. Le foie est composé de gras à hauteur d'environ 5% de son poids total. Là aussi ces chiffres varient en fonction de l'âge, du sexe, de la condition physique, et des conditions pathologiques comme l'obésité et le diabète de type 2 où du gras peut aussi s'accumuler de façon ectopique au niveau du cœur, du pancréas et des muscles (Arsenault, Beaumont et al. 2012).

Les AG étant un des composants majeurs de l'alimentation, la modification des habitudes alimentaires influence incontestablement la composition en AG de l'organisme. La qualité des AG alimentaires modifie premièrement la composition en AG du compartiment sanguin. En effet, le profil plasmatique d'AG reflète le profil des AG ingérés par l'alimentation (Judd, Marshall et al. 1989, Moilanen, Rasanen et al. 1992, Ma, Folsom et al. 1995, Raatz, Bibus et al. 2001). Par exemple, dans une étude qui a comparé le profil plasmatique de sujets Italiens, Finlandais et Américains, les AG insaturés étaient les plus élevés chez les Italiens alors que les Finlandais présentaient le taux le plus élevé d'AGS (Dougherty, Galli et al. 1987). Le profil des AG alimentaires se reflète également dans la composition du tissu adipeux (Field, Angel et al. 1985, Garland, Sacks et al. 1998, Baylin, Kabagambe et al. 2002) et du muscle (Andersson, Nalsen et al. 2002).

Une étude ayant regroupé les résultats de plusieurs autres qui ont analysé la composition plasmatique et adipeuse en AG chez des individus adultes sains a montré que les triglycérides du tissu adipeux sont composés (par ordre décroissant d'abondance) d'acide oléique (AGMI), palmitique (AGS) et linoléique (AGPI). Tout comme dans le tissu adipeux, les AG majeurs contenus dans le plasma, que ce soit sous la forme d'AG libres, de triglycérides, d'esters de cholestérol ou de phospholipides sont l'AP, l'AO et l'acide linoléique, l'ordre d'importance en termes d'abondance pouvant varier (Hodson, McQuaid et al. 2009). Si toutes les fractions sont ajoutées, on retrouve l'AP comme étant le plus abondant, suivi de l'AO et de l'acide linoléique (Hodson, Skeaff et al. 2008). La présence majoritaire en

périphérie de ces trois AG reflète bien la composition alimentaire en AG des régimes occidental et méditerranéen.

2.3.1.2 Répartition dans le système nerveux central

Le cerveau humain est composé à 60% de lipides. Les membranes cellulaires sont particulièrement riches en lipides, qui comptent pour 50% des protéines totales qui les constituent. Et celle de la gaine de myéline en compte jusqu'à 70%. Les phospholipides, les sphingolipides et le cholestérol sont les formes de lipides les plus abondantes (Calderon, Attema et al. 1995, van Meer, Voelker et al. 2008). Par ailleurs, il existe des domaines membranaires où les sphingolipides et le cholestérol sont concentrés. Ces microdomaines, nommés radeaux lipidiques, sont particulièrement fluides et sont des zones privilégiées pour l'adressage des protéines et l'exocytose (Simons and Ikonen 1997).

Comme pour les tissus périphériques, la qualité des AG alimentaires modifient les niveaux cérébraux de phospholipides, cholestérol et triglycérides (Angulo-Guerrero and Oliart 1998, Kurban, Mehmetoglu et al. 2007). Chez le rat, les phospholipides membranaires sont constitués d'environ 50% d'AGS, 25% d'AGMI et 30% d'AGPI. Alors que le contenu en AGMI et AGPI des phospholipides sont affectés par l'apport alimentaire, celui en AGS ne l'est pas (Abbott, Else et al. 2012). Il est à noter que le contenu en AGPI des membranes est le plus faible comparé aux tissus périphériques comme le foie ou le muscle). Alors que c'est l'inverse chez les humains, où le cerveau est l'organe avec les membranes cellulaires les plus riches en AGPI (Hulbert, Rana et al. 2002). Mais autant chez l'humain que les murins, l'acide arachidonique et l'acide docosahéxaénoïque sont les AGPI les plus abondants des membranes cellulaires dans le cerveau (Bazinet and Laye 2014). Ils jouent un rôle essentiel dans la structure et la fonction de membranes cellulaires, le développement cérébral et les désordres neurologiques comme la maladie d'Alzheimer, la schizophrénie ou encore le trouble du déficit de l'attention (Alessandri, Guesnet et al. 2004).

De façon plus précise, la concentration en AG individuels est aussi modifiée suivant l'apport alimentaire. Par exemple, huit semaines de diète enrichie en gras élève les taux d'AP, d'acide arachidonique et d'acide docosapentaénoïque (Levant, Ozias et al. 2013). Deux études précédentes avaient montré l'inverse (Yu, Bi et al. 2010). Mais les études présentent des

différences, notamment au niveau de la qualité des AG (*trans* comparé à saturés), et de l'âge auquel les souris ont été soumises au régime (tout au long de la période de gestation et du développement comparé à des adultes), soulignant les différences entre la nature des AG et entre le cerveau au moment du développement et à l'âge adulte.

L'hypothalamus et le SDM étant impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique, il ne serait pas étonnant d'en voir la composition modifiée par l'alimentation. En effet, l'enrichissement ou l'appauvrissement de la diète en AGPI altère la concentration, entre autres, d'acide linoléique et d'acide arachidonique (Marteinsdottir, Horrobin et al. 1998, Levant, Ozias et al. 2007). Une autre étude chez le rat a montré une augmentation de quelques AGPI dont l'acide docosahéxaénoïque et l'acide eicosapentaénoïque après huit semaines d'une diète riche en AGS et pauvre en AGPI, similaire au régime occidental. Mais de façon étonnante, les concentrations hypothalamiques totales d'AGS (incluant l'AP) et d'AGMI (dont l'AO) demeuraient inchangées bien que des altérations plus profondes ont été observées en périphérie (Dornellas, Watanabe et al. 2015). Il est possible que les AG alimentaires soient préférentiellement incorporés dans les tissus périphériques plutôt que dans le cerveau (Grandgirard, Piconneaux et al. 1998). Concernant le SDM, quelques études se sont penchées sur les effets des AGPI. Elles ont démontré que la composition en ces AG est altérée suite à la modulation de leurs niveaux dans la diète (Levant, Ozias et al. 2006, Ahmad, Park et al. 2008). Mais à ma connaissance aucune étude n'a encore déterminé les effets des AG saturés ou mono-insaturés alimentaires sur la composition en AG du cerveau.

2.3.2 Métabolisme périphérique

Les AG étant des molécules hydrophobes, ils sont transportés dans les systèmes lymphatique et vasculaire liés à l'albumine (van der Vusse 2009) ou au sein de complexes hydrosolubles composés d'un cœur de triglycérides, de phospholipides, de cholestérol et d'apoprotéines: ce sont les lipoprotéines. On distingue alors deux voies dans le métabolisme des lipoprotéines: la voie exogène où les lipides proviennent de l'alimentation et dont le but est de les amener vers les organes utilisateurs (tissu adipeux, muscle) et la voie endogène, où ce sont les lipides nouvellement produits par la lipogénèse qui sont transportés vers les tissus utilisateurs (Giammanco, Cefalù et al. 2015) (Figure 4).

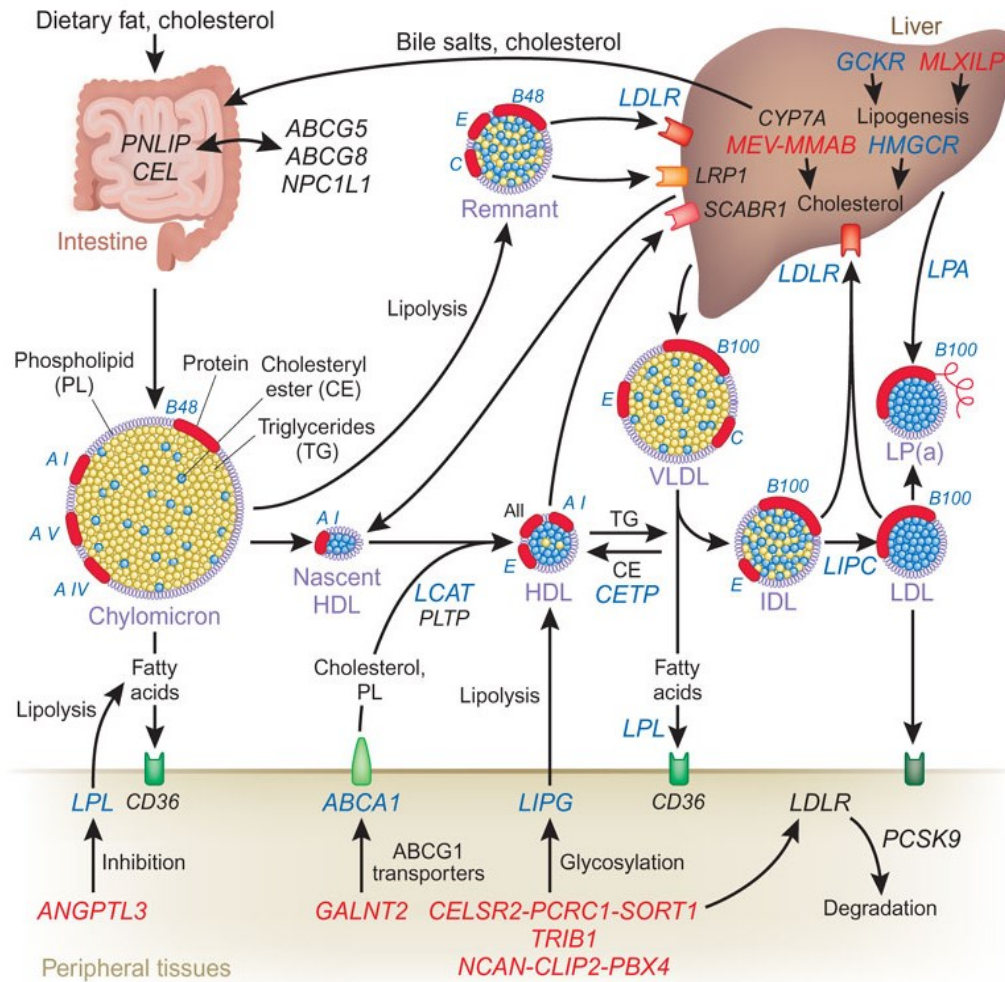


Figure 4 : Voies métaboliques des lipoprotéines impliquées dans le transport des lipides alimentaires et endogènes. CETP : protéine de transfert des esters de cholestérol, HDL : lipoprotéines de haute densité, IDL : lipoprotéines de densité intermédiaire, LDL : lipoprotéines de faible densité, LDLR : récepteur aux LDL, LPL : lipoprotéine lipase, PL : phospholipides, VLDL : lipoprotéines de très faible densité. Lusis & Pajukanta, 2008.

2.3.2.1 Voie exogène des lipides

Tout au long de la partie supérieure du tractus digestif, les triglycérides provenant de l'alimentation seront réduits en AG libres, monoglycérides et diglycérides. Cette hydrolyse débute dans la cavité buccale grâce à l'action de la lipase linguale présente dans la salive

(Hamosh and Scow 1973). Elle se poursuit dans l'estomac sous l'action de la lipase gastrique. Mais c'est au niveau de l'intestin grêle que se fait la majorité de l'hydrolyse via la lipase pancréatique et les acides biliaires hépatiques. L'action conjuguée des acides biliaires et des lipases mène à l'émulsification des lipides en micelles (complexes hydrosolubles d'acides biliaires, AG libres et monoglycérides), qui pourront alors être absorbés par simple diffusion par les entérocytes dû à leur nature lipophile (Phan and Tso 2001). Un système de transport facilité *via* des protéines telles que CD36 et FATP4 (pour *fatty acid transport protein*, isoforme 4), qui sont exprimées par les entérocytes, a également été suggéré (Stahl, Hirsch et al. 1999, Chen, Yang et al. 2001, Shim, Moulson et al. 2009, Masson, Plat et al. 2010). Par ailleurs, il est à noter que les diglycérides et triglycérides ne sont pas incorporés dans les micelles et ne peuvent donc pas être absorbés. Les acides biliaires seront quant à eux recyclés par l'iléon (Mansbach and Gorelick 2007).

Après avoir pénétré les entérocytes, les AG et monoglycérides sont pris en charge par des protéines de transport (*fatty acid binding protein*, FABP). Au niveau des entérocytes, les isoformes 1 et 2 sont exprimées (Gajda and Storch 2015). Les AG et monoglycérides seront ensuite dirigés vers le réticulum endoplasmique pour servir à la synthèse de triglycérides. Seront d'abord synthétisés les diglycérides à partir des AG libres et des monoglycérides via l'acyl-CoA monoacylglycerol acyltransferase, puis les triglycérides *via* l'acyl-CoA diacylglycerol acyltransferase (Cao, Hawkins et al. 2004, Uchida, Slipchenko et al. 2013). Les AG contenant moins de dix carbones ne nécessitent pas d'assemblage et rejoignent directement la circulation sanguine de la veine porte (Raybould 2002). Les triglycérides seront alors assemblés avec le cholestérol, les phospholipides et l'apoprotéine B-48 pour former les lipoprotéines que sont les chylomicrons naissants. L'enzyme *microsomal triglyceride transport protein* se charge par la suite d'enrichir les chylomicrons naissants avec des triglycérides additionnels et d'ajouter l'apoprotéine A-IV pour former les chylomicrons matures. Les chylomicrons transitent ensuite via l'appareil de Golgi pour gagner la lymphe via les capillaires de la villosité intestinale avant d'atteindre la circulation sanguine (Hussain 2000).

Dans la circulation générale et les capillaires des différents organes, les chylomicrons sont soumis à l'action de la lipoprotéine lipase (LPL) présente à la surface de l'endothélium

(Cheng, Oosta et al. 1981). Celle-ci est activée par l'apoprotéine C-II présente à la surface des chylomicrons afin d'hydrolyser les triglycérides et libérer le glycérol et les AG (Di Filippo, Marcais et al. 2014). Ceux-ci peuvent alors être captés par les organes tels que le tissu adipeux et les muscles pour être utilisés comme source d'énergie ou à des fins de réserve. Les chylomicrons délestés des triglycérides (résiduels) sont retournés au foie pour être éliminés. La totalité des chylomicrons est éliminée douze à quatorze heures après un repas (Hussain, Kancha et al. 1996).

2.3.2.2 Voie endogène des lipides

Dans cette voie, ce sont les triglycérides produits par la lipogénèse dans les hépatocytes qui forment le cœur des lipoprotéines. Les lipoprotéines de la voie endogène sont classées suivant leur taille et leur densité. De la plus grande et la plus riche en triglycérides (et moins riche en cholestérol), on trouve les lipoprotéines de très faible densité (*very low density lipoprotein*, VLDL), les lipoprotéines de densité intermédiaire (*intermediate density lipoprotein*), les lipoprotéines de faible densité (*low density lipoprotein*, LDL), et les lipoprotéines de haute densité (*high density lipoprotein*, HDL).

La synthèse des AG consiste en la transformation d'une molécule d'acétyl-CoA, issue de l'oxydation du glucose ou de la dégradation des AG, en malonyl-CoA. Cette réaction se fait dans le cytoplasme des hépatocytes principalement, et celui des adipocytes dans une moindre mesure, grâce à l'acétyl-CoA carboxylase. La molécule de malonyl-CoA subit ensuite 7 cycles de réactions catalysés par la *fatty acid synthase* pour aboutir à la formation du produit final qui est le palmitoyl-CoA. Celui-ci peut subir différentes réactions d'élongation et de désaturation pour former d'autres types d'AG. Comme pour les chylomicrons, les AG sont assemblés en triglycérides puis intégrés dans le réticulum endoplasmique aux lipoprotéines que sont les VLDL. A l'inverse des chylomicrons, l'apoprotéine majoritaire qui constitue les VLDL est la B-100 (Segrest, Jones et al. 2001).

Après libération dans la circulation sanguine, tout comme les chylomicrons, les VLDL subissent l'hydrolyse par la LPL présente sur les cellules endothéliales. Ces VLDL partiellement hydrolysées deviennent des lipoprotéines de densité intermédiaire. Celles-ci peuvent alors être captées par le foie pour élimination ou subir encore l'action de la LPL,

devenant ainsi des LDL. Enrichies en cholestérol, les LDL seront dégradées au niveau du foie par digestion lysosomale (Ramasamy 2014). Un taux élevé de LDL est un facteur de risque au développement d'athérosclérose et de maladies cardiovasculaires (Krauss 2010).

Les HDL servent à transporter le cholestérol contenu dans les tissus périphériques et les autres lipoprotéines vers le foie pour qu'il soit éliminé. Les HDL initialement dépourvues de cholestérol sont produites par les hépatocytes (Gotto Jr, Pownall et al. 1986) et les entérocytes (Alpers, Lock et al. 1985). Le cholestérol libre contenu dans les cellules est transporté vers les HDL via le transporteur membranaire *ATP-binding cassette A1* (ABCA1). La lécithine-cholestérol acyltransférase catalyse ensuite l'estérification du cholestérol qui migre vers le cœur des HDL (Jonas 2000). Les HDL peuvent également s'enrichir en triglycérides par des échanges avec les autres lipoprotéines *via* la protéine de transfert des esters de cholestérol. Les HDL sont hydrolysés par la lipase hépatique et la lipase endothéliale. Au niveau des hépatocytes, les HDL sont reconnus par le récepteur *scavenger receptor B1* et le cholestérol pénètre par voie extralysosomale dans les cellules. Il sera éliminé par sécrétion biliaire (Gautier, Masson et al. 2011). A l'inverse des LDL, les HDL sont anti-athérogéniques et sont associées à un risque moindre de maladies cardiovasculaires (Krauss 2010).

2.3.3 Détection centrale

2.3.3.1 Passage de la barrière hémato-encéphalique

Il a été montré que les AG pouvaient être transportés vers le cerveau, d'une manière proportionnelle à la concentration plasmatique (Dhopeswarkar and Mead 1970, Miller, Gnaedinger et al. 1987, Rapoport 1996). Environ 5% des AG libres circulants peuvent être capté par le cerveau (Rapoport 2001). La qualité des AG contenus dans l'alimentation peut modifier ce transport. Par exemple, le transport de l'AP dans le cerveau est augmenté suite à un régime riche en AGS (Wang, Wang et al. 1994). L'infusion d'AG radio-marqués dans la circulation sanguine entraîne rapidement l'apparition de marquage dans le parenchyme cérébral (Purdon, Arai et al. 1997, Smith and Nagura 2001). Mais les mécanismes impliqués sont encore mal compris. La barrière hémato-encéphalique, composée de cellules endothéliales unies par des jonctions serrées dont le rôle est d'assurer un liquide cérébrospinal et extracellulaire cérébral exempts de tout agent pathogène et toxine (Persidsky, Ramirez et al.

2006), représente un obstacle majeur à l'accès des AG aux cellules cérébrales. Il existe cependant une exception au niveau des organes circumventriculaires comme l'éminence médiane et l'area postrema. Ces régions se situent autour des 3^{ème} et 4^{ème} ventricules cérébraux respectivement. Cette situation unique et la présence de capillaires fenêtrés (c'est-à-dire l'absence de jonctions serrées entre les cellules endothéliales) en font des zones d'échange privilégiées entre la circulation sanguine et le parenchyme cérébral. De par leurs connexions avec de nombreuses régions impliquées dans la régulation de l'homéostasie énergétique, les organes circumventriculaires facilitent la transmission des signaux hormonaux et nutritionnels de la périphérie vers des régions plus profondes (Fry, Hoyda et al. 2007).

Ainsi, hormis à proximité des organes circumventriculaires, toute molécule désirant accéder au compartiment cérébral doit alors traverser la membrane plasmique apicale, le cytoplasme endothélial et la membrane plasmique basale des cellules endothéliales. Deux mécanismes non exclusifs de transport des AG à travers les membranes plasmique sont actuellement proposés: le transport passif et le transport facilité. Ces deux processus sont également valables pour l'entrée des AG dans les cellules du parenchyme cérébral.

2.3.3.2 Entrée dans la cellule

2.3.3.2.1 Transport passif ou flip-flop

Le transport passif des AG, aussi connu sous le nom de *flip-flop*, est soutenu par les travaux du groupe de James Hamilton (Figure 5). Ce processus basé sur les propriétés amphiphiles (chaîne carbonée hydrophobe et acide carboxylique hydrophile) des AG suggère qu'après dissociation de l'albumine dans la circulation, ceux-ci se fixent à la bicouche lipidique des cellules et la traversent par mouvement transmembranaire (Hamilton and Brunaldi 2007). Il s'agit d'un mécanisme rapide (de l'ordre de secondes voire millisecondes) emprunté autant par les AG à chaîne courte que ceux à chaîne moyenne ou longue, bien que les AG à chaîne carbonée plus courte traversent plus rapidement (Kamp, Zakim et al. 1995, Zhang, Kamp et al. 1996, Smith and Nagura 2001).

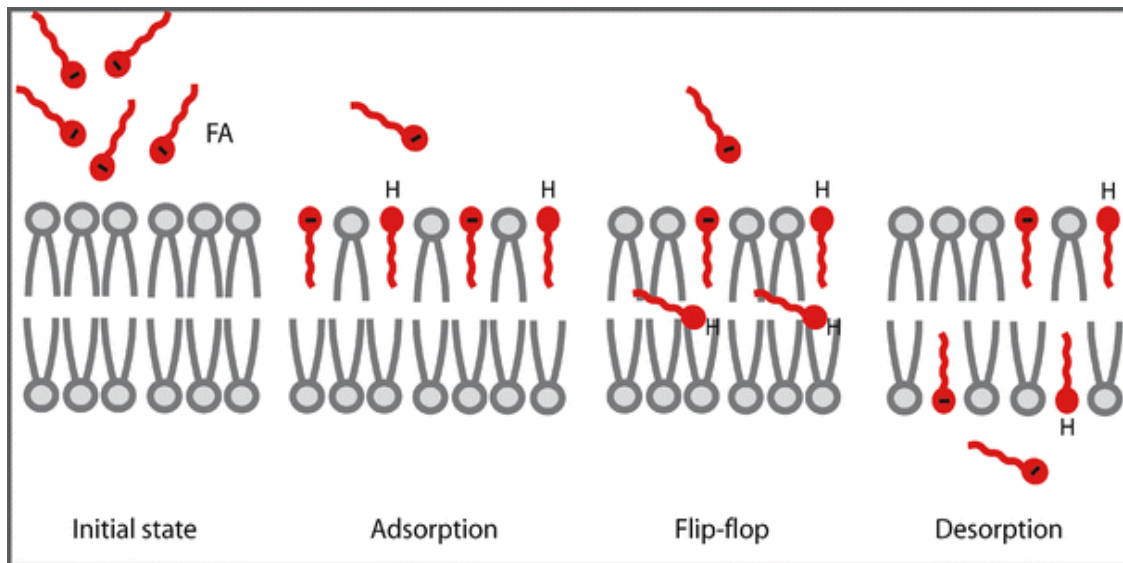


Figure 5 : Modèle de transport passif, dit de *flip-flop*, des acides gras à travers les membranes plasmiques. FA: *fatty acid*, acides gras. Hamilton & Brunaldi, 2007.

2.3.3.2.2 Transport facilité

Le second mode de transport des AG à travers la membrane plasmique se ferait via des transporteurs (Mitchell and Hatch 2011). C'est un transport saturable qui semble spécifique aux AG dont la chaîne contient au moins neuf carbones (Abumrad, Park et al. 1984).

La première famille de transporteurs impliqués dans ce transport facilité regroupe les FATP. Ces protéines conservées des invertébrés aux mammifères existent sous six isoformes à travers l'organisme mais seules deux sont exprimées dans le cerveau, dont l'hypothalamus : FATP1 et FATP4 (Fitscher, Riedel et al. 1998, Hirsch, Stahl et al. 1998, Le Foll, Irani et al. 2009). Celles-ci sont également exprimées par l'endothélium de la barrière hémato-encéphalique (Mitchell, On et al. 2011). Les FATP possèdent un site de liaison aux AG dans leur domaine extracellulaire (Watkins, Lu et al. 1998). Un modèle *in vitro* de barrière hémato-encéphalique a montré que l'inactivation de FATP1 réduit le transport d'AP et d'AO alors que l'absence de FATP4 réduit le transport d'acide linoléique (Mitchell, On et al. 2011).

CD36, et son homologue murin FAT (Abumrad, el-Maghrabi et al. 1993), est une autre protéine capable de lier les AG et de les transporter à travers la membrane plasmique. Comme

les FATP, FAT/CD36 est exprimé par de nombreuses cellules adipeuses, musculaires et intestinales entre autres (Abumrad, Ajmal et al. 2005) mais aussi cérébrales dont l'hypothalamus et le striatum dorsal. Mais il ne semble pas exprimé dans le VTA (Glezer, Bittencourt et al. 2009). FAT/CD36 semble moins spécifique de la classe d'AG transportée puisque la réduction de son expression diminue autant le transport d'AP que d'AO, d'AL, d'acide myristique et butyrique (Mitchell, On et al. 2011). En plus du métabolisme lipidique (FAT/CD36 est également un récepteur pour les lipoprotéines), FAT/CD36 joue aussi un rôle dans l'inflammation, l'angiogénèse et l'athérosclérose (Febbraio, Hajjar et al. 2001).

Ainsi, plusieurs mécanismes semblent disponibles pour permettre aux AG de provenance alimentaire et primordiaux au bon fonctionnement du cerveau, d'atteindre les cellules cérébrales. On peut imaginer que le statut énergétique ou métabolique puisse réguler ces mécanismes. C'est effectivement le cas de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, qui est augmentée de façon temporaire suite à l'injection artérielle d'AO (Han, Jang et al. 2013). Et de façon très intéressante, la consommation prolongée d'un régime riche en gras de type occidental diminue l'expression des protéines des jonctions serrées de la barrière hémato-encéphalique, notamment au niveau de l'hippocampe, s'accompagnant de déficits dans l'apprentissage et la mémoire (Kanoski, Zhang et al. 2010).

2.3.3.3 Transport intra-cellulaire

2.3.3.3.1 Prise en charge

Une fois le cytoplasme atteint, les AG sont pris en charge dans leur forme non-estérifiée, par des protéines chaperonnes qui facilitent leur solubilité (Figure 7). Les FABP sont des protéines qui lient avec une grande affinité des ligands hydrophobes comme les AG (Zimmerman and Veerkamp 2002). Dix FABP ont été identifiées chez les mammifères : elles sont exprimées par la majorité des tissus mais trois seulement sont retrouvées dans le cerveau : FABP3, FABP5 et FABP7. Leurs niveaux d'expression suivent un gradient temporel et elles jouent un rôle important dans la neurogénèse, la différenciation et la migration cellulaire (Liu, Mita et al. 2010). FABP3 est presque indétectable pendant l'embryogénèse mais les niveaux d'expression augmentent graduellement après la naissance jusqu'à l'âge adulte, où les niveaux sont les plus forts. L'expression de FABP5 atteint son maximum à la naissance mais diminue

par la suite. FABP7 est fortement exprimé au stade embryonnaire mais comme FABP5, son expression diminue pour atteindre des niveaux plus faibles à l'âge adulte. Il a été observé une forte expression dans les tubercules olfactifs (FABP3 et FABP7) et une plus modérée dans le cortex, l'amygdale et l'hippocampe (FABP5 et FABP7). En comparaison il semblerait que les 3 isoformes soient peu exprimées dans le striatum, le VTA ou encore l'hypothalamus (Kurtz, Zimmer et al. 1994, Owada, Yoshimoto et al. 1996, Owada 2008). Les 3 isoformes se retrouvent dans les neurones et les cellules gliales (Veerkamp and Zimmerman 2001) mais FABP5 est aussi fortement exprimé dans les fibres nerveuses (substance blanche) et FABP7 particulièrement dans les astrocytes (Gerstner, Bremer et al. 2008, Sharifi, Morihito et al. 2011). FABP5 est également présente dans les cellules endothéliales de la barrière hémato-encéphalique (Mitchell, On et al. 2011). Les FABP lient tous les types d'AG mais exhibent des affinités pour les AGPI ω -6 (FABP3), les AGS (FABP5) ou les AGPI ω -3 (FABP7) (Veerkamp and Zimmerman 2001, Liu, Mita et al. 2010). Une étude récente démontre par ailleurs que FABP5 participe au transport de l'acide docosahéxaénoïque au travers de la barrière hémato-encéphalique (Pan, Scanlon et al. 2015).

Les AG non-estérifiés sont pris en charge par l'acyl-CoA synthétase qui se charge de les estérifier, une étape nécessaire à leur oxydation ultérieure. Il a été démontré qu'en plus de leur capacité à transporter les AG, les FATP détiennent également une activité synthétase puisqu'elles sont capables de les estérifier en acyl-CoA (Anderson and Stahl 2013). L'ajout du groupe coenzyme-A les piègent dans le cytoplasme et les empêchent de sortir de la cellule (Boylan and Hamilton 1992).

Les AG estérifiés peuvent aussi être pris en charge par l'*acyl-CoA binding protein* (ACBP). Elle est fortement exprimée par le tissu adipeux et le foie (Faergeman, Wadum et al. 2007) mais on la retrouve aussi au niveau du cerveau notamment du noyau arqué de l'hypothalamus (ARC), le cortex, l'hippocampe, et dans une moindre mesure dans le mésencéphale (Alho, Fremeau et al. 1988, Malagon, Vaudry et al. 1993). ACBP régule notamment le métabolisme intra-cellulaire des AG insaturés au niveau de l'hypothalamus (Bouyakdan, Taib et al. 2015). De plus, au niveau central, la forme sécrétée d'ACBP peut se lier aux récepteurs ionotropiques GABA_A, empêchant la liaison des ligands comme le GABA et le diazepam, bloquant ses effets anxiolytiques (Guidotti, Forchetti et al. 1983).

Une fois pris en charge par ACBP, FABP ou l'acyl-CoA synthétase, les AG seront dirigés vers différentes voies métaboliques dépendamment des besoins de la cellule (Figure 6).

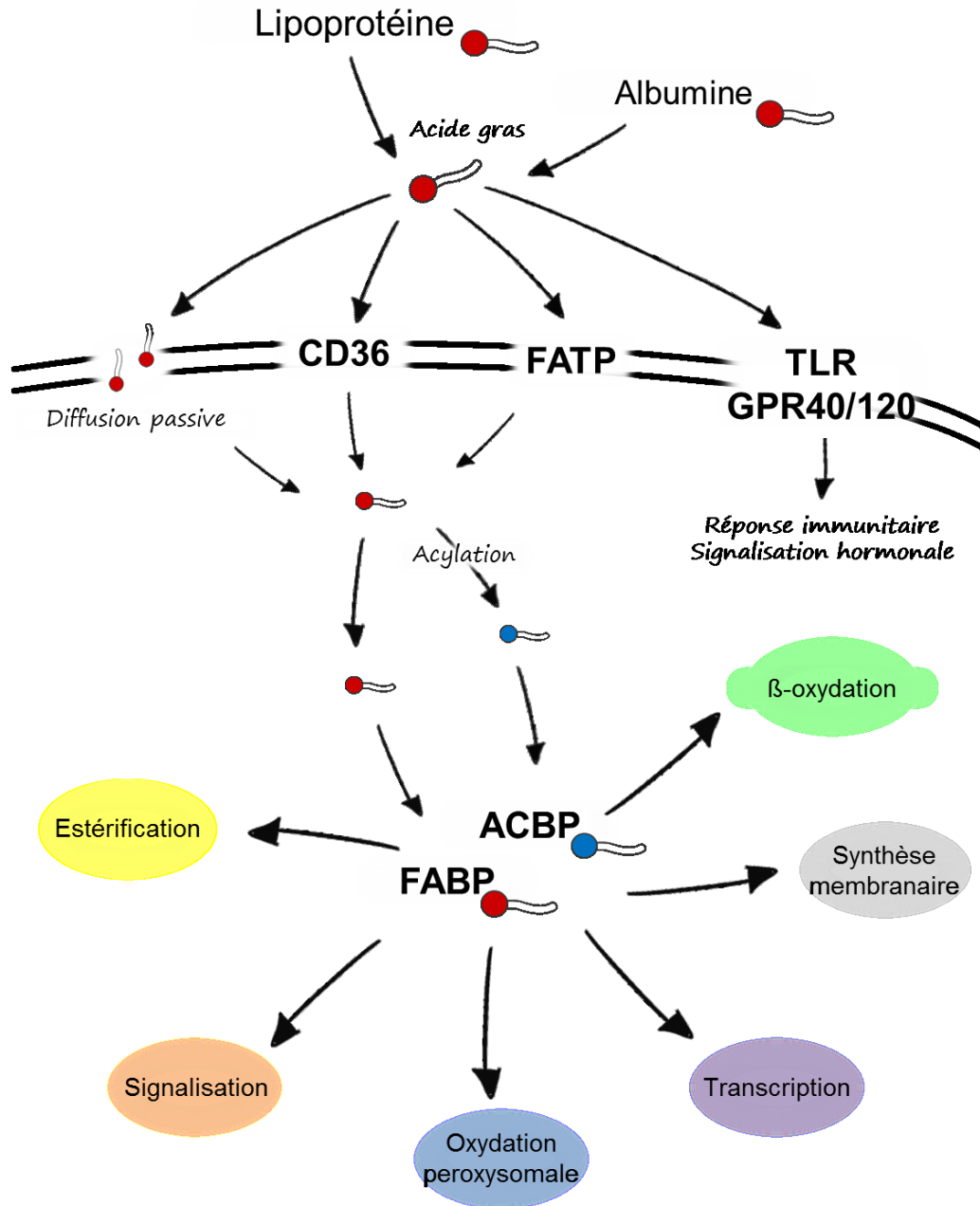


Figure 6 : Transport membranaire et devenir intra-cellulaire des acides gras. ACBP : acyl-CoA binding protein, CD36 : cluster of differentiation 36, FABP : fatty acid binding protein. Adapté de Doege & Stahl, 2006 et Furuhashi & Hotamisligil, 2008.

2.3.3.3.2 Devenir

2.3.3.3.2.1 β -oxydation

L'acyl-CoA synthétase et ACBP liés aux acyl-CoA se chargent de les amener vers la mitochondrie ou le peroxysome selon la longueur de la chaîne carbonée, pour y subir la β -oxydation. Plusieurs étapes caractérisent ce processus qui permet de fournir la cellule en énergie. Pour cela, les acyl-CoA interagissent tout d'abord avec la *carnitine palmitoyl transferase 1* présente à la surface externe des mitochondries. La *carnitine palmitoyl transferase 1* se charge d'ajouter une molécule de carnitine aux acyl-CoA afin que ceux-ci puissent passer dans l'espace intermembranaire. Les acylcarnitines atteignent la matrice mitochondriale en empruntant la carnitine-acylcarnitine translocase. Le groupe acyl est ensuite redonné à une coenzyme A sous l'action de la *carnitine palmitoyl transferase 2* présente à la membrane interne pour reformer les acyl-CoA. Les acyl-CoA à chaîne courte et moyenne peuvent diffuser simplement à travers les membranes mitochondriales (Kerner and Hoppel 2000). S'ensuit l'hélice de Lynen, où la molécule d'acyl-CoA perd successivement deux atomes de carbones pour aboutir à la génération de molécules d'acétyl-CoA. Celles-ci serviront dans le cycle de Krebs (qui se passe aussi dans les mitochondries) à fournir de l'énergie à la cellule sous forme d'ATP ou à synthétiser des corps cétoniques en conditions de déficit énergétique ou à re-synthétiser des AG lors de condition de surplus énergétique (Shi and Tu 2015). L'oxydation mitochondriale, ou β -oxydation, des acyl-CoA peut représenter jusqu'à 20% de l'énergie produite par le cerveau (Ebert, Haller et al. 2003).

2.3.3.3.2.2 Estérification

Les acyl-CoA présents dans le cytoplasme pourront servir à la synthèse de nouveaux AG qui iront alimenter la production de triglycérides, phospholipides et sphingolipides. Les triglycérides nouvellement synthétisés pourront servir à approvisionner les gouttelettes lipidiques, réserves d'énergie cellulaire. Les phospholipides et sphingolipides seront utiles à la composition de la membrane cellulaire. L'estérification et l'élongation des acyl-CoA se passe dans le réticulum endoplasmique qui contient les enzymes nécessaires à la synthèse *de novo* des AG (Cinti, Cook et al. 1992).

2.3.3.3.2.3 Autres deveniris

Les AG estérifiés peuvent également être transportés vers le peroxysome, lieu privilégié de l'oxydation des acyl-CoA à très longue chaîne (Wanders and Waterham 2006) mais aussi de certains acyl-CoA à chaîne longue comme l'oleyl-CoA (Taib, Bouyakdan et al. 2013). Enfin, ils peuvent être dirigés vers le noyau pour participer à la régulation transcriptionnelle (Furuhashi and Hotamisligil 2008). Il a d'ailleurs été montré que les FABP pouvaient interagir avec les facteurs de transcriptions de la famille des *peroxisome proliferator-activated receptors* (PPAR), FABP3 augmentant l'activité transcriptionnelle de PPAR α (Tan, Shaw et al. 2002). Enfin, les AG estérifiés peuvent participer aux modifications post-traductionnelles des protéines comme la lipidation (myristoylation, palmitoylation) qui facilite leur adressage aux membranes (Resh 2016).

2.3.3.4 Régulation de l'homéostasie énergétique par la détection centrale des acides gras

Les nutriments circulants comme les AG peuvent être perçus au niveau central afin de réguler les systèmes homéostatiques. Au vu des données existantes, on sait qu'il existe un réseau complexe de régions cérébrales qui participent à la régulation de l'homéostasie énergétique (Shin, Zheng et al. 2009). Mais historiquement les études ont d'abord et surtout porté sur comment l'information nutritionnelle est détectée et intégrée au niveau de l'hypothalamus, un des acteurs majeurs de cette régulation.

Les travaux d'Oomura dans les années 1970 ont été les premiers à démontrer l'existence de neurones sensibles aux AG libres dans l'hypothalamus latéral (Oomura, Nakamura et al. 1975). Les études qui ont suivi ont permis de découvrir d'autres populations sensibles aux AG et de définir les mécanismes cellulaires. On retrouve notamment des neurones sensibles à l'AO dans le noyau arqué de l'hypothalamus (ARC). Par la méthode de patch-clamp sur tranche de cerveau et d'enregistrements multicellulaires *in vivo* chez le rat, les auteurs ont montré qu'il existe trois populations de neurones dans l'ARC, dont l'activité électrique est soit, stimulée, inhibée ou non-affectée par l'AO (Wang, Cruciani-Guglielmacci et al. 2006). Il semblerait que ces neurones soient ceux qui expriment le neuropeptide anorexigène pro-opiomélanocortine (POMC) et non ceux qui expriment les neuropeptides orexigènes *agouti-related peptide* (AgRP) et neuropeptide Y (NPY) (Jo, Su et al. 2009). De

façon similaire, il a été montré dans un modèle *ex vivo* de culture de neurones dissociés du noyau ventromédian de l'hypothalamus (VMN) qu'une proportion de neurones sensibles au glucose l'est aussi à l'AO (Le Foll, Irani et al. 2009).

Des études ont également montré que l'infusion d'AO dans le troisième ventricule diminue la production hépatique de glucose et la PA (Obici, Feng et al. 2002, Morgan, Obici et al. 2004, Schwinkendorf, Tsatsos et al. 2011). Plusieurs mécanismes ont été proposés, comme l'activation des canaux potassiques (Obici, Feng et al. 2002), la stimulation de l'expression de POMC (Schwinkendorf, Tsatsos et al. 2011) et l'inhibition de l'expression d'AgRP et de NPY (Obici, Feng et al. 2002, Morgan, Obici et al. 2004) ou encore son métabolisme intracellulaire. En effet, l'inhibition hypothalamique de la *carnitine palmitoyl transférase 1*, l'enzyme qui régule l'entrée des AG dans la mitochondrie pour subir la β -oxydation, a les mêmes effets que l'injection cérébrale d'OA sur la PA, la production hépatique de glucose et l'expression des neuropeptides hypothalamiques (Obici, Feng et al. 2003) suggérant que l'accumulation d'AG dans le cytoplasme représente un signal d'abondance nutritionnelle. D'ailleurs, les taux d'acyl-CoA augmentent dans l'hypothalamus médio-basal suite à l'infusion systémique de lipides (Lam, Pociu et al. 2005). Il semblerait cependant que les effets de l'AO reposent majoritairement sur son interaction avec la translocase FAT/CD36. En utilisant une variété de techniques pharmacologiques et la manipulation de l'expression de FAT/CD36, Le Foll et collègues ont montré que celle-ci agirait comme un récepteur essentiel à l'action de l'AO sur les populations hypothalamiques (Le Foll, Irani et al. 2009, Le Foll, Dunn-Meynell et al. 2013).

Ces études démontrent qu'il existe plusieurs voies que les AG peuvent emprunter pour agir sur l'activité et moduler la réponse cellulaire. Et il se pourrait que ces voies dépendent de la classe d'AG. En effet alors que l'acide docosahéxaénoïque a des effets similaires à l'AO sur la PA (Schwinkendorf, Tsatsos et al. 2011), l'acide octanoïque, un AG à courte chaîne, est sans effet sur la PA (Obici, Feng et al. 2002). Il n'est pas exclu que cet AG ait d'autres effets, peut-être dans d'autres régions du cerveau, mais cela n'a pas été étudié.

Comme l'acide octanoïque, l'AP n'a pas d'effet sur la PA (Kleinridders, Schenten et al. 2009, Schwinkendorf, Tsatsos et al. 2011). Par contre, il altère la voie de signalisation de la leptine et de l'insuline et active des voies de signalisation pro-inflammatoires. On notera l'absence de

ces altérations chez les rats traités avec l'AO (Benoit, Kemp et al. 2009, Kleinridders, Schenten et al. 2009).

Ces différences peuvent s'expliquer en partie par le fait que les AG ne subissent pas le même destin intracellulaire. Par exemple l'oxydation de l'AP est mitochondriale alors que celle de l'AO se ferait préférentiellement dans le peroxydosome. De plus, l'estérification de l'AO en triglycérides et phospholipides est supérieure à celle de l'AP. Mais seul le métabolisme de l'AP dépend des concentrations de glucose (Taib, Bouyakdan et al. 2013). De plus, le métabolisme de ces AG dépend aussi du type cellulaire ; il est actuellement admis que l'oxydation des AG serait majoritaire dans les astrocytes (Ebert, Haller et al. 2003, Taib, Bouyakdan et al. 2013).

3. Stress et prise alimentaire

Un stress définit tout évènement qui perturbe l'homéostasie de l'organisme et menace son intégrité. Il peut s'agir d'un stress réel ou perçu, de nature psychologique (difficultés professionnelles, stress social) ou physique (inflammation, vision d'un prédateur), externe (vision d'un danger) ou interne (baisse de la volémie) à l'organisme. Suite à un tel évènement, des processus allostatiques, de nature comportementale et physiologique, sont alors activés afin de rétablir l'équilibre homéostatique. Ces processus incluent l'activation de la branche sympathique du système nerveux autonome et de l'axe HHS, deux systèmes complémentaires servant à maintenir et restaurer l'homéostasie pendant un épisode de stress. La puissance, la nature du stress, les variations génétiques et les antécédents personnels entre autres sont des facteurs qui peuvent influencer l'intensité d'activation de ces cascades neuroendocrines (de Kloet, Joels et al. 2005).

3.1 La réponse au stress

3.1.1 Le système nerveux sympathique

L'activation du système nerveux sympathique est la première réponse et la plus rapide de l'organisme face à un stress. Elle entraîne la sécrétion de noradrénaline par les neurones

pré-ganglionnaires et d'adrénaline par les glandes médullo-surrénales. Leur libération conduit à l'inhibition des fonctions végétatives telles que la reproduction et à l'augmentation du rythme cardiaque et de la respiration. En parallèle, la stimulation de la néoglucogénèse, de la glycogénolyse et de la lipolyse. Ceci permet de redistribuer le sang et l'oxygène vers le cerveau et les muscles et de les approvisionner en nutriments. Cette réponse de première ligne permet à l'organisme de choisir entre le combat et la fuite (*fight-or-flight response*), le concept initialement décrit par Walter B. Cannon au début du XXème siècle (Cannon 1927). Afin de limiter l'activation du système nerveux sympathique, ces réponses sont rapidement atténuées par l'activation conjointe de la portion parasympathique du système nerveux autonome, qui représente un frein à l'accélérateur qu'est le système nerveux sympathique (Ulrich-Lai and Herman 2009).

3.1.2 L'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien

3.1.2.1 Cascade d'activation

Suite à l'activation du système nerveux sympathique, alors que la libération d'adrénaline et de noradrénaline s'atténuent, l'organisme active le second système permettant de faire face à l'élément stresser, l'axe HHS. Il s'agit d'une réponse plus lente mais plus fine et soutenue qui permet d'amplifier la réponse initiale du système nerveux sympathique. L'axe HHS a 3 composantes : l'hypothalamus, l'hypophyse et les glandes surrénales, chacune étant activée à la suite d'une cascade d'évènements.

Les neurones parvocellulaires du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (*paraventricular hypothalamic nucleus*, PVN) sont les principaux intégrateurs des signaux de stress. Au niveau du tronc cérébral, des afférences du NTS de diverses natures (catécholamines, sérotonine, enképhaline, somatostatine, GLP-1) activent le PVN préférentiellement suite à un stress systémique. L'activation des neurones parvocellulaires est également sous le contrôle de structures limbiques telles que l'hippocampe, l'amygdale et le PFC, qui travaillent de concert pour acheminer au PVN l'information relative à un stress de nature systémique aussi bien que psychogénique. En réponse, les neurones parvocellulaires du PVN sécrètent la corticolibérine (*corticotropin-releasing hormone*, CRH) et la vasopressine (également appelée hormone antidiurétique). Ces deux hormones sont libérées au niveau de

l'émittance médiane dans le système porte hypothalamo-hypophysaire qui irrigue l'hypophyse. En réponse les cellules corticotropes de l'hypophyse antérieure produisent et libèrent l'hormone corticotrope (*adrenocorticotropic hormone*, ACTH) à partir de son précurseur la POMC, dans la circulation générale. Celle-ci atteint les glandes surrénales où les cellules du cortex (la couche externe) initient alors la synthèse et la libération de glucocorticoïdes (GC) que sont le cortisol chez l'humain et la corticostérone (CORT) chez les rongeurs. En retour, les GC exercent, à travers leurs récepteurs, un rétrocontrôle négatif à chaque étage de l'axe afin de mettre fin à son activation et protéger l'organisme d'une exposition prolongée détrimentaire à sa fonction.

3.1.2.2 Patron de sécrétion des glucocorticoïdes

Suite à un stress (choc électrique, contention), la concentration plasmatique d'ACTH atteint son maximum après 15 minutes. Le pic de CORT libre apparaît quant à lui environ 30 minutes après le début du stress. La CORT n'accède cependant aux tissus cibles qu'après un certain délai car tel que mesuré dans l'hippocampe, le striatum dorsal et le tissu adipeux, le pic a lieu 20 minutes plus tard. Toutefois, le retour aux concentrations basales se fait en même temps dans tous les compartiments, soit environ 110 minutes après le début du stress. Le pic et le retour aux valeurs basales peuvent se faire plus ou moins rapidement suivant la nature et l'intensité du stress (exposition à un nouvel environnement contre un test de nage forcée par exemple) (Bilang-Bleuel, Rech et al. 2002, Droste, de Groote et al. 2008, Qian, Droste et al. 2011). A titre d'exemple, les valeurs plasmatiques de cortisol chez l'humain sont de 100-540nM le matin et 80-480nM le soir. Dans le cerveau, la concentration extracellulaire de CORT libre atteint 10-15nM au plus haut chez le rat (Droste, de Groote et al. 2008).

En plus de l'activation suite à un stress, l'axe HHS suit un patron de sécrétion circadien. Le PVN reçoit de nombreuses afférences du noyau suprachiasmatique, l'oscillateur principal responsable des rythmes circadiens de l'organisme, modulant ainsi l'activité de l'axe HHS suivant la photopériode (Hermes, Coderre et al. 1996, Reppert and Weaver 2002). Les hormones de l'axe HHS suivent donc un rythme journalier de sécrétion, où les niveaux sont bas pendant la période de repos (le sommeil) et augmentent à l'approche de la période d'activité (la journée). De ce fait, la sécrétion de CORT, d'ACTH et de CRH est à son

maximum aux premières heures du matin et diminue progressivement jusqu'à atteindre son taux le plus bas au milieu de la nuit (Hellman, Nakada et al. 1970, Weitzman, Fukushima et al. 1971, Watabe, Tanaka et al. 1987, Veldhuis, Iranmanesh et al. 1990). Il en va de même chez les rongeurs dont le rat Wistar. Toutefois, les rongeurs étant des animaux nocturnes, le pic de sécrétion a lieu à l'approche de la phase d'obscurité (Atkinson and Waddell 1997, Yao, DuBois et al. 2006). Un rythme de sécrétion ultradien à la fréquence approximative d'une pulsation par heure a également été démontré pour la CORT et l'ACTH (Veldhuis, Iranmanesh et al. 1990, Qian, Droste et al. 2012). La raison de ces activités oscillatoires est de préparer l'organisme à la période d'activité et de le tenir prêt dans l'éventualité d'un épisode de stress (Lightman and Conway-Campbell 2010).

3.1.2.3 Les récepteurs aux glucocorticoïdes

Les GC exercent leurs actions *via* deux types de récepteurs aux similarités structurelle et fonctionnelle : le récepteur aux GC (GR) et le récepteur aux minéralocorticoïdes (MR), agissant tous deux comme facteurs de transcription (Funder 1997). Comme leur nom l'indique, les MR ont pour ligand les minéralocorticoïdes (principalement l'aldostérone) mais lient les GC avec autant d'affinité (Krozowski and Funder 1983). Alors que les MR ont une affinité de liaison pour les GC six à dix fois plus grande que les GR et qu'ils sont occupés à près de 90% en tout temps, les GR ne sont occupés qu'à des concentrations élevées de GC, comme c'est le cas suite à l'activation de l'axe HHS (Reul and de Kloet 1985). Ainsi, les MR servent principalement à réguler l'activité basale de l'axe HHS alors que les GR sont plutôt mis en jeu lors de la réponse au stress.

Les GR ont une expression ubiquitaire relativement aux MR dont l'expression est plus réduite, principalement au sein de structures qui reflètent sa fonction dans l'homéostasie sodique telles que le rein et certaines régions limbiques du SNC (Kretz, Schmid et al. 2001) (Kloet, Vreugdenhil et al. 1998, Reul, Gesing et al. 2000). Les GR sont exprimés à tous les niveaux de l'axe HHS, autant par les neurones que par les cellules gliales. Leur expression a été détectée dans l'hypophyse, incluant les cellules produisant l'ACTH (Ozawa, Ito et al. 1999) et dans les glandes surrénales (Paust, Loeper et al. 2006, Djikic, Budec et al. 2012). Ils sont abondants dans les neurones à CRH du PVN (Cintra, Fuxe et al. 1987) et se retrouvent

aussi dans l'amygdale, l'hippocampe, le cortex et le NTS (Reul and de Kloet 1985, Morimoto, Morita et al. 1996). Les GR sont également exprimés par les neurones à DA du VTA (Hensleigh and Pritchard 2013) et les MSN du striatum, du moins ceux exprimant les D1R (Ambroggi, Turiault et al. 2009). C'est dans les structures limbiques que l'on retrouve le plus de MR, surtout dans l'amygdale et l'hippocampe. On y retrouve d'ailleurs une forte co-localisation avec les GR, démontrant que, dans une même région, les GC peuvent activer deux récepteurs à la fois (Reul and de Kloet 1985, Han, Ozawa et al. 2005, Prager, Brielmaier et al. 2010).

Les GC sont des molécules lipophiles et diffusent donc facilement à travers la membrane plasmique pour atteindre les récepteurs localisés dans le cytosol. La liaison du ligand au GR entraîne sa dissociation de la protéine chaperonne Hsp90 et sa translocation nucléaire. Il se lie alors sous forme de dimère au promoteur de gènes contenant l'élément de réponse aux GC, qui peut être positif ou négatif. Il existe plus de 4000 sites de liaison des GR sur le génome humain et plusieurs centaines de gènes impliqués dans divers processus comme l'apoptose, le rythme circadien et la signalisation intracellulaire, qui sont sensibles aux variations de GC. Par le processus de trans-activation, les GC stimulent par exemple l'expression de *NFKBIA* et de *PER1*. Par le phénomène de trans-répression, ils inhibent celle de la *CRH*, de la *POMC* mais aussi celle, entre autres, de *TNFA* et *IL1B*, d'où leurs effets anti-inflammatoires (Roumestan, Gougat et al. 2004, Reddy, Pauli et al. 2009). Ces effets géniques sont essentiels à la régulation protéique et au maintien de la fonction de l'axe HHS à moyen et long terme. Cependant, la rapidité de certaines réponses cellulaires, comme la modification de l'activité électrique (Chen, Hua et al. 1991) laisse supposer l'existence de mécanismes de régulation non-génomiques. Ces effets sont en fait les premiers mis en jeu suite à l'activation de l'axe HHS, n'induisent pas directement la transcription de gènes et ne sont pas sensibles aux inhibiteurs de transcription ou à ceux des récepteurs aux GC décrits plus haut (Losel, Falkenstein et al. 2003). Ils mettent en jeu deux récepteurs : l'un correspond à la forme membranaire du GR classique (mGR) et l'autre est un GPCR aux caractéristiques pharmacologiques différentes des mGR. Leur activation affectent plusieurs types cellulaires et mettent en jeu divers neurotransmetteurs ou second messagers (Mitre-Aguilar, Cabrera-Quintero et al. 2015). Au niveau du PVN par exemple, les GC modèrent l'activité des

neurones à CRH de manière directe *via* la libération rétrograde d'endocannabinoïdes ou indirecte *via* la modulation du tonus excitateur et inhibiteur de leurs afférences (Di, Malcher-Lopes et al. 2003, Karst, Berger et al. 2005, Karst, Berger et al. 2010). Je ne détaillerai cependant pas les effets rapides non-génomiques des MR (Gomez-Sanchez and Gomez-Sanchez 2014).

3.1.2.4 Biodisponibilité des glucocorticoïdes

En plus du patron de sécrétion qui fait varier l'exposition des tissus aux GC, la biodisponibilité de ces derniers est aussi contrôlée par des transporteurs et enzymes de dégradation.

Dans la circulation sanguine, la biodisponibilité des GC est régulée par leur liaison à des protéines de transports. Quatre-vingt à quatre-vingt-dix pourcents de la CORT est liée à la transcortine (ou *corticosteroid-binding globulin*, CBG) et à l'albumine dans une moindre mesure, ne laissant qu'une fraction sous la forme libre, qui est celle biologiquement active (Dallman, Akana et al. 1987).

L'accès de la CORT au compartiment central est limité par la barrière hémato-encéphalique et la présence de la glycoprotéine P au niveau des cellules endothéliales (Cordon-Cardo, O'Brien et al. 1989). Le rôle de la glycoprotéine P est de limiter l'entrée de xénobiotiques dans le cerveau. Bien que les souris avec une absence de glycoprotéine P présentent une plus grande incorporation de dexaméthasone radiomarquée dans le parenchyme cérébral (Schinkel, Wagenaar et al. 1995), il n'est pas clair dans quelle mesure la diffusion de la CORT, une molécule lipophile, à travers la barrière hémato-encéphalique dépend de transporteurs saturables tels que la glycoprotéine P (Mason, Pariente et al. 2010).

L'accès tissulaire des GC est quant à lui régulé de manière dynamique par l'activité de l'enzyme 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase (11 β -HSD) présente dans le réticulum endoplasmique des cellules (Naray-Fejes-Toth and Fejes-Toth 1996). Il en existe deux formes : 11 β -HSD1, responsable de la conversion de la forme inactive des GC (cortisone et 11-deshydrocorticostérone) en forme active (cortisol et CORT), et 11 β -HSD2 qui catalyse la réaction inverse (Oppermann, Persson et al. 1997). L'isoforme 11 β -HSD1 est exprimée dans le foie, les reins, le tissu adipeux et les poumons (Gomez-Sanchez, Romero et al. 2008). Elle

est aussi très présente dans le cerveau, particulièrement dans l'hippocampe, le cortex, l'amygdale (Roland, Krozowski et al. 1995) et l'hypothalamus notamment dans les neurones à CRH du PVN (Bisschop, Dekker et al. 2013). Elle semble par contre absente des cellules corticotropes de l'hypophyse, suggérant aucune régulation de la biodisponibilité de CORT à ce niveau (Korbonits, Bujalska et al. 2001). 11 β -HSD2 est fortement exprimée dans le rein ainsi que dans les glandes surrénales (Roland, Krozowski et al. 1995, Gomez-Sanchez, Gomez-Sanchez et al. 2010) mais au niveau du cerveau, son expression est plus restreinte que celle de 11 β -HSD1 : on retrouve l'enzyme dans le NTS et l'hypothalamus (Roland, Li et al. 1995, Geerling, Kawata et al. 2006), plus particulièrement dans les neurones magnocellulaires du PVN et du noyau supra-optique (Haque, Wilson et al. 2015). Une certaine présence a aussi été décrite dans le cortex, l'hippocampe et l'hypophyse antérieure (Moisan, Seckl et al. 1990, Korbonits, Bujalska et al. 2001). Ces études ont démontré que de façon générale, 11 β -HSD1 co-localise avec les GR et les MR, favorisant ainsi l'action des GC alors que 11 β -HSD2 est retrouvée uniquement dans les cellules exprimant les MR. Ce dernier détail est particulièrement pertinent au niveau biologique car cela augmente la spécificité des MR aux minéralocorticoïdes.

3.2 Stress et prise alimentaire

Un axe HHS dysfonctionnel fait partie des facteurs pouvant causer des troubles psychiatriques comme l'anxiété et la dépression (Jacobson 2014) et leur présence peut favoriser l'ingestion de nourriture à haute densité calorique. Les études animales démontrent qu'un stress aigu ou chronique a tendance à diminuer la PA (Levine and Morley 1981). Mais lorsque l'animal a accès à de la nourriture savoureuse à haute densité calorique, il privilégiera ce type de nourriture plutôt que de la nourriture standard (Pecoraro, Reyes et al. 2004, Cottone, Sabino et al. 2009). Chez les humains, la réponse est plus variée, possiblement dû aux différences inter-individuelles, à l'intensité et à la nature du stress. Certaines études rapportent des personnes chez qui le stress a un effet anorectique (Popper, Smits et al. 1989, Stone and Brownell 1994). D'autres rapportent une augmentation de la prise de nourriture, notamment celle riche en gras et en sucre plutôt que santé, et surtout chez les femmes (Grunberg and Straub 1992, Oliver and Wardle 1999, Zellner, Loaiza et al. 2006, Mikolajczyk, El Ansari et al. 2009). Les GR sont d'ailleurs localisés dans les neurones à NPY

de l'ARC (Hisano, Kagotani et al. 1988) et dans les neurones à DA du VTA (Hensleigh and Pritchard 2013). De plus, l'infusion intra-ventriculaire de dexaméthasone (DEX), un GC de synthèse, induit l'expression de NPY (Zakrzewska, Cusin et al. 1999) et un choc électrique stimule la libération de DA dans le NAs (Kalivas and Duffy 1995). La facilité d'accès et l'abondance de ce type de nourriture en fait un recours fréquent pour apaiser les symptômes d'anxiété et diminuer le stress ressenti (Dallman, Pecoraro et al. 2003). Chez les rongeurs, l'accès à de la nourriture riche en gras diminue la sécrétion d'ACTH et de CORT et réduit les comportements anxieux et dépressifs en réponse au stress (Pecoraro, Reyes et al. 2004, Finger, Dinan et al. 2011). Mais au-delà de l'effet « bénéfique » à court terme, ce type de comportement devient délétère à long-terme, perturbant les systèmes de régulation de la balance énergétique, menant au surpoids et à l'obésité.

Lorsque l'obésité est installée, comme c'est le cas dans les modèles animaux utilisant un régime riche en gras, les niveaux plasmatiques de CORT sont élevés par rapport à des animaux de poids normal (Livingstone, Jones et al. 2000, Sharma, Fernandes et al. 2013, McNeilly, Stewart et al. 2015). De façon intéressante, ceux-ci corrélaient positivement avec le comportement anxieux (temps passé dans les bras fermés du EPM) (Ferraz, Delattre et al. 2011). Chez les personnes présentant des troubles anxieux, on observe généralement un axe HHS hyper-réactif, c'est-à-dire une réponse accrue au stress (Jacobson 2014). Quant aux niveaux basaux, les résultats sont plus contrastés d'une part à cause de l'existence de différentes formes de troubles anxieux (trouble d'anxiété généralisée, syndrome de stress post-traumatique, phobie sociale, crises de panique) et d'autre part à cause de la méthode de mesure de cortisol qui peut être faite dans le plasma, l'urine, les cheveux ou encore la salive et qui détecte suivant les cas la forme totale, libre ou liée (Incollingo Rodriguez, Epel et al. 2015). Par contre, un résultat communément retrouvé dans les cas d'obésité tant chez les rongeurs que chez les humains est l'altération du métabolisme intra-tissulaire de la CORT au niveau du tissu adipeux. Tant l'expression que l'activité de 11 β -HSD1, l'enzyme responsable de la formation de la forme active de CORT (ou cortisol chez les humains), est augmentée dans le tissu adipeux viscéral de sujets obèses (Livingstone, Jones et al. 2000, Rask, Olsson et al. 2001, Paulmyer-Lacroix, Boullu et al. 2002, Sandeep, Andrew et al. 2005, Paulsen, Pedersen et al. 2007). Bien que leurs niveaux plasmatiques demeurent constants, les souris sur-

exprimant 11 β -HSD1 dans le tissu adipeux y présentent des niveaux élevés de CORT, et développent plusieurs caractéristiques du syndrome métabolique telles qu'une obésité abdominale, dyslipidémie et hypertension (Masuzaki, Yamamoto et al. 2003). A l'inverse, la déficience en 11 β -HSD1 protège du syndrome métabolique suite à un régime riche en gras (Morton, Paterson et al. 2004). La maturation et l'accumulation des adipocytes, la lipolyse, la stimulation hormonale et l'inflammation sont autant de facteurs par lesquels l'augmentation de CORT dans le tissu adipeux favoriserait l'apparition du syndrome métabolique (Black 2006, Peckett, Wright et al. 2011).

Une caractéristique commune aux pathologies métaboliques et psychologiques que sont l'obésité et l'anxiété est donc la dérégulation de l'axe HHS, un facteur qui participerait à leur étiologie et expliquerait l'association qui existe entre elles (Chan, Inouye et al. 2003, Pasquali, Vicennati et al. 2006, Pariante and Lightman 2008, Faravelli, Lo Sauro et al. 2012). En effet, le fait de présenter des troubles dépressifs ou anxieux augmente la probabilité de devenir obèse (de Wit, Fokkema et al. 2010, Luppino, de Wit et al. 2010, Pan, Sun et al. 2012), possiblement à cause de l'adoption de mauvaises habitudes de vies telles une réduction de l'activité physique ou un régime alimentaire mal équilibré (Sanchez-Villegas, Ara et al. 2008, Strine, Mokdad et al. 2008, Deasy, Coughlan et al. 2015). À son tour, l'obésité, particulièrement abdominale, augmente l'incidence des troubles anxieux et dépressifs (Kivimaki, Batty et al. 2009, Luppino, de Wit et al. 2010).

De façon intéressante, quelques études ont montré que les AG peuvent directement moduler l'axe HHS. Une première étude avait montré que l'augmentation des taux circulants d'AG, *via* l'infusion d'une solution d'intra-lipides, stimule la sécrétion d'ACTH et de CORT (Widmaier, Rosen et al. 1992). Plus récemment, un autre groupe a montré que c'était la diminution des niveaux plasmatiques d'AG libres qui entraînaient la sécrétion d'ACTH et de CORT (Oh, Oh et al. 2012). Ces résultats en apparence contradictoires suggèrent en fait l'existence d'une boucle de contre-régulation pour restaurer les niveaux plasmatiques d'AG, *via* l'action lipolytique de la CORT, lorsque ceux-ci sont bas alors qu'un excès d'AG, comme ce fut le cas suite à l'infusion de la solution d'intra-lipides, pourrait altérer les mécanismes hypothalamiques de détection des AG et stimuler inutilement l'axe HHS.

Objectifs et méthodologie

But de l'étude

La régulation de l'homéostasie énergétique repose sur la capacité des cellules du SNC à détecter les signaux nerveux, hormonaux et métaboliques périphériques et ce travail s'intéressait à examiner plus en détails les effets des AG sur le SDM. Car, bien qu'il soit maintenant reconnu que les neurones à DA du VTA détectent les hormones circulantes pour ajuster le tonus dopaminergique, la PA et le comportement motivé, rien n'est connu en ce sens concernant les AG. De plus, plusieurs groupes s'intéressent à l'impact d'un régime riche en gras sur le SDM mais il n'est pas clair si les altérations moléculaires et comportementales dépendent de la classe des AG et si elles sont une cause ou une conséquence de la prise de poids. Enfin, il est intéressant de savoir si cela affecte également la physiologie du stress étant donné la relation qui existe entre les émotions et la PA. Le **but** de cette étude était donc d'évaluer l'impact des deux AG les plus fréquemment retrouvés dans l'organisme et la nourriture (l'un mono-insaturé et l'autre saturé) premièrement sur la fonction dopaminergique mésolimbique et deuxièmement sur l'axe HHS, et de déterminer si leurs effets à long terme dépendent du gain de poids et des altérations hormonales régulièrement observées avec celui-ci.

L'objectif de la **première étude** était de déterminer l'existence de mécanismes de détection des AG au niveau des neurones à DA du VTA et de voir si cela modifiait le comportement alimentaire et/ou motivé. La **seconde étude** visait à examiner les effets de la consommation prolongée de diètes enrichies en gras saturés ou mono-insaturés sur la fonction dopaminergique mésolimbique, au niveau moléculaire et comportemental, indépendamment du poids et d'altérations hormonales classiques. Dans la **troisième étude** nous avons élargi notre recherche à la fonction de l'axe HHS et au comportement anxieux en réponse à la consommation de ces diètes riches en gras.

Approche expérimentale

Les approches expérimentales seront détaillées dans chaque article présenté ici. Voici cependant une première énumération succincte.

Nous avons utilisé le rat mâle adulte de souche Wistar comme modèle animal pour la majorité des expériences. Nous avons examiné les effets de l'injection cérébrale unique d'AG

via l'implantation par chirurgie stéréotaxique de cannules à hauteur du VTA. Afin d'évaluer l'impact d'un apport chronique d'AG, nous avons développé trois diètes auxquelles nous avons soumis les animaux pendant huit semaines : une diète contrôle, à base d'huile de fèves de soya et faible en gras (17%) et deux diètes isocaloriques (50% des calories provenant des lipides) enrichies en AG saturés pour l'une (à base d'huile de palme) ou mono-insaturés pour l'autre (à base d'huile d'olive). La composition détaillée de ces trois diètes se trouve dans le tableau supplémentaire fourni avec l'article 2. La PA et le poids corporel ont été suivis à la fréquence requise suivant les expériences et plusieurs paramètres endocriniens (leptine, insuline, CORT) et biochimiques (glucose, AG, marqueurs d'inflammation) ont également été mesurés.

Nous avons utilisé plusieurs tests comportementaux permettant d'évaluer l'activité locomotrice, la motivation et l'activité de l'axe HHS.

- L'activité locomotrice a été mesurée dans des boîtes de plexiglass équipées de faisceaux laser permettant de détecter les mouvements et d'évaluer l'activité horizontale et verticale.

- Le comportement motivé a été évalué grâce au test de conditionnement opérant, développé par le comportementaliste américain B.F Skinner. L'animal apprend à discriminer entre un levier actif et un levier inactif afin d'avoir accès à des croquettes de sucrose. En ratio fixe (un appui sur le levier équivaut à une croquette) ou progressif (le nombre d'appui requis pour obtenir une croquette augmente de manière exponentielle), ce dispositif permet d'évaluer la motivation des animaux à travailler pour obtenir la nourriture et donc son pouvoir renforçant (Sharma, Hryhorczuk et al. 2012).

- Une manière de déterminer si les AG affectent le SDM est d'observer la réponse des animaux à l'AMPH. Le test de la sensibilisation comportementale tire avantage de la capacité de l'AMPH à engendrer une réponse locomotrice (Smith 1965, Geyer, Russo et al. 1987, Antoniou, Kafetzopoulos et al. 1998), mesurée dans le même type de boîte que décrite au premier point. L'activation des voies dopaminergiques par des expositions répétées à l'AMPH accroît sa valence et provoque l'augmentation progressive de la réponse locomotrice, avec un effet maximal lors d'une nouvelle prise après une période d'abstinence, qui peut aller jusqu'à un an après le traitement (Paulson, Camp et al. 1991). La sensibilisation

comportementale se divise en deux phases : l'induction et l'expression, toutes deux impliquant la signalisation dopaminergique mais à des niveaux anatomiques différents. Elle est chez l'animal un modèle permettant d'étudier la persistance des changements moléculaires et cellulaires qui s'opèrent lors du passage de l'usage récréatif de drogue à celui d'abus (Bordet 2002).

- Les propriétés récompensantes de l'AMPH ont été examinées par le test de préférence de place conditionné (*conditioned place preference*, CPP). Dans une boîte séparée en deux compartiments visuellement et tactilement distincts, l'animal apprend à associer un côté de la boîte avec l'administration d'AMPH et l'autre avec le véhicule. Après plusieurs jours de conditionnement, typiquement trois à cinq jours, l'animal choisit généralement de passer plus de temps dans l'environnement précédemment associé à l'injection d'AMPH (Costello, Carlson et al. 1989, Bardo, Valone et al. 1999, Orsini, Buchini et al. 2004). Test complémentaire à la sensibilisation comportementale, le CPP permet également d'évaluer la capacité de l'AMPH à produire une association contextuelle en plus de son pouvoir récompensant (Prus 2009).

- La sensibilité de l'axe HHS a été évaluée par le test de suppression à la DEX. Lorsqu'administré à un animal en santé, ce GC de synthèse inhibe la sécrétion naturelle d'ACTH et de CORT. Ce test permet de vérifier l'intégrité fonctionnelle de la boucle de rétro-contrôle négative de l'axe HHS (Carroll, Feinberg et al. 1981).

- Le comportement anxieux a été étudié *via* le test de l'*open field* (OFT) et du labyrinthe en croix surélevé (*elevated plus maze*, EPM). Tous deux basés sur le désir d'exploration de l'animal et la tendance à éviter les zones potentiellement dangereuses, ces deux tests sont couramment utilisés pour évaluer les propriétés de drogues anxiolytiques et d'antidépresseurs. D'une durée typique de cinq à dix minutes, ils donnent également une indication de l'activité locomotrice. L'OFT consiste en une grande boîte divisée en trois zones : centre, périphérie et murs. Le temps que l'animal passe dans chacune de ces zones est suivi : peu d'anxiété se traduit par une grande activité exploratoire alors qu'une moindre activité ambulatoire et un plus grand pourcentage de temps passé le long des murs reflètent un comportement anxieux (Prut and Belzung 2003). L'EPM est une plateforme en forme de signe « + » élevée à une hauteur d'environ 50cm du sol. Deux bras sont ouverts alors que les deux

autres sont munis de murs. Un comportement anxieux favorisera le temps passé dans les bras fermés relativement aux bras ouverts (Pellow, Chopin et al. 1985).

Enfin, les expériences d'électrophysiologie sur tranches de VTA de souris ont permis d'évaluer la sensibilité des neurones à DA aux concentrations d'AG. L'utilisation de neurones du mésencéphale murin mis en culture ou triés par cytométrie en flux a servi à regarder l'incorporation cellulaire des AG et l'expression de gènes impliqués dans leur métabolisme respectivement.

Résultats

Pour chacun des articles présentés dans cette thèse, j'ai effectué la totalité des expériences, l'analyse et l'interprétation des résultats sauf :

- les expériences d'électrophysiologie réalisées par Zhenyu Sheng
- l'analyse par chromatographie en phase gazeuse exécutée par Isabelle Poirier et Caroline Daneault
- la culture cellulaire, le traitement et l'immunohistochimie, ainsi que le tri cellulaire, l'extraction d'ARN et la synthèse d'ADN complémentaire effectués par Marie-Josée Bourque, Nicolas Giguère et Charles Ducrot
- le dosage initial de corticostérone fait par Sandeep Sharma
- Marc Florea et Demetra Rodaros ont aidé aux expériences comportementales impliquant l'amphétamine

Concernant la rédaction des articles, j'ai fait la revue de la littérature, écrit les versions initiales puis finalisé les manuscrits avec l'aide de mes superviseurs Stephanie Fulton et Thierry Alquier. Christine Des Rosiers, Louis-Éric Trudeau, Vanessa Routh et Andreas Arvanitogiannis, ont participé à l'analyse et l'interprétation des résultats et ont relu les manuscrits respectifs pour lesquels ils sont co-auteurs.

Article 1 : Effets de l'injection aigue d'acides gras sur le comportement alimentaire, motivé et la transmission dopaminergique

Oleic acid in the ventral tegmental area inhibits feeding, food reward and dopamine tone

Cecile Hryhorczuk^{1,3}, Zhenyu Sheng⁶, Nicolas Giguère⁵, Charles Ducrot⁵, Louis-Éric Trudeau⁵, Vanessa Routh⁶, Thierry Alquier^{1,4} and Stephanie Fulton^{1,2}

1-CRCHUM and Montreal Diabetes Research Center; Departments of: 2-Nutrition, 3-Physiology, 4-Medicine, 5-Pharmacology, Université de Montréal, Montréal, Qc, Canada; 6-Rutgers New Jersey Medical School, Rutgers University, Newark, NJ, United States.

Abbreviated title: Dopamine neuron fatty acid sensing and appetite

Corresponding:

Stephanie Fulton, PhD

CRCHUM & Montreal Diabetes Research Center

900 rue Saint-Denis, Office 8-428

Montreal, QC

CANADA H2X 0A9

Tel. 514.890.8000 x23602

stephanie.fulton@umontreal.ca

Number of pages: 23

Number of figures, tables: 5 figures

Number of words for Abstract: 237

Introduction: 601

Discussion: 1518

Acknowledgments

The authors would like to thank Marie-Josée Bourque for neuron cultures and help with cell sorting. This work was supported by a CIHR grant (MOP123280) and New Investigator salary award to SF, by a CIHR grant (MOP115042) and Fonds de Recherche Québec-Santé salary award to TA, by CIHR (MOP106556) and Brain Canada/Krembil Foundation grants to LET, American Heart Association grants to VR (14GRNT20380639 and 1RO1DK103676) and doctoral scholarships from the Montreal Diabetes Research Center/Université de Montréal and CMDO/Novo Nordisk to CH.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Abstract

Long-chain fatty acids (FA) act centrally to decrease food intake and hepatic glucose production and alter hypothalamic neuronal activity in a manner that depends on FA type and cellular transport proteins. However, it is not known if FA are sensed by ventral tegmental area (VTA) dopamine (DA) neurons to control food-motivated behavior and DA neurotransmission. We investigated the impact of the monounsaturated FA oleate (OA) in the VTA on feeding, locomotion, food reward and DA neuronal activity and DA neuron expression of FA handling proteins and FA uptake. A single intra-VTA injection of OA, but not the saturated FA palmitate, decreased food intake and increased locomotor activity. Furthermore, intra-VTA OA blunted the rewarding effects of high-fat/sugar food in an operant task and inhibited DA neuronal firing. Using sorted DA neuron preparations from TH-eGFP mice we found that DA neurons express FA transporter and binding proteins and are capable of intracellular transport of long-chain FA. Finally, we demonstrate that a transporter blocker attenuates FA uptake into DA neurons and blocks the effects of intra-VTA OA to decrease food-seeking and DA neuronal activity. Together, these results suggest that DA neurons detect FA and that OA has actions in the VTA to suppress DA neuronal activity and food-seeking following cellular incorporation. These findings highlight the capacity of DA neurons to act as metabolic sensors by responding not only to hormones but also to FA nutrient signals to modulate food-directed behavior.

Significance statement

Emerging evidence is drawing attention to the capacity of FA to directly modify neural signaling and excitability. Mesolimbic DA neurons respond to numerous metabolic hormones to alter appetite and motivation, yet their capacity to detect lipid signals is unknown. As initial evidence that FA can be sensed in the midbrain, OA suppressed feeding and food reward upon administration into the VTA. Shedding light on the cellular mechanisms involved, we demonstrate that DA neurons express the machinery for FA shuttling and can incorporate FA and that OA reduces DA neuronal firing and food-motivated responding in a manner mediated by cellular transport. These results suggest lipid nutrient signals as a further source of metabolic influence on mesolimbic and reward-relevant function.

Introduction

Long-chain fatty acids (FA) are among the metabolic signals that are centrally detected to control energy homeostasis. Initial work discovered that hypothalamic neurons alter their firing rate in response to FA application (Oomura et al., 1975) while more recent studies demonstrated the impact of centrally administered FA to suppress feeding and hepatic glucose production (Obici et al., 2002; Lam et al., 2005; Schwinkendorf et al., 2011). The ability of FA to inhibit food intake and modulate autonomic function and neurotransmission is reported to be mediated by cellular FA transport and intracellular metabolism (Obici et al., 2003; Lam et al., 2005; Le Foll et al., 2013; Mouille et al., 2013). In turn, blocking FA hydrolysis from triacylglycerol in the brain has been shown to increase appetite and weight gain (Wang et al., 2011; Cansell et al., 2014; Picard et al., 2014b).

Several lines of evidence indicate that the influence of FA on energy metabolism depends on the chemical structure of the FA chain. The monounsaturated FA oleate (OA) and the saturated FA palmitate (PA) are the most abundant long-chain FA in circulation and can exert different signaling and metabolic actions in the brain. OA, the most extensively produced FA in nature, has been shown to decrease food intake when acutely administered into the third ventricle (Obici et al., 2002; Morgan et al., 2004; Schwinkendorf et al., 2011) and to inhibit or excite hypothalamic neurons (Wang et al., 2006; Jo et al., 2009; Le Foll et al., 2009). In addition, we have shown that OA has a distinct intracellular metabolic fate in neural cells as compared to PA (Taib et al., 2013).

The mesolimbic dopamine (DA) system plays a key role in mobilizing behavior required to meet energy demands. DA neurons of the ventral tegmental area (VTA) respond to numerous hormones and peptides to modulate DA tone and food-directed behaviors (Palmiter, 2007; Fulton, 2010; Liu and Borgland, 2015). Prolonged intake of high-fat diets and the development of obesity can elicit molecular and neural adaptations in DA signaling that are associated with blunted reward responses and enhanced food seeking (Wang et al., 2001; Fulton et al., 2006; Davis et al., 2008; Stice et al., 2008; Johnson and Kenny, 2010; Sharma et al., 2013; Sharma and Fulton, 2013; Hryhorczuk et al., 2015; Décarie-Spain et al., 2016). We recently demonstrated that long-term intake of dietary lipids enriched in PA (from palm oil) dampens mesolimbic DA function while a high-fat diet containing mostly OA (olive oil) is

protective against such changes (Hryhorczuk et al., 2015). While these results suggest that the effects of chronic high-fat feeding on DA tone rely on the class of dietary lipids, it is not known if FA are detected by DA neurons and if they can modulate appetite and mesolimbic DA neurotransmission. Here we report that intra-VTA injection of OA, but not PA, inhibited free-feeding intake and stimulated locomotor activity. VTA OA also blunted the rewarding effects of sucrose in an operant task and decreased DA neuronal firing amplitude and frequency of excitatory inputs onto DA neurons. DA neurons isolated from TH-eGFP mice were found to express genes encoding FA handling proteins and we provide evidence for cellular transport of long-chain FA in DA neurons using a fluorescent FA analogue. Finally, we demonstrate that a transporter blocker not only attenuates FA uptake into DA neurons but also blocks the effects of intra-VTA OA to suppress food-motivated responding and DA neuronal activity. Together, these findings suggest that FA are detected by DA neurons and that the monounsaturated FA OA can suppress DA neuronal activity and the rewarding effects of food following cellular incorporation.

Material and Methods

Animals. Experiments were approved by the CRCHUM Animal Care Committee, the Université de Montréal Animal Ethics Committee and the Institutional Animal Care and Use Committee of the New Jersey Medical School and are in accordance with the policy of the Society for Neuroscience. All behavioral testing was carried out in rats in order to maintain precise VTA micro-injections whereas remaining experiments were performed in mice due to the availability of a transgenic lines and methods established for primary DA neuron cultures. Male Wistar rats (Charles River, Saint-Constant, Quebec) weighing 250-280g upon arrival were housed in reverse-cycle rooms (lights off at 10am) for 8-10 days prior to surgery. Male C57Bl/6 mice (4–6 weeks old) were used for electrophysiological recordings. TH-eGFP transgenic mice (C57Bl/6 background) expressing green fluorescent protein (GFP) under the control of the tyrosine hydroxylase (TH) promoter (Matsushita et al., 2002) were used for fluorescence-activated cell sorting (FACS). Primary DA neuron cultures were derived from postnatal (P0-P2) C57Bl/6 mice (Fasano et al., 2008).

Stereotaxic surgery. Stereotaxic surgery was carried out under isoflurane anesthesia and guided by rat brain atlas coordinates (Paxinos and Watson, 1998). Rats were implanted with bilateral guide cannula (26 gauge, Plastics One, Inc) terminating 2mm above the VTA (5.8mm posterior to the Bregma, ± 0.6 mm from midline, -6mm from dura). Coordinates for VTA cannula implants were verified in a separate group of rats (n=10): Rhodamine-filled latex microspheres (100nL; LumaFluor Inc.) were bilaterally microinjected into the VTA and transcatheter perfusions were carried out two days later under ketamine/xylazine anesthesia with ice-cold PBS followed by 10% buffered formalin. Brains were removed, post-fixed and immersed in a 30% sucrose-PBS solution. Frozen brain sections (30 μ m) were cut on a cryostat and visualized with a fluorescence microscope (Zeiss Axio Imager 2).

Intra-VTA injections. OA and PA (Na^+ ; Sigma-Aldrich) were complexed to hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPB, CTD Holdings, Inc., Alachua, FL, USA) and dissolved in artificial cerebrospinal fluid (aCSF, in mM: 125 NaCl, 2.5 KCl, 0.3 KH_2PO_4 , 26 NaHCO_3 , 10 glucose, 1.3 MgSO_4 , and 2.4 CaCl_2 ; pH 7.4) to a final amount of 6nmol per side. The 6nmol dose represents 1/5 of that used in prior studies assessing feeding in response to third ventricle OA and PA complexed to HPB (30nmol - Obici et al., 2011; Schwinkendorf et al., 2011). As we found a significant anorectic response to 60nmol, but not 30nmol, of OA infused into the lateral ventricle (data not shown) we used a 10:1 ventricle to parenchyma dilution to arrive at the 6nmol intra-VTA dose. Phloretin (EMD Millipore) was solubilized in 15% ethanol and diluted to 100 μ M in aCSF. Substances were delivered in a volume of 500nL per side at a rate of 100nL/min using a bilateral internal cannula (Plastics One, Inc) that projected 2mm beyond the guide cannula.

Separate experiments were carried out to determine if FA injection into the VTA elicits neural degeneration and inflammation. Rats (n=8) received an injection of OA or PA (6nmol) in one side of the VTA and vehicle in the contralateral side. Two days after surgery, rats were perfused and brains processed as above. Slices were stained with FluoroJade-C (Histo-Chem, Inc., Jefferson, AR, USA). Inflammatory marker expression in the VTA in response to OA (6nmol) injections was assessed in rats used for the food intake experiment. OA was re-administered into the VTA 24 hours after the last injection and then rats (n=9-12) were sacrificed 3 hours later. Harvested brains were snap-frozen in isopentane and kept at -80°C

until qPCR measures (described below) of tumor-necrosis factor alpha (TNF α) and interleukin 1 beta (IL1b).

Food intake. A first cohort of rats (n=40) was used to evaluate the effect of intra-VTA OA and PA on chow intake. Rats were habituated to powder chow diet for 4-7 days. Food was removed 3 hours before injection of OA, PA or vehicle that occurred immediately preceding the onset of the dark cycle. Food cups filled with powder chow were fastened inside a larger cup to catch spillage and food consumption and body weight were monitored at 2, 6, 12 and 21 hours post-injection.

Locomotor activity. Ambulatory activity was evaluated in metabolic chambers (AccuScan Instruments, Columbus, OH, USA) in which rats were habituated 24 hours prior to FA injection. Injections were done just before the onset of the dark phase.

Operant responding. A new group of rats (n=10) with bilateral VTA cannulae were trained to respond for 45 mg high-fat plus high-sucrose pellets (TestDiet, Saint Louis, MO, USA) on a progressive ratio schedule of reinforcement in rat operant chambers with retractable levers (Med Associates Inc., St. Albans, VT, USA) as described previously (Sharma et al., 2012). Once stable breakpoint responding was achieved, the effects of an intra-VTA vehicle injection was assessed followed by an injection of OA the following day. After breakpoint responding re-stabilized (number of rewards earned did not vary by more than 15%), operant responding was assessed in the same manner in response to vehicle and then phloretin + OA co-injection. Behavioral testing began 1 hour after injection at the beginning of the dark phase. Cannula placement was verified by injections of methylene blue (500nl per side) after completion of the experiment.

Electrophysiology. Whole-cell patch-clamp recordings were performed as described previously (Sheng et al., 2014). Briefly, 300 μ m coronal slices containing the VTA were cut with a vibratome and maintained at room temperature for at least one hour in oxygenated aCSF (in mM: 126 NaCl, 1.9 KCl, 1.2 KH₂PO₄, 26 NaHCO₃, 2.5 glucose, 1.3 MgCl₂, and 2.4 CaCl₂; pH 7.4) before being transferred to the recording chamber. DA neurons were identified by the presence of an H current (I_h). Only cells with an access resistance under 30M Ω that did not vary by more than 20% throughout the experiment were kept for analysis.

A total of 29 neurons were analyzed. Borosilicate pipettes (4–6M Ω ; Sutter Instruments, Novato, CA) were filled with an intracellular solution containing (in mM): 128 K-gluconate, 10 KCl, 4 KOH, 10 HEPES, 4 MgCl₂, 0.5 CaCl₂, 5 EGTA, 2 Na₂ATP, and 0.4 Na₂GTP; pH 7.2. Cells with membrane potentials more negative than -45mV in 2.5mM glucose and action potentials which overshoot 0mV were considered viable for recording. Miniature excitatory postsynaptic currents (mEPSCs) were recorded in neurons voltage-clamped at -60mV in extracellular solution supplemented with 1 μ M tetrodotoxin (TTX, to block presynaptic action potentials) and 20 μ M bicuculline (to block GABA_A currents). 6 μ M OA was bath perfused for 10 minutes. In the transporter blockade condition, 100 μ M phloretin was co-applied with OA for an additional 10 minutes. Recordings from the last minute of each condition were used in the analysis.

Fluorescence-activated cell sorting. P0-P2 mice were cryo-anesthetized and decapitated for tissue collection. As described previously (Mendez et al., 2008; Fulton et al., 2011), freshly dissociated cells from the VTA were prepared and GFP-positive neurons were purified by FACS and directly collected in Trizol.

Quantitative polymerase chain reaction (qPCR). Total RNA from VTA and ventromedial hypothalamus (VMH) microdissections and FACS-sorted cells were extracted using Trizol (Qiagen, Toronto, ON, Canada). Concentration and purity of RNA were systematically assessed. RNA were reverse transcribed into cDNA using the Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase (M-MLV RT, Life Technologies, Inc, Burlington, ON, USA). Genes were amplified using the Rotor-Gene SYBR Green PCR Kit (Qiagen) in the presence of appropriate primer pairs. Results were normalized to β -actin or cyclophilin and analyzed using the standard curve method (Taib et al., 2013).

Primers. Primers were designed using BLAST (U.S. National Library of Medicine) and synthesized by Integrated DNA Technologies, Inc. based on the following sequences: *actb* (β -actin) forward: TTCTTGGGTATGGAATCCTGTGGCA, reverse: ACCAGACAGCACTGTGTTGGCATA; *cd36* forward: TGCATGAATTAGTTGAACCAGGCCA, reverse: CCACAGTTCCGATCGCAGCC, *ppia* (cyclophilin) forward: GCTTTTCGCCGCTTGCTGCA, reverse: TGCAAACAGCTCGAAGGAGACGC; *fabp3* forward: GATGACCGGAAGGTCAAGTC,

reverse: GCCATGAGTGAGAGTCAGGA; *fabp5* forward:
AAACCGAGAGCACAGTGAAGA, reverse: AAGGTGCAGACCGTCTCAGT; *fabp7*
forward: AGTACATGAAGGCTCTGGGCGTG, reverse:
ATCACC ACTTTGCCGCCTTCCT; *fatp1* forward: GCAGGTACTACCGCATTGCT,
reverse: GAACTTCTTGCGCAGTACCA; *fatp4* forward: TGTGGTGCACAGCAGGTATT,
reverse: TTTCCTGCTGAGTGGTAGAGG; *gad1* (GAD67) forward:
ATATCATTGGTTTAGCTGGTGAATG, reverse: GTGACTGTGTTCTGAGGTGAAGAG;
illb forward: CTTGTGCAAGTGTCTGAAG, reverse: GAACAGGTCATTCTCATCAC; *th*
forward: CGACCCGTGGCCGGTCTAC, reverse: GCAGTCTGGCTCGGGTGAGTG; *tnfa*
forward: CACGCTCTTCTGTCTACTG, reverse: AAGATGATCTGAGTGTGAGG.

Fatty acid uptake in dopamine neurons. Midbrain DA neurons grown on a cortical glial layer were prepared from P0-P2 wild-type mice as described (Fasano et al., 2008). FA uptake was assessed with C1-BODIPY 500/510-C12, a fluorescent FA analog that with the fluorophore head resembles the chemical structure of a long-chain FA (20 μ M in 0.8% DMSO; MolecularProbes). Ten days after seeding, cells were treated with BODIPY, BODIPY + phloretin (100 μ M in 15% ethanol) or vehicle alone in culture medium (Neurobasal added with glutamax) for 45 minutes. Following 3 washes with ice-cold PBS cells were fixed with 10% formalin for 10 minutes. TH immunofluorescence was carried out as described previously (Fulton et al., 2011). The ImageJ analyzing tool (<http://imagej.nih.gov/ij/>) was used to determine BODIPY fluorescence intensity. For each condition, integrated density was measured in 63X magnified fields (n= 45) derived from 3 individual coverslips per condition.

Statistical analyses. Data are presented as mean \pm standard error of the mean (SEM) and were analyzed using GraphPad Prism (version 5.02 for Windows GraphPad Software, San Diego California USA). Two-way analysis of variance (ANOVA) with Bonferonni post-tests was used to analyze food intake and locomotor activity data. One-way ANOVA was used in electrophysiology and immunofluorescence experiments. Operant responding and qPCR data were analyzed with Student's t-test. Statistical significance was set at $p \leq 0.05$.

Results

Intra-VTA oleate inhibits food intake and stimulates locomotor activity

We tested the acute effects of intra-VTA OA and PA on food intake. As illustrated in Figure 1A and B, OA inhibited chow intake while stimulating ambulatory locomotor activity. Comparatively, an equimolar dose of PA did not alter chow intake or locomotion (Fig. 1C, D). Bilateral VTA cannula coordinates were confirmed by rhodamine microbead injections (Fig. 1E). The anorectic effects of OA were not associated with local inflammation or neural degeneration: IL-1 β and TNF α mRNA levels in the VTA were unchanged (Fig. 1F) as was FluoroJade-C staining following OA or PA injection (Fig. 1G).

Intra-VTA oleate suppresses food reward

To determine if OA alters motivation for palatable food we assessed effort-based, operant responding for high-fat/high-sugar food rewards in a progressive ratio task. OA decreased breakpoint thresholds by 23% relative to vehicle treatment (Fig. 2A). As the central effects of FA can involve transporter-mediated processes, we next sought to establish if blocking intracellular uptake could mitigate the ability of OA to suppress food-motivated behavior. Co-injection of the transporter blocker phloretin (100 μ M) prevented attenuated breakpoint responding by OA (Fig. 2B). No changes were observed in the proportion of correct to incorrect lever presses (Fig. 2C and D). Subsequent histological assessment revealed that bilateral cannulas were positioned in the VTA in all rats (Fig. 2E).

Oleate modulates dopamine neuronal activity

Whole-cell patch recordings were performed to establish if reductions in food intake and food reward by intra-VTA OA are associated with changes in the activity of DA neurons. Current-clamp recordings revealed an effect of OA to inhibit DA neuronal activity: 52% of neurons (15/29) decreased their action potential frequency (APF) in response to OA (basal: 0.91 ± 0.09 Hz vs. OA: 0.44 ± 0.07 Hz; $t=0.972$; $p \leq 0.0001$). We next ascertained if OA-induced changes rely on intracellular incorporation of OA by co-applying phloretin and OA during current-clamp recordings. Phloretin blocked the effect of OA to inhibit APF (Fig. 3A and B, representative trace). We then examined the influence of OA on mEPSCs (in presence of TTX). OA significantly decreased current amplitude and frequency, an effect that was partially reversed by co-application of phloretin (Fig. 3C, D and E, representative trace). A

smaller subset of DA neurons (9/29) exhibited an increase in APF in response to OA (basal: $1.01 \pm 0.28\text{Hz}$ vs OA: $1.38 \pm 0.32\text{Hz}$, $p \leq .005$); however, unlike with OA inhibited neurons, phloretin had no effect on APF in OA excited neurons (OA: $1.38 \pm 0.32\text{Hz}$ vs. OA+phloretin: $1.29 \pm 0.29\text{Hz}$). Remaining neurons (5/29) were unresponsive to OA (basal: $1.84 \pm 0.74\text{Hz}$, OA: $1.65 \pm 0.59\text{Hz}$).

Dopamine neurons express fatty acid handling proteins

Specific isoforms of FA transport proteins (FATP) and FA binding proteins (FABP) are centrally expressed, namely CD36, FATP1, FATP4, FABP3, FABP5 and FABP7 (Liu et al., 2010; Mitchell et al., 2011). To determine if these FA handling proteins are present in DA neurons we performed qPCR experiments in FACS-purified GFP positive (GFP+) and negative (GFP-) cells isolated from the VTA of TH-eGFP mice and compared to expression levels obtained from VTA and VMH microdissections. Given that the metabolic and neurophysiologic actions of FA have been most characterized in the VMH all data were normalized to results obtained from this region. That sorted GFP+ cells were dopaminergic is evidenced by high expression of TH and absence of GAD67 (GABA marker). In contrast, there was minimal TH in GFP- cells. DA neurons and the VTA as a whole were found to express FATP1, FATP4 and FABP3, with minimal expression of CD36, FABP5 and FABP7 (Fig. 4).

Fatty acids are taken up by dopamine neurons

FA intracellular transport was assessed with BODIPY, a fluorescent long-chain FA analog. BODIPY application to primary DA neurons resulted in punctate labeling in TH immunopositive (TH+) neurons as well as labeling in non-TH cells (Fig. 5E, magnified in 5H). Optical z-stack imaging and orthogonal reconstruction revealed cellular BODIPY labeling of spherical form resembling lipid droplets in TH+ cell bodies and processes (Fig. 5E and F). The magnitude of BODIPY incorporation was diminished by the addition of phloretin to the incubation medium (Fig. 5F and G). BODIPY application significantly increased cellular fluorescence intensity (expressed as integrated density value) compared to the vehicle condition whereas co-application of phloretin attenuated the intensity of fluorescent labeling in TH+ neurons (Fig. 5J).

Discussion

Central lipid sensing contributes to the control of food intake and energy homeostasis whereas impediments in this process can dispose to weight gain and obesity. As initial evidence that FA can be detected in the midbrain, the present study reveals that OA suppresses feeding and food reward and stimulates locomotor activity upon acute administration into the VTA. Shedding light on the cellular mechanisms involved, we demonstrate that OA can inhibit DA neuronal firing, that DA neurons comprise the machinery for FA uptake and shuttling, that long-chain FA are taken up by DA neurons and that blocking cellular transport counteracts the behavioral and electrophysiological effects of OA in the VTA. These findings underscore the capacity of DA neurons to act as metabolic sensors by responding not only to hormones but also to FA nutrient signals to generate adaptive changes in feeding and food-directed behavior. The anorectic influence of intra-VTA OA observed is consistent with its actions to decrease food intake when delivered into the third ventricle (Obici et al., 2002; Morgan et al., 2004; Schwinkendorf et al., 2011). Moreover, our results distinguish the impact of OA by demonstrating that PA, another ubiquitous long-chain FA, fails to affect food consumption when administered into the VTA. Importantly, the infusion of either FA was not associated with local toxicity and inflammation. These findings are in line with previous evidence that unsaturated FA species (OA and docosahexanoic acid), but not saturated FA like PA have an anorectic action upon intraventricular infusion (Schwinkendorf et al., 2011). PA has been more associated with inflammatory pathway stimulation and diminished central leptin and insulin signaling (Benoit et al., 2009; Kleinridders et al., 2009; Gupta et al., 2012). Concomitant with reduced feeding, rats exhibited an increase in locomotor activity following OA (but not PA) injection, an effect that could be due to increased time available for behaviors other than feeding and/or to direct cellular actions of OA in the VTA. Although others have reported opposite effects of OA on locomotion (Gobbi et al., 1999; Contreras et al., 2014), the peripheral route of administration in these studies may well explain the discrepancy with our results.

As the VTA and its corticolimbic targets are a critical component of the circuitry controlling motivation, we investigated the effect of OA on effort-based responding for palatable food.

Acute OA into the VTA diminished the rewarding effects of high-fat/sucrose food. This finding is in agreement with previous work demonstrating that intracarotid infusions of a lipid emulsion (Intralipid - comprising mostly polyunsaturated and monounsaturated FA) reduces food-motivated responding (Cansell et al., 2014). Moreover, Cansell and colleagues demonstrated that deletion of the gene encoding lipoprotein lipase, an enzyme hydrolyzing FA from triacylglycerol, from the nucleus accumbens (NAc) blocks the effects of lipid infusion to decrease food reward. It remains to be determined if the effect of moderating FA levels in the NAc on food-seeking is mediated by distinct FA such as OA and which mechanisms are involved.

In accordance with blunted motivation and food-seeking, the firing frequency of the majority of recorded DA neurons was reduced in response to OA application. As has been demonstrated with other anorectic hormones and peptides (Liu and Borgland, 2015), OA can directly inhibit DA neuronal activity thereby bypassing FA-sensing mechanisms of the hypothalamus. Similar to observations in the hypothalamus (Wang et al., 2006; Jo et al., 2009), approximately 80% of DA neurons responded to OA, a smaller subset of which were excited by OA. These divergent neuronal activity changes in response to OA suggest that DA neurons can be distinguished based on their response to nutritional signals. Indeed, heterogeneity in the functional, anatomic, electrophysiological and genetic properties of VTA DA neurons is well documented (Sanchez-Catalan et al., 2014; Walsh and Han, 2014; Yetnikoff et al., 2014). OA treatment had no effect on membrane potential or input resistance suggesting that it does not modulate non-synaptic (background or leak) ion channel closure/opening. OA significantly reduced the frequency of mEPSCs indicating a reduction in the probability of presynaptic glutamate release. The decrease in mEPSC amplitude may reflect this decrease in transmitter release; however, it could also suggest post-synaptic modifications of ionotropic glutamate receptors.

FATPs and FABPs are centrally expressed and contribute to cell differentiation, FA uptake, energy balance and cognitive processes (Mouille et al., 2012). While there is de novo FA synthesis in the brain (Moore, 2001; Medina and Taberner, 2002), the FA incorporated in neural cells are largely derived from the periphery. Our results demonstrate that DA neurons express the machinery for intracellular FA transport and shuttling and that they are capable of

FA incorporation. Interestingly, expression of CD36, the FATP most tied to the effects of intra-hypothalamic FA on energy balance (Le Foll et al., 2013; Moulle et al., 2013), was minimal or absent in the VTA and in purified DA neurons, respectively. Rather, FATP1 and FATP4 were expressed at relatively elevated levels and thus could participate in cellular uptake and behavioral actions of OA in VTA. Among FA binding proteins expressed in brain, FABP5 is predominantly expressed in immature neurons and glia, FABP7 in glial cells and FABP3 is enriched in mature neurons (Mitchell and Hatch, 2011). Correspondingly, DA neurons exhibited high levels of FABP3 (compared to whole VTA and VMH) and minimal FABP5 and FABP7 expression, a finding consistent with reports of FABP3 expression in substantia nigra DA neurons in mice (Shioda et al., 2014). FABP3 also exhibits considerable affinity for monounsaturated FA such as OA (Tan et al., 2014) to further suggest a potential role for FABP3 in mediating the effect of OA in DA neurons. Along with the expression of genes encoding FA handling proteins we found that DA neurons are capable of intracellular FA transport. The FA analog BODIPY is processed by cells as a long-chain FA (Carten et al., 2011) and is readily taken up by neurons (Kaushik et al., 2011). BODIPY accumulated in structures resembling lipid droplets, which are intracellular organelles that store triglycerides. This observation is consistent with our previous work showing that OA is esterified into triglycerides in hypothalamic neurons (Taib et al., 2013) and suggests that the metabolic fate of FA is similar between VTA DA and hypothalamic neurons.

The mechanisms by which FA gain entry into cells are not entirely clear, however several lines of evidence implicate active transporter-mediated processes (Mitchell and Hatch, 2011). With the application of phloretin, a non-specific inhibitor of FA transport in various systems (Mitchell et al., 2009; Zhou et al., 2010; Poreba et al., 2012; Chabowski et al., 2013), we show that blocking transport diminishes FA uptake into DA neurons and prevents OA-induced suppression of food-motivated responding and DA neuronal activity. Along with the gene expression profile, these results suggest that the behavioral and physiological actions of intra-VTA OA at least partly rely on interactions with transporters and/or binding proteins. In the hypothalamus, the effects of FA on neuronal activity and feeding are largely tied to the membrane FA transporter CD36 and are shown to be independent of FA intracellular metabolism (Le Foll et al., 2013; Moulle et al., 2013). However, FA-induced alterations in ion

channel activity as well as FA mitochondrial oxidation can also account for the cellular effects of FA (reviewed in Picard et al., 2014). Such alternative pathways may be involved in the actions of OA observed here since CD36 expression was barely detectable in DA neurons and VTA. Although our FA uptake and electrophysiological data support a direct effect of OA on DA neurons, we cannot exclude the possibility that OA modulates DA neurons via regulation of GABA inputs or neighboring astrocytes. Indeed, astrocytes take up, metabolize and release FA (Taib et al., 2013; Bouyakdan et al., 2015) and FA oxidation in astrocytes produces ketone bodies (KB) (Auestad et al., 1991; Bixel and Hamprecht, 1995) that could in turn alter neuronal activity (Guzman and Blazquez, 2001; Ma et al., 2007; Tanner et al., 2011). Moreover, Le Foll et al. describe that hypothalamic KB generation induced by high-fat feeding decreases food intake (Le Foll et al., 2014). Thus, we cannot rule out the contribution of FA-derived KB and look towards future investigations to identify the metabolic and molecular signals involved in the impact of OA in the VTA.

Summary

The collective results suggest that OA in the VTA represents a signal of energy surfeit to curb food intake and food-oriented behaviors. That these catabolic actions were selective to a monounsaturated but not saturated long-chain FA further emphasizes the significance of FA type in the central signaling and metabolic action of FA. The effects of OA to suppress appetite and food-motivated behavior were linked to OA-induced inhibition of DA neuronal firing and to interactions with FA transporters, possibly including intracellular OA uptake. Brain FA content is fairly stable in response to short-term dietary changes in FA; however, human obesity and the metabolic syndrome are linked to increased central FA uptake (Karmi et al., 2010). Thus a question for future research is if VTA sensing of FA is altered by prolonged consumption of energy-dense food and the development of obesity and if such changes could contribute to uncontrolled reward-seeking and/or hyperphagia and weight gain.

References

- Auestad N, Korsak RA, Morrow JW, Edmond J (1991) Fatty acid oxidation and ketogenesis by astrocytes in primary culture. *Journal of neurochemistry* 56:1376-1386.
- Bixel MG, Hamprecht B (1995) Generation of ketone bodies from leucine by cultured astroglial cells. *Journal of neurochemistry* 65:2450-2461.
- Bouyakdan K, Taib B, Budry L, Zhao S, Rodaros D, Neess D, Mandrup S, Faergeman NJ, Alquier T (2015) A novel role for central ACBP/DBI as a regulator of long-chain fatty acid metabolism in astrocytes. *Journal of neurochemistry* 133:253-265.
- Cansell C, Castel J, Denis RG, Rouch C, Delbes AS, Martinez S, Mestivier D, Finan B, Maldonado-Aviles JG, Rijnsburger M, Tschop MH, DiLeone RJ, Eckel RH, la Fleur SE, Magnan C, Hnasko TS, Luquet S (2014) Dietary triglycerides act on mesolimbic structures to regulate the rewarding and motivational aspects of feeding. *Molecular psychiatry* 19:1095-1105.
- Carten JD, Bradford MK, Farber SA (2011) Visualizing digestive organ morphology and function using differential fatty acid metabolism in live zebrafish. *Developmental biology* 360:276-285.
- Chabowski A, Żendzian-Piotrowska M, Konstantynowicz K, Pankiewicz W, Mikłosz A, Łukaszuk B, Górski J (2013) Fatty acid transporters involved in the palmitate and oleate induced insulin resistance in primary rat hepatocytes. *Acta Physiologica* 207:346-357.
- Contreras CM, Rodriguez-Landa JF, Garcia-Rios RI, Cueto-Escobedo J, Guillen-Ruiz G, Bernal-Morales B (2014) Myristic acid produces anxiolytic-like effects in Wistar rats in the elevated plus maze. *BioMed research international* 2014:492141.
- Davis JF, Tracy AL, Schurdak JD, Tschop MH, Lipton JW, Clegg DJ, Benoit SC (2008) Exposure to elevated levels of dietary fat attenuates psychostimulant reward and mesolimbic dopamine turnover in the rat. *Behavioral neuroscience* 122:1257-1263.
- Décarie-Spain L, Hryhorczuk C, Fulton S (2016) Dopamine signalling adaptations by prolonged high-fat feeding. *Current Opinion in Behavioral Sciences* 9:136-143.
- Fasano C, Thibault D, Trudeau LE (2008) Culture of postnatal mesencephalic dopamine neurons on an astrocyte monolayer. *Current protocols in neuroscience / editorial board, Jacqueline N Crawley [et al] Chapter 3:Unit 3 21.*

Fulton S (2010) Appetite and reward. *Frontiers in neuroendocrinology* 31:85-103.

Fulton S, Pissios P, Manchon RP, Stiles L, Frank L, Pothos EN, Maratos-Flier E, Flier JS (2006) Leptin regulation of the mesoaccumbens dopamine pathway. *Neuron* 51:811-822.

Fulton S, Thibault D, Mendez JA, Lahaie N, Tirota E, Borrelli E, Bouvier M, Tempel BL, Trudeau LE (2011) Contribution of Kv1.2 voltage-gated potassium channel to D2 autoreceptor regulation of axonal dopamine overflow. *The Journal of biological chemistry* 286:9360-9372.

Gobbi M, Mennini T, Dalla Valle F, Cervo L, Salmons M, Diomedea L (1999) Oleamide-mediated sleep induction does not depend on perturbation of membrane homeoviscosity. *FEBS Letters* 463:281-284.

Guzman M, Blazquez C (2001) Is there an astrocyte-neuron ketone body shuttle? *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 12:169-173.

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*.

Jo YH, Su Y, Gutierrez-Juarez R, Chua S, Jr. (2009) Oleic acid directly regulates POMC neuron excitability in the hypothalamus. *Journal of neurophysiology* 101:2305-2316.

Johnson PM, Kenny PJ (2010) Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. *Nature neuroscience* 13:635-641.

Karmi A, Iozzo P, Viljanen A, Hirvonen J, Fielding BA, Virtanen K, Oikonen V, Kempainen J, Viljanen T, Guiducci L, Haaparanta-Solin M, Nagren K, Solin O, Nuutila P (2010) Increased brain fatty acid uptake in metabolic syndrome. *Diabetes* 59:2171-2177.

Kaushik S, Rodriguez-Navarro JA, Arias E, Kiffin R, Sahu S, Schwartz GJ, Cuervo AM, Singh R (2011) Autophagy in hypothalamic AgRP neurons regulates food intake and energy balance. *Cell metabolism* 14:173-183.

Lam TK, Poci A, Gutierrez-Juarez R, Obici S, Bryan J, Aguilar-Bryan L, Schwartz GJ, Rossetti L (2005) Hypothalamic sensing of circulating fatty acids is required for glucose homeostasis. *Nature medicine* 11:320-327.

Le Foll C, Dunn-Meynell AA, Mizioro HM, Levin BE (2014) Regulation of hypothalamic neuronal sensing and food intake by ketone bodies and fatty acids. *Diabetes* 63:1259-1269.

Le Foll C, Irani BG, Magnan C, Dunn-Meynell AA, Levin BE (2009) Characteristics and mechanisms of hypothalamic neuronal fatty acid sensing. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology* 297:R655-664.

Le Foll C, Dunn-Meynell A, Musatov S, Magnan C, Levin BE (2013) FAT/CD36: a major regulator of neuronal fatty acid sensing and energy homeostasis in rats and mice. *Diabetes* 62:2709-2716.

Liu RZ, Mita R, Beaulieu M, Gao Z, Godbout R (2010) Fatty acid binding proteins in brain development and disease. *The International journal of developmental biology* 54:1229-1239.

Liu S, Borgland SL (2015) Regulation of the mesolimbic dopamine circuit by feeding peptides. *Neuroscience* 289:19-42.

Ma W, Berg J, Yellen G (2007) Ketogenic diet metabolites reduce firing in central neurons by opening K(ATP) channels. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 27:3618-3625.

Matsushita N, Okada H, Yasoshima Y, Takahashi K, Kiuchi K, Kobayashi K (2002) Dynamics of tyrosine hydroxylase promoter activity during midbrain dopaminergic neuron development. *Journal of neurochemistry* 82:295-304.

Medina JM, Taberero A (2002) Astrocyte-synthesized oleic acid behaves as a neurotrophic factor for neurons. *Journal of physiology, Paris* 96:265-271.

Mendez JA, Bourque M-J, Bo GD, Bourdeau ML, Danik M, Williams S, Lacaille J-C, Trudeau L-E (2008) Developmental and Target-Dependent Regulation of Vesicular Glutamate Transporter Expression by Dopamine Neurons. *The Journal of Neuroscience* 28:6309-6318.

Mitchell RW, Hatch GM (2011) Fatty acid transport into the brain: of fatty acid fables and lipid tails. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids* 85:293-302.

Mitchell RW, Edmundson CL, Miller DW, Hatch GM (2009) On the mechanism of oleate transport across human brain microvessel endothelial cells. *Journal of neurochemistry* 110:1049-1057.

Mitchell RW, On NH, Del Bigio MR, Miller DW, Hatch GM (2011) Fatty acid transport protein expression in human brain and potential role in fatty acid transport across human brain microvessel endothelial cells. *Journal of neurochemistry* 117:735-746.

Moore S (2001) Polyunsaturated fatty acid synthesis and release by brain-derived cells in vitro. *Journal of Molecular Neuroscience* 16:195-200.

Morgan K, Obici S, Rossetti L (2004) Hypothalamic responses to long-chain fatty acids are nutritionally regulated. *The Journal of biological chemistry* 279:31139-31148.

Moulle VS, Cansell C, Luquet S, Cruciani-Guglielmacci C (2012) The multiple roles of fatty acid handling proteins in brain. *Frontiers in physiology* 3:385.

Moulle VS, Le Foll C, Philippe E, Kassis N, Rouch C, Marsollier N, Bui LC, Guissard C, Dairou J, Lorsignol A, Penicaud L, Levin BE, Cruciani-Guglielmacci C, Magnan C (2013) Fatty acid transporter CD36 mediates hypothalamic effect of fatty acids on food intake in rats. *PloS one* 8:e74021.

Obici S, Feng Z, Arduini A, Conti R, Rossetti L (2003) Inhibition of hypothalamic carnitine palmitoyltransferase-1 decreases food intake and glucose production. *Nature medicine* 9:756-761.

Obici S, Feng Z, Morgan K, Stein D, Karkanias G, Rossetti L (2002) Central administration of oleic acid inhibits glucose production and food intake. *Diabetes* 51:271-275.

Oomura Y, Nakamura T, Sugimori M, Yamada Y (1975) Effect of free fatty acid on the rat lateral hypothalamic neurons. *Physiology & behavior* 14:483-486.

Palmiter RD (2007) Is dopamine a physiologically relevant mediator of feeding behavior? *Trends in Neurosciences* 30:375-381.

Picard A, Moulle VS, Le Foll C, Cansell C, Veret J, Coant N, Le Stunff H, Migrenne S, Luquet S, Cruciani-Guglielmacci C, Levin BE, Magnan C (2014a) Physiological and pathophysiological implications of lipid sensing in the brain. *Diabetes, obesity & metabolism* 16 Suppl 1:49-55.

Picard A, Rouch C, Kassis N, Moulle VS, Croizier S, Denis RG, Castel J, Coant N, Davis K, Clegg DJ, Benoit SC, Prevot V, Bouret S, Luquet S, Le Stunff H, Cruciani-Guglielmacci C, Magnan C (2014b) Hippocampal lipoprotein lipase regulates energy balance in rodents. *Molecular metabolism* 3:167-176.

Poreba MA, Dong CX, Li SK, Stahl A, Miner JH, Brubaker PL (2012) Role of fatty acid transport protein 4 in oleic acid-induced glucagon-like peptide-1 secretion from murine intestinal L cells. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 303:E899-E907.

Sanchez-Catalan MJ, Kaufling J, Georges F, Veinante P, Barrot M (2014) The antero-posterior heterogeneity of the ventral tegmental area. *Neuroscience*.

Schwinkendorf DR, Tsatsos NG, Gosnell BA, Mashek DG (2011) Effects of central administration of distinct fatty acids on hypothalamic neuropeptide expression and energy metabolism. *International journal of obesity* (2005) 35:336-344.

Sharma S, Fulton S (2013) Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. *International journal of obesity* (2005) 37:382-389.

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*:e3754.

Sharma S, Fernandes MF, Fulton S (2013) Adaptations in brain reward circuitry underlie palatable food cravings and anxiety induced by high-fat diet withdrawal. *International journal of obesity* (2005) 37:1183-1191.

Sheng Z, Santiago AM, Thomas MP, Routh VH (2014) Metabolic regulation of lateral hypothalamic glucose-inhibited orexin neurons may influence midbrain reward neurocircuitry. *Molecular and cellular neurosciences* 62:30-41.

Shioda N, Yabuki Y, Kobayashi Y, Onozato M, Owada Y, Fukunaga K (2014) FABP3 protein promotes alpha-synuclein oligomerization associated with 1-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurotoxicity. *The Journal of biological chemistry* 289:18957-18965.

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. *Journal of abnormal psychology* 117:924-935.

Taib B, Bouyakdan K, Hryhorczuk C, Rodaros D, Fulton S, Alquier T (2013) Glucose regulates hypothalamic long-chain fatty acid metabolism via AMP-activated kinase (AMPK) in neurons and astrocytes. *The Journal of biological chemistry* 288:37216-37229.

Tan MC, Matsuoka S, Ano H, Ishida H, Hirose M, Sato F, Sugiyama S, Murata M (2014) Interaction kinetics of liposome-incorporated unsaturated fatty acids with fatty acid-binding protein 3 by surface plasmon resonance. *Bioorganic & medicinal chemistry* 22:1804-1808.

Tanner GR, Lutas A, Martínez-François JR, Yellen G (2011) Single K(ATP) channel opening in response to action potential firing in mouse dentate granule neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 31:8689-8696.

- Walsh JJ, Han MH (2014) The heterogeneity of ventral tegmental area neurons: Projection functions in a mood-related context. *Neuroscience* 282C:101-108.
- Wang GJ, Volkow ND, Logan J, Pappas NR, Wong CT, Zhu W, Netusil N, Fowler JS (2001) Brain dopamine and obesity. *Lancet* 357:354-357.
- Wang H, Astarita G, Taussig MD, Bharadwaj KG, DiPatrizio NV, Nave KA, Piomelli D, Goldberg IJ, Eckel RH (2011) Deficiency of lipoprotein lipase in neurons modifies the regulation of energy balance and leads to obesity. *Cell metabolism* 13:105-113.
- Wang R, Cruciani-Guglielmacci C, Migrenne S, Magnan C, Cotero VE, Routh VH (2006) Effects of oleic acid on distinct populations of neurons in the hypothalamic arcuate nucleus are dependent on extracellular glucose levels. *Journal of neurophysiology* 95:1491-1498.
- Yetnikoff L, Lavezzi HN, Reichard RA, Zahm DS (2014) An update on the connections of the ventral mesencephalic dopaminergic complex. *Neuroscience* 282:23-48.
- Zhou J, Stubhaug I, Torstensen BE (2010) Trans-membrane uptake and intracellular metabolism of fatty acids in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) hepatocytes. *Lipids* 45:301-311.

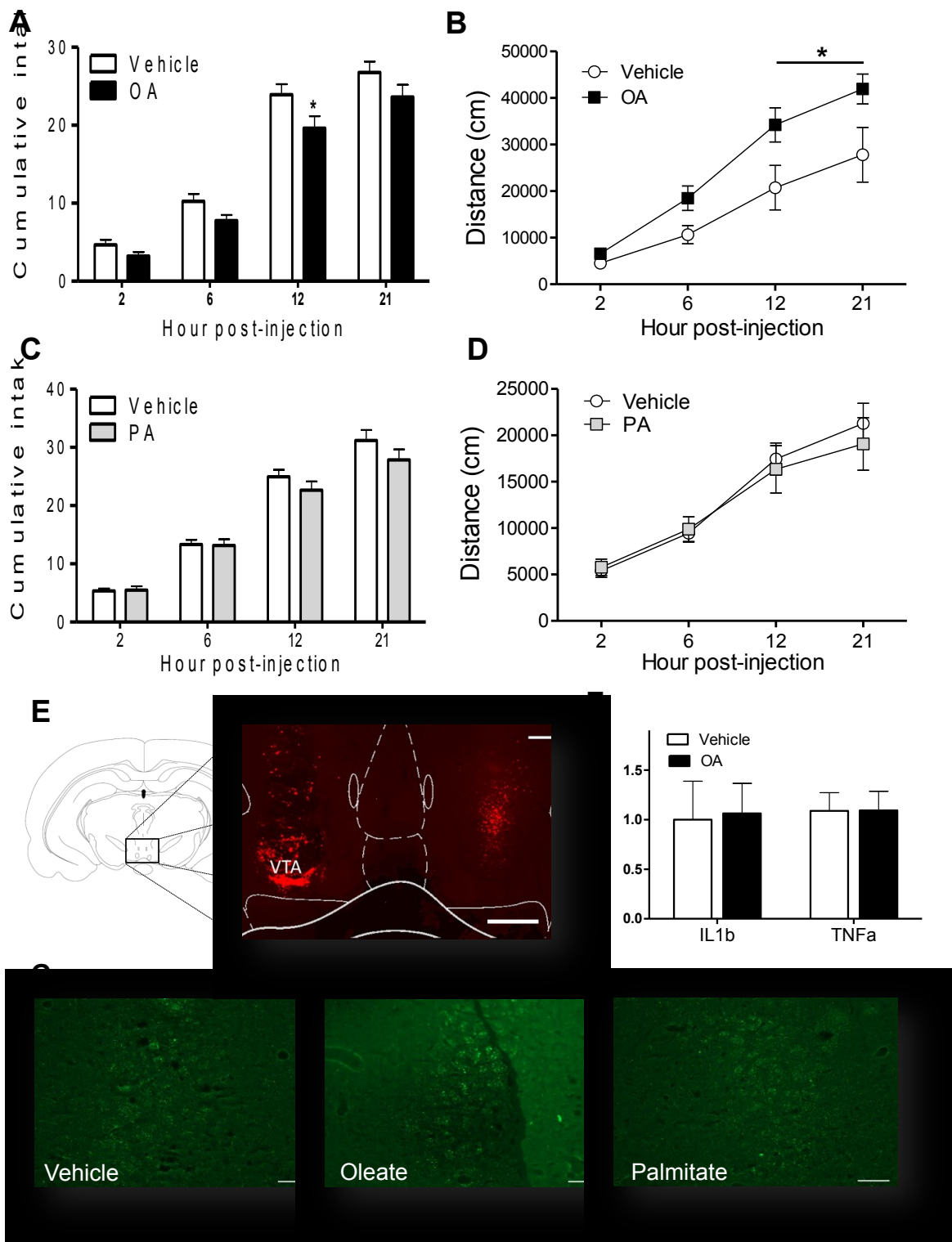


Figure 1. Intra-VTA oleate inhibits food intake and stimulates locomotor activity. Bilateral micro-injection of OA (6nmol/side) reduced food intake (A) and increased locomotor activity (B). (C-D) Injection of PA into the VTA at an equivalent concentration had no effect

on food intake and locomotion. n=12-15/group group for food intake assessments; n=7-10/group for locomotor activity experiment. **(E)** VTA cannula placement verification using rhodamine nanobeads (scale bar: 500 μ m). **(F)** IL-1 β and TNF α gene expression was similar between vehicle and OA-injected rats. Normalized to β -actin; n=9-10/group. **(G)** FluoroJade-C staining was similar in rats receiving VTA injection of vehicle, OA or PA. Results are expressed as mean \pm SEM. One-way ANOVA. *p< 0.05 vs. vehicle injected animals.

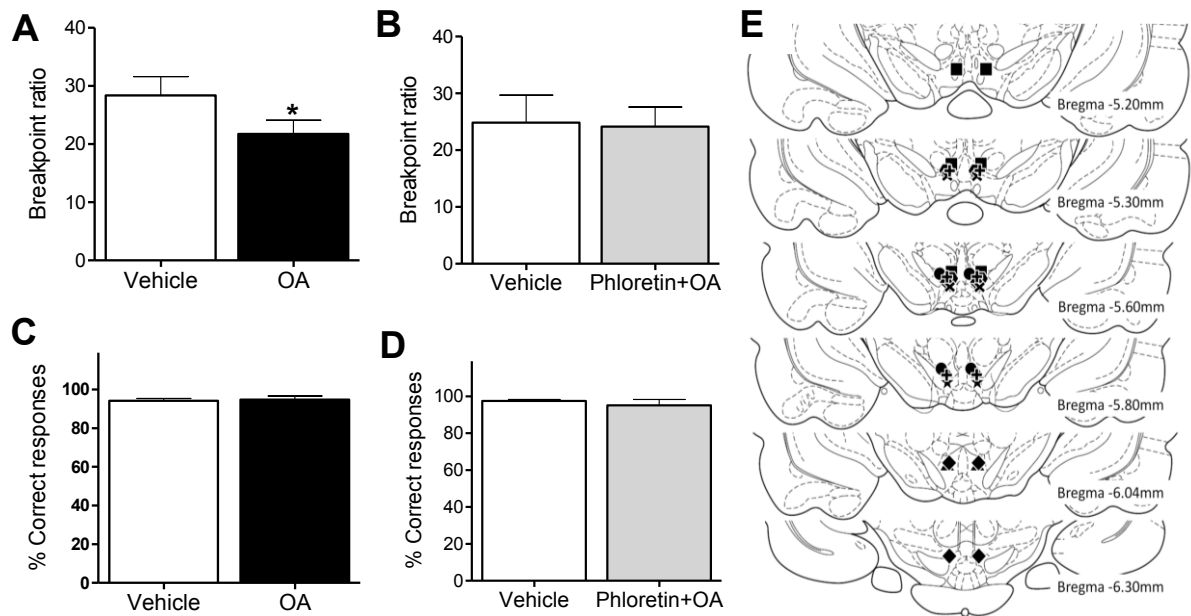


Figure 2. Oleate blunts the rewarding effects of high-fat/sugar food. (A) Intra-VTA injection of OA decreased breakpoint responding for high-fat/sucrose pellets in a progressive ratio operant task. (B) The co-injection of the transporter blocker phloretin prevented the effect of OA. (C-D) The percentage of correct lever responses was unaffected by either treatment. (E) Injector cannula placements; each symbol depicts a different rat (n=7). Results are expressed as mean \pm SEM. * $p < 0.05$.

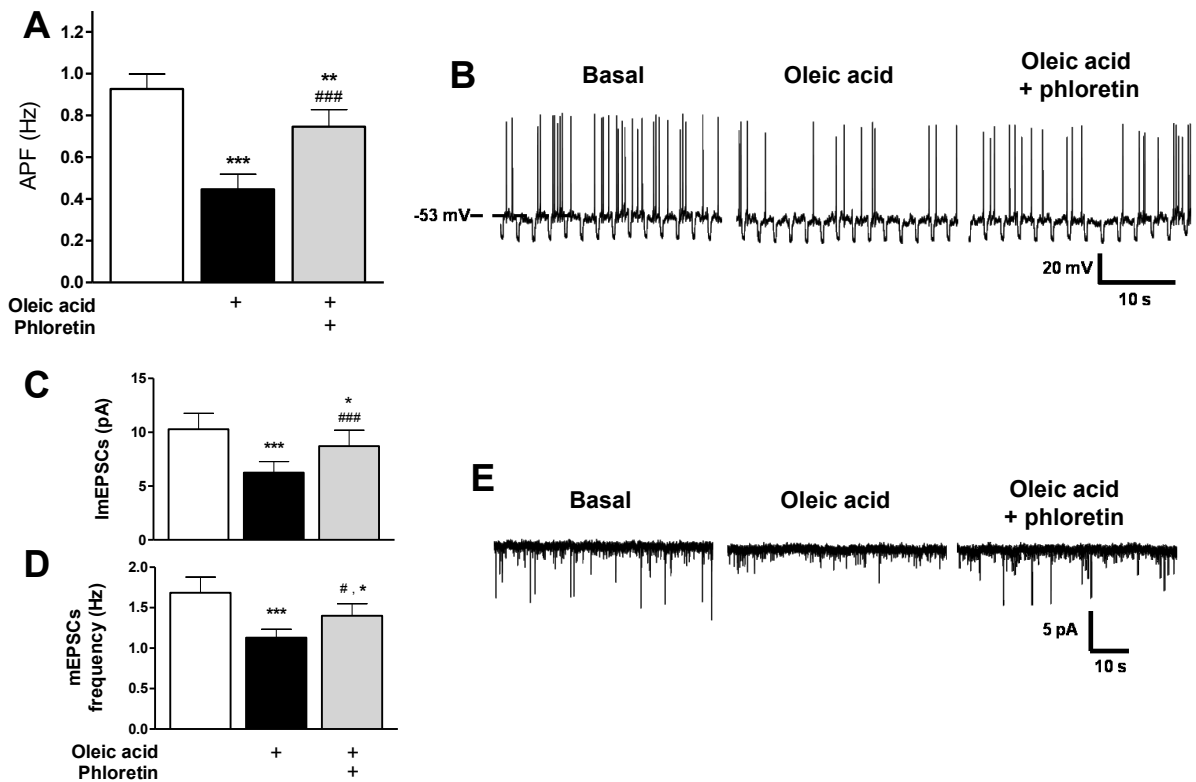


Figure 3. Oleate modulates dopamine neuronal activity. (A) Whole-cell current clamp recordings of spontaneous electrical activity of VTA DA neurons. OA decreased action potential frequency (APF) of the majority of recorded DA neurons. The co-application of phloretin prevented OA-induced APF inhibition. $n=6$. (B) Representative trace. Resting membrane potential is indicated by the horizontal dashed line and noted on the left. (C, D) Voltage clamp recordings showing that OA decreased the amplitude (I_{mEPSC} , C) and the frequency (D) of miniature excitatory post-synaptic currents in OA-inhibited neurons, an effect prevented by phloretin. $n=7$. (E) Representative traces. Downward deflections represent mEPSCs. Results are expressed as mean \pm SEM. One-way standard (A, B) or repeated measures (C, D, E) ANOVA. * $p<0.05$. ** $p<0.01$. *** $p<0.001$.

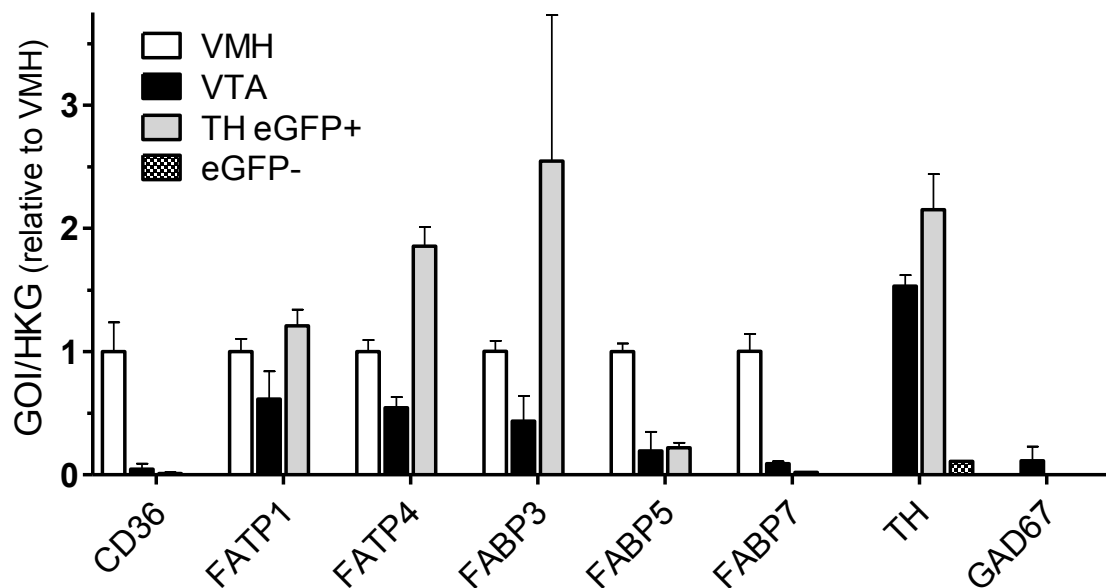


Figure 4. Gene expression profile of fatty acid handling proteins in dopamine neurons and VTA. DA neurons (GFP+) and non-DA cells (GFP-) were FACS-sorted from TH-eGFP mice. GFP+ neurons were dopaminergic as evidenced by high levels of TH mRNA and absence of GAD67 mRNA. Cyclophilin served as reference gene and all results were normalized to values obtained from VMH tissue. FABP: fatty acid binding protein, FATP: fatty acid transport protein, GAD67: glutamate decarboxylase, TH: tyrosine hydroxylase.

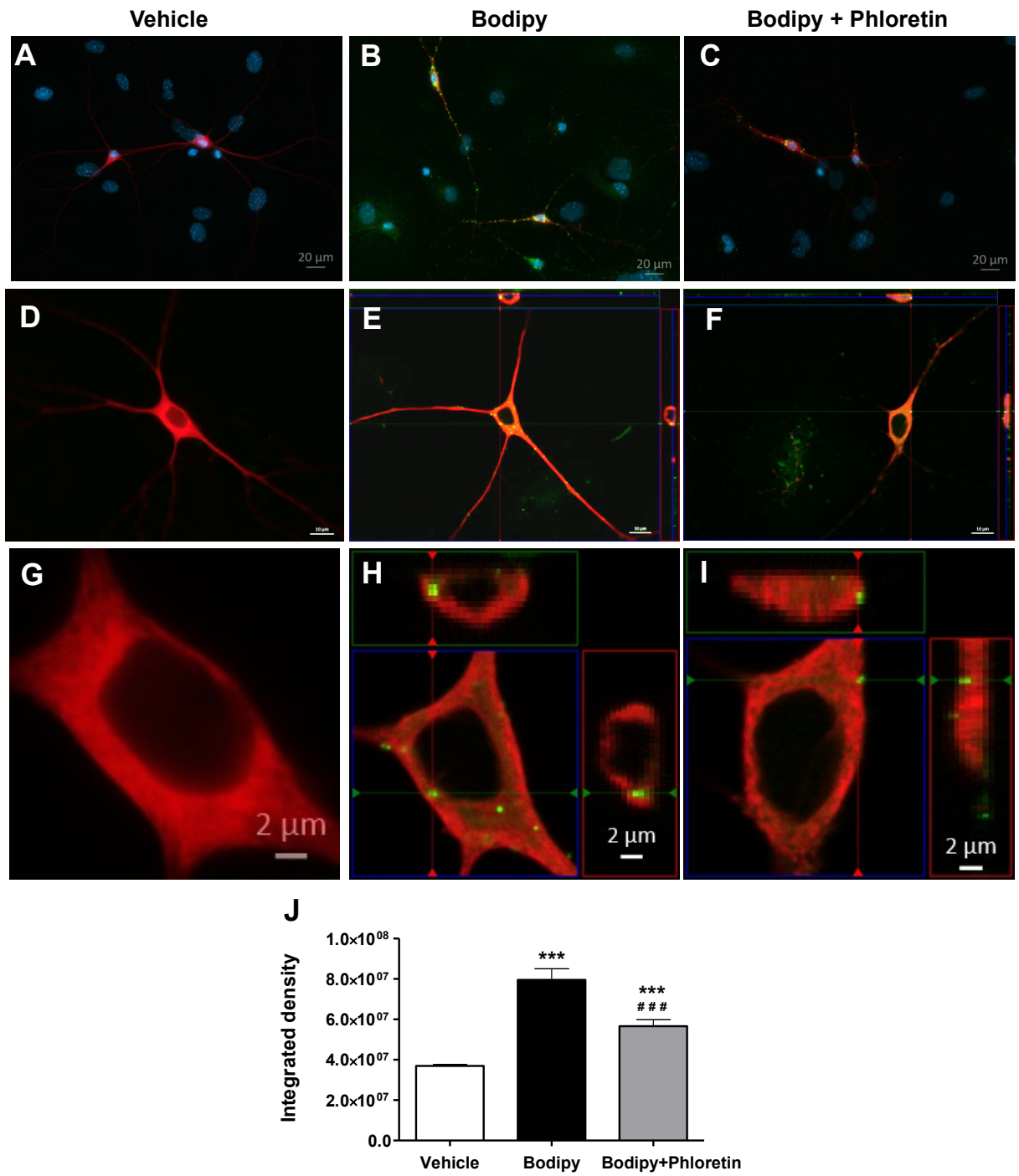


Figure 5. Fatty acid uptake in primary dopamine neurons. Application of the long-chain FA analogue BODIPY to the culture medium resulted in intracellular punctuate labeling (green) in the cytoplasm as well as processes of DA neurons identified by TH-immunofluorescence (red). (A, D, G) Vehicle application. (B, E, H) BODIPY (20µM) application (C, F, I). BODIPY (20µM) + phloretin (100µM) application. (J) BODIPY

fluorescence intensity values across treatment conditions. Three coverslips per condition. Results are expressed as mean \pm SEM. One-way ANOVA. ***p < 0.001 vs vehicle, ### p < 0.001 vs BODIPY. TH: tyrosine hydroxylase.

Article 2 : Effets des acides gras alimentaires sur la fonction dopaminergique mésolimbique

**Dampened mesolimbic dopamine function and signaling by
saturated but not monounsaturated dietary lipids**

Cecile Hryhorczuk, MSc^{1,3}, Marc Florea, MSc⁶, Demetra Rodaros, MSc¹, Isabelle Poirier, BSc², Caroline Daneault⁵, Christine Des Rosiers, PhD^{2,5}, Andreas Arvanitogiannis, PhD⁶, Thierry Alquier, PhD^{1,4}, Stephanie Fulton, PhD^{1,2}

1-Centre de Recherche du CHUM and Montreal Diabetes Research Center; Departments of: 2-Nutrition, 3-Physiology, 4-Medicine, Université de Montréal; 5- Montreal Heart Institute; 6-Center for Studies in Behavioral Neurobiology, Concordia University, Montreal, QC Canada

Running title: Saturated fat suppresses mesolimbic function

Correspondence:

Stephanie Fulton, PhD

CRCHUM &

Montreal Diabetes Research Center

900 rue Saint-Denis, Office 8-428

Montreal, QC

CANADA H2X 0A9

Tel. 514.890.8000 ex 23602

stephanie.fulton@umontreal.ca

Abstract

Over consumption of dietary fat is increasingly linked with motivational and emotional impairments. Human and animal studies demonstrate associations between obesity and blunted reward function at the behavioral and neural level, but it is unclear to what degree such changes are a consequence of an obese state and whether they are contingent on dietary lipid class. We sought to determine the impact of prolonged ad libitum intake of diets rich in saturated or monounsaturated fat, separate from metabolic signals associated with increased adiposity, on dopamine (DA)-dependent behaviors and to identify pertinent signaling changes in the nucleus accumbens (NAc). Male rats fed a saturated (palm oil), but not an isocaloric monounsaturated (olive oil), high-fat diet exhibited decreased sensitivity to the rewarding (place preference) and locomotor-sensitizing effects of amphetamine as compared to low-fat diet controls. Blunted amphetamine action by saturated high-fat feeding was entirely independent of caloric intake, weight gain and plasma levels of leptin, insulin and glucose and was accompanied by biochemical and behavioral evidence of reduced D1R signaling in the NAc. Saturated high-fat feeding was also tied to protein markers of increased AMPA receptor mediated plasticity and decreased DA transporter expression in the NAc but not to alterations in DA turnover and biosynthesis. Collectively, the results suggest that intake of saturated lipids can suppress DA signaling apart from increases in body weight and adiposity-related signals known to affect mesolimbic DA function, in part by diminishing D1 receptor signaling, and that equivalent intake of monounsaturated dietary fat protects against such changes.

Introduction

Growing evidence suggests that dietary lipids can impact behavior and mental health. While well associated with obesity and cardiometabolic disease, excess intake of fat is increasingly linked to motivational and emotional impairments and the development of neuropsychiatric disorders (Bale et al, 2010; Hryhorczuk et al, 2013; Lai et al, 2014). Prolonged intake of high-fat food in rodents can reduce mesolimbic dopamine (DA) function and turnover (Davis et al, 2008), decreased nucleus accumbens (NAc) DA overflow (Geiger et al, 2009), modulate DA-

related behaviors and striatal neuroadaptive responses (Sharma et al, 2013a; Sharma and Fulton, 2013b; Teegarden et al, 2009; Vucetic et al, 2012) and blunt DA reuptake in the NAc (Cone et al, 2013). We previously found that chronic high-fat feeding and weight gain in mice promotes depressive-like behavior, enhances physiological and behavioral responses to stress and elicits neuroplastic changes in the ventral tegmental area (VTA) and striatum coincident with reduced DA tone (Sharma et al, 2013a; Sharma et al, 2013b).

Metabolic status has long been known to modulate the response to drugs of abuse (Carr, 2007). More recently it was established that peripherally-derived hormones such as leptin and insulin, the levels of which are largely regulated by caloric load and diet composition, target the VTA to affect reward-relevant behaviors and psychostimulant action (Abizaid et al, 2006; Fulton et al, 2006; Labouebe et al, 2013). Though study of the interaction between metabolic hormones and DA-dependent behavior and signaling has received considerable attention, little is known about how dietary lipids impact mesolimbic function apart from major metabolic changes associated with weight gain.

Several lines of evidence suggest that peripheral metabolic tissues are differentially impacted by saturated and unsaturated fat. Relative to diets comprising mostly unsaturated fat, a diet enriched in saturated fat can have deleterious metabolic actions that include increasing visceral fat mass (de Wit et al, 2012; Rosqvist et al, 2014). Here we studied the effects of prolonged intake of high-fat diets containing saturated or monounsaturated fat on DA-dependent behaviors and signaling in a manner that permitted assessment of dietary lipid impact separately from key metabolic changes known to affect mesolimbic function. Our results show that, independent of caloric intake, weight gain and leptin, insulin and glucose levels, saturated but not monounsaturated high-fat feeding decreases sensitivity to the rewarding effects of amphetamine (AMPH), suppresses the locomotor-sensitizing effects of AMPH, attenuates D1 receptor-induced locomotor responses and elicits neuroadaptations in the NAc coincident with decreased D1R signaling and enhanced AMPA receptor-mediated plasticity.

Materials and methods

Animals and diets. All experimental manipulations were carried out in accordance with the guidelines of the CRCHUM Animal Care Committee and where applicable the Concordia

University Animal Research Ethics Committee. Male Wistar rats (Charles River, St Constant, QC, Canada) weighing between 250-280g upon arrival were housed 2 per cage in a reversed 12h-light-dark cycle (lights off at 10am). Rats were assigned one of three customized diets: (1) a low-fat, control diet containing roughly equal amounts of monounsaturated and saturated fatty acids (FAs) (“CTL”; AIN-93G Purified Rodent Diet with 17% Kcal from fat derived from soybean oil, Dyets Inc.), (2) a monounsaturated high-fat diet (HFD; “OLIVE”, Modified AIN-93G Purified Rodent Diet with 50% Kcal from fat derived from olive oil) or (3) a saturated HFD (“PALM”, Modified AIN-93G Purified Rodent Diet with 50% Kcal from fat derived from palm oil). As depicted in Table S1, the three diets were designed for equal sucrose content, and the two HFDs were matched for protein, fat content and caloric density. Rats were singly-housed for feeding and body weight measures. Food intake and body weight were measured once per week just before dark cycle onset. All behavioral tests were conducted 8 to 9 weeks after the start of the diet and animals were maintained on their respective diet throughout each experiment.

Drugs. *d*-amphetamine sulfate (AMPH; Sigma-Aldrich, Dorset, United Kingdom) was dissolved in 0.9% saline (SAL) and administered intraperitoneally (IP) at 0.75, 1.5, 3 or 4.5mg/kg in SAL. The D1 receptor agonist SKF82958 (Santa Cruz, Dallas, Texas, USA) was dissolved in 0.9% SAL and administered IP at 0.1mg/kg.

Amphetamine-induced conditioned place preference. Rats (n=75) from each diet group were randomly assigned to one of three AMPH doses. Conditioned place preference (CPP) chambers had two compartments distinguished by tactile and visual cues and a neutral middle compartment connected by manual guillotine doors (Med Associates, Inc.; St. Albans, VT, USA). All testing was performed during the dark phase. Pre-test: On the first day of the experiment rats were placed in the middle compartment and allowed to explore the entire apparatus for 15 minutes. Time spent in each compartment was recorded (MedPC-IV Software, Med Associates). Assignment of AMPH treatment to a compartment (AMPH-paired) and to the initial preferred or non-preferred side was counterbalanced within each diet group. Conditioning (3 days): Rats were injected with SAL and confined to one side of the apparatus for 30 minutes. Four hours later they were injected with AMPH (1.5, 3.0 or 4.5mg/kg) and confined to the other side of the apparatus. Post-test: Rats were placed in the

middle compartment with the doors open and were free to explore the entire apparatus for 15 minutes. Time spent in each compartment was recorded and compared to pre-test measures. Results are expressed as time spent in the AMPH-paired side minus time spent in the SAL-paired side during pre- and post-test day.

Amphetamine sensitization. Testing was carried out in chambers (42 x 42 x 21 cm) using the Versamax Animal Activity Monitoring system (AccuScan Instruments, Columbus, OH, USA). Habituation: Following 8 weeks on one of three diets, a new cohort of rats (n=46) was placed in the chambers and locomotor activity was recorded for 6 hours in the middle of the dark phase to assess basal locomotion. Pre-treatment: The following day rats from each diet group were split in two groups that were matched for average body weight. Rats were injected with AMPH (1.5mg/kg) or SAL once every 2 days for 10 days (5 injections). Rats were kept in the test chambers during the entire pre-treatment period and returned to their home cage after the last injection. Sensitization: Seven days after the last pre-treatment injection, all rats received 0.75mg/kg of AMPH. Locomotor activity was recorded 1 hour before and 2 hours after injection.

D1 receptor-induced locomotion. A separate group of rats (n=25) were used to test the locomotor response to a D1R agonist (SKF82958). A 0.1mg/kg dose was chosen as it was shown to be the lowest dose to induce locomotion in Wistar rats (Wang and McGinty, 1997). Rats were acclimated to locomotor chambers described above one day before testing. Locomotor activity was measured 1 hour prior and 3 hours after injection in the middle of the light phase.

Plasma biochemical analyses. Rat (n=49) were sacrificed after 8 weeks of diet. Blood was collected in EDTA-coated tubes and centrifuged at 11000g for 15 minutes at 4°C. Plasma was kept at -20°C until use. Leptin and insulin levels were analyzed by ELISA kits (EMD Millipore, Billerica, MA, USA and ALPCO Diagnostics, Salem, NH, USA). Glycemia was assessed from tail blood after 7.5 weeks on each diet using a glucometer (Accu-Check, Roche Diagnostics, Basel, Switzerland).

Gas chromatography-mass spectrometry. Plasma fatty acid composition was measured by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) using a previously described modified method

(Gelinas et al, 2011). Briefly, total lipids were extracted with a mixture of methyl-tert-butyl ether (MTBE), methanol and water, according to Matyash et al. (Matyash et al. 2008) and FAs were analyzed as their methyl ester (FAME) derivatives. Injections (2 μ L) were performed into an Agilent 6890N gas chromatograph equipped with a Select FAME CP7420 capillary column (100 m; 250 μ m inner diameter; 230 μ m thickness) coupled with a 5975 Mass Selective Detector operated in PCI mode using ammonia as reagent gas. FAs were identified according to their retention time and m/z, and their concentration was calculated according to a mix of internal and external labeled standards with known concentrations.

High-performance liquid chromatography. Ten days after the CPP task, rats (from the 3.0mg/kg AMPH condition) were anesthetized, decapitated and brains removed and frozen. Brains were stored at -80°C until further use. Brain punches of the NAc were collected on 300 μ m brain sections and kept at -80°C. One week before the experiment 100 μ l of filtered 0.1M phosphate buffer was added to the punches. Tubes were vortexed for 20 seconds and samples were centrifuged at 10000rpm for 10 minutes at 4°C. 150 μ l of 0.1M NaOH were added to the protein pellets and concentrations were determined using the BCA Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL, USA). The supernatant was filtered (0.45 μ m syringe driven filter units, EMD Millipore) and 10 μ l were used to determine DA, homovanillic acid (HVA) and 3,4-Dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) content as previously described (Hernandez et al, 2007).

Western immunoblotting. Brains from a separate group of drug-naïve rats (n=36) after 8 weeks of diet were rapidly removed and frozen. Tissue punches of the NAc (core and shell) were homogenized in 50 μ l of lysis buffer - 20mM Tris, pH 7.5; 150mM NaCl; 1mM Na₂EDTA; 1mM EGTA; 1% Triton; 2.5mM sodium pyrophosphate; 1mM β -glycerophosphate; 1mM sodium orthovanadate; 1 μ g/ml leupeptin; 1mM phenylmethylsulfonyl fluoride; 1 μ l phosphatase inhibitors cocktails 2 and 1 μ l phosphatase inhibitors cocktails 3 (Sigma-Aldrich). Homogenates were centrifuged at 13000g for 10min at 4°C. Supernatants were collected and proteins quantified with a BCA Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific Inc.). Proteins were separated on a 10% sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel by electrophoresis and transferred onto a nitrocellulose membrane (Bio-Rad, Bedford, MA, USA). Membranes were incubated for 2 h at room temperature in 5% skim milk - Tris-Buffered Saline - 0.1% Tween-

20 (TBS-T) (5% SKM) to block non-specific binding sites and probed overnight at 4°C with primary antibody (anti-TH, 1:40000, Millipore MAB318; anti-DAT, 1:1000, Millipore AB2231; anti-D1R, 1:500, Millipore AB1784P; anti-phospho DARPP-32Thr34, 1:1000, Santa Cruz sc135687; anti-phospho DARPP-32Thr75, 1:1000, Cell Signaling 2301s; anti-DARPP-32, 1:1000, Cell Signaling 2302; anti-GAPDH, 1:50000, Cell Signaling 2118; anti-GLUR1, 1:1000, Santa Cruz sc13152) in 5% SKM except for D2R (1:1000; Millipore AB5084P) and phospho-GluR1 Ser845 (1:1000; Santa Cruz sc135699) which were incubated in 3% BSA (Sigma-Aldrich). Following rinses in TBS-T, membranes were incubated for 2h at room temperature with the appropriate secondary antibody coupled to horseradish peroxidase (Goat anti-Rabbit IgG-HRP, 1:10000, Bio-Rad 170-6515 or Goat anti-Mouse IgG-HRP, 1:10000, Bio-Rad 170-6516) in 5% SKM. Antibodies were revealed by chemiluminescence using the Western Lightning Plus-ECL Kit (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) and autoradiography films (Harvard Apparatus Canada). Signals were scanned and analyzed by densitometry using ImageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>). Protein size was determined using a protein standard (Bio-Rad).

Statistical analyses. Results were analyzed using GraphPad Prism v6. A one-way analysis of variance (ANOVA) with Bonferonni post-tests was used to analyze AMPH locomotor sensitization, metabolic and protein expression data. Analyzed and illustrated AMPH locomotor sensitization results represent AUC values (locomotor activity 2 hours post-injection) of AMPH treated rats normalized to AUC values of saline treated rats. A linear regression analysis with dose as a continuous variable was employed to determine the effects of diet on AMPH CPP across the three doses tested. At each AMPH dose, one-tailed t-tests were used to assess AMPH place preference within each diet. For analysis of the D1 receptor agonist data we used a non-parametric Kruskal-Wallis test with post-hoc Dunn's pairwise comparisons due to the detection of unequal variances between diet groups. Data are presented as mean \pm standard error of the mean (SEM). Statistical significance was set at $p \leq 0.05$.

Results

Diet-induced metabolic outcomes

All animals gained weight over the course of the diet manipulation; however there were no differences in caloric intake and body weight gain between the CTL, OLIVE and PALM groups after 8 weeks (Fig. 1A and B). Palmitate and oleate are the two most abundant circulating long-chain fatty acids and are major constituents of the PALM and OLIVE diets, respectively (Table S1). To verify that dietary interventions modified the plasma composition of these FAs in the expected manner, we measured plasma FA levels by GC-MS. As shown in Figure 1C, the plasma ratio of oleate to palmitate largely matches the diet ratio of these FAs (Fig. 1C inset). Finally, we measured the circulating concentrations of three metabolic signals known to impact mesolimbic DA tone, namely glucose, leptin and insulin, and found no differences between the PALM, OLIVE and CTL groups following the dietary intervention (Fig. 1D-F)

A saturated high-fat diet decreases sensitivity to the rewarding effects of AMPH

To determine if prolonged intake of a saturated or a monounsaturated HFD can affect mesolimbic DA reward function we studied the effects of diet on AMPH place preference using three doses of AMPH, each dose administered to a separate group of rats. At the lowest dose tested (1.5mg/kg) only the CTL group developed a significant AMPH place preference while the OLIVE group showed a modest, non-significant, place preference and the PALM group failed to show preference for the AMPH-paired side (Fig. 2A). Both the CTL and OLIVE groups but not the PALM group demonstrated a significant CPP at a higher AMPH dose (3.0mg/kg, Fig. 2B). Finally, at the highest dose tested (4.5mg/kg), rats fed the OLIVE diet exhibited place preference and there was a near-significant CPP in rats fed the PALM diet (Fig. 2C). As illustrated in Figure 2D, the magnitude of AMPH CPP for the CTL and OLIVE groups was similar across the three doses whereas preference for the AMPH-paired side increased as a function of dose for the PALM group (linear regression, $p \leq 0.05$ vs. CTL group).

Saturated high-fat feeding suppresses the locomotor-sensitizing effects of AMPH

To further assess mesolimbic function we examined the locomotor sensitizing effects of AMPH following the three diets. Seven days following AMPH or SAL pre-treatment

injections, locomotor activity was measured in response to a lower dose of AMPH according to a protocol of repeated intermittent AMPH exposure (Robinson and Becker, 1986) (Fig. 3A). While there was no difference in pretreatment (Fig. 3B) or in basal locomotor activity (Fig. 3C inset; measured for 6 hours prior to treatments), the locomotor-sensitizing effects of AMPH were attenuated in the PALM group relative to CTL (Fig. 3C and D).

Saturated high-fat feeding alters expression of DA-related proteins without affecting DA turnover in the NAc

We next sought to determine if the observed behavioral changes elicited by saturated high-fat feeding are associated with alterations in DA-related protein expression and DA turnover in the NAc. As psychostimulant-induced locomotion requires NAc AMPA receptor activation (Wolf, 1998), we also measured the expression of the phosphorylated GluR1 subunit of the AMPA receptor. As shown in Figure 4A, dopamine transporter (DAT) protein levels, both mature glycosylated (membrane-bound, 75KDa) and immature non-glycosylated (50KDa) forms, were decreased in the NAc of the PALM group relative to CTLs. On the other hand, levels of D1R, pDARPP-32^{Thr75} and pGluR1^{Ser845} expression were increased in the PALM group as compared to CTLs. Expression of TH, D2R and pDARPP-32^{Thr34} did not differ between diet groups. Consistent with our behavioral results showing that the monounsaturated HFD largely fails to alter mesolimbic DA function, we did not find changes in any of the measured proteins in the OLIVE group. As the biochemical and behavioral alterations could be due to changes in DA metabolism, we quantified DA turnover in NAc samples via HPLC. NAc DA turnover, expressed as the ratio between DOPAC and DA, did not differ between groups (Fig. 4B-D).

Saturated high-fat feeding attenuates the locomotor response to a D1R agonist

As an inhibitor of cAMP-dependent protein kinase (PKA), the observed increases in pDARPP-32 at Thr75 are suggestive of decreased D1R-PKA signaling. Given that D1R and its downstream effector PKA are critical for the sensitizing (Vezina, 2004), conditioned activity (Gerdjikov et al, 2007) and conditioned rewarding effects of AMPH (Beninger et al, 2003), we investigated locomotor activity following administration of a D1R agonist. Relative to the saline-injected control condition (Fig. 5A), the agonist effectively stimulated locomotor

activity in each diet group (Fig. 5B), however the locomotor response to the D1 agonist was reduced in rats fed the PALM diet relative the OLIVE group.

Discussion

Beyond its adverse effects on metabolic and cardiovascular health, emerging findings are linking excess dietary fat and the development of obesity to impaired neural signalling and neurological disorders such as depression (reviewed in Hryhorczuk et al., 2013 and Martinez-Gonzalez and Martin-Calvo, 2013). Comparing two principle lipid classes, here we find that chronic intake of a saturated HFD independent of obesity or weight gain suppressed DA-dependent behaviors whereas an isocaloric diet consisting of monounsaturated lipids was protective. This dampening of mesolimbic function by saturated fat intake is tied to attenuated D1R signaling, lower DAT expression and increased AMPA receptor mediated plasticity in the NAc. Of significance, the observed changes in mesolimbic DA function did not rely on changes in key adiposity hormones known to modulate DA neurotransmission and thereby suggest that saturated dietary lipids can diminish reward-relevant function apart from neuroadaptive processes triggered by weight gain and obesity.

The dietary interventions aimed to assess the influence of fat type and amount on AMPH-induced behaviors and DA signaling. In order to remove the potential contribution of nutritional components other than fat, diets were designed to be ingredient-matched, including sources of carbohydrate and protein, and to have equal sucrose content. Although the type and amount of dietary fat, namely saturated and unsaturated, can lead to different metabolic outcomes in both in rodents (Buettner et al, 2006; Carsia et al, 2008; Keita et al, 2013) and humans (Kien et al, 2014; Rosqvist et al, 2014), caloric intake and body weight were similar across diet groups after 8 weeks in the present study, an effect that was reproducible over multiple cohorts we studied. Moreover, glucose, leptin and insulin levels were comparable across groups at the end of the 8-week regimen. Extending the period of high-fat feeding would likely result in significant metabolic changes as it is seen with rats of same strain fed HFD for longer periods of time (Hoefel et al, 2011; Panchal et al, 2011; Sampey et al, 2011). We cannot rule out that our saturated HFD regimen diminished central sensitivity to leptin and insulin or that alterations in other hormones contribute to our results. However, it should be

noted that HFD-induced central leptin and insulin resistance is characteristically associated with elevated plasma concentrations of these hormones and increased body weight (Munzberg et al, 2004; Wang et al, 2001b).

Previous studies report that diet-induced obesity (DIO) (Davis et al, 2008; Morales et al, 2012) or genetic susceptibility to DIO (Thanos et al, 2010) impairs acquisition of place preference induced by psychostimulant drugs. Here our results suggest that this effect is contingent on lipid class but not on weight gain and associated metabolic changes. Further, we extend these suppressive effects of saturated high-fat feeding to AMPH psychomotor sensitization, D1R-mediated locomotor responses and distinct neuroadaptive changes in the NAc. Prolonged intake of the saturated HFD (PALM) reduced the effectiveness of AMPH to elicit a place preference, an effect not observed with the monounsaturated (OLIVE) HFD. The saturated HFD prevented AMPH place preference acquisition at the lowest dose tested but became apparent as AMPH dose escalated to suggest that saturated high-fat feeding lowers the sensitivity to the conditioned rewarding effects of AMPH. Saturated high fat feeding is reported to disrupt the blood-brain barrier at the level of the hippocampus and impair learning and memory (Kanoski et al, 2010), advancing the possibility that reduced sensitivity of the PALM group in the CPP task could be linked to such impairments. However, hippocampal dysfunction appears to be tied to weight gain and increased adiposity not observed in the present study (Davidson et al, 2012). Our observations are in line with those of Davis and colleagues showing that high-fat feeding without added weight gain diminishes AMPH place preference (Davis et al, 2008). In this study however, access to the HFD was restricted (pair-feeding) contrary to the free-feeding conditions used here. Consistent with the CPP results, we found that the saturated HFD suppressed AMPH-induced locomotor sensitization. Although not statistically significant, animals consuming the monounsaturated HFD showed slightly reduced AMPH locomotor sensitization and appeared less responsive to the conditioned rewarding effects of AMPH at the lowest dose tested. Thus, we cannot exclude the possibility that consumption of the OLIVE HFD over a longer time period may also blunt mesolimbic signaling. Of note, given that locomotor responses to AMPH were similar across diet groups during the pretreatment phase of the locomotor sensitization test, it is unlikely that the effects of the PALM diet on AMPH-induced behavioral responses is due to changes in the

pharmacokinetic properties of the drug. Rather, saturated high-fat feeding appears to selectively modulate signaling mechanisms related to the neuroplastic changes associated with repeated AMPH treatment as opposed to those responsible for its primary neurophysiological effects.

Given that chronic food restriction increases the reward value of drugs of abuse (Carr, 2007) it is not surprising that sustained caloric overload has inverse actions. Consistent with this observation, heightened reward responses during food restriction have been linked to decreased leptin (Fulton et al, 2000) and insulin signaling (Carr et al, 2000). However, our findings suggest that increased caloric intake, body mass, leptin, insulin and glucose are not necessary for reduced mesolimbic DA function by high-fat feeding. One possibility is that excess dietary saturated fat results in higher circulating levels of saturated long-chain fatty acids like palmitate that may foster greater central actions of these FAs. Indeed, oleate and palmitate have distinct intracellular metabolism in the brain (Taib et al, 2013) and palmitate has been shown to act centrally to impair signaling processes including those that lead to reduced leptin receptor signaling (Benoit et al, 2009; Kleinridders et al, 2009). In line with this prospect, we found that the ratio of oleate to palmitate in plasma matched that of the different diets. Another possibility is that these dietary lipids differentially modulate gut ethanolamines that have been shown to influence DA tone via a gut-brain axis (Tellez et al, 2013). A final explanation stems from evidence that overconsumption of saturated fats stimulate peripheral and central immune responses (Maric et al, 2014; Thaler et al, 2012; Valdearcos et al, 2014; van Dijk et al, 2009). However, it should be noted that such pro-inflammatory processes have been consistently tied to a significant increases in body weight.

Behavioral perturbations by saturated HFD were accompanied by modifications in the expression of several DA-related proteins in the NAc. Levels of DAT were lower in the NAc of rats fed the saturated HFD. This finding is in agreement with a report by Cone et al. showing a reduction in the expression of the plasma membrane-associated immature form of DAT in the NAc of non-obese rats exposed to 6 weeks of HFD that was associated with reduced DA reuptake (Cone et al, 2013). Decreased DAT expression by saturated lipids may well contribute to diminished AMPH action as AMPH blocks DA reuptake and elicits reverse DA transport through DAT (Jones et al, 1998; Sulzer et al, 1995). Indeed, DAT expression

correlates positively with AMPH potency (Siciliano et al, 2014) and AMPH fails to evoke DA release and locomotion in mice lacking DAT (Cagniard et al, 2014; Jones et al, 1998; Spielewoy et al, 2001).

Additionally, our data suggest that reduced D1R signaling could be a factor underlying blunted AMPH action. While the saturated HFD increased D1R expression in the NAc this could be compensatory to decreased D1R signaling given that saturated HFD increased NAc pDARPP-32^{Thr75}, a marker of reduced D1R-PKA signaling and attenuated locomotor responses to a D1R agonist relative to rats fed the monounsaturated HFD. Indeed, D1R-PKA signaling plays a critical role in the expression of AMPH place preference and sensitization (Hiroi and White, 1991; Vezina, 2004) and thus saturated HFD may diminish AMPH conditioned responses via modifications in D1R. Interestingly, phosphorylation of DARPP-32^{Thr75} is under the control of cyclin-dependent kinase 5 (CDK5) and its activation by the transcription factor Δ FosB, two molecules that are upregulated in the NAc by chronic HFD (Sharma et al, 2013b; Teegarden et al, 2009). Contrary to reports that D2 receptor binding is suppressed in obese individuals (Stice et al, 2008; Volkow et al, 2008; Wang et al, 2001a) and D2 receptor expression is reduced in diet- (Johnson and Kenny, 2010) or genetically-induced (Hamdi et al, 1992) obese rodent models, we did not find significant decreases in D2 receptor levels. Thus, changes in D2 receptor expression, binding and signaling may be secondary to high-fat feeding that is coupled with weight gain and obesity.

Finally, the saturated HFD potentiated expression of the pGluR1^{Ser845} subunit of the AMPA receptor (AMPA) in the NAc. AMPAR transmission in the NAc is a crucial control point for psychostimulant-related behaviors: phosphorylation at the Ser845 residue of GluR1 promotes AMPAR insertion, increases excitability and is critical for synaptic plasticity (Loweth et al, 2014; van Huijstee and Mansvelder, 2014). It is not clear how such synaptic changes could contribute to suppressed AMPH responses by saturated dietary lipids. Palatable food and psychostimulants have been shown to increase pGluR1^{Ser845} in the NAc (Peng et al, 2011; Rauggi et al, 2005; Valjent et al, 2005) while increasing glutamatergic signaling in the NAc is reported to enhance goal-directed behavior for food (Stuber et al, 2011) and drug rewards (Cornish and Kalivas, 2000). We speculate that AMPAR-mediated synaptic adaptations by

saturated HFD could underlie potential increases in reward seeking behavior as a means to compensate for dampened mesolimbic function.

Future studies are warranted to identify how saturated lipid intake is modulating these NAc signaling elements; however our data suggest that they do not stem from alterations in DA metabolism and biosynthesis given that NAc DA turnover and TH expression were similar across groups. Though, interpretation of these tissue measures is limited by the fact that they do not provide a direct index of extracellular DA levels. Nonetheless, our findings are in agreement with data showing that 6 weeks of HFD fails to alter evoked DA release in the NAc of non-obese rats (Cone et al, 2013). On the other hand, there is evidence of decreased NAc DA flux in rats receiving HFD for 12 weeks (Davis et al, 2008). In view of the different diet durations used in these studies it may be that longer periods (>8 weeks) of high-fat feeding are required for decreases in NAc DA turnover in rats. Further studies are required to determine if altered DA and glutamatergic signaling and changes in the conditioned behavioral responses to AMPH by saturated HFD are tied to alterations in in vivo DA release.

Summary

Humans and animal studies have demonstrated associations between obesity and impaired reward function but it has not been clear if they are a consequence of the obese state, to what degree they depend on dietary components and if metabolic changes are involved. While genetic components underlying obesity can affect DA signaling and modulate reward sensitivity in humans (Stice and Dagher, 2010; Stice et al, 2008) and rodents (Fulton et al, 2006; Geiger et al, 2009; Shin et al, 2011) several lines of evidence suggest secondary influence of the obese state on reward functions (Davis et al, 2008; Fulton et al, 2006; Geiger et al, 2009; Johnson et al, 2010; Shin et al, 2011). Our results show that a diet rich in saturated fat independent of weight gain and related metabolic changes impairs sensitivity to the rewarding and locomotor effects of AMPH and elicits neuroadaptations in the NAc coincident with reduced D1R signaling. In line with the reward deficiency hypothesis (Davis et al, 2004; Wang et al, 2002), could excess saturated fat intake contribute to neurobehavioral adaptations that promote increased consumption of rewarding, palatable foods as a means to compensate for reward hyposensitivity? This possibility is supported by findings showing that blunted AMPH responses are linked to increased risk for compulsive drug use in humans (Casey et al,

2014). Furthermore, anhedonia (reduced ability to experience pleasure from reward), a feature of depression, is exhibited by rodents consuming a saturated HFD (Sharma et al, 2013a; Sharma et al, 2013b) and is associated with obesity in women (Davis et al, 2004). Indeed, the association between depression and obesity may be partly rooted in diets biased towards saturated fat intake (Hryhorczuk et al, 2013) as circulating levels of the saturated fatty acid palmitate correlate positively with depression severity in humans (Tsuboi et al, 2013). Determining the mechanisms by which overconsumption of saturated dietary lipids leads to perturbations in mesolimbic DA signaling may thus have important implications not only for our understanding of overeating and obesity but also for the link between mood disorders and metabolic disease.

Funding and disclosure

Supported by a CIHR grant (MOP123280) and CIHR New Investigator salary award to SF, by a CIHR grant (MOP115042) and Fonds de Recherche Québec-Santé salary award to TA, an NSERC (249848-2007 RGPIN) and FRQS group grant to the CSBN to AA, a CIHR grant (MOP9575) to CD and doctoral scholarships from the Montreal Diabetes Research Center/Université de Montréal and CMDO/Novo Nordisk to CH. The authors have nothing to disclose.

Acknowledgments

The authors wish to thank Daniel Palacios and Patrick Augustyniak for their technical help.

References

- Abizaid A, Liu ZW, Andrews ZB, Shanabrough M, Borok E, Elsworth JD, et al (2006). Ghrelin modulates the activity and synaptic input organization of midbrain dopamine neurons while promoting appetite. *The Journal of clinical investigation* 116(12): 3229-3239.
- Bale TL, Baram TZ, Brown AS, Goldstein JM, Insel TR, McCarthy MM, et al (2010). Early life programming and neurodevelopmental disorders. *Biological psychiatry* 68(4): 314-319.
- Beninger RJ, Nakonechny PL, Savina I (2003). cAMP-dependent protein kinase and reward-related learning: intra-accumbens Rp-cAMPS blocks amphetamine-produced place conditioning in rats. *Psychopharmacology* 170(1): 23-32.
- Benoit SC, Kemp CJ, Elias CF, Abplanalp W, Herman JP, Migrenne S, et al (2009). Palmitic acid mediates hypothalamic insulin resistance by altering PKC-theta subcellular localization in rodents. *The Journal of clinical investigation* 119(9): 2577-2589.
- Berthoud HR (2012). The neurobiology of food intake in an obesogenic environment. *The Proceedings of the Nutrition Society* 71(4): 478-487.
- Buettner R, Parhofer KG, Woenckhaus M, Wrede CE, Kunz-Schughart LA, Scholmerich J, et al (2006). Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *Journal of molecular endocrinology* 36(3): 485-501.
- Cagniard B, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, Zhuang X (2014). The dopamine transporter expression level differentially affects responses to cocaine and amphetamine. *Journal of neurogenetics* 28(1-2): 112-121.
- Carr KD (2007). Chronic food restriction: Enhancing effects on drug reward and striatal cell signaling. *Physiology & behavior* 91(5): 459-472.
- Carr KD, Kim G, Cabeza de Vaca S (2000). Hypoinsulinemia may mediate the lowering of self-stimulation thresholds by food restriction and streptozotocin-induced diabetes. *Brain research* 863(1-2): 160-168.
- Carsia RV, Weber H, McIlroy PJ, Hock CE (2008). Long-term dietary lipid regimen alters adrenocortical function at the cellular level. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme* 40(12): 848-853.
- Casey KF, Benkelfat C, Cherkasova MV, Baker GB, Dagher A, Leyton M (2014). Reduced dopamine response to amphetamine in subjects at ultra-high risk for addiction. *Biological psychiatry* 76(1): 23-30.

Cone JJ, Chartoff EH, Potter DN, Ebner SR, Roitman MF (2013). Prolonged high fat diet reduces dopamine reuptake without altering DAT gene expression. *PLoS one* 8(3): e58251.

Cornish JL, Kalivas PW (2000). Glutamate transmission in the nucleus accumbens mediates relapse in cocaine addiction. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 20(15): Rc89.

Davidson TL, Monnot A, Neal AU, Martin AA, Horton JJ, Zheng W (2012). The effects of a high-energy diet on hippocampal-dependent discrimination performance and blood-brain barrier integrity differ for diet-induced obese and diet-resistant rats. *Physiology & behavior* 107(1): 26-33.

Davis C, Strachan S, Berkson M (2004). Sensitivity to reward: implications for overeating and overweight. *Appetite* 42(2): 131-138.

Davis JF, Tracy AL, Schurdak JD, Tschop MH, Lipton JW, Clegg DJ, et al (2008). Exposure to elevated levels of dietary fat attenuates psychostimulant reward and mesolimbic dopamine turnover in the rat. *Behavioral neuroscience* 122(6): 1257-1263.

de Wit N, Derrien M, Bosch-Vermeulen H, Oosterink E, Keshtkar S, Duval C, et al (2012). Saturated fat stimulates obesity and hepatic steatosis and affects gut microbiota composition by an enhanced overflow of dietary fat to the distal intestine. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology* 303(5): G589-599.

Fulton S, Pissios P, Manchon RP, Stiles L, Frank L, Pothos EN, et al (2006). Leptin regulation of the mesoaccumbens dopamine pathway. *Neuron* 51(6): 811-822.

Fulton S, Woodside B, Shizgal P (2000). Modulation of brain reward circuitry by leptin. *Science* 287(5450): 125-128.

Geiger BM, Haburcak M, Avena NM, Moyer MC, Hoebel BG, Pothos EN (2009). Deficits of mesolimbic dopamine neurotransmission in rat dietary obesity. *Neuroscience* 159(4): 1193-1199.

Gelinas R, Thompson-Legault J, Bouchard B, Daneault C, Mansour A, Gillis MA, et al (2011). Prolonged QT interval and lipid alterations beyond beta-oxidation in very long-chain acyl-CoA dehydrogenase null mouse hearts. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 301(3): H813-823.

Gerdjikov TV, Giles AC, Swain SN, Beninger RJ (2007). Nucleus accumbens PKA inhibition blocks acquisition but enhances expression of amphetamine-produced conditioned activity in rats. *Psychopharmacology* 190(1): 65-72.

Hamdi A, Porter J, Prasad C (1992). Decreased striatal D2 dopamine receptors in obese Zucker rats: changes during aging. *Brain research* 589(2): 338-340.

Hernandez G, Haines E, Rajabi H, Stewart J, Arvanitogiannis A, Shizgal P (2007). Predictable and unpredictable rewards produce similar changes in dopamine tone. *Behavioral neuroscience* 121(5): 887-895.

Hiroi N, White NM (1991). The amphetamine conditioned place preference: differential involvement of dopamine receptor subtypes and two dopaminergic terminal areas. *Brain research* 552(1): 141-152.

Hoefel AL, Hansen F, Rosa PD, Assis AM, Silveira SL, Denardin CC, et al (2011). The effects of hypercaloric diets on glucose homeostasis in the rat: influence of saturated and monounsaturated dietary lipids. *Cell biochemistry and function* 29(7): 569-576.

Hryhorczuk C, Sharma S, Fulton SE (2013). Metabolic disturbances connecting obesity and depression. *Frontiers in neuroscience* 7: 177.

Johnson PM, Kenny PJ (2010). Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. *Nature neuroscience* 13(5): 635-641.

Jones SR, Gainetdinov RR, Wightman RM, Caron MG (1998). Mechanisms of Amphetamine Action Revealed in Mice Lacking the Dopamine Transporter. *The Journal of Neuroscience* 18(6): 1979-1986.

Kanoski SE, Zhang Y, Zheng W, Davidson TL (2010). The effects of a high-energy diet on hippocampal function and blood-brain barrier integrity in the rat. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 21(1): 207-219.

Keita H, Ramirez-San Juan E, Paniagua-Castro N, Garduno-Siciliano L, Quevedo L (2013). The long-term ingestion of a diet high in extra virgin olive oil produces obesity and insulin resistance but protects endothelial function in rats: a preliminary study. *Diabetology & metabolic syndrome* 5(1): 53.

Kien CL, Bunn JY, Stevens R, Bain J, Ikayeva O, Crain K, et al (2014). Dietary intake of palmitate and oleate has broad impact on systemic and tissue lipid profiles in humans. *The American journal of clinical nutrition* 99(3): 436-445.

Kleinridders A, Schenten D, Konner AC, Belgardt BF, Mauer J, Okamura T, et al (2009). MyD88 signaling in the CNS is required for development of fatty acid-induced leptin resistance and diet-induced obesity. *Cell metabolism* 10(4): 249-259.

Labouebe G, Liu S, Dias C, Zou H, Wong JC, Karunakaran S, et al (2013). Insulin induces long-term depression of ventral tegmental area dopamine neurons via endocannabinoids. *Nature neuroscience* 16(3): 300-308.

Lai JS, Hiles S, Bisquera A, Hure AJ, McEvoy M, Attia J (2014). A systematic review and meta-analysis of dietary patterns and depression in community-dwelling adults. *The American journal of clinical nutrition* 99(1): 181-197.

Loweth JA, Tseng KY, Wolf ME (2014). Adaptations in AMPA receptor transmission in the nucleus accumbens contributing to incubation of cocaine craving. *Neuropharmacology* 76 Pt B: 287-300.

Lutter M, Nestler EJ (2009). Homeostatic and hedonic signals interact in the regulation of food intake. *The Journal of nutrition* 139(3): 629-632.

Maric T, Woodside B, Luheshi GN (2014). The effects of dietary saturated fat on basal hypothalamic neuroinflammation in rats. *Brain, behavior, and immunity* 36: 35-45.

Martinez-Gonzalez MA, Martin-Calvo N (2013). The major European dietary patterns and metabolic syndrome. *Reviews in endocrine & metabolic disorders* 14(3): 265-271.

Matyash V, Liebisch G, Kurzchalia TV, Shevchenko A, Schwudke D (2008). Lipid extraction by methyl-tert-butyl ether for high-throughput lipidomics. *Journal of lipid research* 49(5): 1137-1146.

Morales L, Del Olmo N, Valladolid-Acebes I, Fole A, Cano V, Merino B, et al (2012). Shift of circadian feeding pattern by high-fat diets is coincident with reward deficits in obese mice. *PloS one* 7(5): e36139.

Munzberg H, Flier JS, Bjorbaek C (2004). Region-specific leptin resistance within the hypothalamus of diet-induced obese mice. *Endocrinology* 145(11): 4880-4889.

Panchal SK, Poudyal H, Iyer A, Nazer R, Alam MA, Diwan V, et al (2011). High-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *Journal of cardiovascular pharmacology* 57(5): 611-624.

Quirk SE, Williams LJ, O'Neil A, Pasco JA, Jacka FN, Housden S, et al (2013). The association between diet quality, dietary patterns and depression in adults: a systematic review. *BMC psychiatry* 13: 175.

Robinson TE, Becker JB (1986). Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain research* 396(2): 157-198.

Rosqvist F, Iggman D, Kullberg J, Cedernaes J, Johansson HE, Larsson A, et al (2014). Overfeeding Polyunsaturated and Saturated Fat Causes Distinct Effects on Liver and Visceral Fat Accumulation in Humans. *Diabetes*.

Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, et al (2011). Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity (Silver Spring, Md)* 19(6): 1109-1117.

Sharma S, Fernandes MF, Fulton S (2013a). Adaptations in brain reward circuitry underlie palatable food cravings and anxiety induced by high-fat diet withdrawal. *International journal of obesity* 37(9): 1183-1191.

Sharma S, Fulton S (2013b). Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. *International journal of obesity* 37(3): 382-389.

Shin AC, Townsend RL, Patterson LM, Berthoud HR (2011). "Liking" and "wanting" of sweet and oily food stimuli as affected by high-fat diet-induced obesity, weight loss, leptin, and genetic predisposition. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology* 301(5): R1267-1280.

Siciliano CA, Calipari ES, Jones SR (2014). Amphetamine potency varies with dopamine uptake rate across striatal subregions. *Journal of neurochemistry* 131(3): 348-355.

Spielewoy C, Biala G, Roubert C, Hamon M, Betancur C, Giros B (2001). Hypolocomotor effects of acute and daily d-amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Psychopharmacology* 159(1): 2-9.

Stice E, Dagher A (2010). Genetic variation in dopaminergic reward in humans. *Forum of nutrition* 63: 176-185.

Stice E, Spoor S, Bohon C, Small DM (2008). Relation between obesity and blunted striatal response to food is moderated by TaqIA A1 allele. *Science* 322(5900): 449-452.

Stuber GD, Sparta DR, Stamatakis AM, van Leeuwen WA, Hardjoprajitno JE, Cho S, et al (2011). Excitatory transmission from the amygdala to nucleus accumbens facilitates reward seeking. *Nature* 475(7356): 377-380.

Sulzer D, Chen TK, Lau YY, Kristensen H, Rayport S, Ewing A (1995). Amphetamine redistributes dopamine from synaptic vesicles to the cytosol and promotes reverse transport. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 15(5 Pt 2): 4102-4108.

Taib B, Bouyakdan K, Hryhorczuk C, Rodaros D, Fulton S, Alquier T (2013). Glucose regulates hypothalamic long-chain fatty acid metabolism via AMP-activated kinase (AMPK) in neurons and astrocytes. *The Journal of biological chemistry* 288(52): 37216-37229.

Teegarden SL, Scott AN, Bale TL (2009). Early life exposure to a high fat diet promotes long-term changes in dietary preferences and central reward signaling. *Neuroscience* 162(4): 924-932.

Tellez LA, Medina S, Han W, Ferreira JG, Licon-Limon P, Ren X, et al (2013). A gut lipid messenger links excess dietary fat to dopamine deficiency. *Science* 341(6147): 800-802.

Thaler JP, Yi CX, Schur EA, Guyenet SJ, Hwang BH, Dietrich MO, et al (2012). Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. *The Journal of clinical investigation* 122(1): 153-162.

Thanos PK, Kim R, Cho J, Michaelides M, Anderson BJ, Primeaux SD, et al (2010). Obesity-resistant S5B rats showed greater cocaine conditioned place preference than the obesity-prone OM rats. *Physiology & behavior* 101(5): 713-718.

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. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)* 32(2): 289-293.

Valdearcos M, Robblee MM, Benjamin DI, Nomura DK, Xu AW, Koliwad SK (2014). Microglia dictate the impact of saturated fat consumption on hypothalamic inflammation and neuronal function. *Cell reports* 9(6): 2124-2138.

van Dijk SJ, Feskens EJ, Bos MB, Hoelen DW, Heijligenberg R, Bromhaar MG, et al (2009). A saturated fatty acid-rich diet induces an obesity-linked proinflammatory gene expression

profile in adipose tissue of subjects at risk of metabolic syndrome. *The American journal of clinical nutrition* 90(6): 1656-1664.

van Huijstee AN, Mansvelder HD (2014). Glutamatergic synaptic plasticity in the mesocorticolimbic system in addiction. *Frontiers in cellular neuroscience* 8: 466.

Vezina P (2004). Sensitization of midbrain dopamine neuron reactivity and the self-administration of psychomotor stimulant drugs. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 27(8): 827-839.

Volkow ND, Wang GJ, Telang F, Fowler JS, Thanos PK, Logan J, et al (2008). Low dopamine striatal D2 receptors are associated with prefrontal metabolism in obese subjects: possible contributing factors. *NeuroImage* 42(4): 1537-1543.

Vucetic Z, Carlin JL, Totoki K, Reyes TM (2012). Epigenetic dysregulation of the dopamine system in diet-induced obesity. *Journal of neurochemistry* 120(6): 891-898.

Wang GJ, Volkow ND, Fowler JS (2002). The role of dopamine in motivation for food in humans: implications for obesity. *Expert opinion on therapeutic targets* 6(5): 601-609.

Wang GJ, Volkow ND, Logan J, Pappas NR, Wong CT, Zhu W, et al (2001a). Brain dopamine and obesity. *Lancet* 357(9253): 354-357.

Wang J, Obici S, Morgan K, Barzilai N, Feng Z, Rossetti L (2001b). Overfeeding rapidly induces leptin and insulin resistance. *Diabetes* 50(12): 2786-2791.

Wang JQ, McGinty JF (1997). The full D1 dopamine receptor agonist SKF-82958 induces neuropeptide mRNA in the normosensitive striatum of rats: regulation of D1/D2 interactions by muscarinic receptors. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 281(2): 972-982.

Wolf ME (1998). The role of excitatory amino acids in behavioral sensitization to psychomotor stimulants. *Progress in neurobiology* 54(6): 679-720.

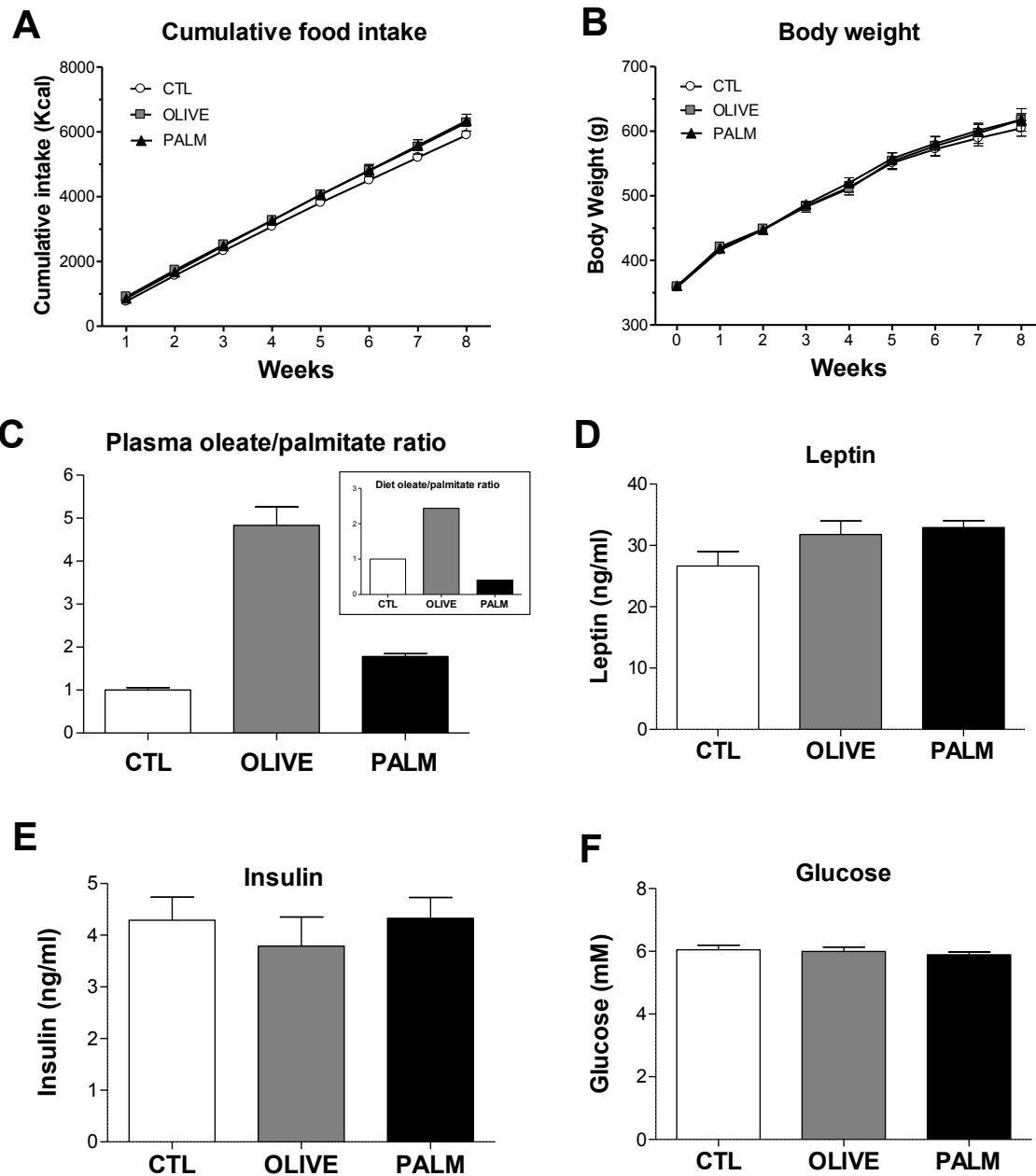


Figure 1. Similar food intake and weight gain across CTL, PALM and OLIVE diet groups. (A) Cumulative food intake (B) and body weight were assessed weekly during 8 weeks. (n=11-12 per group). C, The ratio of oleate/palmitate in plasma (n=7-8 per group) reflected that found in the two high-fat diets (insert). Plasma levels of (D) leptin (n=9 per group) and (E) insulin (n=8 per group) and (F) fasting blood glucose (n=16-18 per group) were similar between groups after 8 weeks on respective diets. Mean±SEM.

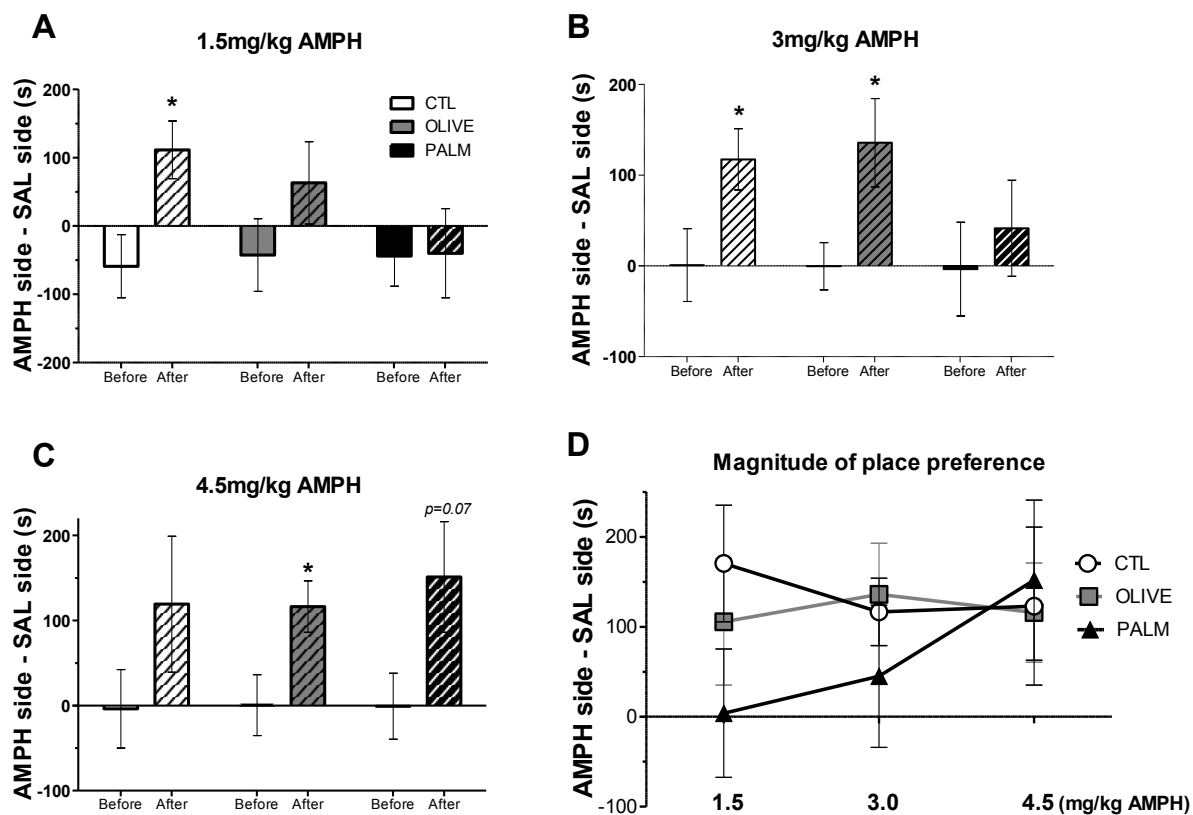


Figure 2. Amphetamine-induced conditioned place preference is suppressed by saturated high-fat feeding. Results are expressed as time spent in the AMPH-paired side minus time spent in the SAL-paired side before and after conditioning. (A) Only rats fed the CTL diet acquired place preference for 1.5mg/kg AMPH (n=10-11 per group). (B) At the dose of 3mg/kg AMPH, CTL and OLIVE rats acquired place preference but not the PALM rats (n=7-8 per group). (C) The 4.5mg/kg AMPH dose elicited a place preference in the OLIVE group and a near-significant effect in the PALM group ($p=0.069$) (n=7-8 per group). (D) Magnitude of place preference for each diet group across the 3 doses of AMPH used. A multiple regression analysis across the dose range used revealed differences between PALM and the CTL group. Solid bars: before conditioning; Hatched bars: after conditioning. SAL: saline; AMPH: amphetamine. Mean±SEM. * $p\leq 0.05$.

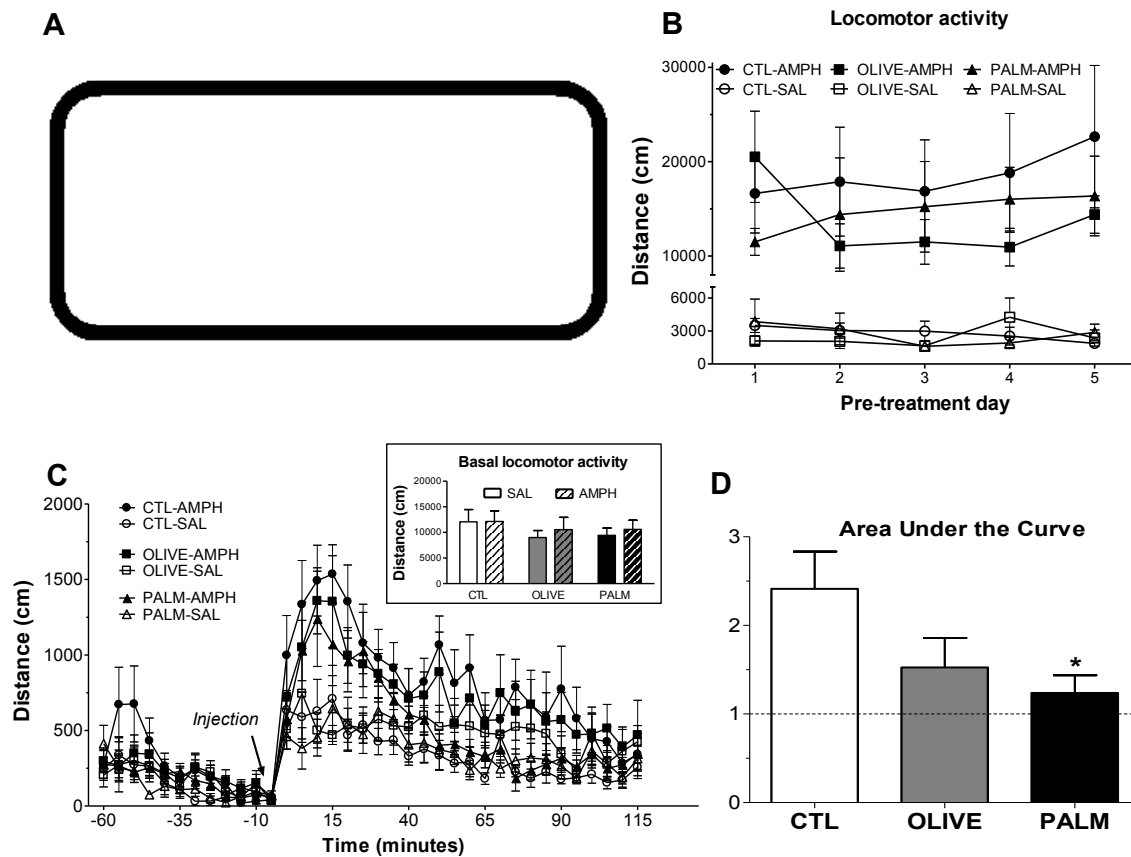


Figure 3. Dampened amphetamine locomotor sensitization in rats fed the saturated high-fat diet. (A) AMPH sensitization experimental layout. (B) AMPH increased locomotor activity compared to SAL-injected animals throughout the pre-treatment phase (n=7-9 per group). (C) AMPH (1.5mg/kg) pre-treatment increased response to the locomotor activating effect of a single 0.75mg/kg AMPH injection. Basal locomotor activity was similar in all groups (insert) (n=7-9 per group). (D) AMPH locomotor sensitization was reduced in rats fed the PALM diet as compared to controls. Relative AUC: the response of AMPH-treated rats is expressed in fold change relative to that of SAL treated counterparts (n=8-9 per group). SAL: saline; AMPH: amphetamine. Mean±SEM. *p≤0.05

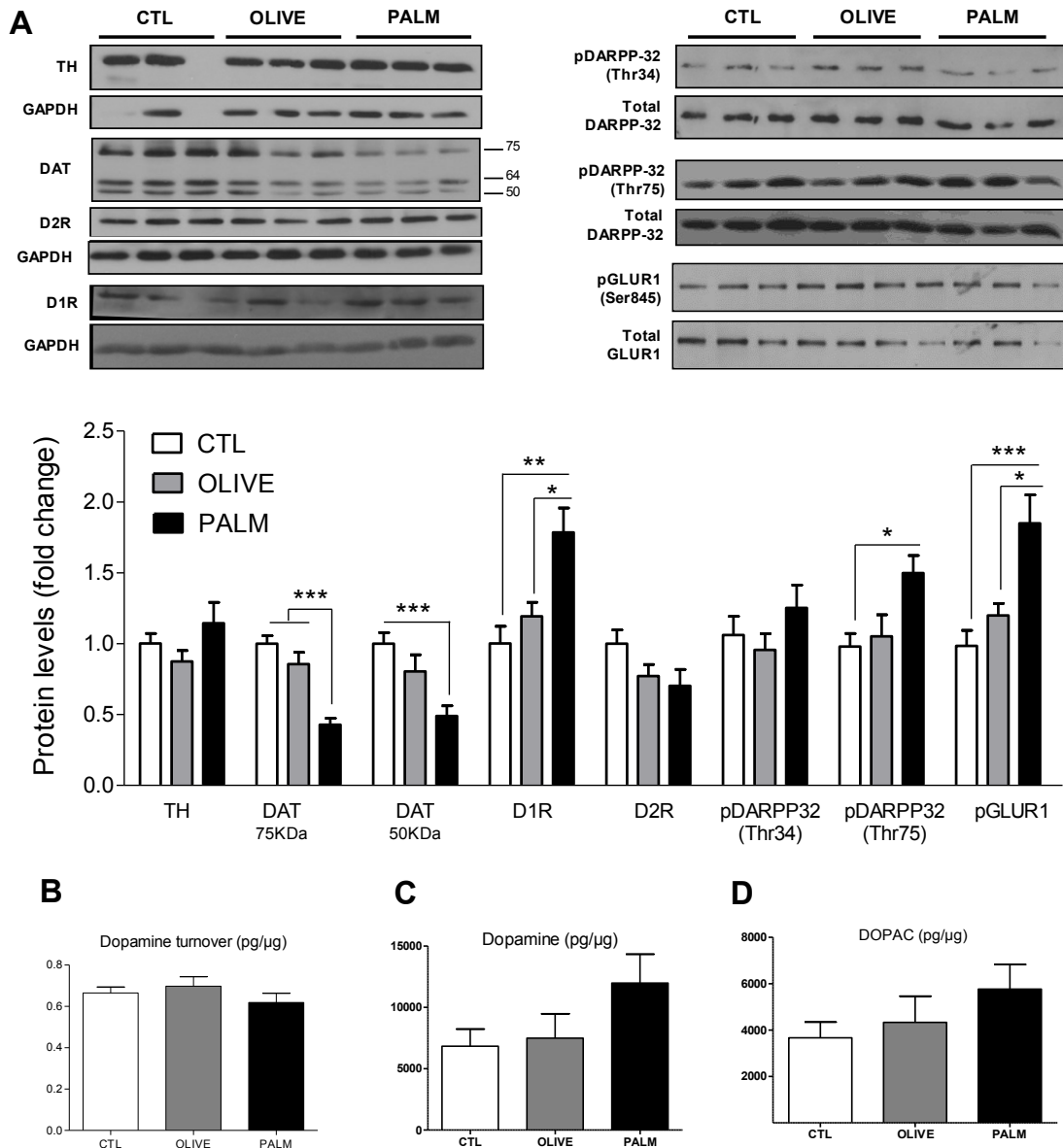


Figure 4. Effects of high-fat diets on protein expression and dopamine turnover in the nucleus accumbens. (A) The PALM diet caused a decreased in DAT levels whereas pGLUR1, D1R and pDARPP-32Thr75 were increased (n=7-13 per group). B-D, There were no changes in (B) dopamine turnover, (C) dopamine and (D) DOPAC content in the nucleus accumbens (n=6-8 per group). Dopamine turnover is expressed as the ratio between the dopamine metabolite DOPAC and dopamine. DOPAC: 3,4-dihydroxyphenylacetic acid. Mean±SEM. *p≤0.05, ** p≤0.01, ***p≤0.001.

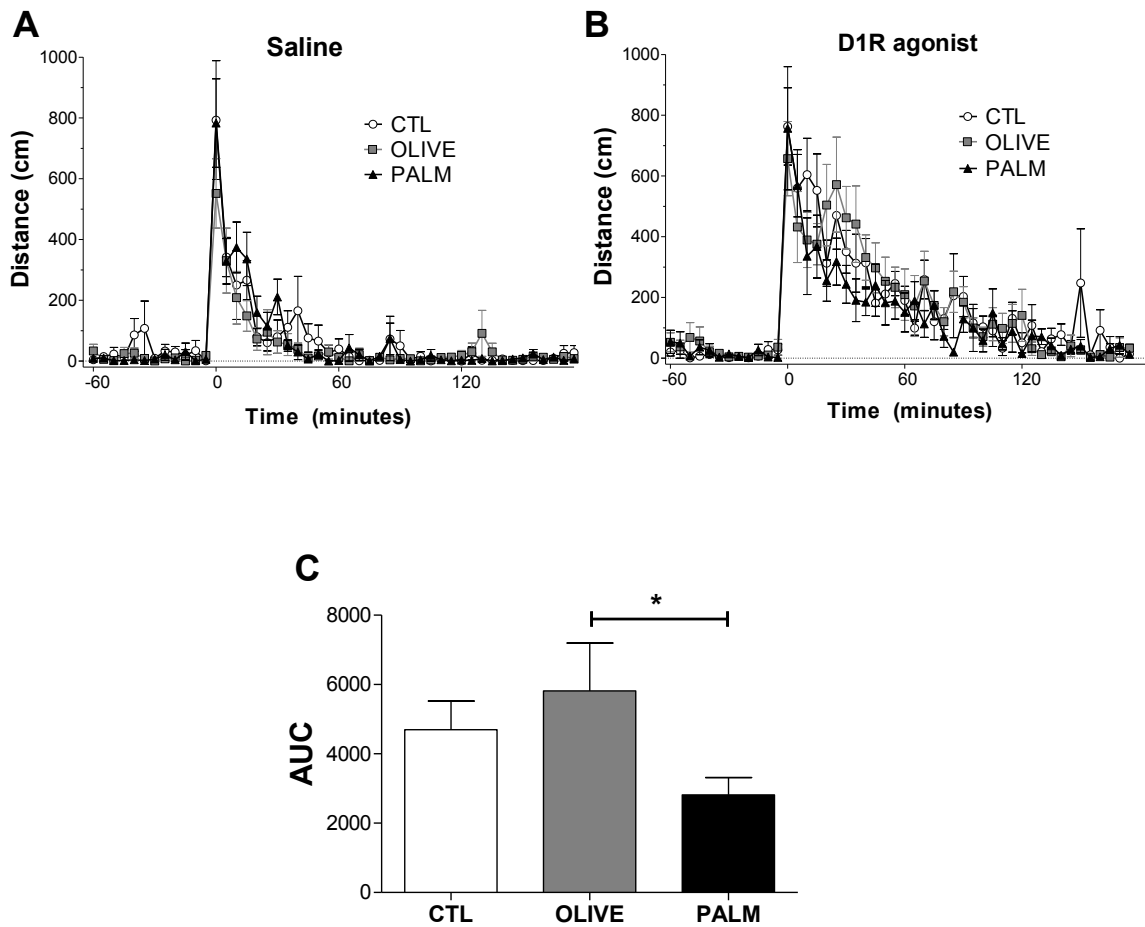


Figure 5. Locomotor activity in response to a D1R agonist is attenuated by saturated HFD relative to the monounsaturated HFD. Locomotor activity was measured as total X-Y distance after injection of (A) saline and (B) the D1R agonist SKF82958 (0.1mg/kg) (n=8-9 per group). (C) Area under the curve (AUC) values = $AUC_{\text{agonist}} - AUC_{\text{saline}}$. Mean \pm SEM. * $p < 0.05$.

Table S1. Diet composition

	CTL	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

Article 3 : Effets des acides gras alimentaires sur l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien

Saturated high-fat feeding independent of obesity alters hypothalamus-pituitary-adrenal axis function but not anxiety-like behaviour

Cecile Hryhorczuk^{1,2}, Caroline Daneault⁵, Sandeep Sharma⁶, Christine Des Rosiers^{4,5}, Thierry Alquier^{1,3,*} and Stephanie Fulton^{1,4,*}

1-CRCHUM and Montreal Diabetes Research Center;

Departments of: 2- Physiology 3-Medicine, 4- Nutrition, Université de Montréal;

5- Montreal Heart Institute, Montreal, QC; 6- University of Calgary, Calgary, AB.

* contributed equally

Running title: HPA impairments by saturated fat intake

Keywords: high-fat diet, mood, adiposity, HPA, corticosterone

Correspondence:

Thierry Alquier, PhD

CRCHUM & Montreal Diabetes Research Center

900 rue Saint-Denis, Office 08-418

Montreal, QC H2X 0A9

CANADA

Tel. 514.890.8000 ext 23628

thierry.alquier@umontreal.ca

Abstract

Overconsumption of dietary fat can elicit impairments in emotional processes and the response to stress. While excess dietary lipids have been shown to alter hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis function and promote anxiety-like behaviour, it is not known if such changes rely on elevated body weight and if these effects are specific to the type of dietary fat. The objective of this study was to investigate the effect of a saturated and a monounsaturated high-fat diet (HFD) on HPA axis function and anxiety-like behaviour in rats. Biochemical, metabolic and behavioural responses were evaluated following eight weeks on one of three diets: (1) a monounsaturated HFD (50%kcal olive oil), (2) a saturated HFD (50%kcal palm oil), or (3) a control low-fat diet. Weight gain was similar across the three diets while visceral fat mass was elevated by the two HFDs. The saturated HFD had specific actions to increase plasma levels of corticosterone and tumour-necrosis-factor-alpha and suppress mRNA expression of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors, corticotropin-releasing hormone and 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-1 in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. Both HFDs enhanced the corticosterone-suppressing response to dexamethasone administration but failed to increase anxiety-like behaviour as measured in the elevated-plus maze and open field tests. These findings demonstrate that prolonged intake of saturated fat, without added weight gain, increases CORT and modulates central HPA feedback processes. That saturated HFD failed to affect anxiety-like behaviour suggests that the anxiogenic effects of prolonged high-fat feeding rely on significant weight gain and associated metabolic impairments.

Introduction

Western diets are characterized by excess fat intake that promotes obesity and increases susceptibility to major illnesses such as type 2 diabetes and cardiovascular disease (Riccardi et al., 2004). Another major complication of obesity are mood disorders (Hryhorczuk et al., 2013). Overweight and obesity are reported to significantly increase the risk of anxiety and depression (DeJesus et al., 2016; Garipey et al., 2010; Luppino et al., 2010). In turn, the incidence of depression and anxiety increases the odds of developing obesity (de Wit et al., 2010; Luppino et al., 2010). A common feature of both metabolic and mood disorders is alterations in hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis function (Faravelli et al., 2012; Pasquali et al., 2006). Upon activation, the HPA axis induces a cascade of hormonal release events initiated by corticotrophin-releasing hormone (CRH) in the paraventricular nucleus (PVN) that leads to the release of glucocorticoids (GC). Corticosterone (CORT), the principal GC, acts on central GC receptors to affect immune, behavioural and metabolic processes (Charmandari et al., 2005; Sapolsky et al., 2000) and as a negative feedback to suppress further HPA activation (Nicolaidis et al., 2015). Oversecretion of cortisol is associated with obesity (Kreze et al., 1995; Magiakou et al., 2006; Nieuwenhuizen and Rutters, 2008) and triggers the accumulation of abdominal (visceral) fat which is associated with greater cardiometabolic risk (Lopresti and Drummond, 2013). Hypercortisolism is also linked to anxiety disorders and atypical depression, hypofunctionality of the HPA axis and alteration in GC signaling in the PVN.

We and others have found that obesity in rodents caused by chronic high-fat feeding leads to anxiety- and depressive-like behaviours that are associated with anhedonia, increased plasma levels of CORT and neuroplastic adaptations in key brain regions controlling motivation and the response to stress (Dutheil et al., 2015; Martire et al., 2014; McNeilly et al., 2015; Sharma et al., 2013; Tannenbaum et al., 1997). Alterations in plasma free fatty acids (FA) have been shown to modulate HPA axis function (Widmaier et al., 1992). Interestingly, a specific drop in plasma levels of the saturated FA palmitic acid, but not in unsaturated FAs (oleic or linoleic), is reported to stimulate HPA activation (Oh et al., 2014). Despite these findings, it is not known if the effects of excess dietary lipids on HPA axis function are specific to saturated dietary lipids and if they rely on increases in body weight and adiposity. Consistent with the

differential metabolic effects of saturated and unsaturated lipids in numerous tissues (Benoit et al., 2009; Kanoski and Davidson, 2011; Kien et al., 2014), we previously demonstrated that the long-term intake of a saturated (palm oil), but not a monounsaturated (olive oil), high-fat diet (HFD) can suppress motivated behavior and mesolimbic dopamine function and signaling independent of obesity and associated metabolic disturbances in the rat (Hryhorczuk et al., 2016).

Using the rat model of high-fat feeding developed previously that does not exhibit changes in body weight following different dietary interventions (26), we sought to assess the impact of prolonged saturated or monounsaturated HFDs on HPA axis activity and anxiety-like behaviour to identify changes in the central expression of GC-relevant genes. Chronic intake of the saturated, but not the monounsaturated, HFD resulted in elevated plasma CORT and decreased the expression of several GC-related genes in the PVN. High-fat feeding also heightened HPA responses to a dexamethasone (DEX) challenge but did not affect anxiety-like behaviour. These findings identify the specific impact of saturated dietary lipids on HPA tone and central feedback mechanisms that are independent of changes in body weight and suggest that the anxiogenic effects elicited by HFDs rely on weight gain and associated metabolic impairments.

Material and methods

Animals and diet. All procedures were approved by the Animal Care Committee of the CRCHUM. Male Wistar rats (Charles River, St Constant, QC, Canada) weighing 250-280g upon arrival were group housed in a reverse 12h light/dark cycle with ad libitum access to food and water. Rats were fed one of three diets as previously described (Hryhorczuk et al., 2016): a control diet (17% kcal soybean oil; “CTL”), an oleic acid-enriched HFD (50%kcal olive oil; “OLIVE”) or a palmitic acid-enriched HFD (50%kcal palm oil; “PALM”) for 8 weeks. HFDs were isocaloric and diverged only in fat source (19). Body weights were measured throughout and behavioural and biochemical experiments were carried out after 8 weeks. Five separate groups of rats (total n=143) were used for (1) locomotor activity and CORT measurements, (2) plasma biochemistry, (3) fat pads collection and gene expression analysis, (4) dexamethasone suppression test and (5) anxiety-like behaviour testing.

Plasma and tissue collection. Rats (n=95) were sacrificed at the beginning of the dark phase under isoflurane anaesthesia following 8 weeks of diet. Brains were rapidly extracted and snap-frozen in isopentane. Trunk blood was collected in EDTA-coated tubes and centrifuged at 11000g for 15 minutes at 4°C. Plasma was stored at -20°C. Free fatty acids were measured by an enzymatic colorimetric method assay (Wako Chemicals USA, Inc.). C-reactive protein (CRP) was measured by ELISA (Life Diagnostics, Inc.) and TNF α by AlphaLISA (Perkin Elmer). Basal peak (nocturnal) CORT levels were measured by ELISA (Enzo Life Sciences, Inc.) from blood samples collected from the tail vein at the beginning of the dark phase after 7.5 weeks of diet. Subcutaneous (dorsolumbar) and visceral (perirenal, retroperitoneal and perigonadal) fat depots were collected, weighed and values expressed as a function of total body weight.

Locomotor activity. Rats (n=49) were introduced into acrylic chambers (42x42x21cm, AccuScan Instruments, Columbus, OH, USA) equipped with light beam sensors to detect horizontal and vertical movements in the middle of the light period. Basal locomotor activity was recorded over a period of 6 hours in the middle of the following dark phase using the Versamax Animal Activity Monitor.

Gas chromatography-mass spectrometry. Composition of plasma fatty acids, both free and bound to phospholipids, triglycerides and cholesterol was determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) as previously described (Hryhorczuk et al., 2016).

Gene expression analysis. RNA was extracted from anterior pituitary and brain punches of the PVN, hippocampus (CA1, CA3 and dentate gyrus) and central (CeA) and basolateral (BLA) amygdala using QIAzol (Qiagen). Spectrophotometric quantification and visualization on a 1% agarose gel were systematically performed to ensure RNA quality. 0.5 μ g of RNA were reverse transcribed into cDNA using the Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase (Life Technologies, Inc.). Genes of interest were amplified by quantitative PCR using the QuantiFast SYBR Green PCR kit (Qiagen) in the presence of appropriate primer pairs on a Corbett Rotor-Gene 6000. *11 β -HSD1* forward: TGTCTCGCTGCCTTGAAGCTC, reverse: ATGTCCAGTCCACCCAAGAG; *11 β -HSD2* forward: TGCTTCAAGACAGAGGCAGT, reverse: TGATGGCATCTACAACGGGG; *β -actin* forward: TGAAGTGTGACGTTGACATCC, reverse: ACAGTGAGGCCAGGATAGAGC;

CRH forward: GGAGAAGAGAGCGCCCCTAA, reverse: CGGATCAGAATCGGCTGAGG; *CRH-R1* forward: CAATGTGGCCTGGTGTAGGT, reverse: GGTGGAGTACGTGAGCACAA; *CRH-R2* forward: CCGAATCGCCCTCATCATCA, reverse: GGATACTCCGCAGCACTAGG; *Cyclophilin* forward: CTTGCTGCAGACATGGTCAAC, reverse: GCCATTATGGCGTGTGAAGTC; *GR* forward: ACCAACGGAGGCAGTGTGAAA, reverse: GGGGACCCAGCGGAAAAC; *MR* forward: GACAATTCCAAGCCCGACACC, reverse: CTTGGCCCACTTCACGACCTG. Expression levels were determined by the standard curve method and normalized to that of cyclophilin for the hippocampus, β -actin for the CeA, BLA and pituitary and to the geometric mean of β -actin and cyclophilin for the PVN.

Dexamethasone suppression test (DST). Dexamethasone (DEX; Sigma-Aldrich) powder was reconstituted in anhydrous ethanol (2% final volume) and dissolved in saline to a concentration of 20 μ g/kg. DEX is administered to the animals (n=28) when CORT levels are low (start of the light phase (Yao et al., 2006), thus DEX was injected between 1 and 2hrs before the start of the light phase. Measurement of DEX-induced suppression of CORT secretion was done 9hrs following the injection. Blood from the tail vein was collected in EDTA-coated tubes right before and 9hrs after the injection. Blood was handled and CORT levels measured as mentioned above.

Anxiety-like behaviour tests. Anxiety-like behaviour was evaluated using the elevated-plus maze (EPM) and open field (OF) tests in a separate cohort of rats (n=20). Activity was recorded using the SMART video-tracking software (Panlab S.L.U.). The tests were performed successively on two consecutive days at 330 LUX in the middle of the light phase. Animals were brought into the experimental room 2 hours prior to testing. *EPM* - The apparatus consists of two open arms and two closed arms (45x10cm) built in a plus shape and elevated 60cm above the floor. Each rat was placed in the center of the EPM always facing the same open arm and allowed to explore the maze for 5 minutes. Travelled distance, number of entries and time spent in center and in each arm were recorded. *OF* - Each rat was placed in the center of the OF arena (90x90x40cm) and allowed to explore for 10 minutes. The arena was divided in a center and a periphery zone. Number of entries in center, distance and time in periphery and center were recorded.

Statistical analysis. Data were analyzed using GraphPad Prism. Data are presented as means \pm standard errors of the mean (S.E.M). Results were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) with Bonferonni's post-hoc test. Significance was set at $p < 0.05$.

Results

High-fat feeding induced metabolic changes

As reported previously (Hryhorczuk et al., 2016), rats fed the PALM, OLIVE or CTL diet gained a similar amount of body weight over eight weeks and had comparable locomotor activity (Table 1). However, rats fed the PALM or OLIVE HFD has greater amounts of total and visceral fat, without changes in subcutaneous fat mass, as compared to CTL. Notably, there were no differences in fat mass between PALM and OLIVE groups. There was a trend for elevated plasma free FA in the two HFD groups (PALM and OLIVE) compared to the CTL group and consumption of each of the HFDs induced more marked changes in the proportion of individual long chain FA in plasma (Table 1). As expected, the OLIVE diet increased the proportion of monounsaturated FA (MUFA) notably oleic acid, while lowering SFA and polyunsaturated FA (PUFA) content. In contrast, the PALM diet significantly increased the overall proportion of SFA compared to the OLIVE and CTL groups. Notably, the two HFDs significantly decreased the ratio of n-3:n-6 polyunsaturated FA compared to the CTL group (CTL: 0.047 ± 0.003 , OLIVE: 0.022 ± 0.003 , PALM: 0.016 ± 0.002 ; $p < 0.0001$). CRP levels were unchanged but TNF α levels were elevated in the PALM-fed rats. Finally, the PALM but not the OLIVE diet significantly increased peak (nocturnal) CORT levels almost two fold compared to the CTL group (Table 1).

Saturated high-fat feeding downregulates the expression of GC-related genes in the paraventricular nucleus

Measures of stress-related gene expression in brain regions implicated in GC negative feedback revealed a decrease in the levels of mineralocorticoid receptor (MR), CRH and 11 β -HSD1 in the PVN of rats fed the PALM diet (Fig. 1A). In addition, there was a near-significant decrease in the expression of glucocorticoid receptor (GR) in PALM-fed rats (Fig. 1A). BLA mRNA expression of CRH-R1 but not CRH-R2 was decreased by both HFDs whereas expression of CRH receptors were unchanged in the CeA (Fig. 1B). Hippocampal

expression of GR and MR was similar across the three diet groups (Fig. 1C). The expression of GR, MR, CRH-R1 and CRH-R2 in the anterior pituitary was not affected by diet (Fig. 1D).

High-fat feeding increases the sensitivity of the HPA axis to DEX challenge

Altered CORT levels and PVN gene expression in PALM fed rats prompted us to investigate HPA negative feedback responses using the DEX suppression test, a widely used method to evaluate HPA axis sensitivity. Nadir CORT levels were similar across groups and the intraperitoneal injection of DEX suppressed CORT secretion in all groups (Fig. 2A), but the degree of CORT suppression was higher in the PALM and OLIVE groups as compared to CTL (Fig. 2B).

Anxiety-like behaviour is unaffected by high-fat feeding without obesity

Consistent with observations of similar locomotor activity (Table 1), distance travelled by rats fed in the three diet groups was similar in both the EPM and OF tests (Fig. 3A and D). The proportion of entries made (Fig. 3B) and time spent (Fig. 3C) in the open arms of the EPM were comparable between groups. In agreement with the EPM data, the number of entries made (Fig. 3E) and proportion of time spent (Fig. 3F) in the center of the OF arena were not different across groups.

Discussion

The present study identified multiple changes in components and responsiveness of the HPA axis according to the amount and/or type of dietary fat consumed. While prolonged intake of the saturated HFD did not elicit changes in body weight or fat mass relative to the monounsaturated HFD it specifically produced marked increases in plasma levels of CORT and TNF α and lead to reductions in PVN expression of genes of central GC signaling and negative feedback. Despite these unique effects of the saturated HFD, there were no specific changes in HPA sensitivity and anxiety-like behavior: both HFDs heightened HPA responses to a DEX challenge while neither HFD altered anxiety-like behaviour.

As previously reported (Cano et al., 2008; McNeilly et al., 2015; Pratchayasakul et al., 2011; Tannenbaum et al., 1997), we found that chronic HFD increases plasma CORT levels in rats. This occurred in rats fed the saturated PALM HFD but not the monounsaturated OLIVE HFD,

an important point that was not addressed in the aforementioned studies. Moreover, our data are in agreement with studies showing that diets containing mostly unsaturated fat do not enhance CORT (Bruder-Nascimento et al., 2013; Man et al., 2011). Greater CORT levels are positively associated to visceral fat mass (Tchernof and Després, 2013), yet visceral fat deposition was similar between the two HFD groups suggesting that the type of dietary fat rather than the amount of visceral adipose tissue is the main parameter controlling CORT levels in a non-obese HFD model. PVN mRNA expression of MR (a trend for GR), CRH and 11 β -HSD1 expression was decreased in rats fed the saturated HFD, results that are in line with observations that stress-induced elevation in CORT decreases GR (Herman et al., 1995; Noguchi et al., 2010), MR (Whitnall, 1993) and CRH (Makino et al., 2001) expression in the PVN. Saturated high-fat feeding also decreased PVN expression of the 11 β -HSD1, the enzyme catalysing cortisone into corticosterone. This finding is consistent with two studies reporting downregulation of hippocampal 11 β -HSD1 activity and expression when CORT levels are up (Jamieson et al., 1997; Pelletier et al., 2007). Overall, downregulation of the genes promoting the feed-forward response to stress and CORT production could very well represent an adaptive mechanism to mitigate the impact of high CORT on the tissue, prevent deficits and lessen the stress response of the organism.

CRH-R1 was found to be decreased in the BLA of both HFD groups. The amygdala is an important extra-hypothalamic source of CRH production that participates in the regulation of the stress response and anxiety-related behaviours (Roosendaal et al., 2009). Thus, reducing CRH-R1 expression could serve as a means to reduce the reactivity of the HPA axis. Beside the hypothalamus and the amygdala, the hippocampus and the anterior pituitary are two additional structures involved in the regulation of the HPA axis activity. They both express high levels of GR and MR (Ozawa et al., 1999; Reul et al., 1989; Spencer et al., 1990) and as a target of CRH, corticotrophs of the anterior pituitary also express CRH receptors (De Souza, 1995). Studies have shown altered stress-related gene expression in the hippocampus following high-fat feeding, but the impact of HFD on the expression of GCs and CRH receptors in the pituitary has not been investigated. None of the genes we studied in these regions were affected by high fat feeding although analyses at the protein level would be valuable.

In the face of altered CORT concentration and gene expression, the DEX suppression test allowed us to assess GC-mediated feedback sensitivity. Results of the present study demonstrate higher CORT suppression following the injection of DEX in rats fed either the PALM or OLIVE HFD, denoting enhanced HPA feedback. DEX main site of action is believed to be the pituitary (Cole et al., 2000), in which we showed no changes in gene expression, but this does not exclude the possibility of enhanced GR signalling in the anterior pituitary by high-fat feeding. The combined DEX/CRH test would be a useful test to pinpoint more precisely the neuroendocrine alterations caused by high fat feeding.

Diet-induced obesity stimulates anxiodepressive behaviour in rodent models. Several lines of evidence suggest that the metabolic impairments, including peripheral inflammation, that accompany obesity underlie the incidence of depression in obese populations (Daly, 2013; Hamer et al., 2012; Perez-Cornago et al., 2014). In the current study, the rats fed the saturated HFD presented with some signs of metabolic dysfunction including hypercortisolemia, increase in plasma TNF α and decrease of the n-3:n-6 FA ratio; however, PALM fed rats gained similar weight and adiposity relative to OLIVE rats and showed no differences in plasma CRP levels. Interestingly, plasma CRP levels have been shown to be one of the best predictors of depression onset in obese people (van Reedt Dortland et al., 2013). Taken together, we posit that broader metabolic dysfunction that is tied to the development of obesity, including elevations in inflammatory signals like CRP, are required for the effects of saturated HFD to elicit anxiety behaviour. In this light, it remains possible that longer periods of high-fat feeding leading to significant weight gain in this rat model would potentiate anxiety-like behaviour.

Conclusion

In this study we show that consumption of a saturated diet, independently of obesity and major metabolic changes, alters HPA axis function and sensitivity. As we have reported earlier for the mesolimbic dopamine system (Hryhorczuk et al., 2016), this work identifies additional alterations caused by the prolonged intake of dietary saturated fat. Our data demonstrate that saturated fat increases plasma CORT concentration along with a reduction in GC-related gene expression and increased HPA axis sensitivity. However saturated high-fat feeding prior to

obesity failed to modulate anxiety. Together, these data suggest that while HPA tone and central feedback mechanisms are altered by saturated dietary lipids, the anxiogenic effects of high-fat feeding appear to depend on the development of significant weight gain as well as the presence of inflammation (Andre et al., 2014; Dutheil et al., 2015; Sharma et al., 2013; Sharma and Fulton, 2013), both of which were minimal in this study. This work highlights that the type of dietary fat and its metabolic consequences is a key element to understanding its endocrine and behavioural actions.

Acknowledgments. This work was supported by a Canadian Institute of Health Research (CIHR) grant (MOP115042) and Fonds de Recherche Québec-Santé (FRQS) salary award to TA, by a CIHR grant (MOP123280) and New Investigator salary award to SF, a CIHR grant (MOP9575) to CDR and doctoral scholarships from the Montreal Diabetes Research Center-Université de Montréal and FRQS Cardiometabolic, Diabetes, Obesity (CMDO) network-Novo Nordisk to CH.

References

- Andre, C., Dinel, A.L., Ferreira, G., Laye, S., Castanon, N., 2014. Diet-induced obesity progressively alters cognition, anxiety-like behavior and lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior: focus on brain indoleamine 2,3-dioxygenase activation. *Brain, behavior, and immunity* 41, 10-21.
- Benoit, S.C., Kemp, C.J., Elias, C.F., Abplanalp, W., Herman, J.P., Migrenne, S., Lefevre, A.L., Cruciani-Guglielmacci, C., Magnan, C., Yu, F., Niswender, K., Irani, B.G., Holland, W.L., Clegg, D.J., 2009. Palmitic acid mediates hypothalamic insulin resistance by altering PKC-theta subcellular localization in rodents. *The Journal of clinical investigation* 119, 2577-2589.
- Bruder-Nascimento, T., Campos, D.H., Alves, C., Thomaz, S., Cicogna, A.C., Cordellini, S., 2013. Effects of chronic stress and high-fat diet on metabolic and nutritional parameters in Wistar rats. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia* 57, 642-649.
- Cano, P., Jimenez-Ortega, V., Larrad, A., Reyes Toso, C.F., Cardinali, D.P., Esquifino, A.I., 2008. Effect of a high-fat diet on 24-h pattern of circulating levels of prolactin, luteinizing hormone, testosterone, corticosterone, thyroid-stimulating hormone and glucose, and pineal melatonin content, in rats. *Endocrine* 33, 118-125.
- Charmandari, E., Tsigos, C., Chrousos, G., 2005. Endocrinology of the stress response. *Annual review of physiology* 67, 259-284.
- Cole, M.A., Kim, P.J., Kalman, B.A., Spencer, R.L., 2000. Dexamethasone suppression of corticosteroid secretion: evaluation of the site of action by receptor measures and functional studies. *Psychoneuroendocrinology* 25, 151-167.
- Daly, M., 2013. The relationship of C-reactive protein to obesity-related depressive symptoms: a longitudinal study. *Obesity (Silver Spring, Md.)* 21, 248-250.
- De Souza, E.B., 1995. Corticotropin-releasing factor receptors: physiology, pharmacology, biochemistry and role in central nervous system and immune disorders. *Psychoneuroendocrinology* 20, 789-819.
- de Wit, L.M., Fokkema, M., van Straten, A., Lamers, F., Cuijpers, P., Penninx, B.W., 2010. Depressive and anxiety disorders and the association with obesity, physical, and social activities. *Depression and anxiety* 27, 1057-1065.
- DeJesus, R.S., Breikopf, C.R., Ebbert, J.O., Rutten, L.J.F., Jacobson, R.M., Jacobson, D.J., Fan, C., St. Sauver, J., 2016. Associations Between Anxiety Disorder Diagnoses and Body Mass Index Differ by Age, Sex and Race: A Population Based Study. *Clinical Practice and Epidemiology in Mental Health : CP & EMH* 12, 67-74.
- Dutheil, S., Ota, K.T., Wohleb, E.S., Rasmussen, K., Duman, R.S., 2015. High Fat Diet Induced Anxiety and Anhedonia: Impact on Brain Homeostasis and Inflammation. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*.
- Faravelli, C., Lo Sauro, C., Lelli, L., Pietrini, F., Lazzeretti, L., Godini, L., Benni, L., Fioravanti, G., Talamba, G.A., Castellini, G., Ricca, V., 2012. The role of life events and HPA axis in anxiety disorders: a review. *Current pharmaceutical design* 18, 5663-5674.
- Garipey, G., Nitka, D., Schmitz, N., 2010. The association between obesity and anxiety disorders in the population: a systematic review and meta-analysis. *Int J Obes* 34, 407-419.

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, 940-945.

Herman, J.P., Adams, D., Prewitt, C., 1995. Regulatory changes in neuroendocrine stress-integrative circuitry produced by a variable stress paradigm. *Neuroendocrinology* 61, 180-190.

Hryhorczuk, C., Florea, M., Rodaros, D., Poirier, I., Daneault, C., Des Rosiers, C., Arvanitogiannis, A., Alquier, T., Fulton, S., 2016. Dampened Mesolimbic Dopamine Function and Signaling by Saturated but not Monounsaturated Dietary Lipids. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 41, 811-821.

Hryhorczuk, C., Sharma, S., Fulton, S.E., 2013. Metabolic disturbances connecting obesity and depression. *Frontiers in neuroscience* 7, 177.

Jamieson, P.M., Fuchs, E., Flugge, G., Seckl, J.R., 1997. Attenuation of Hippocampal 11beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 by Chronic Psychosocial Stress in the Tree Shrew. *Stress (Amsterdam, Netherlands)* 2, 123-132.

Kanoski, S.E., Davidson, T.L., 2011. Western diet consumption and cognitive impairment: links to hippocampal dysfunction and obesity. *Physiology & behavior* 103, 59-68.

Kien, C.L., Bunn, J.Y., Stevens, R., Bain, J., Ikayeva, O., Crain, K., Koves, T.R., Muoio, D.M., 2014. Dietary intake of palmitate and oleate has broad impact on systemic and tissue lipid profiles in humans. *The American journal of clinical nutrition* 99, 436-445.

Kreze, A., Mikulecky, M., Moravcik, M., 1995. Factors influencing the development of glucose intolerance in Cushing syndrome. *Acta medica Austriaca* 22, 110-112.

Lopresti, A.L., Drummond, P.D., 2013. Obesity and psychiatric disorders: commonalities in dysregulated biological pathways and their implications for treatment. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* 45, 92-99.

Luppino, F.S., de Wit, L.M., Bouvy, P.F., Stijnen, T., Cuijpers, P., Penninx, B.W., Zitman, F.G., 2010. Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Archives of general psychiatry* 67, 220-229.

Magiakou, M.A., Smyrnaki, P., Chrousos, G.P., 2006. Hypertension in Cushing's syndrome. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism* 20, 467-482.

Makino, S., Kaneda, T., Nishiyama, M., Asaba, K., Hashimoto, K., 2001. Lack of decrease in hypothalamic and hippocampal glucocorticoid receptor mRNA during starvation. *Neuroendocrinology* 74, 120-128.

Man, T.Y., Michailidou, Z., Gokcel, A., Ramage, L., Chapman, K.E., Kenyon, C.J., Seckl, J.R., Morton, N.M., 2011. Dietary manipulation reveals an unexpected inverse relationship between fat mass and adipose 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 300, E1076-E1084.

Martire, S.I., Maniam, J., South, T., Holmes, N., Westbrook, R.F., Morris, M.J., 2014. Extended exposure to a palatable cafeteria diet alters gene expression in brain regions implicated in reward, and withdrawal from this diet alters gene expression in brain regions associated with stress. *Behavioural brain research* 265, 132-141.

McNeilly, A.D., Stewart, C.A., Sutherland, C., Balfour, D.J., 2015. High fat feeding is associated with stimulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and reduced anxiety in the rat. *Psychoneuroendocrinology* 52, 272-280.

Nicolaides, N.C., Kyrtzi, E., Lamprokostopoulou, A., Chrousos, G.P., Charmandari, E., 2015. Stress, the stress system and the role of glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation* 22, 6-19.

Nieuwenhuizen, A.G., Rutters, F., 2008. The hypothalamic-pituitary-adrenal-axis in the regulation of energy balance. *Physiology & behavior* 94, 169-177.

Noguchi, T., Makino, S., Matsumoto, R., Nakayama, S., Nishiyama, M., Terada, Y., Hashimoto, K., 2010. Regulation of glucocorticoid receptor transcription and nuclear translocation during single and repeated immobilization stress. *Endocrinology* 151, 4344-4355.

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, 923-931.

Ozawa, H., Ito, T., Ochiai, I., Kawata, M., 1999. Cellular localization and distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and the expression of glucocorticoid receptor messenger RNA in rat pituitary gland. *Cell Tissue Res* 295, 207-214.

Pasquali, R., Vicennati, V., Cacciari, M., Pagotto, U., 2006. The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Activity in Obesity and the Metabolic Syndrome. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1083, 111-128.

Pelletier, G., Luu-The, V., Li, S., Bujold, G., Labrie, F., 2007. Localization and glucocorticoid regulation of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 mRNA in the male mouse forebrain. *Neuroscience* 145, 110-115.

Perez-Cornago, A., de la Iglesia, R., Lopez-Legarrea, P., Abete, I., Navas-Carretero, S., Lacunza, C.I., Lahortiga, F., Martinez-Gonzalez, M.A., Martinez, J.A., Zulet, M.A., 2014. A decline in inflammation is associated with less depressive symptoms after a dietary intervention in metabolic syndrome patients: a longitudinal study. *Nutrition journal* 13, 36.

Pratchayasakul, W., Kerdphoo, S., Petsophonsakul, P., Pongchaidecha, A., Chattipakorn, N., Chattipakorn, S.C., 2011. Effects of high-fat diet on insulin receptor function in rat hippocampus and the level of neuronal corticosterone. *Life sciences* 88, 619-627.

Reul, J.M., Pearce, P.T., Funder, J.W., Krozowski, Z.S., 1989. Type I and type II corticosteroid receptor gene expression in the rat: effect of adrenalectomy and dexamethasone administration. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)* 3, 1674-1680.

Riccardi, G., Giacco, R., Rivellese, A.A., 2004. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)* 23, 447-456.

Roosendaal, B., McEwen, B.S., Chattarji, S., 2009. Stress, memory and the amygdala. *Nature reviews. Neuroscience* 10, 423-433.

Sapolsky, R.M., Romero, L.M., Munck, A.U., 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine reviews* 21, 55-89.

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. *International journal of obesity (2005)* 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. *International journal of obesity (2005)* 37, 382-389.

Spencer, R.L., Young, E.A., Choo, P.H., McEwen, B.S., 1990. Adrenal steroid type I and type II receptor binding: estimates of in vivo receptor number, occupancy, and activation with varying level of steroid. *Brain research* 514, 37-48.

Tannenbaum, B.M., Brindley, D.N., Tannenbaum, G.S., Dallman, M.F., McArthur, M.D., Meaney, M.J., 1997. High-fat feeding alters both basal and stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal activity in the rat. *The American journal of physiology* 273, E1168-1177.

Tchernof, A., Després, J.-P., 2013. Pathophysiology of Human Visceral Obesity: An Update. *Physiological reviews* 93, 359-404.

van Reedt Dortland, A.K.B., Vreeburg, S.A., Giltay, E.J., Licht, C.M.M., Vogelzangs, N., van Veen, T., de Geus, E.J.C., Penninx, B.W.J.H., Zitman, F.G., 2013. The impact of stress systems and lifestyle on dyslipidemia and obesity in anxiety and depression. *Psychoneuroendocrinology* 38, 209-218.

Whitnall, M.H., 1993. Regulation of the hypothalamic corticotropin-releasing hormone neurosecretory system. *Progress in neurobiology* 40, 573-629.

Widmaier, E.P., Rosen, K., Abbott, B., 1992. Free fatty acids activate the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in rats. *Endocrinology* 131, 2313-2318.

Yao, Z., DuBois, D.C., Almon, R.R., Jusko, W.J., 2006. Modeling circadian rhythms of glucocorticoid receptor and glutamine synthetase expression in rat skeletal muscle. *Pharmaceutical research* 23, 670-679.

Table 1. Metabolic profiling and plasma fatty acids composition (% of total fatty acids) after 8 weeks of high-fat feeding. DGLA: Dihomo- γ -linolenic acid; EPA: Eicosapentaenoic acid; DPA: Docosapentaenoic acid; DHA: Docosahexaenoic acid; FA: fatty acids; MUFA: mono-unsaturated fatty acids; PUFA: poly-unsaturated fatty acids; SFA: saturated fatty acids. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$. * vs CTL, # vs OLIVE.

	CTL	OLIVE	PALM	p value
Starting body weight (g)	344.08 \pm 5.42	336.27 \pm 4.90	341.29 \pm 4.72	0.55
Final body weight (g)	629.79 \pm 16.17	656.29 \pm 18.96	645.03 \pm 13.05	0.52
Total fat (% of body weight)	8.17 \pm 0.67	10.59 \pm 0.47 **	10.99 \pm 0.98 **	0.0008
Visceral fat (% of body weight)	6.03 \pm 0.45	8.78 \pm 0.50 ***	9.31 \pm 0.14 ***	< 0.0001
Subcutaneous fat (% of body weight)	2.15 \pm 0.25	1.80 \pm 0.20	1.68 \pm 0.10	0.24
Basal locomotor activity (cm)	12099 \pm 1524	9836 \pm 1388	10350 \pm 1136	0.4717
Free fatty acids (mM)	0.18 \pm 0.04	0.33 \pm 0.06	0.27 \pm 0.03	0.11
Peak corticosterone (ng/ml)	32.46 \pm 4.12	43.06 \pm 3.71	61.13 \pm 7.46**	0.0024
C-Reactive Protein (mg/ml)	1.48 \pm 0.09	1.43 \pm 0.19	1.38 \pm 0.16	0.89
TNFα (pg/ml)	46.79 \pm 8.16	66.37 \pm 8.74	93.17 \pm 9.00 **	0.0025
Plasma FA composition (%)				
Myristic C14:0	0.40 \pm 0.03	0.21 \pm 0.02 ***	0.29 \pm 0.02 *, #	< 0.0001
Palmitic C16:0	22.29 \pm 0.50	19.30 \pm 0.83	23.30 \pm 0.69 *, ###	0.0018
Palmitoleic C16:1	4.48 \pm 0.73	1.38 \pm 0.18 ***	0.90 \pm 0.08 ***	< 0.0001
Stearic C18:0	8.85 \pm 1.16	9.11 \pm 0.68	12.40 \pm 0.44 *, #	0.0105
Oleic C18:1 n-9	8.15 \pm 0.58	33.29 \pm 2.03 ***	15.20 \pm 0.92 **, ####	< 0.0001
Vaccenic C18:1 n-7	2.41 \pm 0.29	2.10 \pm 0.20	0.98 \pm 0.06 ***, ##	0.0003
Linoleic C18:2 n-6	24.06 \pm 1.28	13.27 \pm 0.65 ***	18.18 \pm 0.89 **, ###	< 0.0001
γ -Linolenic C18:3 n-6	0.10 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01 *	0.06 \pm 0.01 *	0.0105
α -Linolenic C18:3 n-3	0.70 \pm 0.12	0.13 \pm 0.01 ***	0.12 \pm 0.01 ***	< 0.0001
DGLA C20:3 n-6	0.08 \pm 0.01	0.04 \pm 0.00 ***	0.05 \pm 0.01 **	0.0004
Mead C20:3 n-9	0.01 \pm 0.00	0.07 \pm 0.01 ***	0.04 \pm 0.00 ***, ####	< 0.0001
Arachidonic C20:4	26.75 \pm 2.13	20.40 \pm 2.00	27.89 \pm 1.68 #	0.0263
EPA C20:5	0.11 \pm 0.02	0.01 \pm 0.00 ***	0.01 \pm 0.00 ***	< 0.0001
DPA C22:5 n-3	0.07 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00 ***	0.03 \pm 0.00 ***	< 0.0001
DHA C22:6	1.54 \pm 0.24	0.60 \pm 0.10 **	0.56 \pm 0.11 **	0.0005
Total % SFA	31.53 \pm 1.70	28.62 \pm 1.52**	35.99 \pm 1.16***, ####	< 0.0001
Total % MUFA	15.05 \pm 1.61	36.76 \pm 2.41***	17.07 \pm 1.06 ####	< 0.0001
Total % PUFA	53.42 \pm 3.81	34.61 \pm 2.79***	46.94 \pm 2.71**, ####	< 0.0001

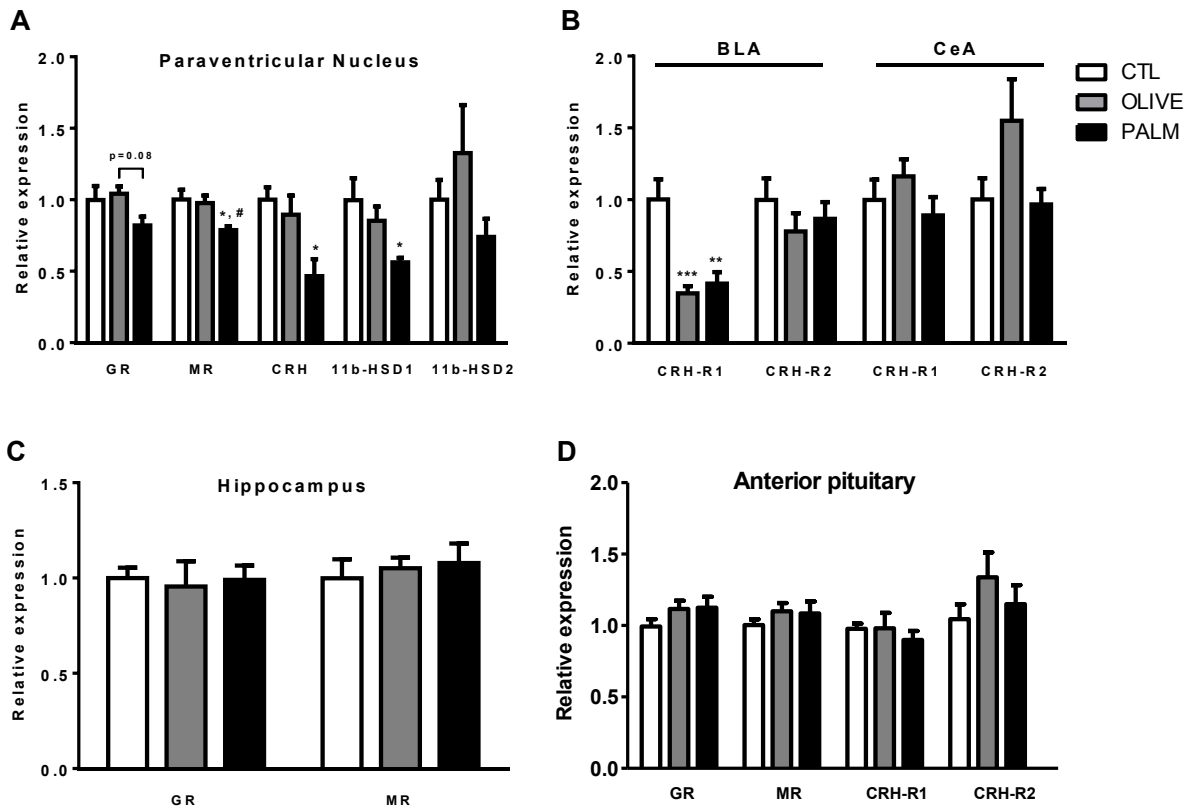


Figure 1. A saturated high fat diet suppresses the expression of stress-related genes in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and basolateral amygdala. Gene expression was determined by qPCR and mRNA levels were normalized to reference genes. **(A)** The saturated fat diet decreased the expression of GR, MR, CRH and 11 β -HSD1 in the paraventricular nucleus of the hypothalamus, but 11 β -HSD2 was unchanged. **(B)** CRH-R1 but not CRH-R2 was decreased by both high-fat diets in the BLA. CRH-R1 and CRH-R2 expression levels were unchanged in the CeA. **(C)** The expression of GR and MR in the hippocampus was not affected by the either diet. **(D)** The expression of GR, MR, CRH-R1 and CRH-R2 in the anterior pituitary was not affected by the either diet. 11 β -HSD: 11 β hydroxysteroid dehydrogenase; BLA: basolateral amygdala; CeA: central amygdala; CRH: corticotropin releasing hormone; CRH-R: corticotropin releasing hormone receptor; GR: glucocorticoid receptor, MR: mineralocorticoid receptor. n=6-8. One-way ANOVA. * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 vs CTL. # p<0.05 vs OLIVE.

Dexamethasone suppression test

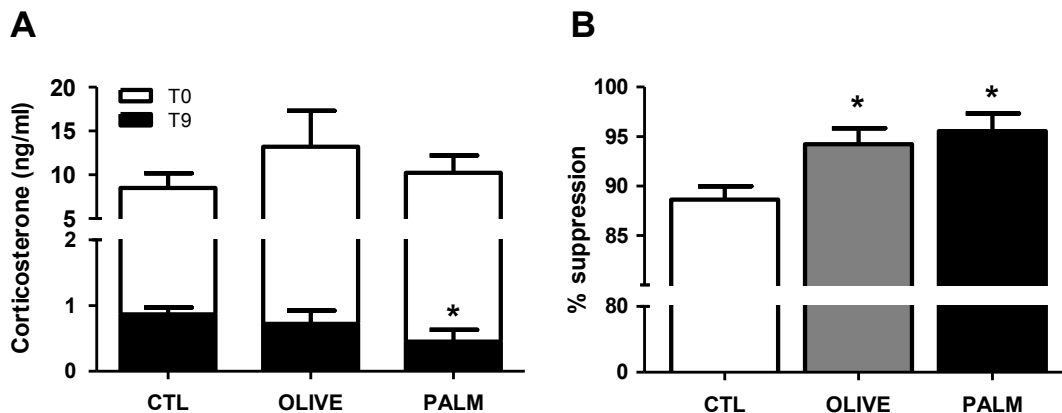


Figure 2. High-fat feeding increases the sensitivity to the corticosterone-suppressing effect of dexamethasone. Plasma corticosterone levels were assessed right before (T0) and 9 hours (T9) after the injection of dexamethasone (20 μ g/kg). **(A)** Nadir corticosterone levels were similar between groups at T0. Corticosterone secretion was successfully suppressed in all three groups following dexamethasone injection (T9). **(B)** The corticosterone-suppressing effect of dexamethasone (expressed as percentage suppression) was greater in the OLIVE and PALM groups. One-way ANOVA. n=9-12. * p<0.05 vs CTL.

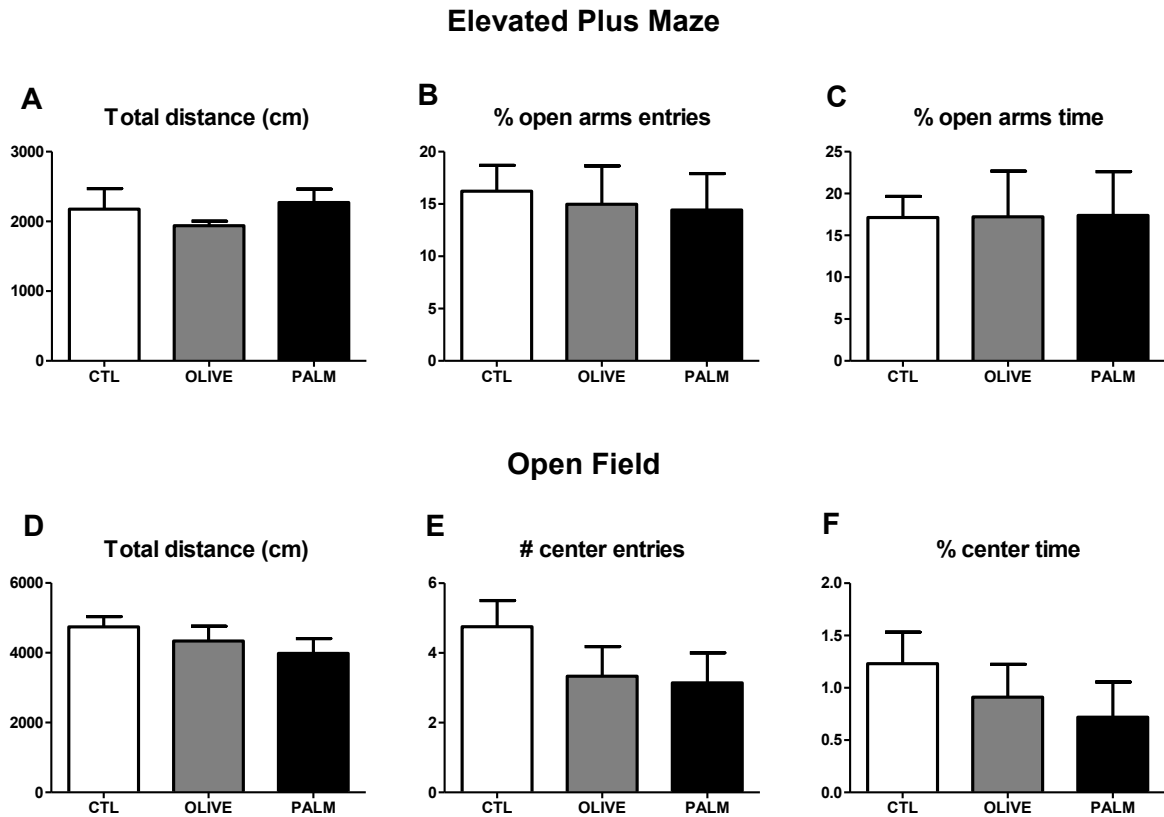


Figure 3. High-fat feeding does not elicit anxiety-like behavior. (A-C) Elevated plus maze. High-fat fed rats exhibited similar total distance travelled (A), percentage entries (B) and time (C) in open arms of the elevated plus maze. (D-F) High-fat fed rats exhibited similar total distance travelled (D), number of entries (E) and percentage time spent (F) in the center of the open field arena. n=6-9.

Discussion générale

Les données les plus récentes de l'Organisation Mondiale de la Santé font état de 1,9 milliard d'adultes en surpoids dans le monde en 2014. Parmi ceux-ci 600 millions sont obèses (OMS, aide-mémoire 311). La prévalence de l'obésité n'a cessé de croître depuis les années 1980 et si la tendance se maintient il est prédit que d'ici 2019, il y aura plus de personnes en surpoids ou obèses que de personnes avec un poids santé dans la moitié des provinces du Canada (Twells, Gregory et al. 2014). Face à ces données, il n'est donc pas nécessaire de rappeler à quel point il est important d'élucider les mécanismes responsables du contrôle de la PA.

Au début de ce projet, la littérature florissait déjà d'études rapportant que la consommation excessive de nourriture riche en gras affecte les processus cognitifs, émotionnels et motivationnels et entraîne des désordres cardiométaboliques et psychologiques. Cependant il n'était pas clair à quel point les altérations de ces processus, auxquels participent le SDM et l'axe HHS, sont une cause ou une conséquence des pathologies comme l'obésité. Très souvent les modèles animaux d'obésité sont ceux induits par la diète et la distinction entre les différentes classes d'AG est rare. De plus, l'existence de mécanismes de détection des AG au niveau du VTA était ignorée.

Il ressort trois points importants des résultats présentés ici :

- 1- Les neurones à DA du VTA sont capables de détecter les AG : ils sont équipés pour l'incorporation et le métabolisme des AG et perçoivent les variations d'AO pour moduler les comportements alimentaire et motivé.
- 2- La consommation prolongée de gras saturés, en l'absence de gain de poids et de désordres métaboliques, induit une hyposensibilité du SDM aux effets récompensant et locomoteurs de l'AMPH, qui s'accompagne de changements dans l'expression de plusieurs protéines impliquées dans la signalisation dopaminergique.
- 3- La consommation de ce type de nourriture, également avant toute altération métabolique majeure, altère l'expression de gènes impliqués dans le rétro-contrôle négatif des GC et la sensibilité de l'axe HHS.

Les interprétations présentées dans les articles de cette thèse reposent sur une base solide de résultats pour lesquels nous avons utilisé des approches variées et complémentaires. Toutefois, certains points méritent d'être discutés plus en détails.

Notre première étude montre pour la première fois que similairement aux neurones hypothalamiques, les neurones à DA du VTA sont sensibles aux signaux nutritionnels que sont les AG. Nous montrons que l'AO module l'activité électrique des neurones à DA, qu'ils sont capables d'incorporer les analogues fluorescents d'AG à long chaîne comme l'AO et l'AP, et que cela est inhibé en partie par l'utilisation de phlorétine, un inhibiteur des transporteurs des AG. Les neurones à DA du VTA expriment FATP1 et FATP4, et même si nous ne l'avons pas encore établi dans notre modèle de culture cellulaire, il est probable qu'ils expriment aussi CD36. La phlorétine étant un inhibiteur non-spécifique, il sera intéressant de déterminer si l'un des transporteurs mentionnés ci-dessus est préférentiellement utilisé par l'AO. Le sulfo-N-succinimidyl oleate par exemple permettra d'évaluer le rôle de CD36, qui est notamment nécessaire à l'effet anorectique des AG hypothalamiques sur la PA (Moulle, Le Foll et al. 2013). L'utilisation d'inhibiteurs spécifique aux FATP1 (Matsufuji, Ikeda et al. 2013) et FATP4 (Blackburn, Guan et al. 2006) serviront également à discerner leurs implications. Une fois les mécanismes de détections des AG clairement identifiés, il restera à savoir si et dans quelle mesure ils sont altérés par la consommation de diète riche en gras, comme c'est le cas dans l'hypothalamus, où aussi peu que trois jours de diète riche en gras perturbe ces mécanismes (Morgan, Obici et al. 2004, Poci, Lam et al. 2006).

Avec l'étude des diètes riche en gras, nous avons établi un modèle où l'exposition prolongée à des AGS spécifiquement altère à la fois les processus de motivation et de la réponse au stress. La dépendance à la nourriture induite par le stress fait référence au réconfort émotionnel apporté par la prise de nourriture riche en gras et qui est renforcée en période de stress (Adam and Epel 2007). Étant donné l'abondance de ce type de nourriture et les hauts niveaux de stress rapportés par la population (Stambor 2006), l'implication simultanée des GC et du SDM dans la recherche et la consommation de nourriture à haute densité calorique pourraient expliquer le fort taux de surpoids actuel. Ce modèle expliquerait comment les personnes stressées ou anxieuses cherchent à apaiser leur mal-être grâce à ce type de nourriture. Cet effet serait par ailleurs amplifié chez les personnes qui s'astreignent à un

régime car elles sont plus à même à surconsommer en cas d'épisode de stress, notamment des gras saturés (Wardle, Steptoe et al. 2000, Johnson, Pratt et al. 2012). C'est ce qu'on peut observer chez les animaux à qui l'on a retiré l'accès à la diète riche en gras, qui présentent un comportement anxieux et une recherche de nourriture et une réponse accrues suite à un stress (Sharma and Fulton 2013, Chen, Fiscella et al. 2014). D'autres ont également montré que cela induit l'expression de CRH dans la portion centrale de l'amygdale et que cela est normalisé lorsque la nourriture est à nouveau disponible (Cottone, Sabino et al. 2009), qui pourrait expliquer la surconsommation en période de stress, similairement aux personnes accoutumées aux drogues.

Dans les études analysant l'impact de diètes enrichies en gras, la qualité et la quantité d'AG sont des sources non-négligeables de variabilité qui peuvent mener à différentes altérations centrales et conséquences métaboliques. Bien souvent les études utilisent une diète à base de lard, qui contient environ autant d'AGS que d'AGMI, ou à base d'huile de noix de coco hydrogénée, riche en AGS mais surtout en AG *trans*. De plus, la teneur en gras peut varier entre 38 et 60% des kilocalories totales. Enfin, beaucoup comparent une sorte de nourriture riche en gras à une diète standard ou contrôle et au final, peu d'études se sont intéressées aux effets spécifiques d'une classe d'AG. Il existe des études sur les effets de diètes riches en gras de différentes sources sur la fonction hépatique (Buettner, Parhofer et al. 2006) ou encore le microbiote intestinal (Patterson, RM et al. 2014) mais personne ne s'était encore intéressé à la fonction dopaminergique mésolimbique et celle de l'axe HHS. Dans la seconde partie du projet nous avons donc évalué l'impact de deux des AG retrouvés le plus souvent dans l'alimentation et l'organisme. Nous montrons que la fonction dopaminergique mésolimbique et celle de l'axe HHS sont altérées, de façon rapide et avant l'apparition d'obésité et d'altérations métaboliques couramment retrouvées avec elle, par la consommation de gras saturés spécifiquement.

La composition de nos deux diètes riche en gras nous a permis de cibler les effets spécifiques à une classe d'AG. La diète OLIVE contient 72% d'AGMI, dont 70% d'AO et la diète PALM est enrichie en AGS à 51%, dont 45% d'AP. Cela nous permet d'imputer les effets observés à ces AG spécifiquement. Cependant la diète PALM contient également

presque 40% d'AO. Il est donc possible que les effets néfastes de la diète PALM aient pu être atténués par la portion non négligeable d'AG insaturés.

Une autre force de notre modèle réside dans le fait que nous nous soyons affranchis des effets propres au gain de poids et aux niveaux élevés de leptine, d'insuline ou encore de glucose, sur le SDM. Il s'agit d'un aspect important de nos études car cela nous a permis de déterminer que plusieurs altérations peuvent être une cause plutôt qu'une conséquence du surpoids ou de l'obésité. De manière générale, les études s'accordent sur le fait que la consommation prolongée de diète riche en gras, associée ou non à un gain de poids, induit une hyposensibilité du système dopaminergique. Mais comme nous le discutons dans une revue récente (Décarie-Spain, Hryhorczuk et al. 2016), il y a beaucoup de divergence quant aux altérations provoquées par la consommation de diète riche en gras. À cause de la grande variabilité dans les méthodes, le sexe, l'espèce, la durée, la composition de la diète utilisés et surtout par rapport au gain de poids et à la masse adipeuse que les animaux développent, la synthèse de DA, sa libération ou encore l'expression des récepteurs à la DA s'en retrouvent différemment affectées. Notamment pour ces derniers, les résultats sont inconsistants autant chez les rongeurs que chez les humains. Chez les rongeurs, D1R est globalement diminué mais il n'est pas rare de trouver une discordance entre l'expression génique, l'expression protéique et la fonction de D2R (Huang, Yu et al. 2005, Huang, Zavitsanou et al. 2006, Vucetic, Carlin et al. 2012, Carlin, Hill-Smith et al. 2013, Hansen, Jensen et al. 2013, Ong, Wanasuria et al. 2013, Sharma and Fulton 2013, Zhang, Wei et al. 2015). Chez les humains, les niveaux d'expression de D2R sont inférés à partir de la capacité de liaison d'un agoniste. Deux groupes ont rapporté une plus faible disponibilité de D2R dans le striatum de personnes obèses (Wang, Volkow et al. 2001, Volkow, Wang et al. 2008, de Weijer, van de Giessen et al. 2011, van de Giessen, Celik et al. 2014) mais d'autres rapportent des résultats inverses voire aucune différence (Steele, Prokopowicz et al. 2010, Dunn, Kessler et al. 2012, Eisenstein, Antenor-Dorsey et al. 2013, Guo, Simmons et al. 2014, Caravaggio, Raitsin et al. 2015, Karlsson, Tuominen et al. 2015). Il est impossible de savoir à partir de ces études si l'obésité induit une hypo-sensibilité de la fonction dopaminergique *via* une diminution de l'expression/disponibilité de D2R ou si une faible fonction dopaminergique pré-existante stimule une consommation excessive et mène à l'obésité. Dans les deux cas, la

surconsommation de nourriture servirait à pallier une hypo-fonction dopaminergique. Des études supportent chacune de ces hypothèses et plutôt que de généraliser quant à une hypo- ou hyper-fonction, des auteurs soulignent l'aspect dynamique de la fonction dopaminergique, différents stades de surpoids ou d'obésité induisant différentes perturbations endocriniennes et métaboliques (Burger and Stice 2011, Horstmann, Fenske et al. 2015).

L'absence de prise de poids chez nos animaux nourris avec la diète riche en gras nous a permis de déterminer que plusieurs altérations peuvent être une cause plutôt qu'une conséquence du surpoids ou de l'obésité, permettant par là-même d'émettre plusieurs hypothèses quant aux mécanismes par lesquels les AG affectent directement le SNC.

Premièrement, l'AO et l'AP pouvant traverser la barrière hémato-encéphalique (Smith and Nagura 2001, Mitchell, Edmundson et al. 2009, Cansell, Castel et al. 2014), ils seraient capables d'atteindre le parenchyme cérébrale pour directement moduler l'activité électrique des neurones et le comportement alimentaire, comme nous le montrons pour l'AO dans le VTA. Par contre, comme plusieurs groupes avant nous, l'injection centrale d'AP ne modifie pas le comportement alimentaire (Kleinridders, Schenten et al. 2009, Schwinkendorf, Tsatsos et al. 2011, Cheng, Yu et al. 2015). Aucune étude ne rapporte non plus de changement d'activité électrique de neurones suite à l'application d'AP. Par contre, il provoque de façon aigue une réaction inflammatoire dans l'hypothalamus telle que mesurée par l'augmentation des niveaux protéiques de TNF α et Il-1 β (Cheng, Yu et al. 2015). De même, la consommation de nourriture riche en gras saturés induit de l'inflammation hypothalamique, même en l'absence d'obésité et en aussi peu qu'une semaine. La production de cytokines pro-inflammatoires s'accompagne de l'activation et de la prolifération des astrocytes et de la microglie afin de contenir l'inflammation (De Souza, Araujo et al. 2005, Zhang, Zhang et al. 2008, Milanski, Degasperi et al. 2009, Posey, Clegg et al. 2009, Thaler, Yi et al. 2012). L'absence dans le SNC de la molécule adaptatrice MyD88, recrutée par les TLR4 lors de la réponse inflammatoire, de même que l'inhibition de la voie de signalisation NF- κ B dans les neurones hypothalamiques ou les astrocytes, protègent les souris contre la DIO et les altérations métaboliques associées (Zhang, Zhang et al. 2008, Kleinridders, Schenten et al. 2009, Buckman, Thompson et al. 2015), suggérant que cette inflammation soit responsable de la résistance centrale à l'insuline et à la leptine observée chez les animaux obèses (Benoit,

Kemp et al. 2009, Cheng, Yu et al. 2015). Par contre, huit jours de régime en gras et en sucre ne suffisent pas à provoquer une résistance à la leptine dans le NA ou le VTA (van den Heuvel, Eggels et al. 2014). Il se peut que le défaut de sensibilité s'installe plus tard, comme montré par cette étude : après six mois de HFD, la phosphorylation de STAT3 par la leptine est réduite dans le VTA de rats HFD (Matheny, Shapiro et al. 2011). Là encore, le gain de poids est un facteur important à prendre en considération puisqu'un autre groupe a montré que sous HFD ce sont les animaux les plus lourds qui sont le moins sensibles à l'effet anorexigène de la leptine dans le VTA (Bruijnzeel, Qi et al. 2013). De plus la quantité de sucre contenu dans la diète joue un rôle important. Seuls les animaux nourris pendant seize semaines avec une diète riche en gras et en sucre mais pas ceux nourris avec une diète riche en gras saturés, bien qu'hyperleptinémiques, développent une résistance à la leptine au niveau du noyau arqué (van den Heuvel, Eggels et al. 2014). La résistance hormonale peut également provenir d'un défaut au niveau de la barrière hémato-encéphalique car les souris obèses perdent leur capacité à transporter la leptine et l'insuline vers le compartiment central (Banks, Coon et al. 2004, Urayama and Banks 2008). Mais ceci semble en contradiction avec les études qui montrent que la consommation de nourriture riche en gras et l'obésité rendent la barrière hémato-encéphalique plus perméable (Hsu and Kanoski 2014). Il n'existe pas d'études chez les rongeurs montrant qu'un régime riche en gras puisse changer la sensibilité à l'insuline au niveau du SDM spécifiquement. Par contre, des femmes présentant une résistance à l'insuline ne montrent pas l'inhibition mésocorticolimbique normalement observée par la présentation d'images de nourriture suite à l'ingestion de glucose (Alsaadi and Van Vugt 2015). Des travaux en cours dans le laboratoire évaluent les effets de la diète PALM sur l'inflammation au niveau du NA et feront l'objet d'un article prochainement. Même s'il est encore question d'obésité et d'inflammation périphérique, ces résultats permettront d'approfondir nos connaissances sur la possible implication d'une neuro-inflammation dans la dysfonction dopaminergique mais aussi au niveau de l'axe HHS.

Sans éliminer la possibilité que les AG sous forme libre traversent la barrière hémato-encéphalique pour cibler directement les structures impliquées dans le contrôle de la PA et de la réponse au stress, il se peut également qu'ils proviennent de l'hydrolyse des triglycérides contenus dans les lipoprotéines. Les triglycérides sont d'ailleurs la forme majeure sous

laquelle se trouvent les AG alimentaires (Michalski, Genot et al. 2013). Les lipoprotéines, leurs récepteurs et la LPL ont été identifiés dans le cerveau et leur présence fournit un apport local d'AG (Wang and Eckel 2014). En dehors de l'hypothalamus et de l'hippocampe où elle contribue à la régulation de la balance énergétique (Wang and Eckel 2012, Picard, Rouch et al. 2014), la LPL intervient aussi pour contrôler la motivation. L'abolition de la LPL dans le NA empêche la diminution de la motivation, de la préférence pour la nourriture savoureuse et de l'activité locomotrice basale et stimulée par l'AMPH provoquée par l'injection intracarotidienne de triglycérides (Cansell, Castel et al. 2014). De plus, sept jours d'infusion de triglycérides abolissent la préférence pour la nourriture savoureuse mais suppriment toujours l'activité locomotrice. Ces résultats suggèrent que des changements moléculaires ont eu lieu, mais qui n'impliqueraient pas, du moins à ce stade, la LPL ni les D2R car leur expression est inchangée. Cette étude a été la première à montrer que les signaux nutritionnels de type AG et leur métabolisme affectent directement le NA pour réguler l'aspect motivationnel du comportement alimentaire. Les auteurs ne l'ont pas fait mais il aurait été intéressant de connaître les effets de sept jours d'infusion de triglycérides sur le comportement motivé. Tout de même, ces résultats s'apparentent aux nôtres et pourraient expliquer comment la consommation prolongée de gras saturés altère l'activité du SDM.

Une autre possibilité concerne la palmitoylation, qui consiste en l'ajout d'un AP à un résidu cystéine. Elle fait partie des modifications post-traductionnelles réversibles auxquelles peuvent être soumises les protéines une fois synthétisées. A la manière d'une phosphorylation ou d'une ubiquitination, la palmitoylation permet de réguler la fonction d'une protéine : dans ce cas-ci cela facilite leur adressage à la membrane. Sont soumis à cette régulation les récepteurs à la DA, DAT ou encore les sous-unités GluR des récepteurs AMPA (Blaskovic, Blanc et al. 2013), mais pas les GR (Deng, Waxse et al. 2015). L'injection aigüe de cocaïne engendre la palmitoylation des récepteurs AMPA dans le NA (Van Dolah, Mao et al. 2011) mais il n'existe pas encore de données concernant l'impact d'un régime riche en gras, peu importe la nature, sur la palmitoylation des protéines citées ou celles liées au métabolisme des AG comme les FATP.

Plusieurs peptides synthétisés et libérés au niveau du tractus gastro-intestinal participent à la régulation de l'homéostasie énergétique, la ghréline, le GLP-1 et la

cholécystokinine étant parmi les plus étudiés (Neary and Batterham 2009). Les N-acétyléthanolamines sont des messagers lipidiques produits à partir de phospholipides membranaires, les plus abondants étant l'oleoyléthanolamide (OEA), le palmitoyléthanolamide (PEA), le stearoyléthanolamide (SEA) et le linoleoyléthanolamide (LEA). Un rôle dans la modulation de la PA et du métabolisme lipidique a été découvert suite à l'observation que les niveaux intestinaux d'OEA augmentent suite à un repas. L'OEA est produit par les entérocytes à partir de l'AO libéré par la dégradation des triglycérides alimentaires (Schwartz, Fu et al. 2008) et son administration orale ou intra-péritonéale réduit la fréquence des repas (Fu, Gaetani et al. 2003, Gaetani, Oveisi et al. 2003, Oveisi, Gaetani et al. 2004, Schwartz, Fu et al. 2008). L'OEA recruterait les fibres vagues via les récepteurs PPAR α pour exercer ses effets anorectiques (Rodriguez de Fonseca, Navarro et al. 2001, Fu, Gaetani et al. 2003). De plus, l'OEA réduit l'activation de l'axe HHS chez un modèle murin de stress (Jin, Yu et al. 2015). Les propriétés anorectiques, et possiblement anti-dépressives, de l'OEA sont négativement affectées par l'exposition à un régime riche en gras (Romano, Karimian Azari et al. 2014), qui par ailleurs réduit les niveaux intestinaux de N-acétyléthanolamines indépendamment du gain de poids et de la nature des AG utilisés dans les diètes (Artmann, Petersen et al. 2008, Diep, Madsen et al. 2011, Igarashi, DiPatrizio et al. 2015). Les niveaux de N-acétyléthanolamines sont restaurés lorsque les animaux sont re-nourris avec une diète standard (Diep, Madsen et al. 2014). Même si on ne connaît pas encore les mécanismes, la diminution d'un facteur intestinal anorectique par la consommation d'une diète riche en gras pourrait expliquer ses effets hyperphagiques et les dysfonctions dopaminergiques. Normalement l'infusion gastrique de lipides stimule la libération de DA dans le SD, un effet absent chez des souris HFD. Or ceci, ainsi que les déficits motivationnels, sont restaurés par l'infusion intestinale préalable d'OEA. L'OEA représente ainsi un des mécanismes reliant la consommation de diète riche en gras à la déficience dopaminergique dans le SDM (Tellez, Medina et al. 2013). Mais comment expliquer que l'hyposensibilité dopaminergique ne se retrouve qu'avec la diète PALM alors que les niveaux des N-acétyléthanolamines, dont le PEA, l'OEA et le LEA, diminuent suite à l'exposition de diète riche en gras peu importe le type de gras utilisé? Artmann *et al.* ont montré que la diète enrichie en AO augmentait les niveaux cérébraux d'OEA, ce qui n'était pas le cas des autres diètes utilisées (Artmann, Petersen et al. 2008). Considérant les effets neuro-protecteurs et

bénéfique pour la mémoire de l'OEA (Sun, Alexander et al. 2007, Campolongo, Roozendaal et al. 2009), il est possible que les niveaux cérébraux compensent en partie le déficit intestinal causé par la consommation d'une diète riche en gras.

Conclusion

Les résultats présentés dans cette thèse de doctorat ont permis d'établir la présence de mécanismes de détection des AG dans le VTA et d'approfondir les connaissances sur les effets moléculaires, cellulaires et comportementaux de la consommation prolongée de gras sur la fonction du SDM et de l'axe HHS.

Dans la première étude, nous avons montré que tout comme les neurones hypothalamiques, les neurones à DA du VTA sont capables de détecter les AG pour moduler non seulement le comportement alimentaire mais aussi motivé.

Par l'exposition prolongée à une diète enrichie en gras, nous avons montré par la suite que les AGS mais pas les AGMI, en l'absence de gain de poids et de désordres métaboliques, altèrent la fonction dopaminergique mésolimbique et celle de l'axe HHS. Spécifiquement, ils induisent une hyposensibilité du SDM aux effets récompensant et locomoteurs de l'AMPH, qui s'accompagne de changements dans l'expression de plusieurs protéines impliquées dans la signalisation dopaminergique. Ils altèrent également la sensibilité de l'axe HHS et l'expression de gènes impliqués dans le rétro-contrôle négatif des GC.

L'hypothèse étiologique que nous pourrions suggérer à partir de ces travaux est que dans un premier temps, les gras saturés, de par leurs propriétés hédoniques et récompensantes stimulent le SDM et la prise de ce type de nourriture, mais que ceci entraîne, par la consommation soutenue et une hyperstimulation du SDM, des adaptations moléculaires et cellulaires au niveau du SDM dont le NA mais aussi de l'hypothalamus, menant à une hypofonction dopaminergique et à la dysfonction de l'axe HHS. La recherche et la prise de nourriture riche en gras saturés serait alors encore plus renforcée, particulièrement dans un environnement obésogène et stressant, afin de compenser l'hyposensibilité aux effets récompensants de substances normalement récompensantes et/ou d'alléger les symptômes de stress, entraînant ultimement l'obésité et des troubles psychologiques.

Même si le concept d'addiction à la nourriture, au même titre que l'héroïne ou les amphétamines ne fait pas l'unanimité (Benton and Young 2016, Carter, Hendrikse et al. 2016), ce cycle de consommation ressemble à ce qui est décrit pour l'addiction aux drogues. On retrouve effectivement chez les personnes obèses et celles accoutumées aux drogues plusieurs similarités comportementales et neurobiologiques, comme la présence de symptôme

de sevrage, un sentiment de perte de contrôle face au produit et sa consommation malgré la connaissance de ses effets négatifs, une diminution de la libération de DA suite à la consommation ou encore une plus faible expression des récepteurs D2 dans le striatum (de Jong, Vanderschuren et al. 2012). L'impulsivité, qui favorise la surconsommation, représente un trait commun additionnel, trait que nous avons testé chez les rats sous diète riche en AGS. Nous n'avons trouvé aucun signe d'impulsivité dans notre cas, mais ceci peut s'expliquer par le fait qu'au moment du test, soit après huit semaines de diète, les rats consomment une quantité identique de calories aux rats sous diète contrôle. Nous pouvons toutefois imaginer, mais cela restera bien évidemment à confirmer, qu'un comportement impulsif apparaisse plus tard, en parallèle avec une augmentation significative de la quantité de calories ingérées et de poids corporel.

Nos résultats viennent non seulement renforcer l'existence d'effets différentiels des AG selon leur classe mais aussi la notion des effets délétères d'une consommation excessive de lipides, en particulier saturés, sur les mécanismes de contrôle de l'homéostasie énergétique auquel participent le SDM et l'axe HHS. Mais comme pour toutes les études faites chez les rongeurs, la question de la transposition de ces résultats à l'être humain peut être soulevée. Il est indéniable que les environnements nutritionnels dans lesquels les humains et les rats évoluent sont différents ; que dans leur habitat naturel, ces derniers n'ont pas accès au genre de nourriture auquel nous les avons soumis. Mais de part son degré d'appréciabilité plus élevé, la seule disponibilité d'une diète riche en gras suffit à en faire augmenter sa consommation au détriment d'une nourriture saine, plus faible en gras, autant chez les rongeurs que chez les êtres humains. Et ce type d'interventions nutritionnelles constitue un bon moyen pour représenter et étudier les mécanismes de contrôle de la PA, les caractéristiques de l'obésité humaine et ses co-morbidités. Les études actuelles s'accordent généralement pour dénoncer les dommages centraux et cardiovasculaires causés par les régimes riches en AGS et souligner les bénéfices des AG insaturés, autant chez les rongeurs que chez l'humain. Mais même si seules des études cliniques aux méthodologies similaires à nos études permettront de dire si nos résultats peuvent être transposés à l'humain, il a déjà été montré que les AGS peuvent altérer l'activité cérébrale et sont associés négativement à la sensibilité cérébrale à l'insuline (Heni, Kullmann et al. 2015, Dumas, Bunn et al. 2016).

Les efforts de recherche continus pour une meilleure compréhension des mécanismes centraux de détection des lipides et des altérations des systèmes de régulation de la balance énergétique permettront d'améliorer les stratégies thérapeutiques actuellement utilisées dans le traitement des maladies métaboliques liées à l'obésité.

Bibliographie

- Abbott, S. K., P. L. Else, T. A. Atkins and A. J. Hulbert (2012). "Fatty acid composition of membrane bilayers: Importance of diet polyunsaturated fat balance." Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes **1818**(5): 1309-1317.
- Abdullah, M. M., J. P. Jones and P. J. Jones (2015). "Economic benefits of the Mediterranean-style diet consumption in Canada and the United States." Food Nutr Res **59**: 27541.
- Abizaid, A., Z. W. Liu, Z. B. Andrews, M. Shanabrough, E. Borok, J. D. Elsworth, R. H. Roth, M. W. Sleeman, M. R. Picciotto, M. H. Tschoop, X. B. Gao and T. L. Horvath (2006). "Ghrelin modulates the activity and synaptic input organization of midbrain dopamine neurons while promoting appetite." J Clin Invest **116**(12): 3229-3239.
- Abumrad, N. A., M. Ajmal, K. Pothakos and J. K. Robinson (2005). "CD36 expression and brain function: does CD36 deficiency impact learning ability?" Prostaglandins Other Lipid Mediat **77**(1-4): 77-83.
- Abumrad, N. A., M. R. el-Maghrabi, E. Z. Amri, E. Lopez and P. A. Grimaldi (1993). "Cloning of a rat adipocyte membrane protein implicated in binding or transport of long-chain fatty acids that is induced during preadipocyte differentiation. Homology with human CD36." J Biol Chem **268**(24): 17665-17668.
- Abumrad, N. A., J. H. Park and C. R. Park (1984). "Permeation of long-chain fatty acid into adipocytes. Kinetics, specificity, and evidence for involvement of a membrane protein." J Biol Chem **259**(14): 8945-8953.
- Adam, T. C. and E. S. Epel (2007). "Stress, eating and the reward system." Physiol Behav **91**(4): 449-458.
- Afonso-Oramas, D., I. Cruz-Muros, D. Alvarez de la Rosa, P. Abreu, T. Giraldez, J. Castro-Hernandez, J. Salas-Hernandez, J. L. Lanciego, M. Rodriguez and T. Gonzalez-Hernandez (2009). "Dopamine transporter glycosylation correlates with the vulnerability of midbrain dopaminergic cells in Parkinson's disease." Neurobiol Dis **36**(3): 494-508.
- Ahmad, S. O., J. Park, J. D. Radel and B. Levant (2008). "Reduced numbers of dopamine neurons in the substantia nigra pars compacta and ventral tegmental area of rats fed an n-3 polyunsaturated fatty acid-deficient diet: a stereological study." Neuroscience letters **438**(3): 303-307.
- Alessandri, J. M., P. Guesnet, S. Vancassel, P. Astorg, I. Denis, B. Langelier, S. Aid, C. Poumes-Ballihaut, G. Champeil-Potokar and M. Laviaille (2004). "Polyunsaturated fatty acids in the central nervous system: evolution of concepts and nutritional implications throughout life." Reprod Nutr Dev **44**(6): 509-538.
- Alho, H., R. T. Fremeau, Jr., H. Tiedge, J. Wilcox, P. Bovolin, J. Brosius, J. L. Roberts and E. Costa (1988). "Diazepam binding inhibitor gene expression: location in brain and peripheral tissues of rat." Proc Natl Acad Sci U S A **85**(18): 7018-7022.
- Alpers, D. H., D. R. Lock, N. Lancaster, K. Poksay and G. Schonfeld (1985). "Distribution of apolipoproteins A-I and B among intestinal lipoproteins." Journal of Lipid Research **26**(1): 1-10.
- Alsaadi, H. M. and D. A. Van Vugt (2015). "Insulin sensitivity affects corticolimbic brain responses to visual food cues in polycystic ovary syndrome patients." Horm Mol Biol Clin Investig **24**(2): 101-115.
- Ambroggi, F., M. Turiault, A. Milet, V. Deroche-Gamonet, S. Parnaudeau, E. Balado, J. Barik, R. van der Veen, G. Maroteaux, T. Lemberger, G. Schutz, M. Lazar, M. Marinelli, P. V. Piazza and F. Tronche (2009). "Stress and addiction: glucocorticoid receptor in dopaminergic neurons facilitates cocaine seeking." Nat Neurosci **12**(3): 247-249.

- Amenta, F., A. Ricci, S. K. Tayebati and D. Zaccheo (2002). "The peripheral dopaminergic system: morphological analysis, functional and clinical applications." Ital J Anat Embryol **107**(3): 145-167.
- Anand, B. K. and J. R. Brobeck (1951). "Hypothalamic Control of Food Intake in Rats and Cats." The Yale Journal of Biology and Medicine **24**(2): 123-140.
- Anand, B. K. and J. R. Brobeck (1951). "Localization of a "feeding center" in the hypothalamus of the rat." Proc Soc Exp Biol Med **77**(2): 323-324.
- Anderson, C. M. and A. Stahl (2013). "SLC27 fatty acid transport proteins." Molecular aspects of medicine **34**(2-3): 516-528.
- Andersson, A., C. Nalsen, S. Tengblad and B. Vessby (2002). "Fatty acid composition of skeletal muscle reflects dietary fat composition in humans." Am J Clin Nutr **76**(6): 1222-1229.
- Ang, E., J. Chen, P. Zagouras, H. Magna, J. Holland, E. Schaeffer and E. J. Nestler (2001). "Induction of nuclear factor-kappaB in nucleus accumbens by chronic cocaine administration." J Neurochem **79**(1): 221-224.
- Angulo-Guerrero, O. and R. R. Oliart (1998). "Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on rat brain plasma membrane fatty acid composition." Arch Latinoam Nutr **48**(4): 287-292.
- Anjos, L. A., C. Teixeira Fda, V. Wahrlich, M. T. Vasconcellos and S. B. Going (2013). "Body fat percentage and body mass index in a probability sample of an adult urban population in Brazil." Cad Saude Publica **29**(1): 73-81.
- Anthony, K., L. J. Reed, J. T. Dunn, E. Bingham, D. Hopkins, P. K. Marsden and S. A. Amiel (2006). "Attenuation of insulin-evoked responses in brain networks controlling appetite and reward in insulin resistance: the cerebral basis for impaired control of food intake in metabolic syndrome?" Diabetes **55**(11): 2986-2992.
- Antoniou, K., E. Kafetzopoulos, Z. Papadopoulou-Daifoti, T. Hyphantis and M. Marselos (1998). "D-amphetamine, cocaine and caffeine: a comparative study of acute effects on locomotor activity and behavioural patterns in rats." Neurosci Biobehav Rev **23**(2): 189-196.
- Araki, K. Y., J. R. Sims and P. G. Bhide (2007). "Dopamine receptor mRNA and protein expression in the mouse corpus striatum and cerebral cortex during pre- and post-natal development." Brain research **1156**: 31-45.
- Aro, A. and W. Becker (2010). "Improving nutrition in Finland." Public Health Nutr **13**(6a): 899-900.
- Arsenault, B. J., E. P. Beaumont, J. P. Despres and E. Larose (2012). "Mapping body fat distribution: a key step towards the identification of the vulnerable patient?" Ann Med **44**(8): 758-772.
- Artmann, A., G. Petersen, L. I. Hellgren, J. Boberg, C. Skonberg, C. Nellesmann, S. H. Hansen and H. S. Hansen (2008). "Influence of dietary fatty acids on endocannabinoid and N-acyl ethanolamine levels in rat brain, liver and small intestine." Biochim Biophys Acta **1781**(4): 200-212.
- Atkinson, H. C. and B. J. Waddell (1997). "Circadian variation in basal plasma corticosterone and adrenocorticotropin in the rat: sexual dimorphism and changes across the estrous cycle." Endocrinology **138**(9): 3842-3848.
- Axelrod, J. (1971). "Noradrenaline: fate and control of its biosynthesis." Science **173**(3997): 598-606.
- Bach, A. W., N. C. Lan, D. L. Johnson, C. W. Abell, M. E. Bembenek, S. W. Kwan, P. H. Seeburg and J. C. Shih (1988). "cDNA cloning of human liver monoamine oxidase A and B:

molecular basis of differences in enzymatic properties." Proc Natl Acad Sci U S A **85**(13): 4934-4938.

Banks, W. A., A. B. Coon, S. M. Robinson, A. Moinuddin, J. M. Shultz, R. Nakaoka and J. E. Morley (2004). "Triglycerides induce leptin resistance at the blood-brain barrier." Diabetes **53**(5): 1253-1260.

Bardo, M. T., J. M. Valone and R. A. Bevins (1999). "Locomotion and conditioned place preference produced by acute intravenous amphetamine: role of dopamine receptors and individual differences in amphetamine self-administration." Psychopharmacology (Berl) **143**(1): 39-46.

Bassareo, V. and G. Di Chiara (1999). "Modulation of feeding-induced activation of mesolimbic dopamine transmission by appetitive stimuli and its relation to motivational state." Eur J Neurosci **11**(12): 4389-4397.

Baylin, A., E. K. Kabagambe, X. Siles and H. Campos (2002). "Adipose tissue biomarkers of fatty acid intake." Am J Clin Nutr **76**(4): 750-757.

Bazinet, R. P. and S. Laye (2014). "Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease." Nat Rev Neurosci **15**(12): 771-785.

Beaulieu, J. M., S. Espinoza and R. R. Gainetdinov (2015). "Dopamine receptors - IUPHAR Review 13." Br J Pharmacol **172**(1): 1-23.

Benoit-Marand, M., E. Borrelli and F. Gonon (2001). "Inhibition of dopamine release via presynaptic D2 receptors: time course and functional characteristics in vivo." J Neurosci **21**(23): 9134-9141.

Benoit, S. C., C. J. Kemp, C. F. Elias, W. Abplanalp, J. P. Herman, S. Migrenne, A. L. Lefevre, C. Cruciani-Guglielmacci, C. Magnan, F. Yu, K. Niswender, B. G. Irani, W. L. Holland and D. J. Clegg (2009). "Palmitic acid mediates hypothalamic insulin resistance by altering PKC-theta subcellular localization in rodents." J Clin Invest **119**(9): 2577-2589.

Bensaid, A., D. Tome, D. Gietzen, P. Even, C. Morens, N. Gausseres and G. Fromentin (2002). "Protein is more potent than carbohydrate for reducing appetite in rats." Physiol Behav **75**(4): 577-582.

Benton, D. and H. A. Young (2016). "A meta-analysis of the relationship between brain dopamine receptors and obesity: a matter of changes in behavior rather than food addiction?" International Journal of Obesity (2005) **40**(Suppl 1): S12-S21.

Berendse, H. W., H. J. Groenewegen and A. H. Lohman (1992). "Compartmental distribution of ventral striatal neurons projecting to the mesencephalon in the rat." J Neurosci **12**(6): 2079-2103.

Berridge, K. C., T. E. Robinson and J. W. Aldridge (2009). "Dissecting components of reward: 'liking', 'wanting', and learning." Current opinion in pharmacology **9**(1): 65-73.

Berthoud, H.-R. (2002). "Multiple neural systems controlling food intake and body weight." Neuroscience & Biobehavioral Reviews **26**(4): 393-428.

Bertran-Gonzalez, J., C. Bosch, M. Maroteaux, M. Matamales, D. Herve, E. Valjent and J. A. Girault (2008). "Opposing patterns of signaling activation in dopamine D1 and D2 receptor-expressing striatal neurons in response to cocaine and haloperidol." J Neurosci **28**(22): 5671-5685.

Bibb, J. A., J. Chen, J. R. Taylor, P. Svenningsson, A. Nishi, G. L. Snyder, Z. Yan, Z. K. Sagawa, C. C. Ouimet, A. C. Nairn, E. J. Nestler and P. Greengard (2001). "Effects of chronic exposure to cocaine are regulated by the neuronal protein Cdk5." Nature **410**(6826): 376-380.

Bibb, J. A., G. L. Snyder, A. Nishi, Z. Yan, L. Meijer, A. A. Fienberg, L. H. Tsai, Y. T. Kwon, J. A. Girault, A. J. Czernik, R. L. Haganir, H. C. Hemmings, Jr., A. C. Nairn and P. Greengard (1999). "Phosphorylation of DARPP-32 by Cdk5 modulates dopamine signalling in neurons." Nature **402**(6762): 669-671.

Bilang-Bleuel, A., J. Rech, S. De Carli, F. Holsboer and J. M. Reul (2002). "Forced swimming evokes a biphasic response in CREB phosphorylation in extrahypothalamic limbic and neocortical brain structures in the rat." Eur J Neurosci **15**(6): 1048-1060.

Bisschop, P. H., M. J. Dekker, W. Osterthun, J. Kwakkel, J. J. Anink, A. Boelen, U. A. Unmehopa, J. W. Koper, S. W. Lamberts, P. M. Stewart, D. F. Swaab and E. Fliers (2013). "Expression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in the human hypothalamus." J Neuroendocrinol **25**(5): 425-432.

Bjorklund, A. and S. B. Dunnett (2007). "Dopamine neuron systems in the brain: an update." Trends Neurosci **30**(5): 194-202.

Bjorklund, A. and O. Lindvall (1975). "Dopamine in dendrites of substantia nigra neurons: suggestions for a role in dendritic terminals." Brain Res **83**(3): 531-537.

Black, P. H. (2006). "The inflammatory consequences of psychologic stress: relationship to insulin resistance, obesity, atherosclerosis and diabetes mellitus, type II." Med Hypotheses **67**(4): 879-891.

Blackburn, C., B. Guan, J. Brown, C. Cullis, S. M. Condon, T. J. Jenkins, S. Peluso, Y. Ye, R. E. Gimeno, S. Punreddy, Y. Sun, H. Wu, B. Hubbard, V. Kaushik, P. Tummino, P. Sanchetti, D. Yu Sun, T. Daniels, E. Tozzo, S. K. Balani and P. Raman (2006). "Identification and characterization of 4-aryl-3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones as inhibitors of the fatty acid transporter FATP4." Bioorg Med Chem Lett **16**(13): 3504-3509.

Blaskovic, S., M. Blanc and F. G. van der Goot (2013). "What does S-palmitoylation do to membrane proteins?" FEBS Journal **280**(12): 2766-2774.

Blevins, J. E., B. G. Stanley and R. D. Reidelberger (2000). "Brain regions where cholecystokinin suppresses feeding in rats." Brain Res **860**(1-2): 1-10.

Bocarsly, M. E. and N. M. Avena (2013). "A high-fat diet or galanin in the PVN decreases phosphorylation of CREB in the nucleus accumbens." Neuroscience **248**: 61-66.

Boileau, I., J. M. Assaad, R. O. Pihl, C. Benkelfat, M. Leyton, M. Diksic, R. E. Tremblay and A. Dagher (2003). "Alcohol promotes dopamine release in the human nucleus accumbens." Synapse **49**(4): 226-231.

Bonate, P. L., A. Swann and P. B. Silverman (1997). "Context-dependent cross-sensitization between cocaine and amphetamine." Life Sci **60**(1): P11-7.

Bordet, R. (2002). "La sensibilisation comportementale aux psychostimulants : un modèle d'étude des mécanismes moléculaires de l'addiction." La Lettre du Pharmacologue **16**(6).

Boudreau, A. C. and M. E. Wolf (2005). "Behavioral sensitization to cocaine is associated with increased AMPA receptor surface expression in the nucleus accumbens." J Neurosci **25**(40): 9144-9151.

Bouyakdan, K., B. Taib, L. Budry, S. Zhao, D. Rodaros, D. Neess, S. Mandrup, N. J. Faergeman and T. Alquier (2015). "A novel role for central ACBP/DBI as a regulator of long-chain fatty acid metabolism in astrocytes." J Neurochem **133**(2): 253-265.

Boylan, J. G. and J. A. Hamilton (1992). "Interactions of acyl-coenzyme A with phosphatidylcholine bilayers and serum albumin." Biochemistry **31**(2): 557-567.

Bradberry, C. W., R. L. Barrett-Larimore, P. Jatlow and S. R. Rubino (2000). "Impact of self-administered cocaine and cocaine cues on extracellular dopamine in mesolimbic and sensorimotor striatum in rhesus monkeys." J Neurosci **20**(10): 3874-3883.

Briand, L. A. and J. A. Blendy (2010). "Molecular and genetic substrates linking stress and addiction." Brain Res **1314**: 219-234.

Britt, J. P., F. Benaliouad, R. A. McDevitt, G. D. Stuber, R. A. Wise and A. Bonci (2012). "Synaptic and behavioral profile of multiple glutamatergic inputs to the nucleus accumbens." Neuron **76**(4): 790-803.

Brog, J. S., A. Salyapongse, A. Y. Deutch and D. S. Zahm (1993). "The patterns of afferent innervation of the core and shell in the "Accumbens" part of the rat ventral striatum: Immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold." The Journal of Comparative Neurology **338**(2): 255-278.

Bruijnzeel, A. W., L. W. Corrie, J. A. Rogers and H. Yamada (2011). "Effects of insulin and leptin in the ventral tegmental area and arcuate hypothalamic nucleus on food intake and brain reward function in female rats." Behav Brain Res **219**(2): 254-264.

Bruijnzeel, A. W., X. Qi and L. W. Corrie (2013). "Anorexic effects of intra-VTA leptin are similar in low-fat and high-fat-fed rats but attenuated in a subgroup of high-fat-fed obese rats." Pharmacol Biochem Behav **103**(3): 573-581.

Buckman, L. B., M. M. Thompson, R. N. Lippert, T. S. Blackwell, F. E. Yull and K. L. Ellacott (2015). "Evidence for a novel functional role of astrocytes in the acute homeostatic response to high-fat diet intake in mice." Mol Metab **4**(1): 58-63.

Buettner, R., K. G. Parhofer, M. Woenckhaus, C. E. Wrede, L. A. Kunz-Schughart, J. Scholmerich and L. C. Bollheimer (2006). "Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types." J Mol Endocrinol **36**(3): 485-501.

Burger, K. S. and E. Stice (2011). "Variability in reward responsivity and obesity: evidence from brain imaging studies." Curr Drug Abuse Rev **4**(3): 182-189.

Calabresi, P., B. Picconi, A. Tozzi, V. Ghiglieri and M. Di Filippo (2014). "Direct and indirect pathways of basal ganglia: a critical reappraisal." Nat Neurosci **17**(8): 1022-1030.

Calderon, R. O., B. Attema and G. H. DeVries (1995). "Lipid composition of neuronal cell bodies and neurites from cultured dorsal root ganglia." J Neurochem **64**(1): 424-429.

Campolongo, P., B. Roozendaal, V. Trezza, V. Cuomo, G. Astarita, J. Fu, J. L. McGaugh and D. Piomelli (2009). "Fat-induced satiety factor oleoylethanolamide enhances memory consolidation." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(19): 8027-8031.

Cannon, W. B. (1927). Bodily Changes in Pain, Hunger, Fear and Rage-An Account of Recent Researches Into the Function of Emotional Excitement, Read Books Ltd.

Cansell, C., J. Castel, R. G. Denis, C. Rouch, A. S. Delbes, S. Martinez, D. Mestivier, B. Finan, J. G. Maldonado-Aviles, M. Rijnsburger, M. H. Tschop, R. J. DiLeone, R. H. Eckel, S. E. la Fleur, C. Magnan, T. S. Hnasko and S. Luquet (2014). "Dietary triglycerides act on mesolimbic structures to regulate the rewarding and motivational aspects of feeding." Mol Psychiatry **19**(10): 1095-1105.

Cao, J., E. Hawkins, J. Brozinick, X. Liu, H. Zhang, P. Burn and Y. Shi (2004). "A predominant role of acyl-CoA:monoacylglycerol acyltransferase-2 in dietary fat absorption implicated by tissue distribution, subcellular localization, and up-regulation by high fat diet." J Biol Chem **279**(18): 18878-18886.

- Caravaggio, F., S. Raitsin, P. Gerretsen, S. Nakajima, A. Wilson and A. Graff-Guerrero (2015). "Ventral striatum binding of a dopamine D2/3 receptor agonist but not antagonist predicts normal body mass index." *Biol Psychiatry* **77**(2): 196-202.
- Carboni, E., A. Imperato, L. Perezzi and G. Di Chiara (1989). "Amphetamine, cocaine, phencyclidine and nomifensine increase extracellular dopamine concentrations preferentially in the nucleus accumbens of freely moving rats." *Neuroscience* **28**(3): 653-661.
- Carlin, J., T. E. Hill-Smith, I. Lucki and T. M. Reyes (2013). "Reversal of dopamine system dysfunction in response to high-fat diet." *Obesity (Silver Spring)* **21**(12): 2513-2521.
- Carlsson, A., M. Lindqvist, T. Magnusson and B. Waldeck (1958). "On the presence of 3-hydroxytyramine in brain." *Science* **127**(3296): 471.
- Carroll, B. J., M. Feinberg, J. F. Greden, J. Tarika, A. A. Albala, R. F. Haskett, N. M. James, Z. Kronfol, N. Lohr, M. Steiner, J. P. de Vigne and E. Young (1981). "A specific laboratory test for the diagnosis of melancholia. Standardization, validation, and clinical utility." *Arch Gen Psychiatry* **38**(1): 15-22.
- Carter, A., J. Hendrikse, N. Lee, M. Yücel, A. Verdejo-Garcia, Z. Andrews and W. Hall (2016). "The Neurobiology of "Food Addiction" and Its Implications for Obesity Treatment and Policy." *Annual Review of Nutrition* **36**(1): 105-128.
- Chan, O., K. Inouye, M. C. Riddell, M. Vranic and S. G. Matthews (2003). "Diabetes and the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis." *Minerva Endocrinol* **28**(2): 87-102.
- Chen, J. C., H. J. Su, L. I. Huang and M. M. Hsieh (1999). "Reductions in binding and functions of D2 dopamine receptors in the rat ventral striatum during amphetamine sensitization." *Life Sci* **64**(5): 343-354.
- Chen, M., Y. Yang, E. Braunstein, K. E. Georgeson and C. M. Harmon (2001). "Gut expression and regulation of FAT/CD36: possible role in fatty acid transport in rat enterocytes." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **281**(5): E916-923.
- Chen, Y. W., K. A. Fiscella, S. Z. Bacharach and D. J. Calu (2014). "Effect of cafeteria diet history on cue-, pellet-priming-, and stress-induced reinstatement of food seeking in female rats." *PLoS One* **9**(7): e102213.
- Chen, Y. Z., S. Y. Hua, C. A. Wang, L. G. Wu, Q. Gu and B. R. Xing (1991). "An Electrophysiological Study on the Membrane Receptor-Mediated Action of Glucocorticoids in Mammalian Neurons." *Neuroendocrinology* **53**(suppl 1)(Suppl. 1): 25-30.
- Cheng, C. F., G. M. Oosta, A. Bensadoun and R. D. Rosenberg (1981). "Binding of lipoprotein lipase to endothelial cells in culture." *J Biol Chem* **256**(24): 12893-12898.
- Cheng, L., Y. Yu, A. Szabo, Y. Wu, H. Wang, D. Camer and X. F. Huang (2015). "Palmitic acid induces central leptin resistance and impairs hepatic glucose and lipid metabolism in male mice." *J Nutr Biochem* **26**(5): 541-548.
- Cheramy, A., V. Leviel and J. Glowinski (1981). "Dendritic release of dopamine in the substantia nigra." *Nature* **289**(5798): 537-542.
- Ciliax, B. J., C. Heilman, L. L. Demchyshyn, Z. B. Pristupa, E. Ince, S. M. Hersch, H. B. Niznik and A. I. Levey (1995). "The dopamine transporter: immunochemical characterization and localization in brain." *J Neurosci* **15**(3 Pt 1): 1714-1723.
- Cinti, D. L., L. Cook, M. N. Nagi and S. K. Suneja (1992). "The fatty acid chain elongation system of mammalian endoplasmic reticulum." *Prog Lipid Res* **31**(1): 1-51.
- Cintra, A., K. Fuxe, A. Harfstrand, L. F. Agnati, A. C. Wikstrom, S. Okret, W. Vale and J. A. Gustafsson (1987). "Presence of glucocorticoid receptor immunoreactivity in corticotrophin

releasing factor and in growth hormone releasing factor immunoreactive neurons of the rat di- and telencephalon." Neurosci Lett **77**(1): 25-30.

Collins, G. T., Y. Chen, C. Tschumi, E. L. Rush, A. Mensah, W. Koek and C. P. France (2015). "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." Experimental and Clinical Psychopharmacology **23**(4): 228-237.

Considine, R. V., M. K. Sinha, M. L. Heiman, A. Kriauciunas, T. W. Stephens, M. R. Nyce, J. P. Ohannesian, C. C. Marco, L. J. McKee, T. L. Bauer and et al. (1996). "Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans." N Engl J Med **334**(5): 292-295.

Conversi, D., C. Orsini, V. Colelli, F. Cruciani and S. Cabib (2011). "Association between striatal accumulation of FosB/ Δ FosB and long-term psychomotor sensitization to amphetamine in mice depends on the genetic background." Behavioural Brain Research **217**(1): 155-164.

Cordon-Cardo, C., J. P. O'Brien, D. Casals, L. Rittman-Grauer, J. L. Biedler, M. R. Melamed and J. R. Bertino (1989). "Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites." Proc Natl Acad Sci U S A **86**(2): 695-698.

Cornier, M. A., K. L. McFadden, E. A. Thomas, J. L. Bechtell, L. S. Eichman, D. H. Bessesen and J. R. Tregellas (2013). "Differences in the neuronal response to food in obesity-resistant as compared to obesity-prone individuals." Physiol Behav **110-111**: 122-128.

Costello, N. L., J. N. Carlson, S. D. Glick and M. Bryda (1989). "Dose-dependent and baseline-dependent conditioning with d-amphetamine in the place conditioning paradigm." Psychopharmacology (Berl) **99**(2): 244-247.

Cotton, P. A., A. F. Subar, J. E. Friday and A. Cook (2004). "Dietary sources of nutrients among US adults, 1994 to 1996." J Am Diet Assoc **104**(6): 921-930.

Cottone, P., V. Sabino, M. Roberto, M. Bajo, L. Pockros, J. B. Frihauf, E. M. Fekete, L. Steardo, K. C. Rice, D. E. Grigoriadis, B. Conti, G. F. Koob and E. P. Zorrilla (2009). "CRF system recruitment mediates dark side of compulsive eating." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(47): 20016-20020.

Cragg, S. J. and S. A. Greenfield (1997). "Differential autoreceptor control of somatodendritic and axon terminal dopamine release in substantia nigra, ventral tegmental area, and striatum." J Neurosci **17**(15): 5738-5746.

da Silva, R., A. Bach-Faig, B. Raido Quintana, G. Buckland, M. D. Vaz de Almeida and L. Serra-Majem (2009). "Worldwide variation of adherence to the Mediterranean diet, in 1961-1965 and 2000-2003." Public Health Nutr **12**(9a): 1676-1684.

Dahlstrom, A. and K. Fuxe (1964). "Localization of monoamines in the lower brain stem." Experientia **20**(7): 398-399.

Dallman, M. F., S. F. Akana, C. S. Cascio, D. N. Darlington, L. Jacobson and N. Levin (1987). "Regulation of ACTH secretion: variations on a theme of B." Recent Prog Horm Res **43**: 113-173.

Dallman, M. F., N. Pecoraro, S. F. Akana, S. E. La Fleur, F. Gomez, H. Houshyar, M. E. Bell, S. Bhatnagar, K. D. Laugero and S. Manalo (2003). "Chronic stress and obesity: a new view of "comfort food"." Proc Natl Acad Sci U S A **100**(20): 11696-11701.

Davis, J. F., D. L. Choi, J. D. Schurdak, M. F. Fitzgerald, D. J. Clegg, J. W. Lipton, D. P. Figlewicz and S. C. Benoit (2011). "Leptin regulates energy balance and motivation through action at distinct neural circuits." Biol Psychiatry **69**(7): 668-674.

- Davis, J. F., A. L. Tracy, J. D. Schurdak, M. H. Tschop, J. W. Lipton, D. J. Clegg and S. C. Benoit (2008). "Exposure to elevated levels of dietary fat attenuates psychostimulant reward and mesolimbic dopamine turnover in the rat." *Behav Neurosci* **122**(6): 1257-1263.
- de Jong, J. W., L. J. M. J. Vanderschuren and R. A. H. Adan (2012). "Towards an Animal Model of Food Addiction." *Obesity Facts* **5**(2): 180-195.
- de Kloet, E. R., M. Joels and F. Holsboer (2005). "Stress and the brain: from adaptation to disease." *Nat Rev Neurosci* **6**(6): 463-475.
- De Mei, C., M. Ramos, C. Iitaka and E. Borrelli (2009). "Getting specialized: presynaptic and postsynaptic dopamine D2 receptors." *Curr Opin Pharmacol* **9**(1): 53-58.
- De Souza, C. T., E. P. Araujo, S. Bordin, R. Ashimine, R. L. Zollner, A. C. Boschero, M. J. Saad and L. A. Velloso (2005). "Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus." *Endocrinology* **146**(10): 4192-4199.
- de Souza, R. J., A. Mente, A. Maroleanu, A. I. Cozma, V. Ha, T. Kishibe, E. Uleryk, P. Budyłowski, H. Schunemann, J. Beyene and S. S. Anand (2015). "Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies." *Bmj* **351**: h3978.
- de Weijer, B. A., E. van de Giessen, T. A. van Amelsvoort, E. Boot, B. Braak, I. M. Janssen, A. van de Laar, E. Fliers, M. J. Serlie and J. Booij (2011). "Lower striatal dopamine D2/3 receptor availability in obese compared with non-obese subjects." *EJNMMI Res* **1**(1): 37.
- De Wit, H. and R. A. Wise (1977). "Blockade of cocaine reinforcement in rats with the dopamine receptor blocker pimozide, but not with the noradrenergic blockers phentolamine or phenoxybenzamine." *Can J Psychol* **31**(4): 195-203.
- de Wit, L. M., M. Fokkema, A. van Straten, F. Lamers, P. Cuijpers and B. W. Penninx (2010). "Depressive and anxiety disorders and the association with obesity, physical, and social activities." *Depress Anxiety* **27**(11): 1057-1065.
- Deasy, C., B. Coughlan, J. Pironom, D. Jourdan and P. M. McNamara (2015). "Psychological distress and lifestyle of students: implications for health promotion." *Health Promot Int* **30**(1): 77-87.
- Décarie-Spain, L., C. Hryhorczuk and S. Fulton (2016). "Dopamine signalling adaptations by prolonged high-fat feeding." *Current Opinion in Behavioral Sciences* **9**: 136-143.
- Del-Fava, F., R. H. Hasue, J. G. Ferreira and S. J. Shammah-Lagnado (2007). "Efferent connections of the rostral linear nucleus of the ventral tegmental area in the rat." *Neuroscience* **145**(3): 1059-1076.
- Deng, Q., B. Waxse, D. Riquelme, J. Zhang and G. Aguilera (2015). "Helix 8 of the ligand binding domain of the glucocorticoid receptor (GR) is essential for ligand binding." *Mol Cell Endocrinol* **408**: 23-32.
- Dhopeswarkar, G. A. and J. F. Mead (1970). "Fatty acid uptake by the brain. 3. Incorporation of (1-14C)oleic acid into the adult rat brain." *Biochim Biophys Acta* **210**(2): 250-256.
- Di Chiara, G. (2002). "Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction." *Behav Brain Res* **137**(1-2): 75-114.
- Di Chiara, G., V. Bassareo, S. Fenu, M. A. De Luca, L. Spina, C. Cadoni, E. Acquas, E. Carboni, V. Valentini and D. Lecca (2004). "Dopamine and drug addiction: the nucleus accumbens shell connection." *Neuropharmacology* **47**, **Supplement 1**: 227-241.
- Di Chiara, G. and A. Imperato (1985). "Ethanol preferentially stimulates dopamine release in the nucleus accumbens of freely moving rats." *Eur J Pharmacol* **115**(1): 131-132.

Di Chiara, G. and A. Imperato (1988). "Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats." Proceedings of the National Academy of Sciences **85**(14): 5274-5278.

Di Chiara, G., G. Tanda, R. Frau and E. Carboni (1993). "On the preferential release of dopamine in the nucleus accumbens by amphetamine: further evidence obtained by vertically implanted concentric dialysis probes." Psychopharmacology (Berl) **112**(2-3): 398-402.

Di Ciano, P., D. K. Grandy and B. Le Foll (2014). "Dopamine D4 receptors in psychostimulant addiction." Adv Pharmacol **69**: 301-321.

Di Filippo, M., C. Marçais, S. Charriere, O. Marmontel, M. Broyer, M. Delay, M. Merlin, A. Nollace, R. Valero, M. Lagarde, V. Pruneta-Deloche, P. Moulin and A. Sassolas (2014). "Post-heparin LPL activity measurement using VLDL as a substrate: a new robust method for routine assessment of plasma triglyceride lipolysis defects." PLoS One **9**(6): e99721.

Di, S., R. Malcher-Lopes, K. C. Halmos and J. G. Tasker (2003). "Nongenomic glucocorticoid inhibition via endocannabinoid release in the hypothalamus: a fast feedback mechanism." J Neurosci **23**(12): 4850-4857.

Dickson, S. L., R. H. Shirazi, C. Hansson, F. Bergquist, H. Nissbrandt and K. P. Skibicka (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**(14): 4812-4820.

Diep, T. A., A. N. Madsen, B. Holst, M. M. Kristiansen, N. Wellner, S. H. Hansen and H. S. Hansen (2011). "Dietary fat decreases intestinal levels of the anorectic lipids through a fat sensor." Faseb j **25**(2): 765-774.

Diep, T. A., A. N. Madsen, S. Krogh-Hansen, M. Al-Shahwani, L. Al-Sabagh, B. Holst and H. S. Hansen (2014). "Dietary non-esterified oleic Acid decreases the jejunal levels of anorectic N-acyl ethanolamines." PLoS One **9**(6): e100365.

Diepenbroek, C., M. J. Serlie, E. Fliers, A. Kalsbeek and S. E. la Fleur (2013). "Brain areas and pathways in the regulation of glucose metabolism." Biofactors **39**(5): 505-513.

Djilic, D., M. Budec, S. Vranjes-Djuric, V. Todorovic, N. Drndarevic, S. Vignjevic and O. Mitrovic (2012). "Ethanol and nitric oxide modulate expression of glucocorticoid receptor in the rat adrenal cortex." Pharmacol Rep **64**(4): 896-901.

Doerge, H. and A. Stahl (2006). "Protein-mediated fatty acid uptake: novel insights from in vivo models." Physiology (Bethesda) **21**: 259-268.

Donahoo, W. T., J. A. Levine and E. L. Melanson (2004). "Variability in energy expenditure and its components." Curr Opin Clin Nutr Metab Care **7**(6): 599-605.

Dornellas, A. P., R. L. Watanabe, G. D. Pimentel, V. T. Boldarine, C. M. Nascimento, L. M. Oyama, K. Ghebremeskel, Y. Wang, A. A. Bueno and E. B. Ribeiro (2015). "Deleterious effects of lard-enriched diet on tissues fatty acids composition and hypothalamic insulin actions." Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **102-103**: 21-29.

Dougherty, R. M., C. Galli, A. Ferro-Luzzi and J. M. Iacono (1987). "Lipid and phospholipid fatty acid composition of plasma, red blood cells, and platelets and how they are affected by dietary lipids: a study of normal subjects from Italy, Finland, and the USA." The American Journal of Clinical Nutrition **45**(2): 443-455.

Drevets, W. C., C. Gautier, J. C. Price, D. J. Kupfer, P. E. Kinahan, A. A. Grace, J. L. Price and C. A. Mathis (2001). "Amphetamine-induced dopamine release in human ventral striatum correlates with euphoria." Biol Psychiatry **49**(2): 81-96.

- Drevets, W. C., J. C. Price, D. J. Kupfer, P. E. Kinahan, B. Lopresti, D. Holt and C. Mathis (1999). "PET measures of amphetamine-induced dopamine release in ventral versus dorsal striatum." Neuropsychopharmacology **21**(6): 694-709.
- Droste, S. K., L. de Groote, H. C. Atkinson, S. L. Lightman, J. M. Reul and A. C. Linthorst (2008). "Corticosterone levels in the brain show a distinct ultradian rhythm but a delayed response to forced swim stress." Endocrinology **149**(7): 3244-3253.
- Dumas, J. A., J. Y. Bunn, J. Nickerson, K. I. Crain, D. B. Ebenstein, E. K. Tarleton, J. Makarewicz, M. E. Poynter and C. L. Kien (2016). "Dietary saturated fat and monounsaturated fat have reversible effects on brain function and the secretion of pro-inflammatory cytokines in young women." Metabolism **65**(10): 1582-1588.
- Dunkley, P. R., L. Bobrovskaya, M. E. Graham, E. I. von Nagy-Felsobuki and P. W. Dickson (2004). "Tyrosine hydroxylase phosphorylation: regulation and consequences." J Neurochem **91**(5): 1025-1043.
- Dunn, J. P., R. M. Kessler, I. D. Feurer, N. D. Volkow, B. W. Patterson, M. S. Ansari, R. Li, P. Marks-Shulman and N. N. Abumrad (2012). "Relationship of dopamine type 2 receptor binding potential with fasting neuroendocrine hormones and insulin sensitivity in human obesity." Diabetes Care **35**(5): 1105-1111.
- Ebert, D., R. G. Haller and M. E. Walton (2003). "Energy contribution of octanoate to intact rat brain metabolism measured by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy." J Neurosci **23**(13): 5928-5935.
- Edeleano, L. (1887). "Ueber einige Derivate der Phenylmethacrylsäure und der Phenylisobuttersäure." Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft **20**(1): 616-622.
- Egecioglu, E., E. Jerlhag, N. Salome, K. P. Skibicka, D. Haage, Y. M. Bohlooly, D. Andersson, M. Bjursell, D. Perrissoud, J. A. Engel and S. L. Dickson (2010). "Ghrelin increases intake of rewarding food in rodents." Addict Biol **15**(3): 304-311.
- Eiden, L. E. and E. Weihe (2011). "VMAT2: a dynamic regulator of brain monoaminergic neuronal function interacting with drugs of abuse." Annals of the New York Academy of Sciences **1216**: 86-98.
- Eisenstein, S. A., J. A. Antenor-Dorsey, D. M. Gredysa, J. M. Koller, E. C. Bihun, S. A. Ranck, A. M. Arbelaez, S. Klein, J. S. Perlmutter, S. M. Moerlein, K. J. Black and T. Hershey (2013). "A comparison of D2 receptor specific binding in obese and normal-weight individuals using PET with (N-[(11)C]methyl)benperidol." Synapse **67**(11): 748-756.
- Everitt, B. J. and T. W. Robbins (2005). "Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion." Nat Neurosci **8**(11): 1481-1489.
- Faergeman, N. J., M. Wadum, S. Feddersen, M. Burton, B. B. Kragelund and J. Knudsen (2007). "Acyl-CoA binding proteins; structural and functional conservation over 2000 MYA." Mol Cell Biochem **299**(1-2): 55-65.
- Faipoux, R., D. Tome, S. Gougis, N. Darcel and G. Fromentin (2008). "Proteins activate satiety-related neuronal pathways in the brainstem and hypothalamus of rats." J Nutr **138**(6): 1172-1178.
- Fallon, S., E. Shearman, H. Sershen and A. Lajtha (2007). "Food reward-induced neurotransmitter changes in cognitive brain regions." Neurochem Res **32**(10): 1772-1782.
- Faravelli, C., C. Lo Sauro, L. Lelli, F. Pietrini, L. Lazzaretti, L. Godini, L. Benni, G. Fioravanti, G. A. Talamba, G. Castellini and V. Ricca (2012). "The role of life events and HPA axis in anxiety disorders: a review." Curr Pharm Des **18**(35): 5663-5674.

Febbraio, M., D. P. Hajjar and R. L. Silverstein (2001). "CD36: a class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism." J Clin Invest **108**(6): 785-791.

Fernandes, M. F., S. Sharma, C. Hryhorczuk, S. Auguste and S. Fulton (2013). "Nutritional controls of food reward." Can J Diabetes **37**(4): 260-268.

Ferrario, C. R., J. A. Loweth, M. Milovanovic, K. A. Ford, G. L. Galinanes, L. J. Heng, K. Y. Tseng and M. E. Wolf (2011). "Alterations in AMPA receptor subunits and TARPs in the rat nucleus accumbens related to the formation of Ca(2+)-permeable AMPA receptors during the incubation of cocaine craving." Neuropharmacology **61**(7): 1141-1151.

Ferraz, A. C., A. M. Delattre, R. G. Almendra, M. Sonagli, C. Borges, P. Araujo, M. L. Andersen, S. Tufik and M. M. Lima (2011). "Chronic omega-3 fatty acids supplementation promotes beneficial effects on anxiety, cognitive and depressive-like behaviors in rats subjected to a restraint stress protocol." Behav Brain Res **219**(1): 116-122.

Field, C. J., A. Angel and M. T. Clandinin (1985). "Relationship of diet to the fatty acid composition of human adipose tissue structural and stored lipids." Am J Clin Nutr **42**(6): 1206-1220.

Figlewicz, D. P., J. L. Bennett, S. Aliakbari, A. Zavosh and A. J. Sipols (2008). "Insulin acts at different CNS sites to decrease acute sucrose intake and sucrose self-administration in rats." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **295**(2): R388-394.

Figlewicz, D. P., P. Szot, M. Chavez, S. C. Woods and R. C. Veith (1994). "Intraventricular insulin increases dopamine transporter mRNA in rat VTA/substantia nigra." Brain Res **644**(2): 331-334.

Finger, B. C., T. G. Dinan and J. F. Cryan (2011). "High-fat diet selectively protects against the effects of chronic social stress in the mouse." Neuroscience **192**: 351-360.

Fisher, H. and J. E. Braun (2000). "Modulation of the SNARE core complex by dopamine." Can J Physiol Pharmacol **78**(10): 856-859.

Fitscher, B. A., H. D. Riedel, K. C. Young and W. Stremmel (1998). "Tissue distribution and cDNA cloning of a human fatty acid transport protein (hsFATP4)." Biochim Biophys Acta **1443**(3): 381-385.

Fortin, G. D., C. C. Desrosiers, N. Yamaguchi and L.-É. Trudeau (2006). "Basal somatodendritic dopamine release requires snare proteins." Journal of Neurochemistry **96**(6): 1740-1749.

Friedman, D. P., J. P. Aggleton and R. C. Saunders (2002). "Comparison of hippocampal, amygdala, and perirhinal projections to the nucleus accumbens: combined anterograde and retrograde tracing study in the Macaque brain." J Comp Neurol **450**(4): 345-365.

Fry, M., T. D. Hoyda and A. V. Ferguson (2007). "Making sense of it: roles of the sensory circumventricular organs in feeding and regulation of energy homeostasis." Exp Biol Med (Maywood) **232**(1): 14-26.

Fu, J., S. Gaetani, F. Oveisi, J. Lo Verme, A. Serrano, F. Rodriguez De Fonseca, A. Rosengarth, H. Luecke, B. Di Giacomo, G. Tarzia and D. Piomelli (2003). "Oleyethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR-alpha." Nature **425**(6953): 90-93.

Fulton, S., P. Pissios, R. P. Manchon, L. Stiles, L. Frank, E. N. Pothos, E. Maratos-Flier and J. S. Flier (2006). "Leptin regulation of the mesoaccumbens dopamine pathway." Neuron **51**(6): 811-822.

- Funder, J. W. (1997). "Glucocorticoid and mineralocorticoid receptors: biology and clinical relevance." Annu Rev Med **48**: 231-240.
- Furuhashi, M. and G. S. Hotamisligil (2008). "Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets." Nat Rev Drug Discov **7**(6): 489-503.
- Gaetani, S., F. Oveisi and D. Piomelli (2003). "Modulation of meal pattern in the rat by the anorexic lipid mediator oleoylethanolamide." Neuropsychopharmacology **28**(7): 1311-1316.
- Gajda, A. M. and J. Storch (2015). "Enterocyte fatty acid-binding proteins (FABPs): different functions of liver and intestinal FABPs in the intestine." Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **93**: 9-16.
- Ganguly, R. and G. N. Pierce (2015). "The toxicity of dietary trans fats." Food Chem Toxicol **78**: 170-176.
- Garcia-Closas, R., A. Berenguer and C. A. Gonzalez (2006). "Changes in food supply in Mediterranean countries from 1961 to 2001." Public Health Nutr **9**(1): 53-60.
- Garland, M., F. M. Sacks, G. A. Colditz, E. B. Rimm, L. A. Sampson, W. C. Willett and D. J. Hunter (1998). "The relation between dietary intake and adipose tissue composition of selected fatty acids in US women." Am J Clin Nutr **67**(1): 25-30.
- Gasbarri, A., A. Sulli and M. G. Packard (1997). "The dopaminergic mesencephalic projections to the hippocampal formation in the rat." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry **21**(1): 1-22.
- Gautier, T., D. Masson and L. Lagrost (2011). "Métabolisme des lipoprotéines de haute densité (HDL)." Archives of Cardiovascular Diseases Supplements **3**(4): 267-272.
- Gaykema, R. P. and L. Zaborszky (1996). "Direct catecholaminergic-cholinergic interactions in the basal forebrain. II. Substantia nigra-ventral tegmental area projections to cholinergic neurons." J Comp Neurol **374**(4): 555-577.
- Geerling, J. C., M. Kawata and A. D. Loewy (2006). "Aldosterone-sensitive neurons in the rat central nervous system." J Comp Neurol **494**(3): 515-527.
- Geffen, L. B., T. M. Jessell, A. C. Cuello and L. L. Iversen (1976). "Release of dopamine from dendrites in rat substantia nigra." Nature **260**(5548): 258-260.
- Geiger, B. M., M. Haburcak, N. M. Avena, M. C. Moyer, B. G. Hoebel and E. N. Pothos (2009). "Deficits of mesolimbic dopamine neurotransmission in rat dietary obesity." Neuroscience **159**(4): 1193-1199.
- Geisler, S., C. Derst, R. W. Veh and D. S. Zahm (2007). "Glutamatergic afferents of the ventral tegmental area in the rat." J Neurosci **27**(21): 5730-5743.
- Gerfen, C. R. and J. P. Bolam (2010). Chapter 1 - The Neuroanatomical Organization of the Basal Ganglia. Handbook of Behavioral Neuroscience. S. Heinz and Y. T. Kuei, Elsevier. **Volume 20**: 3-28.
- Gerfen, C. R. and D. J. Surmeier (2011). "Modulation of Striatal Projection Systems by Dopamine." Annual Review of Neuroscience **34**(1): 441-466.
- German, D. C. and K. F. Manaye (1993). "Midbrain dopaminergic neurons (nuclei A8, A9, and A10): three-dimensional reconstruction in the rat." J Comp Neurol **331**(3): 297-309.
- German, D. C., D. S. Schlusberg and D. J. Woodward (1983). "Three-dimensional computer reconstruction of midbrain dopaminergic neuronal populations: from mouse to man." J Neural Transm **57**(4): 243-254.
- Gerstner, J. R., Q. Z. Bremer, W. M. Vander Heyden, T. M. Lavaute, J. C. Yin and C. F. Landry (2008). "Brain fatty acid binding protein (Fabp7) is diurnally regulated in astrocytes and hippocampal granule cell precursors in adult rodent brain." PLoS One **3**(2): e1631.

- Geyer, M. A., P. V. Russo, D. S. Segal and R. Kuczenski (1987). "Effects of apomorphine and amphetamine on patterns of locomotor and investigatory behavior in rats." Pharmacol Biochem Behav **28**(3): 393-399.
- Giammanco, A., A. B. Cefalù, D. Noto and M. R. Averna (2015). "The pathophysiology of intestinal lipoprotein production." Frontiers in Physiology **6**: 61.
- Giordano, T. P., S. S. Satpute, J. Striessnig, B. E. Kosofsky and A. M. Rajadhyaksha (2006). "Up-regulation of dopamine D2L mRNA levels in the ventral tegmental area and dorsal striatum of amphetamine-sensitized C57BL/6 mice: role of Cav1.3 L-type Ca²⁺ channels." Journal of Neurochemistry **99**(4): 1197-1206.
- Giros, B., P. Sokoloff, M. P. Martres, J. F. Riou, L. J. Emorine and J. C. Schwartz (1989). "Alternative splicing directs the expression of two D2 dopamine receptor isoforms." Nature **342**(6252): 923-926.
- Glezer, I., J. C. Bittencourt and S. Rivest (2009). "Neuronal expression of Cd36, Cd44, and Cd83 antigen transcripts maps to distinct and specific murine brain circuits." J Comp Neurol **517**(6): 906-924.
- Goldstein, R. Z. and N. D. Volkow (2011). "Dysfunction of the prefrontal cortex in addiction: neuroimaging findings and clinical implications." Nature reviews. Neuroscience **12**(11): 652-669.
- Gomez-Sanchez, E. and C. E. Gomez-Sanchez (2014). "The Multifaceted Mineralocorticoid Receptor." Comprehensive Physiology **4**(3): 965-994.
- Gomez-Sanchez, E. P., C. M. Gomez-Sanchez, M. Plonczynski and C. E. Gomez-Sanchez (2010). "Aldosterone synthesis in the brain contributes to Dahl salt-sensitive rat hypertension." Experimental Physiology **95**(1): 120-130.
- Gomez-Sanchez, E. P., D. G. Romero, A. F. de Rodriguez, M. P. Warden, Z. Krozowski and C. E. Gomez-Sanchez (2008). "Hexose-6-phosphate dehydrogenase and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase-1 tissue distribution in the rat." Endocrinology **149**(2): 525-533.
- Goodman, J. and M. G. Packard (2016). "Memory Systems and the Addicted Brain." Front Psychiatry **7**: 24.
- Gotto Jr, A. M., H. J. Pownall and R. J. Havel (1986). [1] Introduction to the plasma lipoproteins. Methods in Enzymology, Academic Press. **Volume 128**: 3-41.
- Grace, A. A., S. B. Floresco, Y. Goto and D. J. Lodge (2007). "Regulation of firing of dopaminergic neurons and control of goal-directed behaviors." Trends Neurosci **30**(5): 220-227.
- Grandgirard, A., A. Piconneaux, J. L. Sebedio and F. Julliard (1998). "Trans isomers of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids in tissue lipid classes of rats fed with heated linseed oil." Reprod Nutr Dev **38**(1): 17-29.
- Griffioen-Roose, S., M. Mars, E. Siebelink, G. Finlayson, D. Tome and C. de Graaf (2012). "Protein status elicits compensatory changes in food intake and food preferences." Am J Clin Nutr **95**(1): 32-38.
- Groenewegen, H. J., H. W. Berendse and S. N. Haber (1993). "Organization of the output of the ventral striatopallidal system in the rat: ventral pallidal efferents." Neuroscience **57**(1): 113-142.
- Groenewegen, H. J., C. I. Wright, A. V. Beijer and P. Voorn (1999). "Convergence and segregation of ventral striatal inputs and outputs." Ann N Y Acad Sci **877**: 49-63.

- Grosshans, M., C. Vollmert, S. Vollstadt-Klein, H. Tost, S. Leber, P. Bach, M. Buhler, C. von der Goltz, J. Mutschler, S. Loeber, D. Hermann, K. Wiedemann, A. Meyer-Lindenberg and F. Kiefer (2012). "Association of leptin with food cue-induced activation in human reward pathways." Arch Gen Psychiatry **69**(5): 529-537.
- Grunberg, N. E. and R. O. Straub (1992). "The role of gender and taste class in the effects of stress on eating." Health Psychol **11**(2): 97-100.
- Guidotti, A., C. M. Forchetti, M. G. Corda, D. Konkol, C. D. Bennett and E. Costa (1983). "Isolation, characterization, and purification to homogeneity of an endogenous polypeptide with agonistic action on benzodiazepine receptors." Proc Natl Acad Sci U S A **80**(11): 3531-3535.
- Guo, J., W. K. Simmons, P. Herscovitch, A. Martin and K. D. Hall (2014). "Striatal dopamine D2-like receptor correlation patterns with human obesity and opportunistic eating behavior." Mol Psychiatry **19**(10): 1078-1084.
- Guttman, E. and W. Sargant (1937). "Observations on Benzedrine." Br Med J **1**(3984): 1013-1015.
- Haber, S. N. (2011). *Frontiers in Neuroscience Neuroanatomy of Reward: A View from the Ventral Striatum.* Neurobiology of Sensation and Reward. J. A. Gottfried. Boca Raton (FL), CRC Press Llc.
- Hajnal, A., G. P. Smith and R. Norgren (2004). "Oral sucrose stimulation increases accumbens dopamine in the rat." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **286**(1): R31-37.
- Hamilton, J. A. and K. Brunaldi (2007). "A model for fatty acid transport into the brain." J Mol Neurosci **33**(1): 12-17.
- Hamosh, M. and R. O. Scow (1973). "Lingual lipase and its role in the digestion of dietary lipid." J Clin Invest **52**(1): 88-95.
- Han, F., H. Ozawa, K. Matsuda, M. Nishi and M. Kawata (2005). "Colocalization of mineralocorticoid receptor and glucocorticoid receptor in the hippocampus and hypothalamus." Neurosci Res **51**(4): 371-381.
- Han, H. S., J. H. Jang, J. S. Park, H. J. Kim and J. K. Kim (2013). "Transient blood brain barrier disruption induced by oleic acid is mediated by nitric oxide." Curr Neurovasc Res **10**(4): 287-296.
- Hansen, H. H., M. M. Jensen, A. Overgaard, P. Weikop and J. D. Mikkelsen (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.
- Haque, M., R. Wilson, K. Sharma, N. J. Mills and R. Teruyama (2015). "Localisation of 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2 in Mineralocorticoid Receptor Expressing Magnocellular Neurosecretory Neurones of the Rat Supraoptic and Paraventricular Nuclei." Journal of Neuroendocrinology **27**(11): 835-849.
- Hardman, C. A., V. M. Herbert, J. M. Brunstrom, M. R. Munafo and P. J. Rogers (2012). "Dopamine and food reward: effects of acute tyrosine/phenylalanine depletion on appetite." Physiol Behav **105**(5): 1202-1207.
- Hasue, R. H. and S. J. Shammah-Lagnado (2002). "Origin of the dopaminergic innervation of the central extended amygdala and accumbens shell: a combined retrograde tracing and immunohistochemical study in the rat." J Comp Neurol **454**(1): 15-33.
- Health-Canada. (2006). *TRANSforming the food supply: report of the Trans Fat Task Force submitted to the Minister of Health.*

Hellman, L., F. Nakada, J. Curti, E. D. Weitzman, J. Kream, H. Roffwarg, S. Ellman, D. K. Fukushima and T. F. Gallagher (1970). "Cortisol is secreted episodically by normal man." J Clin Endocrinol Metab **30**(4): 411-422.

Hemmings, H. C., Jr., P. Greengard, H. Y. Tung and P. Cohen (1984). "DARPP-32, a dopamine-regulated neuronal phosphoprotein, is a potent inhibitor of protein phosphatase-1." Nature **310**(5977): 503-505.

Heni, M., S. Kullmann, H. Preissl, A. Fritsche and H.-U. Haring (2015). "Impaired insulin action in the human brain: causes and metabolic consequences." Nat Rev Endocrinol **11**(12): 701-711.

Hensleigh, E. and L. M. Pritchard (2013). "Glucocorticoid receptor expression and sub-cellular localization in dopamine neurons of the rat midbrain." Neurosci Lett **556**: 191-195.

Hermes, M. L., E. M. Coderre, R. M. Buijs and L. P. Renaud (1996). "GABA and glutamate mediate rapid neurotransmission from suprachiasmatic nucleus to hypothalamic paraventricular nucleus in rat." The Journal of Physiology **496**(3): 749-757.

Hernandez, L. and B. G. Hoebel (1988). "Feeding and hypothalamic stimulation increase dopamine turnover in the accumbens." Physiol Behav **44**(4-5): 599-606.

Hernandez, L. and B. G. Hoebel (1988). "Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by microdialysis." Life Sci **42**(18): 1705-1712.

Hersch, S. M., H. Yi, C. J. Heilman, R. H. Edwards and A. I. Levey (1997). "Subcellular localization and molecular topology of the dopamine transporter in the striatum and substantia nigra." J Comp Neurol **388**(2): 211-227.

Hillarp, N. A., K. Fuxe and A. Dahlstrom (1966). "Demonstration and mapping of central neurons containing dopamine, noradrenaline, and 5-hydroxytryptamine and their reactions to psychopharmaca." Pharmacol Rev **18**(1): 727-741.

Hinkle, W., M. Cordell, R. Leibel, M. Rosenbaum and J. Hirsch (2013). "Effects of reduced weight maintenance and leptin repletion on functional connectivity of the hypothalamus in obese humans." PLoS One **8**(3): e59114.

Hirsch, D., A. Stahl and H. F. Lodish (1998). "A family of fatty acid transporters conserved from mycobacterium to man." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **95**(15): 8625-8629.

Hisano, S., Y. Kagotani, Y. Tsuruo, S. Daikoku, K. Chihara and M. H. Whitnall (1988). "Localization of glucocorticoid receptor in neuropeptide Y-containing neurons in the arcuate nucleus of the rat hypothalamus." Neurosci Lett **95**(1-3): 13-18.

Hodson, L., S. E. McQuaid, F. Karpe, K. N. Frayn and B. A. Fielding (2009). "Differences in partitioning of meal fatty acids into blood lipid fractions: a comparison of linoleate, oleate, and palmitate." Am J Physiol Endocrinol Metab **296**(1): E64-71.

Hodson, L., C. M. Skeaff and B. A. Fielding (2008). "Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake." Prog Lipid Res **47**(5): 348-380.

Hommel, J. D., R. Trinko, R. M. Sears, D. Georgescu, Z. W. Liu, X. B. Gao, J. J. Thurmon, M. Marinelli and R. J. DiLeone (2006). "Leptin receptor signaling in midbrain dopamine neurons regulates feeding." Neuron **51**(6): 801-810.

Horstmann, A., W. K. Fenske and M. K. Hankir (2015). "Argument for a non-linear relationship between severity of human obesity and dopaminergic tone." Obes Rev **16**(10): 821-830.

Hosp, J. A., A. Pekanovic, M. S. Rioult-Pedotti and A. R. Luft (2011). "Dopaminergic projections from midbrain to primary motor cortex mediate motor skill learning." J Neurosci **31**(7): 2481-2487.

Hsu, T. M. and S. E. Kanoski (2014). "Blood-brain barrier disruption: mechanistic links between Western diet consumption and dementia." Front Aging Neurosci **6**: 88.

Huang, X. F., Y. Yu, K. Zavitsanou, M. Han and L. Storlien (2005). "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 **135**(1-2): 150-161.

Huang, X. F., K. Zavitsanou, X. Huang, Y. Yu, H. Wang, F. Chen, A. J. Lawrence and C. Deng (2006). "Dopamine transporter and D2 receptor binding densities in mice prone or resistant to chronic high fat diet-induced obesity." Behav Brain Res **175**(2): 415-419.

Hulbert, A. J., T. Rana and P. Couture (2002). "The acyl composition of mammalian phospholipids: an allometric analysis." Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol **132**(3): 515-527.

Hussain, M. M. (2000). "A proposed model for the assembly of chylomicrons." Atherosclerosis **148**(1): 1-15.

Hussain, M. M., R. K. Kancha, Z. Zhou, J. Luchoomun, H. Zu and A. Bakillah (1996). "Chylomicron assembly and catabolism: role of apolipoproteins and receptors." Biochim Biophys Acta **1300**(3): 151-170.

Igarashi, M., N. V. DiPatrizio, V. Narayanaswami and D. Piomelli (2015). "Feeding-induced oleoylethanolamide mobilization is disrupted in the gut of diet-induced obese rodents." Biochim Biophys Acta **1851**(9): 1218-1226.

Ikemoto, S. (2007). "Dopamine reward circuitry: two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex." Brain Res Rev **56**(1): 27-78.

Ikemoto, S. and A. Bonci (2014). "Neurocircuitry of drug reward." Neuropharmacology **76 Pt B**: 329-341.

Ikemoto, S., B. S. Glazier, J. M. Murphy and W. J. McBride (1997). "Role of dopamine D1 and D2 receptors in the nucleus accumbens in mediating reward." J Neurosci **17**(21): 8580-8587.

Imperato, A., A. Mulas and G. Di Chiara (1986). "Nicotine preferentially stimulates dopamine release in the limbic system of freely moving rats." Eur J Pharmacol **132**(2-3): 337-338.

Incollingo Rodriguez, A. C., E. S. Epel, M. L. White, E. C. Standen, J. R. Seckl and A. J. Tomiyama (2015). "Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation and cortisol activity in obesity: A systematic review." Psychoneuroendocrinology **62**: 301-318.

Iversen, S. D. and L. L. Iversen (2007). "Dopamine: 50 years in perspective." Trends Neurosci **30**(5): 188-193.

Jacobson, L. (2014). "Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis: neuropsychiatric aspects." Compr Physiol **4**(2): 715-738.

Jedynak, J., M. Hearing, A. Ingebretson, S. R. Ebner, M. Kelly, R. A. Fischer, S. Kourrich and M. J. Thomas (2016). "Cocaine and Amphetamine Induce Overlapping but Distinct Patterns of AMPAR Plasticity in Nucleus Accumbens Medium Spiny Neurons." Neuropsychopharmacology **41**(2): 464-476.

Jhou, T. C., H. L. Fields, M. G. Baxter, C. B. Saper and P. C. Holland (2009). "The rostromedial tegmental nucleus (RMTg), a GABAergic afferent to midbrain dopamine neurons, encodes aversive stimuli and inhibits motor responses." Neuron **61**(5): 786-800.

- Jin, P., H. L. Yu, L. Tian, F. Zhang and Z. S. Quan (2015). "Antidepressant-like effects of oleylethanolamide in a mouse model of chronic unpredictable mild stress." Pharmacol Biochem Behav **133**: 146-154.
- Jo, Y. H., Y. Su, R. Gutierrez-Juarez and S. Chua, Jr. (2009). "Oleic acid directly regulates POMC neuron excitability in the hypothalamus." J Neurophysiol **101**(5): 2305-2316.
- Johnson, F., M. Pratt and J. Wardle (2012). "Dietary restraint and self-regulation in eating behavior." Int J Obes (Lond) **36**(5): 665-674.
- Johnson, P. M. and P. J. Kenny (2010). "Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats." Nat Neurosci **13**(5): 635-641.
- Johnson, S. W. and R. A. North (1992). "Two types of neurone in the rat ventral tegmental area and their synaptic inputs." J Physiol **450**: 455-468.
- Jonas, A. (2000). "Lecithin cholesterol acyltransferase." Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids **1529**(1-3): 245-256.
- Jones, S. R., R. R. Gainetdinov, R. M. Wightman and M. G. Caron (1998). "Mechanisms of Amphetamine Action Revealed in Mice Lacking the Dopamine Transporter." The Journal of Neuroscience **18**(6): 1979-1986.
- Jones, S. R., S. J. O'Dell, J. F. Marshall and R. M. Wightman (1996). "Functional and anatomical evidence for different dopamine dynamics in the core and shell of the nucleus accumbens in slices of rat brain." Synapse **23**(3): 224-231.
- Jongen-Rêlo, A. L., P. Voorn and H. J. Groenewegen (1994). "Immunohistochemical Characterization of the Shell and Core Territories of the Nucleus Accumbens in the Rat." European Journal of Neuroscience **6**(8): 1255-1264.
- Joseph, J. D., Y. M. Wang, P. R. Miles, E. A. Budygin, R. Picetti, R. R. Gainetdinov, M. G. Caron and R. M. Wightman (2002). "Dopamine autoreceptor regulation of release and uptake in mouse brain slices in the absence of D(3) receptors." Neuroscience **112**(1): 39-49.
- Judd, J. T., M. W. Marshall and J. Dupont (1989). "Relationship of dietary fat to plasma fatty acids, blood pressure, and urinary eicosanoids in adult men." J Am Coll Nutr **8**(5): 386-399.
- Kalivas, P. W. and P. Duffy (1995). "Selective activation of dopamine transmission in the shell of the nucleus accumbens by stress." Brain Res **675**(1-2): 325-328.
- Kambeitz, J., A. Abi-Dargham, S. Kapur and O. D. Howes (2014). "Alterations in cortical and extrastriatal subcortical dopamine function in schizophrenia: systematic review and meta-analysis of imaging studies." Br J Psychiatry **204**(6): 420-429.
- Kamp, F., D. Zakim, F. Zhang, N. Noy and J. A. Hamilton (1995). "Fatty acid flip-flop in phospholipid bilayers is extremely fast." Biochemistry **34**(37): 11928-11937.
- Kanoski, S. E. and T. L. Davidson (2011). "Western diet consumption and cognitive impairment: links to hippocampal dysfunction and obesity." Physiol Behav **103**(1): 59-68.
- Kanoski, S. E. and H. J. Grill (2015). "Hippocampus Contributions to Food Intake Control: Mnemonic, Neuroanatomical, and Endocrine Mechanisms." Biol Psychiatry.
- Kanoski, S. E., Y. Zhang, W. Zheng and T. L. Davidson (2010). "The effects of a high-energy diet on hippocampal function and blood-brain barrier integrity in the rat." J Alzheimers Dis **21**(1): 207-219.
- Karakaya, S., M. Kipp and C. Beyer (2007). "Oestrogen regulates the expression and function of dopamine transporters in astrocytes of the nigrostriatal system." J Neuroendocrinol **19**(9): 682-690.

- Karlsson, H. K., L. Tuominen, J. J. Tuulari, J. Hirvonen, R. Parkkola, S. Helin and P. Salminen (2015). "Obesity Is Associated with Decreased mu-Opioid But Unaltered Dopamine D2 Receptor Availability in the Brain." *35*(9): 3959-3965.
- Karst, H., S. Berger, G. Erdmann, G. Schutz and M. Joels (2010). "Metaplasticity of amygdalar responses to the stress hormone corticosterone." *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**(32): 14449-14454.
- Karst, H., S. Berger, M. Turiault, F. Tronche, G. Schutz and M. Joels (2005). "Mineralocorticoid receptors are indispensable for nongenomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone." *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**(52): 19204-19207.
- Kaufling, J., P. Veinante, S. A. Pawlowski, M. J. Freund-Mercier and M. Barrot (2009). "Afferents to the GABAergic tail of the ventral tegmental area in the rat." *J Comp Neurol* **513**(6): 597-621.
- Kawaguchi, Y., C. J. Wilson, S. J. Augood and P. C. Emson (1995). "Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization." *Trends Neurosci* **18**(12): 527-535.
- Kebabian, J. W. and D. B. Calne (1979). "Multiple receptors for dopamine." *Nature* **277**(5692): 93-96.
- Kelly, P. H. and S. D. Iversen (1976). "Selective 6OHDA-induced destruction of mesolimbic dopamine neurons: abolition of psychostimulant-induced locomotor activity in rats." *Eur J Pharmacol* **40**(1): 45-56.
- Kemp, J. M. and T. P. Powell (1971). "The structure of the caudate nucleus of the cat: light and electron microscopy." *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **262**(845): 383-401.
- Kenny, P. J. (2011). "Reward mechanisms in obesity: new insights and future directions." *Neuron* **69**(4): 664-679.
- Kerner, J. and C. Hoppel (2000). "Fatty acid import into mitochondria." *Biochim Biophys Acta* **1486**(1): 1-17.
- Keys, A., A. Menotti, M. J. Karvonen, C. Aravanis, H. Blackburn, R. Buzina, B. S. Djordjevic, A. S. Dontas, F. Fidanza, M. H. Keys and et al. (1986). "The diet and 15-year death rate in the seven countries study." *Am J Epidemiol* **124**(6): 903-915.
- Khaliq, Z. M. and B. P. Bean (2010). "Pacemaking in dopaminergic ventral tegmental area neurons: depolarizing drive from background and voltage-dependent sodium conductances." *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **30**(21): 7401-7413.
- Khan, Z. U., A. Gutierrez, R. Martin, A. Penafiel, A. Rivera and A. de la Calle (2000). "Dopamine D5 receptors of rat and human brain." *Neuroscience* **100**(4): 689-699.
- Kim, H. F., A. Ghazizadeh and O. Hikosaka (2014). "Separate groups of dopamine neurons innervate caudate head and tail encoding flexible and stable value memories." *Front Neuroanat* **8**: 120.
- King, M. M., C. Y. Huang, P. B. Chock, A. C. Nairn, H. C. Hemmings, Jr., K. F. Chan and P. Greengard (1984). "Mammalian brain phosphoproteins as substrates for calcineurin." *J Biol Chem* **259**(13): 8080-8083.
- King, S. J., A. M. Isaacs, E. O'Farrell and A. Abizaid (2011). "Motivation to obtain preferred foods is enhanced by ghrelin in the ventral tegmental area." *Horm Behav* **60**(5): 572-580.
- Kivimaki, M., G. D. Batty, A. Singh-Manoux, H. Nabi, S. Sabia, A. G. Tabak, T. N. Akbaraly, J. Vahtera, M. G. Marmot and M. Jokela (2009). "Association between common mental disorder and obesity over the adult life course." *Br J Psychiatry* **195**(2): 149-155.

- Kleinridders, A., D. Schenten, A. C. Konner, B. F. Belgardt, J. Mauer, T. Okamura, F. T. Wunderlich, R. Medzhitov and J. C. Bruning (2009). "MyD88 signaling in the CNS is required for development of fatty acid-induced leptin resistance and diet-induced obesity." Cell Metab **10**(4): 249-259.
- Kloet, E. R. d., E. Vreugdenhil, M. S. Oitzl and M. Joëls (1998). "Brain Corticosteroid Receptor Balance in Health and Disease." Endocrine Reviews **19**(3): 269-301.
- Kong, M. M., V. Verma, B. F. O'Dowd and S. R. George (2011). "The role of palmitoylation in directing dopamine D1 receptor internalization through selective endocytic routes." Biochem Biophys Res Commun **405**(3): 445-449.
- Konner, A. C., S. Hess, S. Tovar, A. Mesaros, C. Sanchez-Lasheras, N. Evers, L. A. Verhagen, H. S. Bronneke, A. Kleinridders, B. Hampel, P. Kloppenburg and J. C. Bruning (2011). "Role for insulin signaling in catecholaminergic neurons in control of energy homeostasis." Cell Metab **13**(6): 720-728.
- Koob, G. F. (1992). "Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways." Trends Pharmacol Sci **13**(5): 177-184.
- Korbonits, M., I. Bujalska, M. Shimojo, J. Nobes, S. Jordan, A. B. Grossman and P. M. Stewart (2001). "Expression of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoenzymes in the human pituitary: induction of the type 2 enzyme in corticotropinomas and other pituitary tumors." J Clin Endocrinol Metab **86**(6): 2728-2733.
- Koyama, S., M. Kawaharada, H. Terai, M. Ohkurano, M. Mori, S. Kanamaru and S. Hirose (2013). "Obesity decreases excitability of putative ventral tegmental area GABAergic neurons." Physiological Reports **1**(5): e00126.
- Koyama, S., M. Mori, S. Kanamaru, T. Sazawa, A. Miyazaki, H. Terai and S. Hirose (2014). "Obesity attenuates D(2) autoreceptor-mediated inhibition of putative ventral tegmental area dopaminergic neurons." Physiological Reports **2**(5): e12004.
- Krauss, R. M. (2010). "Lipoprotein subfractions and cardiovascular disease risk." Curr Opin Lipidol **21**(4): 305-311.
- Kretz, O., W. Schmid, S. Berger and P. Gass (2001). "The mineralocorticoid receptor expression in the mouse CNS is conserved during development." Neuroreport **12**(6): 1133-1137.
- Kris-Etherton, P., R. H. Eckel, B. V. Howard, S. St Jeor and T. L. Bazzarre (2001). "AHA Science Advisory: Lyon Diet Heart Study. Benefits of a Mediterranean-style, National Cholesterol Education Program/American Heart Association Step I Dietary Pattern on Cardiovascular Disease." Circulation **103**(13): 1823-1825.
- Kris-Etherton, P. M., W. S. Harris and L. J. Appel (2002). "Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease." Circulation **106**(21): 2747-2757.
- Kroes, M. C., G. A. van Wingen, J. Wittwer, M. H. Mohajeri, J. Kloek and G. Fernandez (2014). "Food can lift mood by affecting mood-regulating neurocircuits via a serotonergic mechanism." Neuroimage **84**: 825-832.
- Krozowski, Z. S. and J. W. Funder (1983). "Renal mineralocorticoid receptors and hippocampal corticosterone-binding species have identical intrinsic steroid specificity." Proc Natl Acad Sci U S A **80**(19): 6056-6060.
- Kumar, U. and S. C. Patel (2007). "Immunohistochemical localization of dopamine receptor subtypes (D1R-D5R) in Alzheimer's disease brain." Brain Res **1131**(1): 187-196.

- Kuo, D.-Y., P.-N. Chen, M.-H. Kuo, C.-H. Chen, Y.-S. Hsieh and S.-C. Chu (2012). "NF- κ B knockdown can modulate amphetamine-mediated feeding response." Neuropharmacology **62**(4): 1684-1694.
- Kurban, S., I. Mehmetoglu and G. Yilmaz (2007). "Effect of diet oils on lipid levels of the brain of rats." Indian J Clin Biochem **22**(2): 44-47.
- Kurtz, A., A. Zimmer, F. Schnutgen, G. Bruning, F. Spener and T. Muller (1994). "The expression pattern of a novel gene encoding brain-fatty acid binding protein correlates with neuronal and glial cell development." Development **120**(9): 2637-2649.
- Labouebe, G., S. Liu, C. Dias, H. Zou, J. C. Wong, S. Karunakaran, S. M. Clee, A. G. Phillips, B. Boutrel and S. L. Borgland (2013). "Insulin induces long-term depression of ventral tegmental area dopamine neurons via endocannabinoids." Nat Neurosci **16**(3): 300-308.
- Labouesse, M. A., U. Stadlbauer, W. Langhans and U. Meyer (2013). "Chronic high fat diet consumption impairs sensorimotor gating in mice." Psychoneuroendocrinology **38**(11): 2562-2574.
- Lacey, M. G., N. B. Mercuri and R. A. North (1987). "Dopamine acts on D2 receptors to increase potassium conductance in neurones of the rat substantia nigra zona compacta." J Physiol **392**: 397-416.
- Lam, T. K., A. Pocai, R. Gutierrez-Juarez, S. Obici, J. Bryan, L. Aguilar-Bryan, G. J. Schwartz and L. Rossetti (2005). "Hypothalamic sensing of circulating fatty acids is required for glucose homeostasis." Nat Med **11**(3): 320-327.
- Lammel, S., B. K. Lim and R. C. Malenka (2014). "Reward and aversion in a heterogeneous midbrain dopamine system." Neuropharmacology **76, Part B**: 351-359.
- Larsen, K. E., E. A. Fon, T. G. Hastings, R. H. Edwards and D. Sulzer (2002). "Methamphetamine-induced degeneration of dopaminergic neurons involves autophagy and upregulation of dopamine synthesis." J Neurosci **22**(20): 8951-8960.
- Latner, J. D. and M. Schwartz (1999). "The effects of a high-carbohydrate, high-protein or balanced lunch upon later food intake and hunger ratings." Appetite **33**(1): 119-128.
- Le Foll, C., A. Dunn-Meynell, S. Musatov, C. Magnan and B. E. Levin (2013). "FAT/CD36: a major regulator of neuronal fatty acid sensing and energy homeostasis in rats and mice." Diabetes **62**(8): 2709-2716.
- Le Foll, C., B. G. Irani, C. Magnan, A. A. Dunn-Meynell and B. E. Levin (2009). "Characteristics and mechanisms of hypothalamic neuronal fatty acid sensing." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **297**(3): R655-664.
- Lemere, F. (1966). "The danger of amphetamine dependency." Am J Psychiatry **123**(5): 569-572.
- Levant, B., M. Ozias, K. Jones and S. Carlson (2006). "Differential effects of modulation of docosahexaenoic acid content during development in specific regions of rat brain." Lipids **41**(5): 407-414.
- Levant, B., M. K. Ozias and S. E. Carlson (2007). "Specific brain regions of female rats are differentially depleted of docosahexaenoic acid by reproductive activity and an (n-3) fatty acid-deficient diet." J Nutr **137**(1): 130-134.
- Levant, B., M. K. Ozias, B. L. Guilford and D. E. Wright (2013). "Streptozotocin-induced diabetes partially attenuates the effects of a high-fat diet on liver and brain fatty acid composition in mice." Lipids **48**(9): 939-948.
- Levine, A. S. and J. E. Morley (1981). "Stress-induced eating in rats." Am J Physiol **241**(1): R72-76.

- Levitt, M., S. Spector, A. Sjoerdsma and S. Udenfriend (1965). "Elucidation of the rate-limiting step in norepinephrine biosynthesis in the perfused guinea-pig heart." Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics **148**(1): 1-8.
- Leyton, M., I. Boileau, C. Benkelfat, M. Diksic, G. Baker and A. Dagher (2002). "Amphetamine-induced increases in extracellular dopamine, drug wanting, and novelty seeking: a PET/[11C]raclopride study in healthy men." Neuropsychopharmacology **27**(6): 1027-1035.
- Li, L. B., N. Chen, S. Ramamoorthy, L. Chi, X. N. Cui, L. C. Wang and M. E. Reith (2004). "The role of N-glycosylation in function and surface trafficking of the human dopamine transporter." J Biol Chem **279**(20): 21012-21020.
- Li, X., J. Qi, T. Yamaguchi, H. L. Wang and M. Morales (2013). "Heterogeneous composition of dopamine neurons of the rat A10 region: molecular evidence for diverse signaling properties." Brain Struct Funct **218**(5): 1159-1176.
- Li, Y., T. South, M. Han, J. Chen, R. Wang and X. F. Huang (2009). "High-fat diet decreases tyrosine hydroxylase mRNA expression irrespective of obesity susceptibility in mice." Brain Res **1268**: 181-189.
- Li, Y. Q., M. Takada, Y. Shinonaga and N. Mizuno (1993). "The sites of origin of dopaminergic afferent fibers to the lateral habenular nucleus in the rat." J Comp Neurol **333**(1): 118-133.
- Liang, N. C., A. Hajnal and R. Norgren (2006). "Sham feeding corn oil increases accumbens dopamine in the rat." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **291**(5): R1236-1239.
- Lightman, S. L. and B. L. Conway-Campbell (2010). "The crucial role of pulsatile activity of the HPA axis for continuous dynamic equilibration." Nat Rev Neurosci **11**(10): 710-718.
- Lindgren, N., Z. Q. Xu, M. Herrera-Marschitz, J. Haycock, T. Hokfelt and G. Fisone (2001). "Dopamine D(2) receptors regulate tyrosine hydroxylase activity and phosphorylation at Ser40 in rat striatum." Eur J Neurosci **13**(4): 773-780.
- Lis, H. and N. Sharon (1993). "Protein glycosylation. Structural and functional aspects." Eur J Biochem **218**(1): 1-27.
- Liu, R. Z., R. Mita, M. Beaulieu, Z. Gao and R. Godbout (2010). "Fatty acid binding proteins in brain development and disease." Int J Dev Biol **54**(8-9): 1229-1239.
- Liu, S. and S. L. Borgland (2015). "Regulation of the mesolimbic dopamine circuit by feeding peptides." Neuroscience **289**: 19-42.
- Liu, Y., D. Morgan and D. C. Roberts (2007). "Cross-sensitization of the reinforcing effects of cocaine and amphetamine in rats." Psychopharmacology (Berl) **195**(3): 369-375.
- Livingstone, D. E., G. C. Jones, K. Smith, P. M. Jamieson, R. Andrew, C. J. Kenyon and B. R. Walker (2000). "Understanding the role of glucocorticoids in obesity: tissue-specific alterations of corticosterone metabolism in obese Zucker rats." Endocrinology **141**(2): 560-563.
- Lloyd-Jones, D., R. J. Adams, T. M. Brown, M. Carnethon, S. Dai, G. De Simone, T. B. Ferguson, E. Ford, K. Furie, C. Gillespie, A. Go, K. Greenlund, N. Haase, S. Hailpern, P. M. Ho, V. Howard, B. Kissela, S. Kittner, D. Lackland, L. Lisabeth, A. Marelli, M. M. McDermott, J. Meigs, D. Mozaffarian, M. Mussolino, G. Nichol, V. L. Roger, W. Rosamond, R. Sacco, P. Sorlie, V. L. Roger, T. Thom, S. Wasserthiel-Smoller, N. D. Wong and J. Wylie-Rosett (2010). "Heart disease and stroke statistics--2010 update: a report from the American Heart Association." Circulation **121**(7): e46-e215.

- Lockie, S. H., T. Dinan, A. J. Lawrence, S. J. Spencer and Z. B. Andrews (2015). "Diet-induced obesity causes ghrelin resistance in reward processing tasks." Psychoneuroendocrinology **62**: 114-120.
- Losel, R. M., E. Falkenstein, M. Feuring, A. Schultz, H. C. Tillmann, K. Rossol-Haseroth and M. Wehling (2003). "Nongenomic steroid action: controversies, questions, and answers." Physiol Rev **83**(3): 965-1016.
- Loweth, J. A., K. Y. Tseng and M. E. Wolf (2014). "Adaptations in AMPA receptor transmission in the nucleus accumbens contributing to incubation of cocaine craving." Neuropharmacology **76 Pt B**: 287-300.
- Lowry, D. W. and A. J. Tomiyama (2015). "Air displacement plethysmography versus dual-energy x-ray absorptiometry in underweight, normal-weight, and overweight/obese individuals." PLoS One **10**(1): e0115086.
- Luppino, F. S., L. M. de Wit, P. F. Bouvy, T. Stijnen, P. Cuijpers, B. W. Penninx and F. G. Zitman (2010). "Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies." Arch Gen Psychiatry **67**(3): 220-229.
- Lusis, A. J. and P. Pajukanta (2008). "A treasure trove for lipoprotein biology." Nat Genet **40**(2): 129-130.
- Lyness, W. H., N. M. Friedle and K. E. Moore (1979). "Destruction of dopaminergic nerve terminals in nucleus accumbens: effect on d-amphetamine self-administration." Pharmacol Biochem Behav **11**(5): 553-556.
- Ma, J., A. R. Folsom, E. Shahar and J. H. Eckfeldt (1995). "Plasma fatty acid composition as an indicator of habitual dietary fat intake in middle-aged adults. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators." The American Journal of Clinical Nutrition **62**(3): 564-571.
- Malagon, M., H. Vaudry, F. Van Strien, G. Pelletier, F. Gracia-Navarro and M. C. Tonon (1993). "Ontogeny of diazepam-binding inhibitor-related peptides (endozepines) in the rat brain." Neuroscience **57**(3): 777-786.
- Mallajosyula, J. K., D. Kaur, S. J. Chinta, S. Rajagopalan, A. Rane, D. G. Nicholls, D. A. Di Monte, H. Macarthur and J. K. Andersen (2008). "MAO-B Elevation in Mouse Brain Astrocytes Results in Parkinson's Pathology." PLoS ONE **3**(2): e1616.
- Man, H. Y., Y. Sekine-Aizawa and R. L. Haganir (2007). "Regulation of {alpha}-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor trafficking through PKA phosphorylation of the Glu receptor 1 subunit." Proc Natl Acad Sci U S A **104**(9): 3579-3584.
- Mansbach, C. M., 2nd and F. Gorelick (2007). "Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. II. Dietary lipid absorption, complex lipid synthesis, and the intracellular packaging and secretion of chylomicrons." Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol **293**(4): G645-650.
- Mantle, T. J., K. F. Tipton and N. J. Garrett (1976). "Inhibition of monoamine oxidase by amphetamine and related compounds." Biochem Pharmacol **25**(18): 2073-2077.
- Marchant, N. J., K. Kaganovsky, Y. Shaham and J. M. Bossert (2015). "Role of corticostriatal circuits in context-induced reinstatement of drug seeking." Brain Research **1628, Part A**: 219-232.
- Margolis, E. B., H. Lock, G. O. Hjelmstad and H. L. Fields (2006). "The ventral tegmental area revisited: is there an electrophysiological marker for dopaminergic neurons?" The Journal of Physiology **577**(Pt 3): 907-924.

Marteinsdottir, I., D. F. Horrobin, C. Stenfors, E. Theodorsson and A. A. Mathe (1998). "Changes in dietary fatty acids alter phospholipid fatty acid composition in selected regions of rat brain." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry **22**(6): 1007-1021.

Martinez-Gonzalez, M. A., J. Salas-Salvado, R. Estruch, D. Corella, M. Fito and E. Ros (2015). "Benefits of the Mediterranean Diet: Insights From the PREDIMED Study." Prog Cardiovasc Dis **58**(1): 50-60.

Martinez, D., K. Greene, A. Broft, D. Kumar, F. Liu, R. Narendran, M. Slifstein, R. Van Heertum and H. D. Kleber (2009). "Lower level of endogenous dopamine in patients with cocaine dependence: findings from PET imaging of D(2)/D(3) receptors following acute dopamine depletion." Am J Psychiatry **166**(10): 1170-1177.

Marty, N., M. Dallaporta and B. Thorens (2007). "Brain glucose sensing, counterregulation, and energy homeostasis." Physiology (Bethesda) **22**: 241-251.

Mason, B. L., C. M. Pariante, S. Jamel and S. A. Thomas (2010). "Central nervous system (CNS) delivery of glucocorticoids is fine-tuned by saturable transporters at the blood-CNS barriers and nonbarrier regions." Endocrinology **151**(11): 5294-5305.

Masson, C. J., J. Plat, R. P. Mensink, A. Namiot, W. Kisielewski, Z. Namiot, J. Fullekrug, R. Eehalt, J. F. Glatz and M. M. Pelsers (2010). "Fatty acid- and cholesterol transporter protein expression along the human intestinal tract." PLoS One **5**(4): e10380.

Mastroeni, D., A. Grover, B. Leonard, J. N. Joyce, P. D. Coleman, B. Kozik, D. L. Bellinger and J. Rogers (2009). "Microglial responses to dopamine in a cell culture model of Parkinson's disease." Neurobiology of aging **30**(11): 1805-1817.

Masuzaki, H., H. Yamamoto, C. J. Kenyon, J. K. Elmquist, N. M. Morton, J. M. Paterson, H. Shinyama, M. G. Sharp, S. Fleming, J. J. Mullins, J. R. Seckl and J. S. Flier (2003). "Transgenic amplification of glucocorticoid action in adipose tissue causes high blood pressure in mice." J Clin Invest **112**(1): 83-90.

Matheny, M., A. Shapiro, N. Tumer and P. J. Scarpace (2011). "Region-specific diet-induced and leptin-induced cellular leptin resistance includes the ventral tegmental area in rats." Neuropharmacology **60**(2-3): 480-487.

Mathon, D. S., H. M. B. Lesscher, M. A. F. M. Gerrits, A. Kamal, J. E. Pintar, A. G. P. Schuller, B. M. Spruijt, J. P. H. Burbach, M. P. Smidt, J. M. van Ree and G. M. J. Ramakers (2005). "Increased gabaergic input to ventral tegmental area dopaminergic neurons associated with decreased cocaine reinforcement in μ -opioid receptor knockout mice." Neuroscience **130**(2): 359-367.

Matsufuji, T., M. Ikeda, A. Naito, M. Hirouchi, S. Kanda, M. Izumi, J. Harada and T. Shinozuka (2013). "Arylpiperazines as fatty acid transport protein 1 (FATP1) inhibitors with improved potency and pharmacokinetic properties." Bioorg Med Chem Lett **23**(9): 2560-2565.

McClung, C. A. and E. J. Nestler (2003). "Regulation of gene expression and cocaine reward by CREB and DeltaFosB." Nat Neurosci **6**(11): 1208-1215.

McDonald, A. J. (1991). "Topographical organization of amygdaloid projections to the caudatoputamen, nucleus accumbens, and related striatal-like areas of the rat brain." Neuroscience **44**(1): 15-33.

McNeilly, A. D., C. A. Stewart, C. Sutherland and D. J. Balfour (2015). "High fat feeding is associated with stimulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and reduced anxiety in the rat." Psychoneuroendocrinology **52**: 272-280.

McTavish, S. F., P. J. Cowen and T. Sharp (1999). "Effect of a tyrosine-free amino acid mixture on regional brain catecholamine synthesis and release." Psychopharmacology (Berl) **141**(2): 182-188.

Mebel, D. M., J. C. Wong, Y. J. Dong and S. L. Borgland (2012). "Insulin in the ventral tegmental area reduces hedonic feeding and suppresses dopamine concentration via increased reuptake." Eur J Neurosci **36**(3): 2336-2346.

Menegas, W., J. F. Bergan, S. K. Ogawa, Y. Isogai, K. Umadevi Venkataraju, P. Osten, N. Uchida and M. Watabe-Uchida (2015). "Dopamine neurons projecting to the posterior striatum form an anatomically distinct subclass." eLife **4**.

Meye, F. J. and R. A. Adan (2014). "Feelings about food: the ventral tegmental area in food reward and emotional eating." Trends Pharmacol Sci **35**(1): 31-40.

Michalski, M. C., C. Genot, C. Gayet, C. Lopez, F. Fine, F. Joffre, J. L. Venduvre, J. Bouvier, J. M. Chardigny and K. Raynal-Ljutovac (2013). "Multiscale structures of lipids in foods as parameters affecting fatty acid bioavailability and lipid metabolism." Progress in Lipid Research **52**(4): 354-373.

Mikolajczyk, R. T., W. El Ansari and A. E. Maxwell (2009). "Food consumption frequency and perceived stress and depressive symptoms among students in three European countries." Nutrition Journal **8**(1): 1-8.

Milanski, M., G. Degasperi, A. Coope, J. Morari, R. Denis, D. E. Cintra, D. M. Tsukumo, G. Anhe, M. E. Amaral, H. K. Takahashi, R. Curi, H. C. Oliveira, J. B. Carnevali, S. Bordin, M. J. Saad and L. A. Velloso (2009). "Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity." J Neurosci **29**(2): 359-370.

Millar, J., J. A. Stamford, Z. L. Kruk and R. M. Wightman (1985). "Electrochemical, pharmacological and electrophysiological evidence of rapid dopamine release and removal in the rat caudate nucleus following electrical stimulation of the median forebrain bundle." Eur J Pharmacol **109**(3): 341-348.

Miller, J. C., J. M. Gnaedinger and S. I. Rapoport (1987). "Utilization of plasma fatty acid in rat brain: distribution of [¹⁴C]palmitate between oxidative and synthetic pathways." J Neurochem **49**(5): 1507-1514.

Missale, C., S. R. Nash, S. W. Robinson, M. Jaber and M. G. Caron (1998). "Dopamine receptors: from structure to function." Physiol Rev **78**(1): 189-225.

Mitchell, R. W., C. L. Edmundson, D. W. Miller and G. M. Hatch (2009). "On the mechanism of oleate transport across human brain microvessel endothelial cells." J Neurochem **110**(3): 1049-1057.

Mitchell, R. W. and G. M. Hatch (2011). "Fatty acid transport into the brain: of fatty acid fables and lipid tails." Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **85**(5): 293-302.

Mitchell, R. W., N. H. On, M. R. Del Bigio, D. W. Miller and G. M. Hatch (2011). "Fatty acid transport protein expression in human brain and potential role in fatty acid transport across human brain microvessel endothelial cells." J Neurochem **117**(4): 735-746.

Mitre-Aguilar, I. B., A. J. Cabrera-Quintero and A. Zentella-Dehesa (2015). "Genomic and non-genomic effects of glucocorticoids: implications for breast cancer." International Journal of Clinical and Experimental Pathology **8**(1): 1-10.

Miyazaki, I., M. Asanuma, F. J. Diaz-Corrales, K. Miyoshi and N. Ogawa (2004). "Direct evidence for expression of dopamine receptors in astrocytes from basal ganglia." Brain Res **1029**(1): 120-123.

- Mlewski, E. C., C. Arias and G. Paglini (2016). "Association between the expression of amphetamine-induced behavioral sensitization and Cdk5/p35 activity in dorsal striatum." Behavioral Neuroscience **130**(1): 114-122.
- Mlewski, E. C., F. A. Krapacher, S. Ferreras and G. Paglini (2008). "Transient enhanced expression of Cdk5 activator p25 after acute and chronic d-amphetamine administration." Ann N Y Acad Sci **1139**: 89-102.
- Moilanen, T., L. Rasanen, J. Viikari, H. K. Akerblom and T. Nikkari (1992). "Correlation of serum fatty acid composition with dietary intake data in children and young adults." Ann Med **24**(1): 67-70.
- Moisan, M. P., J. R. Seckl and C. R. Edwards (1990). "11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase bioactivity and messenger RNA expression in rat forebrain: localization in hypothalamus, hippocampus, and cortex." Endocrinology **127**(3): 1450-1455.
- Montmayeur, J. P., P. Bausero, N. Amlaiky, L. Maroteaux, R. Hen and E. Borrelli (1991). "Differential expression of the mouse D2 dopamine receptor isoforms." FEBS Lett **278**(2): 239-243.
- Moore, R. Y. (2003). "Organization of midbrain dopamine systems and the pathophysiology of Parkinson's disease." Parkinsonism & Related Disorders **9**, **Supplement 2**: 65-71.
- Morales, L., N. Del Olmo, I. Valladolid-Acebes, A. Fole, V. Cano, B. Merino, P. Stucchi, D. Ruggieri, L. Lopez, L. F. Alguacil and M. Ruiz-Gayo (2012). "Shift of circadian feeding pattern by high-fat diets is coincident with reward deficits in obese mice." PLoS One **7**(5): e36139.
- Morgan, K., S. Obici and L. Rossetti (2004). "Hypothalamic responses to long-chain fatty acids are nutritionally regulated." J Biol Chem **279**(30): 31139-31148.
- Morikawa, H. and C. A. Paladini (2011). "Dynamic regulation of midbrain dopamine neuron activity: intrinsic, synaptic, and plasticity mechanisms." Neuroscience **198**: 95-111.
- Morimoto, M., N. Morita, H. Ozawa, K. Yokoyama and M. Kawata (1996). "Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain: an immunohistochemical and in situ hybridization study." Neurosci Res **26**(3): 235-269.
- Morton, G. J., J. E. Blevins, F. Kim, M. Matsen and D. P. Figlewicz (2009). "The action of leptin in the ventral tegmental area to decrease food intake is dependent on Jak-2 signaling." Am J Physiol Endocrinol Metab **297**(1): E202-210.
- Morton, N. M., J. M. Paterson, H. Masuzaki, M. C. Holmes, B. Staels, C. Fievet, B. R. Walker, J. S. Flier, J. J. Mullins and J. R. Seckl (2004). "Novel adipose tissue-mediated resistance to diet-induced visceral obesity in 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1-deficient mice." Diabetes **53**(4): 931-938.
- Moulle, V. S., C. Le Foll, E. Philippe, N. Kassis, C. Rouch, N. Marsollier, L. C. Bui, C. Guissard, J. Dairou, A. Lorsignol, L. Penicaud, B. E. Levin, C. Cruciani-Guglielmacci and C. Magnan (2013). "Fatty acid transporter CD36 mediates hypothalamic effect of fatty acids on food intake in rats." PLoS One **8**(9): e74021.
- Myles, I. A. (2014). "Fast food fever: reviewing the impacts of the Western diet on immunity." Nutr J **13**: 61.
- Myohanen, T. T., N. Schendzielorz and P. T. Mannisto (2010). "Distribution of catechol-O-methyltransferase (COMT) proteins and enzymatic activities in wild-type and soluble COMT deficient mice." J Neurochem **113**(6): 1632-1643.
- Nair-Roberts, R. G., S. D. Chatelain-Badie, E. Benson, H. White-Cooper, J. P. Bolam and M. A. Ungless (2008). "Stereological estimates of dopaminergic, GABAergic and glutamatergic

neurons in the ventral tegmental area, substantia nigra and retrorubral field in the rat." Neuroscience **152**(4-2): 1024-1031.

Nakano, K., T. Kayahara, T. Tsutsumi and H. Ushiro (2000). "Neural circuits and functional organization of the striatum." J Neurol **247** Suppl 5: V1-15.

Napolitano, A., A. M. Cesura and M. Da Prada (1995). "The role of monoamine oxidase and catechol O-methyltransferase in dopaminergic neurotransmission." J Neural Transm Suppl **45**: 35-45.

Naray-Fejes-Toth, A. and G. Fejes-Toth (1996). "Subcellular localization of the type 2 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase. A green fluorescent protein study." J Biol Chem **271**(26): 15436-15442.

Neary, M. T. and R. L. Batterham (2009). "Gut hormones: Implications for the treatment of obesity." Pharmacology & Therapeutics **124**(1): 44-56.

Nelson, C. L., M. Milovanovic, J. B. Wetter, K. A. Ford and M. E. Wolf (2009). "Behavioral sensitization to amphetamine is not accompanied by changes in glutamate receptor surface expression in the rat nucleus accumbens." J Neurochem **109**(1): 35-51.

Nelson, G., P. Schmidt and D. Kelley (1995). "Low-fat diets do not lower plasma cholesterol levels in healthy men compared to high-fat diets with similar fatty acid composition at constant caloric intake." Lipids **30**(11): 969-976.

Nestler, E. J. (2012). "Transcriptional Mechanisms of Drug Addiction." Clinical Psychopharmacology and Neuroscience **10**(3): 136-143.

Nestler, E. J. and W. A. Carlezon, Jr. (2006). "The mesolimbic dopamine reward circuit in depression." Biol Psychiatry **59**(12): 1151-1159.

Ng, G. Y., B. F. O'Dowd, M. Caron, M. Dennis, M. R. Brann and S. R. George (1994). "Phosphorylation and palmitoylation of the human D2L dopamine receptor in Sf9 cells." J Neurochem **63**(5): 1589-1595.

Nirenberg, M. J., J. Chan, A. Pohorille, R. A. Vaughan, G. R. Uhl, M. J. Kuhar and V. M. Pickel (1997). "The dopamine transporter: comparative ultrastructure of dopaminergic axons in limbic and motor compartments of the nucleus accumbens." J Neurosci **17**(18): 6899-6907.

Nirenberg, M. J., J. Chan, R. A. Vaughan, G. R. Uhl, M. J. Kuhar and V. M. Pickel (1997). "Immunogold Localization of the Dopamine Transporter: An Ultrastructural Study of the Rat Ventral Tegmental Area." The Journal of Neuroscience **17**(11): 4037-4044.

Nishi, A., J. A. Bibb, G. L. Snyder, H. Higashi, A. C. Nairn and P. Greengard (2000). "Amplification of dopaminergic signaling by a positive feedback loop." Proc Natl Acad Sci U S A **97**(23): 12840-12845.

Nishi, A., G. L. Snyder, A. C. Nairn and P. Greengard (1999). "Role of calcineurin and protein phosphatase-2A in the regulation of DARPP-32 dephosphorylation in neostriatal neurons." J Neurochem **72**(5): 2015-2021.

Obici, S., Z. Feng, A. Arduini, R. Conti and L. Rossetti (2003). "Inhibition of hypothalamic carnitine palmitoyltransferase-1 decreases food intake and glucose production." Nat Med **9**(6): 756-761.

Obici, S., Z. Feng, K. Morgan, D. Stein, G. Karkanias and L. Rossetti (2002). "Central administration of oleic acid inhibits glucose production and food intake." Diabetes **51**(2): 271-275.

Oh, Y. T., K. S. Oh, I. Kang and J. H. Youn (2012). "A Fall in plasma free fatty acid (FFA) level activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis independent of plasma glucose: evidence for brain sensing of circulating FFA." Endocrinology **153**(8): 3587-3592.

- Olds, J. (1958). "Self-stimulation of the brain; its use to study local effects of hunger, sex, and drugs." Science **127**(3294): 315-324.
- Olds, J. and P. Milner (1954). "Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain." J Comp Physiol Psychol **47**(6): 419-427.
- Olds, J. and M. E. Olds (1958). "Positive reinforcement produced by stimulating hypothalamus with iproniazid and other compounds." Science **127**(3307): 1175-1176.
- Oliver, G. and J. Wardle (1999). "Perceived effects of stress on food choice." Physiol Behav **66**(3): 511-515.
- Omelchenko, N. and S. R. Sesack (2010). "Periaqueductal gray afferents synapse onto dopamine and GABA neurons in the rat ventral tegmental area." J Neurosci Res **88**(5): 981-991.
- Ong, Z. Y., A. F. Wanasuria, M. Z. Lin, J. Hiscock and B. S. Muhlhausler (2013). "Chronic intake of a cafeteria diet and subsequent abstinence. Sex-specific effects on gene expression in the mesolimbic reward system." Appetite **65**: 189-199.
- Oomura, Y., T. Nakamura, M. Sugimori and Y. Yamada (1975). "Effect of free fatty acid on the rat lateral hypothalamic neurons." Physiol Behav **14**(04): 483-486.
- Oppermann, U. C., B. Persson and H. Jornvall (1997). "Function, gene organization and protein structures of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoforms." Eur J Biochem **249**(2): 355-360.
- Orsini, C., F. Buchini, P. V. Piazza, S. Puglisi-Allegra and S. Cabib (2004). "Susceptibility to amphetamine-induced place preference is predicted by locomotor response to novelty and amphetamine in the mouse." Psychopharmacology (Berl) **172**(3): 264-270.
- Ouimet, C. C., K. C. Langley-Gullion and P. Greengard (1998). "Quantitative immunocytochemistry of DARPP-32-expressing neurons in the rat caudatoputamen." Brain Res **808**(1): 8-12.
- Oveisi, F., S. Gaetani, K. T. Eng and D. Piomelli (2004). "Oleylethanolamide inhibits food intake in free-feeding rats after oral administration." Pharmacol Res **49**(5): 461-466.
- Owada, Y. (2008). "Fatty acid binding protein: localization and functional significance in the brain." Tohoku J Exp Med **214**(3): 213-220.
- Owada, Y., T. Yoshimoto and H. Kondo (1996). "Spatio-temporally differential expression of genes for three members of fatty acid binding proteins in developing and mature rat brains." J Chem Neuroanat **12**(2): 113-122.
- Ozawa, H., T. Ito, I. Ochiai and M. Kawata (1999). "Cellular localization and distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and the expression of glucocorticoid receptor messenger RNA in rat pituitary gland. A combined double immunohistochemistry study and in situ hybridization histochemical analysis." Cell Tissue Res **295**(2): 207-214.
- Pagoto, S. L., B. Spring, D. McChargue, B. Hitsman, M. Smith, B. Appelhans and D. Hedeker (2009). "Acute tryptophan depletion and sweet food consumption by overweight adults." Eat Behav **10**(1): 36-41.
- Pan, A., Q. Sun, S. Czernichow, M. Kivimaki, O. I. Okereke, M. Lucas, J. E. Manson, A. Ascherio and F. B. Hu (2012). "Bidirectional association between depression and obesity in middle-aged and older women." Int J Obes (Lond) **36**(4): 595-602.
- Pan, Y., M. J. Scanlon, Y. Owada, Y. Yamamoto, C. J. Porter and J. A. Nicolazzo (2015). "Fatty Acid-Binding Protein 5 Facilitates the Blood-Brain Barrier Transport of Docosahexaenoic Acid." Mol Pharm.

- Papp, S., B. Lukats, G. Takacs, C. Szalay and Z. Karadi (2007). "Glucose-monitoring neurons in the nucleus accumbens." Neuroreport **18**(15): 1561-1565.
- Pariante, C. M. and S. L. Lightman (2008). "The HPA axis in major depression: classical theories and new developments." Trends Neurosci **31**(9): 464-468.
- Partilla, J. S., A. G. Dempsey, A. S. Nagpal, B. E. Blough, M. H. Baumann and R. B. Rothman (2006). "Interaction of amphetamines and related compounds at the vesicular monoamine transporter." J Pharmacol Exp Ther **319**(1): 237-246.
- Pasquali, R., V. Vicennati, M. Cacciari and U. Pagotto (2006). "The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Activity in Obesity and the Metabolic Syndrome." Annals of the New York Academy of Sciences **1083**(1): 111-128.
- Patterson, E., O. D. RM, E. F. Murphy, R. Wall, O. S. O, K. Nilaweera, G. F. Fitzgerald, P. D. Cotter, R. P. Ross and C. Stanton (2014). "Impact of dietary fatty acids on metabolic activity and host intestinal microbiota composition in C57BL/6J mice." Br J Nutr **111**(11): 1905-1917.
- Paulmyer-Lacroix, O., S. Boullu, C. Oliver, M. C. Alessi and M. Grino (2002). "Expression of the mRNA coding for 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in adipose tissue from obese patients: an in situ hybridization study." J Clin Endocrinol Metab **87**(6): 2701-2705.
- Paulsen, S. K., S. B. Pedersen, S. Fisker and B. Richelsen (2007). "11Beta-HSD type 1 expression in human adipose tissue: impact of gender, obesity, and fat localization." Obesity (Silver Spring) **15**(8): 1954-1960.
- Paulson, P. E., D. M. Camp and T. E. Robinson (1991). "Time course of transient behavioral depression and persistent behavioral sensitization in relation to regional brain monoamine concentrations during amphetamine withdrawal in rats." Psychopharmacology (Berl) **103**(4): 480-492.
- Paust, H. J., S. Loeper, T. Else, A. M. Bamberger, G. Papadopoulos, D. Pankoke, W. Saeger and C. M. Bamberger (2006). "Expression of the glucocorticoid receptor in the human adrenal cortex." Exp Clin Endocrinol Diabetes **114**(1): 6-10.
- Pecina, S., K. S. Smith and K. C. Berridge (2006). "Hedonic hot spots in the brain." Neuroscientist **12**(6): 500-511.
- Peckett, A. J., D. C. Wright and M. C. Riddell (2011). "The effects of glucocorticoids on adipose tissue lipid metabolism." Metabolism **60**(11): 1500-1510.
- Pecoraro, N., F. Reyes, F. Gomez, A. Bhargava and M. F. Dallman (2004). "Chronic stress promotes palatable feeding, which reduces signs of stress: feedforward and feedback effects of chronic stress." Endocrinology **145**(8): 3754-3762.
- Pellow, S., P. Chopin, S. E. File and M. Briley (1985). "Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat." Journal of Neuroscience Methods **14**(3): 149-167.
- Peng, X. X., E. B. Ziff and K. D. Carr (2011). "Effects of food restriction and sucrose intake on synaptic delivery of AMPA receptors in nucleus accumbens." Synapse **65**(10): 1024-1031.
- Penicaud, L., C. Leloup, X. Fioramonti, A. Lorsignol and A. Benani (2006). "Brain glucose sensing: a subtle mechanism." Curr Opin Clin Nutr Metab Care **9**(4): 458-462.
- Perello, M., I. Sakata, S. Birnbaum, J. C. Chuang, S. Osborne-Lawrence, S. A. Rovinsky, J. Woloszyn, M. Yanagisawa, M. Lutter and J. M. Zigman (2010). "Ghrelin increases the rewarding value of high-fat diet in an orexin-dependent manner." Biol Psychiatry **67**(9): 880-886.
- Perreault, M. L., A. Hasbi, M. Alijaniam, T. Fan, G. Varghese, P. J. Fletcher, P. Seeman, B. F. O'Dowd and S. R. George (2010). "The dopamine D1-D2 receptor heteromer localizes in

- dynorphin/enkephalin neurons: increased high affinity state following amphetamine and in schizophrenia." J Biol Chem **285**(47): 36625-36634.
- Persidsky, Y., S. H. Ramirez, J. Haorah and G. D. Kanmogne (2006). "Blood-brain barrier: structural components and function under physiologic and pathologic conditions." J Neuroimmune Pharmacol **1**(3): 223-236.
- Pettit, H. O. and J. B. Justice Jr (1989). "Dopamine in the nucleus accumbens during cocaine self-administration as studied by in vivo microdialysis." Pharmacology Biochemistry and Behavior **34**(4): 899-904.
- Phan, C. T. and P. Tso (2001). "Intestinal lipid absorption and transport." Front Biosci **6**: D299-319.
- Phillips, G. D., T. W. Robbins and B. J. Everitt (1994). "Bilateral intra-accumbens self-administration of d-amphetamine: antagonism with intra-accumbens SCH-23390 and sulpiride." Psychopharmacology (Berl) **114**(3): 477-485.
- Phillipson, O. T. (1979). "Afferent projections to the ventral tegmental area of Tsai and interfascicular nucleus: a horseradish peroxidase study in the rat." J Comp Neurol **187**(1): 117-143.
- Phillipson, O. T. (1979). "The cytoarchitecture of the interfascicular nucleus and ventral tegmental area of Tsai in the rat." J Comp Neurol **187**(1): 85-98.
- Phillipson, O. T. (1979). "A Golgi study of the ventral tegmental area of Tsai and interfascicular nucleus in the rat." J Comp Neurol **187**(1): 99-115.
- Picard, A., C. Rouch, N. Kassis, V. S. Mouille, S. Croizier, R. G. Denis, J. Castel, N. Coant, K. Davis, D. J. Clegg, S. C. Benoit, V. Prevot, S. Bouret, S. Luquet, H. Le Stunff, C. Cruciani-Guglielmacci and C. Magnan (2014). "Hippocampal lipoprotein lipase regulates energy balance in rodents." Mol Metab **3**(2): 167-176.
- Pifl, C., E. Agneter, H. Drobny, H. H. Sitte and E. A. Singer (1999). "Amphetamine reverses or blocks the operation of the human noradrenaline transporter depending on its concentration: superfusion studies on transfected cells." Neuropharmacology **38**(1): 157-165.
- Plotsky, P. M., R. M. Wightman, W. Chey and R. N. Adams (1977). "Liquid chromatographic analysis of endogenous catecholamine release from brain slices." Science **197**(4306): 904-906.
- Pocai, A., T. K. Lam, S. Obici, R. Gutierrez-Juarez, E. D. Muse, A. Arduini and L. Rossetti (2006). "Restoration of hypothalamic lipid sensing normalizes energy and glucose homeostasis in overfed rats." J Clin Invest **116**(4): 1081-1091.
- Polonsky, K. S., B. D. Given, L. Hirsch, E. T. Shapiro, H. Tillil, C. Beebe, J. A. Galloway, B. H. Frank, T. Karrison and E. Van Cauter (1988). "Quantitative study of insulin secretion and clearance in normal and obese subjects." Journal of Clinical Investigation **81**(2): 435-441.
- Popper, R., G. Smits, H. L. Meiselman and E. Hirsch (1989). "Eating in combat: a survey of U.S. Marines." Mil Med **154**(12): 619-623.
- Posey, K. A., D. J. Clegg, R. L. Printz, J. Byun, G. J. Morton, A. Vivekanandan-Giri, S. Pennathur, D. G. Baskin, J. W. Heinecke, S. C. Woods, M. W. Schwartz and K. D. Niswender (2009). "Hypothalamic proinflammatory lipid accumulation, inflammation, and insulin resistance in rats fed a high-fat diet." Am J Physiol Endocrinol Metab **296**(5): E1003-1012.
- Prager, E. M., J. Brielmaier, H. C. Bergstrom, J. McGuire and L. R. Johnson (2010). "Localization of Mineralocorticoid Receptors at Mammalian Synapses." PLoS ONE **5**(12): e14344.
- Prus, A. J. J., John R.; Rosecrans, John A (2009). Conditioned Place Preference. .

Prut, L. and C. Belzung (2003). "The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review." Eur J Pharmacol **463**(1-3): 3-33.

Pucak, M. L. and A. A. Grace (1994). "Evidence that systemically administered dopamine antagonists activate dopamine neuron firing primarily by blockade of somatodendritic autoreceptors." J Pharmacol Exp Ther **271**(3): 1181-1192.

Purdon, D., T. Arai and S. Rapoport (1997). "No evidence for direct incorporation of esterified palmitic acid from plasma into brain lipids of awake adult rat." J Lipid Res **38**(3): 526-530.

Qi, J., S. Zhang, H.-L. Wang, H. Wang, J. de Jesus Aceves Buendia, A. F. Hoffman, C. R. Lupica, R. P. Seal and M. Morales (2014). "A glutamatergic reward input from the dorsal raphe to ventral tegmental area dopamine neurons." Nature communications **5**: 5390-5390.

Qian, X., S. K. Droste, M. Gutierrez-Mecinas, A. Collins, F. Kersante, J. M. Reul and A. C. Linthorst (2011). "A rapid release of corticosteroid-binding globulin from the liver restrains the glucocorticoid hormone response to acute stress." Endocrinology **152**(10): 3738-3748.

Qian, X., S. K. Droste, S. L. Lightman, J. M. Reul and A. C. Linthorst (2012). "Circadian and ultradian rhythms of free glucocorticoid hormone are highly synchronized between the blood, the subcutaneous tissue, and the brain." Endocrinology **153**(9): 4346-4353.

Raatz, S. K., D. Bibus, W. Thomas and P. Kris-Etherton (2001). "Total fat intake modifies plasma fatty acid composition in humans." J Nutr **131**(2): 231-234.

Rada, P., N. M. Avena, J. R. Barson, B. G. Hoebel and S. F. Leibowitz (2012). "A High-Fat Meal, or Intraperitoneal Administration of a Fat Emulsion, Increases Extracellular Dopamine in the Nucleus Accumbens." Brain Sciences **2**(2): 242-253.

Rada, P., N. M. Avena and B. G. Hoebel (2005). "Daily bingeing on sugar repeatedly releases dopamine in the accumbens shell." Neuroscience **134**(3): 737-744.

Ramasamy, I. (2014). "Recent advances in physiological lipoprotein metabolism." Clin Chem Lab Med **52**(12): 1695-1727.

Rapoport, S. I. (1996). "In vivo labeling of brain phospholipids by long-chain fatty acids: relation to turnover and function." Lipids **31** Suppl: S97-101.

Rapoport, S. I. (2001). "In vivo fatty acid incorporation into brain phospholipids in relation to plasma availability, signal transduction and membrane remodeling." J Mol Neurosci **16**(2-3): 243-261; discussion 279-284.

Rask, E., T. Olsson, S. Soderberg, R. Andrew, D. E. Livingstone, O. Johnson and B. R. Walker (2001). "Tissue-specific dysregulation of cortisol metabolism in human obesity." J Clin Endocrinol Metab **86**(3): 1418-1421.

Rauggi, R., S. Scheggi, A. Cassanelli, M. G. De Montis, A. Tagliamonte and C. Gambarana (2005). "The mesolimbic dopaminergic response to novel palatable food consumption increases dopamine-D1 receptor-mediated signalling with complex modifications of the DARPP-32 phosphorylation pattern." J Neurochem **92**(4): 867-877.

Raybould, H. (2002). "Visceral perception: sensory transduction in visceral afferents and nutrients." Gut **51**(Suppl 1): i11-i14.

Reddy, T. E., F. Pauli, R. O. Sprouse, N. F. Neff, K. M. Newberry, M. J. Garabedian and R. M. Myers (2009). "Genomic determination of the glucocorticoid response reveals unexpected mechanisms of gene regulation." Genome Research **19**(12): 2163-2171.

Ren, X., J. G. Ferreira, L. Zhou, S. J. Shammah-Lagnado, C. W. Yeckel and I. E. de Araujo (2010). "Nutrient selection in the absence of taste receptor signaling." J Neurosci **30**(23): 8012-8023.

- Reppert, S. M. and D. R. Weaver (2002). "Coordination of circadian timing in mammals." Nature **418**(6901): 935-941.
- Resh, M. D. (2016). "Fatty acylation of proteins: The long and the short of it." Prog Lipid Res **63**: 120-131.
- Reul, J. M. and E. R. de Kloet (1985). "Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation." Endocrinology **117**(6): 2505-2511.
- Reul, J. M., A. Gesing, S. Droste, I. S. Stec, A. Weber, C. Bachmann, A. Bilanz-Bleuel, F. Holsboer and A. C. Linthorst (2000). "The brain mineralocorticoid receptor: greedy for ligand, mysterious in function." Eur J Pharmacol **405**(1-3): 235-249.
- Rice, M. E., A. F. Oke, C. W. Bradberry and R. N. Adams (1985). "Simultaneous voltammetric and chemical monitoring of dopamine release in situ." Brain Res **340**(1): 151-155.
- Richtand, N. M., J. R. Kelsoe, D. S. Segal and R. Kuczenski (1995). "Regional quantification of dopamine transporter mRNA in rat brain using a ribonuclease protection assay." Neurosci Lett **200**(2): 73-76.
- Roberts, D. C., G. F. Koob, P. Klonoff and H. C. Fibiger (1980). "Extinction and recovery of cocaine self-administration following 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens." Pharmacol Biochem Behav **12**(5): 781-787.
- Robertson, S. D., H. J. Matthies and A. Galli (2009). "A closer look at amphetamine-induced reverse transport and trafficking of the dopamine and norepinephrine transporters." Mol Neurobiol **39**(2): 73-80.
- Robinson, M. J., P. R. Burghardt, C. M. Patterson, C. W. Nobile, H. Akil, S. J. Watson, K. C. Berridge and C. R. Ferrario (2015). "Individual Differences in Cue-Induced Motivation and Striatal Systems in Rats Susceptible to Diet-Induced Obesity." Neuropsychopharmacology **40**(9): 2113-2123.
- Robinson, T. E. and B. Kolb (2004). "Structural plasticity associated with exposure to drugs of abuse." Neuropharmacology **47 Suppl 1**: 33-46.
- Rodriguez de Fonseca, F., M. Navarro, R. Gomez, L. Escuredo, F. Nava, J. Fu, E. Murillo-Rodriguez, A. Giuffrida, J. LoVerme, S. Gaetani, S. Kathuria, C. Gall and D. Piomelli (2001). "An anorexic lipid mediator regulated by feeding." Nature **414**(6860): 209-212.
- Roland, B. L., Z. S. Krozowski and J. W. Funder (1995). "Glucocorticoid receptor, mineralocorticoid receptors, 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase-1 and -2 expression in rat brain and kidney: in situ studies." Mol Cell Endocrinol **111**(1): R1-7.
- Roland, B. L., K. X. Li and J. W. Funder (1995). "Hybridization histochemical localization of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in rat brain." Endocrinology **136**(10): 4697-4700.
- Romano, A., E. Karimian Azari, B. Tempesta, A. Mansouri, M. V. Micioni Di Bonaventura, D. Ramachandran, T. A. Lutz, G. Bedse, W. Langhans and S. Gaetani (2014). "High dietary fat intake influences the activation of specific hindbrain and hypothalamic nuclei by the satiety factor oleoylethanolamide." Physiol Behav **136**: 55-62.
- Rondou, P., G. Haegeman and K. Van Craenenbroeck (2010). "The dopamine D4 receptor: biochemical and signalling properties." Cell Mol Life Sci **67**(12): 1971-1986.
- Ros, E., M. A. Martinez-Gonzalez, R. Estruch, J. Salas-Salvado, M. Fito, J. A. Martinez and D. Corella (2014). "Mediterranean diet and cardiovascular health: Teachings of the PREDIMED study." Adv Nutr **5**(3): 330s-336s.

- Rosenbaum, M., M. Sy, K. Pavlovich, R. L. Leibel and J. Hirsch (2008). "Leptin reverses weight loss-induced changes in regional neural activity responses to visual food stimuli." J Clin Invest **118**(7): 2583-2591.
- Roumestan, C., C. Gougat, D. Jaffuel and M. Mathieu (2004). "Les glucocorticoïdes et leur récepteur : mécanismes d'action et conséquences cliniques." La Revue de Médecine Interne **25**(9): 636-647.
- Russo, S. J. and E. J. Nestler (2013). "The brain reward circuitry in mood disorders." Nat Rev Neurosci **14**(9): 609-625.
- Rustan, A. C. and C. A. Drevon (2001). Fatty Acids: Structures and Properties. eLS, John Wiley & Sons, Ltd.
- Sanchez-Catalan, M. J., J. Kaufling, F. Georges, P. Veinante and M. Barrot (2014). "The antero-posterior heterogeneity of the ventral tegmental area." Neuroscience.
- Sanchez-Villegas, A., I. Ara, F. Guillen-Grima, M. Bes-Rastrollo, J. J. Varo-Cenarruzabeitia and M. A. Martinez-Gonzalez (2008). "Physical activity, sedentary index, and mental disorders in the SUN cohort study." Med Sci Sports Exerc **40**(5): 827-834.
- Sanchez-Villegas, A., M. A. Martinez-Gonzalez, R. Estruch, J. Salas-Salvado, D. Corella, M. I. Covas, F. Aros, D. Romaguera, E. Gomez-Gracia, J. Lapetra, X. Pinto, J. A. Martinez, R. M. Lamuela-Raventos, E. Ros, A. Gea, J. Warnberg and L. Serra-Majem (2013). "Mediterranean dietary pattern and depression: the PREDIMED randomized trial." BMC Med **11**: 208.
- Sandeep, T. C., R. Andrew, N. Z. Homer, R. C. Andrews, K. Smith and B. R. Walker (2005). "Increased in vivo regeneration of cortisol in adipose tissue in human obesity and effects of the 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor carbenoxolone." Diabetes **54**(3): 872-879.
- Schinkel, A. H., E. Wagenaar, L. van Deemter, C. A. Mol and P. Borst (1995). "Absence of the mdr1a P-Glycoprotein in mice affects tissue distribution and pharmacokinetics of dexamethasone, digoxin, and cyclosporin A." J Clin Invest **96**(4): 1698-1705.
- Schwartz, G. J., J. Fu, G. Astarita, X. Li, S. Gaetani, P. Campolongo, V. Cuomo and D. Piomelli (2008). "The lipid messenger OEA links dietary fat intake to satiety." Cell metabolism **8**(4): 281-288.
- Schwinkendorf, D. R., N. G. Tsatsos, B. A. Gosnell and D. G. Mashek (2011). "Effects of central administration of distinct fatty acids on hypothalamic neuropeptide expression and energy metabolism." Int J Obes (Lond) **35**(3): 336-344.
- Segrest, J. P., M. K. Jones, H. De Loof and N. Dashti (2001). "Structure of apolipoprotein B-100 in low density lipoproteins." J Lipid Res **42**(9): 1346-1367.
- Shammah-Lagnado, S. J., G. F. Alheid and L. Heimer (1999). "Afferent connections of the interstitial nucleus of the posterior limb of the anterior commissure and adjacent amygdalostriatal transition area in the rat." Neuroscience **94**(4): 1097-1123.
- Sharifi, K., Y. Morihiro, M. Maekawa, Y. Yasumoto, H. Hoshi, Y. Adachi, T. Sawada, N. Tokuda, H. Kondo, T. Yoshikawa, M. Suzuki and Y. Owada (2011). "FABP7 expression in normal and stab-injured brain cortex and its role in astrocyte proliferation." Histochemistry and Cell Biology **136**(5): 501-513.
- Sharma, S., M. F. Fernandes and S. Fulton (2013). "Adaptations in brain reward circuitry underlie palatable food cravings and anxiety induced by high-fat diet withdrawal." Int J Obes (Lond) **37**(9): 1183-1191.

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

Sharma, S., C. Hryhorczuk and S. Fulton (2012). "Progressive-ratio responding for palatable high-fat and high-sugar food in mice." J Vis Exp(63): e3754.

Shi, L. and B. P. Tu (2015). "Acetyl-CoA and the regulation of metabolism: mechanisms and consequences." Curr Opin Cell Biol **33**: 125-131.

Shim, J., C. L. Moulson, E. P. Newberry, M. H. Lin, Y. Xie, S. M. Kennedy, J. H. Miner and N. O. Davidson (2009). "Fatty acid transport protein 4 is dispensable for intestinal lipid absorption in mice." J Lipid Res **50**(3): 491-500.

Shin, A. C., H. Zheng and H. R. Berthoud (2009). "An expanded view of energy homeostasis: neural integration of metabolic, cognitive, and emotional drives to eat." Physiol Behav **97**(5): 572-580.

Silver, H. J., H. Kang, C. D. Keil, J. A. Muldowney, 3rd, H. Kocalis, S. Fazio, D. E. Vaughan and K. D. Niswender (2014). "Consuming a balanced high fat diet for 16 weeks improves body composition, inflammation and vascular function parameters in obese premenopausal women." Metabolism **63**(4): 562-573.

Simons, K. and E. Ikonen (1997). "Functional rafts in cell membranes." Nature **387**(6633): 569-572.

Simopoulos, A. P. (2002). "The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids." Biomed Pharmacother **56**(8): 365-379.

Singer, B. F., N. M. Neugebauer, J. Forneris, K. R. Rodvelt, D. Li, N. Bubula and P. Vezina (2014). "Locomotor conditioning by amphetamine requires cyclin-dependent kinase 5 signaling in the nucleus accumbens." Neuropharmacology **85**: 243-252.

Skibicka, K. P., C. Hansson, E. Egecioglu and S. L. Dickson (2012). "Role of ghrelin in food reward: impact of ghrelin on sucrose self-administration and mesolimbic dopamine and acetylcholine receptor gene expression." Addict Biol **17**(1): 95-107.

Small, D. M., M. Jones-Gotman and A. Dagher (2003). "Feeding-induced dopamine release in dorsal striatum correlates with meal pleasantness ratings in healthy human volunteers." Neuroimage **19**(4): 1709-1715.

Small, D. M., R. J. Zatorre, A. Dagher, A. C. Evans and M. Jones-Gotman (2001). "Changes in brain activity related to eating chocolate: from pleasure to aversion." Brain **124**(Pt 9): 1720-1733.

Smith, C. B. (1965). "EFFECTS OF D-AMPHETAMINE UPON BRAIN AMINE CONTENT AND LOCOMOTOR ACTIVITY OF MICE." J Pharmacol Exp Ther **147**: 96-102.

Smith, Q. and H. Nagura (2001). "Fatty acid uptake and incorporation in brain." Journal of Molecular Neuroscience **16**(2-3): 167-172.

Smith, Q. R. and H. Nagura (2001). "Fatty acid uptake and incorporation in brain: studies with the perfusion model." J Mol Neurosci **16**(2-3): 167-172; discussion 215-211.

Smith, R. J., M. K. Lobo, S. Spencer and P. W. Kalivas (2013). "Cocaine-induced adaptations in D1 and D2 accumbens projection neurons (a dichotomy not necessarily synonymous with direct and indirect pathways)." Curr Opin Neurobiol **23**(4): 546-552.

Sokoloff, P., J. Diaz, B. Le Foll, O. Guillin, L. Leriche, E. Bezard and C. Gross (2006). "The dopamine D3 receptor: a therapeutic target for the treatment of neuropsychiatric disorders." CNS Neurol Disord Drug Targets **5**(1): 25-43.

Sokoloff, P., B. Giros, M. P. Martres, M. Andrieux, R. Besancon, C. Pilon, M. L. Bouthenet, E. Souil and J. C. Schwartz (1992). "Localization and function of the D3 dopamine receptor." Arzneimittelforschung **42**(2a): 224-230.

Sommerfeld, M. (1983). "Trans unsaturated fatty acids in natural products and processed foods." Prog Lipid Res **22**(3): 221-233.

Spano, P. F., S. Govoni and M. Trabucchi (1978). "Studies on the pharmacological properties of dopamine receptors in various areas of the central nervous system." Adv Biochem Psychopharmacol **19**: 155-165.

Speed, N., C. Saunders, A. R. Davis, W. A. Owens, H. J. Matthies, S. Saadat, J. P. Kennedy, R. A. Vaughan, R. L. Neve, C. W. Lindsley, S. J. Russo, L. C. Daws, K. D. Niswender and A. Galli (2011). "Impaired striatal Akt signaling disrupts dopamine homeostasis and increases feeding." PLoS One **6**(9): e25169.

Stahl, A., D. J. Hirsch, R. E. Gimeno, S. Punreddy, P. Ge, N. Watson, S. Patel, M. Kotler, A. Raimondi, L. A. Tartaglia and H. F. Lodish (1999). "Identification of the major intestinal fatty acid transport protein." Mol Cell **4**(3): 299-308.

Stambor, Z. (2006). "Stressed out nation." American Psychological Association feature **37**(4): 28.

Steele, K. E., G. P. Prokopowicz, M. A. Schweitzer, T. H. Magunson, A. O. Lidor, H. Kuwabawa, A. Kumar, J. Brasic and D. F. Wong (2010). "Alterations of central dopamine receptors before and after gastric bypass surgery." Obes Surg **20**(3): 369-374.

Steinberg, E. E., J. R. Boivin, B. T. Saunders, I. B. Witten, K. Deisseroth and P. H. Janak (2014). "Positive Reinforcement Mediated by Midbrain Dopamine Neurons Requires D1 and D2 Receptor Activation in the Nucleus Accumbens." PLoS ONE **9**(4): e94771.

Stone, A. A. and K. D. Brownell (1994). "The stress-eating paradox: Multiple daily measurements in adult males and females." Psychology & Health **9**(6): 425-436.

Strine, T. W., A. H. Mokdad, S. R. Dube, L. S. Balluz, O. Gonzalez, J. T. Berry, R. Manderscheid and K. Kroenke (2008). "The association of depression and anxiety with obesity and unhealthy behaviors among community-dwelling US adults." General Hospital Psychiatry **30**(2): 127-137.

Stuber, G. D., D. R. Sparta, A. M. Stamatakis, W. A. van Leeuwen, J. E. Hardjoprajitno, S. Cho, K. M. Tye, K. A. Kempadoo, F. Zhang, K. Deisseroth and A. Bonci (2011). "Excitatory transmission from the amygdala to nucleus accumbens facilitates reward seeking." Nature **475**(7356): 377-380.

Sulzer, D. (2011). "How addictive drugs disrupt presynaptic dopamine neurotransmission." Neuron **69**(4): 628-649.

Sulzer, D., T. K. Chen, Y. Y. Lau, H. Kristensen, S. Rayport and A. Ewing (1995). "Amphetamine redistributes dopamine from synaptic vesicles to the cytosol and promotes reverse transport." J Neurosci **15**(5 Pt 2): 4102-4108.

Sulzer, D., M. S. Sonders, N. W. Poulsen and A. Galli (2005). "Mechanisms of neurotransmitter release by amphetamines: a review." Prog Neurobiol **75**(6): 406-433.

Sun, Y., S. P. Alexander, M. J. Garle, C. L. Gibson, K. Hewitt, S. P. Murphy, D. A. Kendall and A. J. Bennett (2007). "Cannabinoid activation of PPAR alpha; a novel neuroprotective mechanism." Br J Pharmacol **152**(5): 734-743.

Sunahara, R. K., H. C. Guan, B. F. O'Dowd, P. Seeman, L. G. Laurier, G. Ng, S. R. George, J. Torchia, H. H. Van Tol and H. B. Niznik (1991). "Cloning of the gene for a human dopamine D5 receptor with higher affinity for dopamine than D1." Nature **350**(6319): 614-619.

Svenningsson, P., A. Nishi, G. Fisone, J. A. Girault, A. C. Nairn and P. Greengard (2004). "DARPP-32: an integrator of neurotransmission." Annu Rev Pharmacol Toxicol **44**: 269-296.

Swanson, L. W. (1982). "The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat." Brain Res Bull **9**(1-6): 321-353.

Taib, B., K. Bouyakdan, C. Hryhorczuk, D. Rodaros, S. Fulton and T. Alquier (2013). "Glucose regulates hypothalamic long-chain fatty acid metabolism via AMP-activated kinase (AMPK) in neurons and astrocytes." J Biol Chem **288**(52): 37216-37229.

Takechi, R., S. Galloway, M. M. Pallebage-Gamarallage, V. Lam and J. C. Mamo (2010). "Dietary fats, cerebrovasculature integrity and Alzheimer's disease risk." Prog Lipid Res **49**(2): 159-170.

Tan, N. S., N. S. Shaw, N. Vinckenbosch, P. Liu, R. Yasmin, B. Desvergne, W. Wahli and N. Noy (2002). "Selective cooperation between fatty acid binding proteins and peroxisome proliferator-activated receptors in regulating transcription." Mol Cell Biol **22**(14): 5114-5127.

Tchernof, A. and J.-P. Després (2013). "Pathophysiology of Human Visceral Obesity: An Update." Physiological Reviews **93**(1): 359-404.

Teegarden, S. L., A. N. Scott and T. L. Bale (2009). "Early life exposure to a high fat diet promotes long-term changes in dietary preferences and central reward signaling." Neuroscience **162**(4): 924-932.

Tellez, L. A., S. Medina, W. Han, J. G. Ferreira, P. Licona-Limon, X. Ren, T. T. Lam, G. J. Schwartz and I. E. de Araujo (2013). "A gut lipid messenger links excess dietary fat to dopamine deficiency." Science **341**(6147): 800-802.

Tepper, J. M. and J. P. Bolam (2004). "Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons." Curr Opin Neurobiol **14**(6): 685-692.

Thaler, J. P., C. X. Yi, E. A. Schur, S. J. Guyenet, B. H. Hwang, M. O. Dietrich, X. Zhao, D. A. Sarruf, V. Izgur, K. R. Maravilla, H. T. Nguyen, J. D. Fischer, M. E. Matsen, B. E. Wisse, G. J. Morton, T. L. Horvath, D. G. Baskin, M. H. Tschoop and M. W. Schwartz (2012). "Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans." J Clin Invest **122**(1): 153-162.

Tiberi, M., K. R. Jarvie, C. Silvia, P. Falardeau, J. A. Gingrich, N. Godinot, L. Bertrand, T. L. Yang-Feng, R. T. Fremeau, Jr. and M. G. Caron (1991). "Cloning, molecular characterization, and chromosomal assignment of a gene encoding a second D1 dopamine receptor subtype: differential expression pattern in rat brain compared with the D1A receptor." Proc Natl Acad Sci U S A **88**(17): 7491-7495.

Ting, A. K. R. and D. van der Kooy (2012). "The neurobiology of opiate motivation." Cold Spring Harb Perspect Med **2**(10).

Torres, G. E., A. Carneiro, K. Seamans, C. Fiorentini, A. Sweeney, W. D. Yao and M. G. Caron (2003). "Oligomerization and trafficking of the human dopamine transporter. Mutational analysis identifies critical domains important for the functional expression of the transporter." J Biol Chem **278**(4): 2731-2739.

Tritsch, N. X., W.-J. Oh, C. Gu and B. L. Sabatini (2014). Midbrain dopamine neurons sustain inhibitory transmission using plasma membrane uptake of GABA, not synthesis.

Trumbo, P., S. Schlicker, A. A. Yates and M. Poos (2002). "Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids." J Am Diet Assoc **102**(11): 1621-1630.

- Turgeon, S. M., A. E. Pollack and J. S. Fink (1997). "Enhanced CREB phosphorylation and changes in c-Fos and FRA expression in striatum accompany amphetamine sensitization." Brain Research **749**(1): 120-126.
- Turiault, M., S. Parnaudeau, A. Milet, R. Parlato, J. D. Rouzeau, M. Lazar and F. Tronche (2007). "Analysis of dopamine transporter gene expression pattern -- generation of DAT-iCre transgenic mice." Febs j **274**(14): 3568-3577.
- Twells, L. K., D. M. Gregory, J. Reddigan and W. K. Midodzi (2014). "Current and predicted prevalence of obesity in Canada: a trend analysis." CMAJ Open **2**(1): E18-26.
- Uchida, A., M. N. Slipchenko, T. Eustaquio, J. F. Leary, J. X. Cheng and K. K. Buhman (2013). "Intestinal acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase 2 overexpression enhances postprandial triglyceridemic response and exacerbates high fat diet-induced hepatic triacylglycerol storage." Biochim Biophys Acta **1831**(8): 1377-1385.
- Ulrich-Lai, Y. M. and J. P. Herman (2009). "Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses." Nat Rev Neurosci **10**(6): 397-409.
- Urayama, A. and W. A. Banks (2008). "Starvation and triglycerides reverse the obesity-induced impairment of insulin transport at the blood-brain barrier." Endocrinology **149**(7): 3592-3597.
- Valjent, E., J. Bertran-Gonzalez, D. Herve, G. Fisone and J. A. Girault (2009). "Looking BAC at striatal signaling: cell-specific analysis in new transgenic mice." Trends Neurosci **32**(10): 538-547.
- Valjent, E., V. Pascoli, P. Svenningsson, S. Paul, H. Enslen, J. C. Corvol, A. Stipanovich, J. Caboche, P. J. Lombroso, A. C. Nairn, P. Greengard, D. Herve and J. A. Girault (2005). "Regulation of a protein phosphatase cascade allows convergent dopamine and glutamate signals to activate ERK in the striatum." Proc Natl Acad Sci U S A **102**(2): 491-496.
- Vallone, D., R. Picetti and E. Borrelli (2000). "Structure and function of dopamine receptors." Neurosci Biobehav Rev **24**(1): 125-132.
- van de Giessen, E., F. Celik, D. H. Schweitzer, W. van den Brink and J. Booij (2014). "Dopamine D2/3 receptor availability and amphetamine-induced dopamine release in obesity." J Psychopharmacol **28**(9): 866-873.
- van den Heuvel, J. K., L. Eggels, E. Fliers, A. Kalsbeek, R. A. Adan and S. E. la Fleur (2014). "Differential modulation of arcuate nucleus and mesolimbic gene expression levels by central leptin in rats on short-term high-fat high-sugar diet." PLoS One **9**(1): e87729.
- van den Heuvel, J. K., L. Eggels, A. J. van Rozen, M. C. M. Luijendijk, E. Fliers, A. Kalsbeek, R. A. H. Adan and S. E. la Fleur (2014). "Neuropeptide Y and Leptin Sensitivity is Dependent on Diet Composition." Journal of Neuroendocrinology **26**(6): 377-385.
- van der Vusse, G. J. (2009). "Albumin as Fatty Acid Transporter." Drug Metabolism and Pharmacokinetics **24**(4): 300-307.
- Van Dolah, D. K., L. M. Mao, C. Shaffer, M. L. Guo, E. E. Fibuch, X. P. Chu, S. Buch and J. Q. Wang (2011). "Reversible palmitoylation regulates surface stability of AMPA receptors in the nucleus accumbens in response to cocaine in vivo." Biol Psychiatry **69**(11): 1035-1042.
- van Dongen, Y. C., J. M. Deniau, C. M. A. Pennartz, Y. Galis-de Graaf, P. Voorn, A. M. Thierry and H. J. Groenewegen (2005). "Anatomical evidence for direct connections between the shell and core subregions of the rat nucleus accumbens." Neuroscience **136**(4): 1049-1071.
- van Huijstee, A. N. and H. D. Mansvelder (2014). "Glutamatergic synaptic plasticity in the mesocorticolimbic system in addiction." Front Cell Neurosci **8**: 466.

van Meer, G., D. R. Voelker and G. W. Feigenson (2008). "Membrane lipids: where they are and how they behave." Nature reviews. Molecular cell biology **9**(2): 112-124.

Veerkamp, J. H. and A. W. Zimmerman (2001). "Fatty acid-binding proteins of nervous tissue." J Mol Neurosci **16**(2-3): 133-142; discussion 151-137.

Velazquez-Sanchez, C., A. Ferragud, C. F. Moore, B. J. Everitt, V. Sabino and P. Cottone (2014). "High trait impulsivity predicts food addiction-like behavior in the rat." Neuropsychopharmacology **39**(10): 2463-2472.

Veldhuis, J. D., A. Iranmanesh, M. L. Johnson and G. Lizarralde (1990). "Amplitude, but not frequency, modulation of adrenocorticotropin secretory bursts gives rise to the nyctohemeral rhythm of the corticotropic axis in man." J Clin Endocrinol Metab **71**(2): 452-463.

Volkow, N. D., L. Chang, G. J. Wang, J. S. Fowler, Y. S. Ding, M. Sedler, J. Logan, D. Franceschi, J. Gatley, R. Hitzemann, A. Gifford, C. Wong and N. Pappas (2001). "Low level of brain dopamine D2 receptors in methamphetamine abusers: association with metabolism in the orbitofrontal cortex." Am J Psychiatry **158**(12): 2015-2021.

Volkow, N. D., J. S. Fowler, A. P. Wolf, D. Schlyer, C. Y. Shiue, R. Alpert, S. L. Dewey, J. Logan, B. Bendriem, D. Christman and et al. (1990). "Effects of chronic cocaine abuse on postsynaptic dopamine receptors." Am J Psychiatry **147**(6): 719-724.

Volkow, N. D., G. J. Wang, J. S. Fowler, D. Tomasi and R. Baler (2012). "Food and drug reward: overlapping circuits in human obesity and addiction." Curr Top Behav Neurosci **11**: 1-24.

Volkow, N. D., G. J. Wang, F. Telang, J. S. Fowler, P. K. Thanos, J. Logan, D. Alexoff, Y. S. Ding, C. Wong, Y. Ma and K. Pradhan (2008). "Low dopamine striatal D2 receptors are associated with prefrontal metabolism in obese subjects: possible contributing factors." Neuroimage **42**(4): 1537-1543.

Vucetic, Z., J. L. Carlin, K. Totoki and T. M. Reyes (2012). "Epigenetic dysregulation of the dopamine system in diet-induced obesity." J Neurochem **120**(6): 891-898.

Vucetic, Z., J. Kimmel, K. Totoki, E. Hollenbeck and T. M. Reyes (2010). "Maternal high-fat diet alters methylation and gene expression of dopamine and opioid-related genes." Endocrinology **151**(10): 4756-4764.

Waddington, J. L. and A. J. Cross (1978). "Neurochemical changes following kainic acid lesions of the nucleus accumbens: implications for a GABAergic accumbal-ventral tegmental pathway." Life Sci **22**(11): 1011-1014.

Wall, N. R., M. De La Parra, E. M. Callaway and A. C. Kreitzer (2013). "Differential innervation of direct- and indirect-pathway striatal projection neurons." Neuron **79**(2): 347-360.

Wanders, R. J. and H. R. Waterham (2006). "Biochemistry of mammalian peroxisomes revisited." Annu Rev Biochem **75**: 295-332.

Wang, G. J., N. D. Volkow, J. S. Fowler, J. Logan, N. N. Abumrad, R. J. Hitzemann, N. S. Pappas and K. Pascani (1997). "Dopamine D2 receptor availability in opiate-dependent subjects before and after naloxone-precipitated withdrawal." Neuropsychopharmacology **16**(2): 174-182.

Wang, G. J., N. D. Volkow, J. Logan, N. R. Pappas, C. T. Wong, W. Zhu, N. Netusil and J. S. Fowler (2001). "Brain dopamine and obesity." Lancet **357**(9253): 354-357.

Wang, G. J., N. D. Volkow, P. K. Thanos and J. S. Fowler (2004). "Similarity between obesity and drug addiction as assessed by neurofunctional imaging: a concept review." J Addict Dis **23**(3): 39-53.

- Wang, H. and R. H. Eckel (2012). "Lipoprotein lipase in the brain and nervous system." Annu Rev Nutr **32**: 147-160.
- Wang, H. and R. H. Eckel (2014). "What are Lipoproteins doing in the Brain?" Trends in endocrinology and metabolism: TEM **25**(1): 8-14.
- Wang, R., C. Cruciani-Guglielmacci, S. Migrenne, C. Magnan, V. E. Cotero and V. H. Routh (2006). "Effects of oleic acid on distinct populations of neurons in the hypothalamic arcuate nucleus are dependent on extracellular glucose levels." J Neurophysiol **95**(3): 1491-1498.
- Wang, S.-W., M. Wang, B. Mullen Grossman and R. J. Martin (1994). "Effects of dietary fat on food intake and brain uptake and oxidation of fatty acids." Physiology & Behavior **56**(3): 517-522.
- Wardle, J., A. Steptoe, G. Oliver and Z. Lipsey (2000). "Stress, dietary restraint and food intake." J Psychosom Res **48**(2): 195-202.
- Wassum, K. M. and A. Izquierdo (2015). "The basolateral amygdala in reward learning and addiction." Neurosci Biobehav Rev **57**: 271-283.
- Watabe, T., K. Tanaka, M. Kumagae, S. Itoh, M. Hasegawa, T. Horiuchi, S. Miyabe, H. Ohno and N. Shimizu (1987). "Diurnal rhythm of plasma immunoreactive corticotropin-releasing factor in normal subjects." Life Sci **40**(17): 1651-1655.
- Watkins, P. A., J. F. Lu, S. J. Steinberg, S. J. Gould, K. D. Smith and L. T. Braiterman (1998). "Disruption of the *Saccharomyces cerevisiae* FAT1 gene decreases very long-chain fatty acyl-CoA synthetase activity and elevates intracellular very long-chain fatty acid concentrations." J Biol Chem **273**(29): 18210-18219.
- Weitzman, E. D., D. Fukushima, C. Nogueira, H. Roffwarg, T. F. Gallagher and L. Hellman (1971). "Twenty-four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects." J Clin Endocrinol Metab **33**(1): 14-22.
- Welter, M., D. Vallone, T. A. Samad, H. Meziane, A. Usiello and E. Borrelli (2007). "Absence of dopamine D2 receptors unmasks an inhibitory control over the brain circuitries activated by cocaine." Proc Natl Acad Sci U S A **104**(16): 6840-6845.
- Widmaier, E. P., K. Rosen and B. Abbott (1992). "Free fatty acids activate the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in rats." Endocrinology **131**(5): 2313-2318.
- Willett, W. C., F. Sacks, A. Trichopoulos, G. Drescher, A. Ferro-Luzzi, E. Helsing and D. Trichopoulos (1995). "Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating." Am J Clin Nutr **61**(6 Suppl): 1402s-1406s.
- Woods, C. A., Z. R. Guttman, D. Huang, R. A. Kolaric, A. I. Rabinowitsch, K. T. Jones, S. Cabeza de Vaca, A. Scalfani and K. D. Carr (2016). "Insulin receptor activation in the nucleus accumbens reflects nutritive value of a recently ingested meal." Physiol Behav **159**: 52-63.
- Wright, C. I., A. V. Beijer and H. J. Groenewegen (1996). "Basal amygdaloid complex afferents to the rat nucleus accumbens are compartmentally organized." J Neurosci **16**(5): 1877-1893.
- Xi, Z. X., K. Spiller and E. L. Gardner (2009). "Mechanism-based medication development for the treatment of nicotine dependence." Acta Pharmacol Sin **30**(6): 723-739.
- Yamaguchi, T., H. L. Wang, X. Li, T. H. Ng and M. Morales (2011). "Mesocorticolimbic glutamatergic pathway." J Neurosci **31**(23): 8476-8490.
- Yao, Z., D. C. DuBois, R. R. Almon and W. J. Jusko (2006). "Modeling circadian rhythms of glucocorticoid receptor and glutamine synthetase expression in rat skeletal muscle." Pharm Res **23**(4): 670-679.

- Yetnikoff, L., H. N. Lavezzi, R. A. Reichard and D. S. Zahm (2014). "An update on the connections of the ventral mesencephalic dopaminergic complex." Neuroscience **282**(0): 23-48.
- Yokel, R. A. and R. A. Wise (1978). "Amphetamine- type reinforcement by dopaminergic agonists in the rat." Psychopharmacology (Berl) **58**(3): 289-296.
- Yoshida, M., H. Yokoo, K. Mizoguchi, H. Kawahara, A. Tsuda, T. Nishikawa and M. Tanaka (1992). "Eating and drinking cause increased dopamine release in the nucleus accumbens and ventral tegmental area in the rat: Measurement by in vivo microdialysis." Neuroscience Letters **139**(1): 73-76.
- Yu, H., Y. Bi, W. Ma, L. He, L. Yuan, J. Feng and R. Xiao (2010). "Long-term effects of high lipid and high energy diet on serum lipid, brain fatty acid composition, and memory and learning ability in mice." Int J Dev Neurosci **28**(3): 271-276.
- Zaczek, R., S. Culp and E. B. De Souza (1991). "Interactions of [3H]amphetamine with rat brain synaptosomes. II. Active transport." J Pharmacol Exp Ther **257**(2): 830-835.
- Zakrzewska, K. E., I. Cusin, A. Stricker-Krongrad, O. Boss, D. Ricquier, B. Jeanrenaud and F. Rohner-Jeanrenaud (1999). "Induction of obesity and hyperleptinemia by central glucocorticoid infusion in the rat." Diabetes **48**(2): 365-370.
- Zellner, D. A., S. Loaiza, Z. Gonzalez, J. Pita, J. Morales, D. Pecora and A. Wolf (2006). "Food selection changes under stress." Physiol Behav **87**.
- Zhang, C., N. L. Wei, Y. Wang, X. Wang, J. G. Zhang and K. Zhang (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.
- Zhang, F., F. Kamp and J. A. Hamilton (1996). "Dissociation of long and very long chain fatty acids from phospholipid bilayers." Biochemistry **35**(50): 16055-16060.
- Zhang, X., G. Zhang, H. Zhang, M. Karin, H. Bai and D. Cai (2008). "Hypothalamic IKK β /NF- κ B and ER Stress Link Overnutrition to Energy Imbalance and Obesity." Cell **135**(1): 61-73.
- Zimmerman, A. W. and J. H. Veerkamp (2002). "New insights into the structure and function of fatty acid-binding proteins." Cell Mol Life Sci **59**(7): 1096-1116.