



HAL
open science

Nutrition, adolescence et mémoire : rôle du système endocannabinoïde dans les différences entre mâles et femelles

Matéo N'Diaye

► **To cite this version:**

Matéo N'Diaye. Nutrition, adolescence et mémoire : rôle du système endocannabinoïde dans les différences entre mâles et femelles. Neurosciences. Université de Bordeaux, 2023. Français. NNT : 2023BORD0287 . tel-04526071

HAL Id: tel-04526071

<https://theses.hal.science/tel-04526071>

Submitted on 29 Mar 2024

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

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

THÈSE
POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

École doctorale des Sciences et de la santé
Spécialité
NEUROSCIENCES

Soutenue publiquement le 12 décembre 2023

Par

Matéo N'DIAYE

**Nutrition, adolescence et mémoire : rôle du système endocannabinoïde
dans les différences entre mâles et femelles**

Sous la direction du Dr. Pauline LAFENÊTRE

Membres du jury :

Mr. Giovanni MARSICANO, Directeur de recherche, INSERM, Université de Bordeaux(*Président*)

Mme. Anne-Marie MOULY, Chargée de recherche, CNRS, Université Lyon 1(*Rapporteuse*)

Mr. Christophe MAGNAN, Professeur, CNRS, Université Paris Cité.....(*Rapporteur*)

Mr. Giuseppe GANGAROSSA, Professeur, CNRS, Université Paris Cité.....(*Examinateur*)

Mme. Aline MARIGHETTO, Directrice de recherche, CNRS, INSERM.....(*Examinatrice*)

Mme. Pauline LAFENÊTRE, Maître de conférences, INRAE, Université de Bordeaux.....(*Directrice*)

Mr. Guillaume FERREIRA, Directeur de recherche, INRAE, Université de Bordeaux(*invité*)

Remerciements

Je tiens tout d'abord à adresser mes remerciements au Dr. Anne-Marie Mouly et au Pr. Christophe Magnan pour avoir accepté d'évaluer ces travaux en tant que rapporteurs ainsi qu'aux Dr. Aline Marighetto et Pr. Giuseppe Gangarossa d'avoir bien voulu être examinateurs de ces travaux de thèse. Je remercie également le Dr. Giovanni Marsicano qui m'a fait l'honneur de présider ce jury de thèse.

L'histoire commença un matin de juillet 2019 dans mon appartement parisien où je reçu un appel de Guillaume qui avait une proposition à me faire : un stage de Master dans son équipe à Bordeaux. Super-excité à l'idée de rejoindre l'équipe et le neurocampus, je m'installa à Bordeaux sans tarder. Bien qu'arrêté prématurément par l'épidémie de Covid, mon stage m'a beaucoup motivé à continuer, ayant été pris rapidement dans l'excitation des premiers résultats qui étaient déjà prometteurs. C'est pourquoi j'ai décidé de continuer en thèse pour approfondir toutes ces questions...

Je tiens donc à remercier en premier Guillaume pour m'avoir permis de réaliser cette thèse. Tout d'abord, pour m'avoir fait cette première proposition de stage inespérée, puis pour m'avoir aidé à décrocher cette fameuse bourse doctorale de l'observatoire B2V des mémoires. Un grand merci à lui pour m'avoir fait confiance sur les manips et les résultats et m'avoir accompagné dans toutes les rédactions de projet et dans l'écriture de ce manuscrit de thèse. Merci à lui également pour m'avoir apporté un soutien quasi quotidien, une oreille attentive et de nombreux encouragements qui m'ont aidé à aller jusqu'au bout de cette épreuve. J'ai beaucoup apprécié cette atmosphère légère et amicale au travail. Je remercie également Pauline d'avoir accepté de diriger ma thèse et pour sa contribution au projet. Je tiens par ailleurs à remercier Sophie Layé de m'avoir accueilli au sein du laboratoire lorsqu'elle en était directrice.

Tout ce travail de thèse n'aurait jamais pu voir le jour sans Eva. Nous pourrions même l'appeler le projet Maeva, car loin d'être un projet personnel, c'est un projet partagé entre elle et moi. Je la remercie donc pour son entière implication dans ce projet. En plus d'avoir apporté de nombreuses connaissances techniques et théoriques, elle m'a formé dès mon arrivée à moult techniques de laboratoire et elle a réalisé de nombreuses expériences ici présentes, aussi bien en chirurgie qu'en comportement. Nos discussions à rallonge m'ont beaucoup aidé sur le plan scientifique pour trouver les bonnes hypothèses et mieux comprendre la science en général. Aussi, tu m'as souvent montré le nord quand j'étais perdu, comme un jedi qui brille sur l'étoile de la mort. Malgré beaucoup de moments de fatigue et de désespoir sous la hotte aspirante de l'animalerie ou au nanozoomer, nos efforts ont fini par payer, ce que je prédisais, avec une belle histoire à la clé qu'on a construite ensemble. En dehors de ça, je garde en mémoire tous ces déplacements à Cestas city pour rendre visite à notre bon vieux Tupac et à tous ces moments bordelais, au théâtre femina, à Luxey, dans les bars du centre-ville et à la guinguette en plein été pour aller voir Danyel Waro en concert. Je tiens également à remercier John pour l'aide qu'il m'a apportée dès mon arrivée au laboratoire et pour sa contribution aux expériences. Un regard gentil et rassurant, des milliers de blagues pour adoucir l'air et une grande sensibilité... Je suis très content d'avoir pu faire ta connaissance et d'avoir vécu tous ces moments au laboratoire et à l'extérieur.

Ma juju, que dire... Je ne te remercierai jamais assez... Tu m'as apporté un soutien indéfectible dans les moments difficiles et tu as été comme une bouteille d'oxygène chaque jour de cette thèse jusqu'au dernier, rythmé à chaque fois de nos pauses déjeuner et de nos discussions longues et passionnées. Merci pour ton empathie, ton inspiration et ta détermination. Je serai toujours impressionné et surpris par ton train de vie à grande vitesse. Je me souviendrai de ces séances émouvantes à l'Utopia où régnait une atmosphère particulière, des rires et des larmes, de ces courses où j'étais comme un animal malade à la traîne et tu ne m'abandonnais pas... de ces discussions à refaire le monde sur les collines de Psychotte. Juliette tu sais, t'es vraiment trop cool... Merci également à tous les collègues du bureau des doctorants, Andreas, Hugo, Maudus, Fanny, Roman et Mathou, ma fidèle voisine de bureau, qui m'ont accueilli à mon arrivée dans une superbe ambiance joyeuse et survoltée. Merci également à tous mes collègues qui ont fait la vie de ce bureau, Alice, Pauline C, Camille M, Ivan et bien d'autres. Je voudrais aussi remercier Anna pour son énergie revitalisante, toutes ses prises de position, et pour toutes nos discussions tardives au laboratoire. Merci aussi pour son soutien à la fin de la thèse, au moment où le ciel se couvrait au-dessus de ma tête et se dégageait au-dessus de la sienne. Un immense merci également à ma très chère Lola pour sa bienveillance et son énergie sans limites. Beaucoup de moments

partagés, sous une pluie torrentielle un soir d'orage, sous le soleil de Dordogne ou dans les bars de Saint-Michel. Je remercie aussi Camille et Quentin pour m'avoir tendu la main et pour leur soutien pendant cette dernière année de thèse. Camille pour sa communication et sa gentillesse. Quentin pour son honnêteté et sa générosité exceptionnelle. Je tiens également à remercier Mylène pour son aide sur l'approche d'ovariectomie, sa contribution aux expériences et la relecture de ce manuscrit. Je remercie également Coline pour son travail de stage, riche et intense, qui m'a beaucoup aidé pour faire avancer le projet. Je remercie également Nina qui au-delà de m'avoir accompagnée sur une manip de comportement, a su égayer ma vie au laboratoire et la rythmer de beaucoup de rire et de joie l'espace de quelques mois.

Je dois aussi remercier les personnes qui m'ont prêté main forte sur les manips. Jean-Christophe, pour m'avoir formé aux techniques moléculaires. Serge pour avoir fait les manips de western et pour sa gestion de l'animalerie. Le secrétariat et l'équipe animalerie pour leur aide quotidienne. Céline et Eva B pour m'avoir sorti du désespoir en m'aidant à finir cette longue manip d'immuno dans les temps. Merci également à l'équipe de Giovanni Marsicano pour leur étroite collaboration concernant l'étude du système endocannabinoïde. Merci également aux chercheurs de l'équipe FoodCirus et en particulier à Pierre pour ses blagues, ses encouragements et son optimisme à l'égard de mon projet. Je remercie enfin tous les doctorants et post-doctorants du laboratoire que j'ai côtoyé pendant ces années, Mathieu et son énergie légendaire, Flore et sa gentillesse, Moïra, Liam, Enrica, Pauline M, Camille R, Emy, Marie, Adeline et tous les autres. Au-delà des questions scientifiques et politiques qui ont jalonné notre chemin, ça a été une grande aventure humaine et je garde en mémoire plein de bons moments passés avec vous. Les apéros au petit Q, les pique-niques sur les quais de Garonne, les kilos de raclettes, les soirées en centre-ville et tous ces déplacements en congrès à se réunir et faire la fête.

Je dois maintenant remercier mes essences, à savoir tous les gens qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui, qui me rappelle sans cesse d'où je viens et où je vais, et qui m'ont permis d'affronter ce travail dans les meilleures conditions.

Je remercie en premier mes parents pour la vie saine et heureuse qu'ils m'ont permis d'avoir jusqu'à maintenant. Ils ont su créer un terreau très fertile qui m'a permis de continuer mes études et qui m'a encouragé à croître vers l'inconnu. Comme le dit si bien ce proverbe japonais : "L'amour d'un père est plus haut que la montagne. L'amour d'une mère est plus profond que l'océan". Alors, j'emporterai toujours avec moi cet amour que vous m'avez donné pour en semer sur mon chemin. Merci...

Merci à ma sœur Lila pour son soutien indéfectible pendant toutes ces années, ses visites fréquentes à Bordeaux et sa motivation exemplaire. Ô grand Messie! Merci de m'avoir poussé à croître non pas dans la tendance, mais dans la bonne direction depuis tout petit. Je comprends maintenant que les mots d'une grande sœur valent tous les tranquillisants du monde. Je suis heureux de pouvoir partager ma vie avec une alliée qui ne cessera jamais de l'être.

Je remercie également tous mes amis qui me donnent de la force chaque jour. Gillou... pour m'avoir beaucoup inspiré ces dernières années et pour cette puissante énergie unificatrice que je ressens toujours auprès de moi. Lucien... l'eau de la rivière qui ne fait que monter sans jamais s'assécher, du haut de la montagne à l'embouchure du fleuve, du sommet du Cimendef à la barrière de corail. A la vie, à la mort. Ma Nolween... ma sœurette avec qui j'ai partagé tant de moments mler sur les routes, de Millau à Paris, dans tous les milieux, au-dessus, sur et sous la terre. Il s'en est passé des choses dans nos têtes et on est maintenant connecté sur la fréquence 75.18 pour toujours. Ma luciole... Merci d'égayer ma vie depuis la maternelle et d'y parsemer autant d'amour et d'amitié. Quelle chance j'ai de t'avoir dans ma vie. J'attends déjà avec joie et impatience le prochain épisode de la suite de nos aventures communes. Paul, mon amour... Tu n'imagines pas à quel point j'admire ta modestie, ton impartialité, ton calme et ta zénitude. Déjà sur les bancs du lycée nous étions comme des frères de sciences à s'imaginer sur d'autres planètes, à tout relativiser et à se plonger à corps perdu dans des concepts impossibles. Je suis certain que cela a forgé ma raison de vivre et ma façon de faire de la science. En plus de m'avoir fait un bien considérable, ton déménagement à Bordeaux m'a permis d'aller jusqu'au bout et de m'en remettre... Tout cela grâce à une ouverture d'esprit et à des tonnes d'inspirations littéraires, historiques et philosophiques. Quel bonheur de grandir en symbiose avec une fleur multicolore, si douce, tolérante et résiliente que la tienne. Nos racines sont enlacées et notre terre est partagée à jamais. Cette thèse mon frère, c'est la tienne... et je te remercie pour tout. Dans la même lignée, je remercie mon Tommy pour toute cette folie qui fait

du bien et tous ces moments partagés, de Grenoble à Paris en passant par Bordeaux avec la petite Haruna, je comprends, grâce à toi, que passer de l'impossible au possible n'est qu'une question d'amour et de volonté.

Rodrigue et Simon... Je ne vous remercierai jamais assez car c'est difficile de compter à l'œil nu le nombre d'étoiles qu'il y a dans la voûte céleste. Vous m'avez sorti de cette chape de plomb invisible, vous avez fait bouger les frontières et vous m'avez accueilli parmi vous avec beaucoup d'amour et d'envie. Des débats d'une valeur inestimable, des films profonds et émouvants (même si parfois fous et incompréhensibles), des procès, des restaurants, des conférences, des brunchs et des fromages à en verser quelques larmes dans un océan de plaisir et de raffinement, des vacances légendaires dans des contrées reculées... Vous m'avez donné beaucoup de force dans les moments les plus difficiles alors, à jamais, merci, merci de me redonner foi en l'humanité... Le S, j'ai une place pour toi bien au chaud dans mon intime où j'y ai forgé un trône de fer en ton nom, tu seras toujours le bienvenu. Je remercie bien-sûr Léa qui m'a apporté un soutien sans faille et quotidien pour affronter cette épreuve. Une intelligence hors-norme qui m'a fait grandir très vite, qui m'a protégé et qui m'a éclairé sur la société, la psychologie, les relations sociales et toutes les injustices du monde. Ta thèse, que tu as déjà écrite quelque part, est d'une valeur inestimable. Je remercie également tous mes amis de l'escalade, Lorena, Santiago et Rafà pour tous ces moments passés en souffrance sur la falaise, en Espagne et ailleurs, et pour tous ces moments de rigolade au Migou ou dans les bars de Saint-Michel. Elle m'a été vitale, chaque jour jusqu'à la soutenance, pour décompresser, me calmer et me soigner de bien des maux. Je remercie également toutes les personnes que j'ai croisées sur ma route ces dernières années, avec qui j'ai partagé des moments de vie, qu'ils soient bons ou mauvais, me permettant de croître avec de plus en plus d'assurance et de libre arbitre vers mon avenir.

Cette thèse a été pour moi une véritable épreuve et par moments j'ai dû affronter des moments difficiles. Des centaines d'heures isolé à l'animalerie à répéter les mêmes gestes, motivé par la volonté et la surprise des résultats. Même si ma patience a été mise à rude épreuve, j'ai pu tenir sur le long terme grâce aux contacts humains au laboratoire et aux encouragements de mes collègues, mais aussi en dévorant avec passion des heures et des heures de podcasts inspirants qui m'ont permis de garder les yeux et l'esprit grand ouvert. La rigueur et l'obstination ont également été de mise pour aller au bout de ce travail et répondre à l'exigence du cheminement scientifique. Ces années ont également été ponctuées de moments plus ou moins stressants, lors de prises de parole ou d'interventions scientifiques en public. Enfin, la rédaction de ce manuscrit a constitué la partie la plus difficile de ce projet. Comme si après une longue randonnée, il restait encore à gravir une grande paroi verticale pour atteindre le sommet de la montagne. En plus d'avoir été longue et épuisante, j'ai subi un isolement et un enfermement lors de cette dernière étape, pour venir à bout de cette charge de travail. Pour tous ces efforts, je suis content d'être venu à bout de cette épreuve et d'avoir produit ce travail. Je remercie donc toutes les personnes qui m'ont proposé de l'aide et qui m'ont apporté du soutien au moment où j'en avais le plus besoin. Outre tous ces moments difficiles, j'ai le sentiment que le temps est passé à toute vitesse car j'étais totalement absorbé et déconnecté dans un monde mystérieux, loin du réel, fait d'atomes, de molécules et de cellules. Je retiens le plaisir et l'excitation que j'ai eu à découvrir les résultats des expériences lorsqu'ils étaient concluants. Je sais également la chance et le privilège unique que j'ai eu de pouvoir me consacrer à ces longues recherches avec autant de liberté, à la manière d'un artiste. Aussi, je suis satisfait d'avoir pu apporter ma petite pierre au mur du savoir et de la connaissance et j'ai aussi le vertige devant ce "mur" gigantesque qui a et qui va nécessiter un travail colossal, minutieux et collectif, à l'image de la construction des pyramides d'Égypte ou des cités Lycienne de la Grèce antique. Mes études, poussées et approfondies, m'ont également permis de comprendre à quel point la réalité du monde est complexe, puisque je finissais ma thèse avec infiniment plus de questions que lorsque je la commençais, perdant en assurance et gagnant en prudence, comme le prédisait Dunning-Kruger. Je remercie tous mes professeurs qui m'ont ouvert les portes du monde de la biologie et de l'infiniment petit. Je ne cesserai jamais d'être inspiré par l'incroyable intelligence du monde du vivant, par sa capacité à s'adapter à son environnement et à faire prévaloir le collectif sur l'individu. Je ne cesserai jamais d'être impressionné par sa grande et sa belle diversité qui impose le respect et la modestie et qui oblige une révision des fondements de la morale de nos sociétés occidentales. J'ai l'intime conviction que cette discipline qu'est la biologie, pourrait entre autres, nous aider à mieux comprendre d'où nous venons et qui nous sommes réellement, pour vivre en harmonie avec le monde. A nous désormais, biologistes et scientifiques, de prendre cette responsabilité qui est la nôtre, et d'améliorer notre impact sur la société et sur le monde dont nous faisons partie.

Résumé

Grave problème de santé publique, l'obésité démarre de plus en plus tôt, touchant fortement les adolescents. Elle est principalement due à la surconsommation d'aliments riches en lipides saturés et en sucres, très palatables et facilement accessibles. En plus des comorbidités comme le diabète, les maladies cardiovasculaires et le cancer, l'obésité est également associée à des atteintes cérébrales et des perturbations cognitives, particulièrement inquiétantes pour les adolescents. En effet, il est maintenant avéré chez l'homme, mais également sur les modèles animaux, que l'exposition à une alimentation obésogène, hyperlipidique et sucrée (HLS), en particulier pendant l'adolescence (adoHLS), induit des déficits de mémoires à long terme non aversive dépendantes de l'hippocampe. De façon intéressante, notre laboratoire a découvert que ces altérations de la mémoire proviennent d'un dysfonctionnement de l'hippocampe, induit par une hyperactivité neuronale associée à une suractivation d'un important système neuromodulateur, le système endocannabinoïde. Cependant, ces travaux ont été exclusivement menés chez des rongeurs mâles. Ce projet de thèse vise donc à étudier ces effets chez la femelle et à comparer les mécanismes neurobiologiques impliqués dans les altérations mnésiques induites par le régime adoHLS chez les mâles et les femelles.

Dans un premier temps, nous montrons que le régime adoHLS perturbe la mémoire de peur contextuelle à long-terme chez les souris mâles, mais pas chez les femelles. Ces effets sont associés à une suractivation de l'hippocampe dorsal, en particulier du gyrus denté, et de l'amygdale basolatérale chez les mâles adoHLS uniquement. L'inactivation chémogénétique de l'hippocampe dorsal atténue les déficits de mémoire de peur au contexte des mâles adoHLS indiquant le rôle prépondérant de l'hyperactivation de l'hippocampe dans leurs altérations mnésiques aversives ou non.

Dans la deuxième partie, nous montrons que le régime adoHLS perturbe la mémoire de reconnaissance d'objet à long-terme chez les souris mâles et femelles. Le blocage systémique des récepteurs aux cannabinoïdes de type 1 (CB1R) juste après l'apprentissage reverse les déficits de mémoire des mâles et des femelles adoHLS indiquant le rôle prépondérant de ce système pour les deux sexes. Alors que cet apprentissage est associé à une hyperactivation Fos hippocampique chez les mâles adoHLS, normalisée par le blocage des CB1R, celui-ci est associé à une hypoactivation Fos de l'hippocampe et du CPF ventromédian (CPFvm) chez les femelles adoHLS, normalisée par le blocage des CB1R uniquement dans le cortex préfrontal. D'ailleurs, la diminution des CB1R de l'hippocampe dorsal prévient les déficits de mémoire des mâles, mais pas des femelles adoHLS. A l'inverse, la diminution des CB1R du CPFvm reverse les déficits mnésiques des femelles adoHLS, mais pas des souris mâles. De plus, ce sont les CB1R des neurones glutamatergiques (mais pas GABAergiques) de l'hippocampe dorsal qui sont impliqués chez les mâles adoHLS, alors que ce sont les CB1R des neurones GABAergiques (mais pas glutamatergiques) du CPFvm des femelles adoHLS qui participent à leurs déficits. Enfin, nous montrons qu'une ovariectomie « masculinise » le phénotype des femelles adoHLS avec des effets bénéfiques sur la mémoire de la diminution des CB1R de l'hippocampe dorsal mais plus du CPFvm. Ainsi, ces résultats indiquent que le régime adoHLS

conduit à des perturbations de mémoire de reconnaissance d'objet dépendantes du système endocannabinoïde pour les deux sexes mais dans des structures cérébrales différentes et sur des types cellulaires différents en fonction du sexe. De plus, ces différences dépendraient d'une modulation des hormones sexuelles femelles dont il reste à caractériser les mécanismes.

Dans leur ensemble, ces données révèlent des différences mâle-femelle sur la nature des perturbations mnésiques induit par la consommation d'une alimentation obésogène pendant l'adolescence et leurs bases neurobiologiques. Cela permet également d'améliorer notre compréhension des effets délétères de ces régimes sur les fonctions mnésiques et de mieux considérer l'importance du facteur sexe dans ces effets.

Mots clés : obésité, mémoire, adolescence, effet sexe, système endocannabinoïde, chémogénétique, hippocampe, cortex préfrontal.

Abstract

Obesity is an increasing global public health issue, starting at an increasingly early age and affecting particularly teenagers. It is mainly due to overconsumption of foods rich in saturated fats and sugars, which are highly palatable and easily accessible. In addition to comorbidities such as diabetes and cardiovascular disease, obesity also impairs brain functioning and cognitive performances, which are particularly worrying for teenagers. It has now been established in humans, but also in animal models, that exposure to an obesogenic diet, high in fat and sugar (HFS), particularly during adolescence (adoHFS), induces hippocampus-dependent deficits in non-aversive long-term memory. Interestingly, our laboratory has found that these memory impairments arise from hippocampal dysfunction, induced by neuronal hyperactivity associated with overactivation of an important neuromodulatory system, the endocannabinoid system. However, this work has been carried out exclusively on male rodents. The aim of this PhD thesis is therefore to study these effects in females and to compare the neurobiological mechanisms involved in the memory alterations induced by the adoHFS diet in males and females.

First, we show that the adoHFS diet disrupts long-term contextual fear memory in male mice, but not in females. These effects are associated with overactivation of the dorsal hippocampus, particularly the dentate gyrus, and the basolateral amygdala in adoHFS males only. Chemogenetic inactivation of the dorsal hippocampus attenuates the deficits of contextual fear memory in adoHFS males, indicating the predominant role of hippocampal hyperactivation in their aversive or non-aversive memory alterations.

In the second part, we show that the adoHFS diet disrupts long-term object recognition memory in male and female mice. Systemic blockade of cannabinoid type 1 receptors (CB1R) immediately after learning reverses the memory deficits in male and female adoHFS mice, indicating a dominant role for this system in both sexes. While this learning is associated with hippocampal Fos hyperactivation in adoHFS males that is normalized by CB1R blockade, it is associated with Fos hypoactivation of the hippocampus and ventromedial prefrontal cortex in adoHFS females that is normalized by CB1R blockade only in the prefrontal cortex. Moreover, reducing CB1R in the dorsal hippocampus prevents memory deficits in males, but not females. Conversely, CB1R decrease in the ventromedial prefrontal cortex reversed the memory deficits in adoHFS females, but not males. Furthermore, CB1Rs from glutamatergic (but not GABAergic) neurons in the dorsal hippocampus are involved in memory deficits of adoHFS males, whereas CB1R from GABAergic (but not glutamatergic) neurons in the prefrontal cortex of adoHFS females mediate their deficits. Finally, we show that ovariectomy 'masculinizes' adoHFS females, with beneficial effects on memory due to CB1R decrease in the dorsal hippocampus but no longer in the prefrontal cortex. These results therefore indicate that adoHFS diet leads to endocannabinoid system-dependent impairments in object recognition memory that involve different brain structures and different cell types depending on the sex. Moreover, these differences depend on a modulation of female sex hormones, the mechanisms of which have yet to be characterized.

Taken together, these data reveal sex differences in the nature and neurobiological basis of the memory deficits induced by the consumption of an obesogenic diet during adolescence. This also improves our understanding of the deleterious effects of obesogenic diet on memory functions and enables us to better consider the importance of the sex factor in these effects.

Keywords: obesity, memory, adolescence, sex effect, endocannabinoid system, chemogenetics, hippocampus, prefrontal cortex

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	12
I. OBÉSITÉ ET ALIMENTS OBÉSOGÈNES	12
<i>A. OBÉSITÉ CHEZ L'HOMME</i>	<i>12</i>
1. Définition et caractérisation	12
2. Prévalence et causes.....	12
3. Co-morbidités associées à l'obésité	15
4. Disparités homme-femme dans la physiopathologie de l'obésité.....	16
<i>B. MODÈLES DE L'OBÉSITÉ CHEZ LE RONGEUR.....</i>	<i>18</i>
1. Modèles génétiques	18
2. Modèles induits par l'alimentation	19
a) Les différents régimes obésogènes.....	19
b) Choix de la souche	20
c) Choix du régime alimentaire	21
d) Les différences entre les sexes	21
II. OBÉSITÉ ET SYSTÈME ENDOCANNABINOÏDE	24
<i>A. SYSTÈME ENDOCANNABINOÏDE EN CONDITION PHYSIOLOGIQUE</i>	<i>24</i>
1. Historique et caractérisation.....	24
2. Récepteurs des cannabinoïdes.....	24
a) Le récepteur CB1.....	24
b) Le récepteur CB2.....	25
3. Les endocannabinoïdes.....	26
a) Mécanismes de synthèse	26
b) Mécanismes de dégradation	27
c) Transport et action.....	28
<i>B. SYSTÈME ENDOCANNABINOÏDE EN CONDITION D'OBÉSITÉ</i>	<i>28</i>
1. Rôle du système endocannabinoïde dans la prise alimentaire et la masse corporelle.....	28
2. Surpoids, obésité et perturbation du système endocannabinoïde.....	29
a) Perturbation du système endocannabinoïde.....	29
b) Mécanismes impliqués	30
c) Les CB1R, une cible thérapeutique	31
III. MÉMOIRE ET ADOLESCENCE.....	33
<i>A. LA PHYSIOLOGIE DE LA MÉMOIRE.....</i>	<i>33</i>
1. Les différents systèmes de mémoire	33
a) Généralités.....	33
b) Machinerie cellulaire de la consolidation	33
c) Proposition de classification des systèmes de mémoire.....	34
2. Le système hippocampique.....	35
a) Cytoarchitecture de l'hippocampe et connexions	35
b) Hippocampe et mémoire	37
3. Le cortex préfrontal	38

a) Cytoarchitecture du cortex préfrontal et connexions.....	38
b) Cortex préfrontal et mémoire	40
4. Modèles d'études de la mémoire.....	41
a) La mémoire de reconnaissance	41
b) La mémoire de peur contextuelle.....	43
5. Système endocannabinoïde et mémoire	46
a) Signalisation cérébrale du CB1R et modulation des fonctions synaptiques	46
b) Effets des cannabinoïdes sur la mémoire	51
c) Dimorphisme sexuel du système eCB	52
6. Œstrogènes et mémoire	54
a) Généralités sur les œstrogènes : hormones, récepteurs, synthèse.....	54
b) Œstrogènes cérébraux.....	55
c) Œstrogènes et mémoire	57
d) Œstrogènes et système endocannabinoïde.....	58
<i>B. L'ADOLESCENCE, PÉRIODE DE MATURATION</i>	<i>60</i>
1. Définition et caractérisation	60
2. Maturation du cerveau à l'adolescence.....	61
a) Maturation globale du cerveau.....	61
b) Développement du cortex préfrontal.....	63
c) Développement de l'hippocampe.....	64
d) Maturation du système endocannabinoïde.....	64
e) Dimorphisme sexuel cérébral et cognitif	67
IV. OBÉSITÉ, RÉGIME OBÉSOGÈNE ET MÉMOIRE	70
<i>A. ALTÉRATIONS MNÉSQUES</i>	<i>70</i>
1. Chez l'homme.....	70
2. Dans les modèles animaux.....	71
3. Différences mâles/femelles	73
<i>B. Mécanismes impliqués.....</i>	<i>75</i>
a) Plasticité neuronale	75
b) Glucocorticoïdes	76
c) Altérations métaboliques.....	76
d) Microbiote et dysbiose	78
e) Neuroinflammation et stress oxydatif	78
<i>C. Deux mécanismes potentiels à l'étude.....</i>	<i>80</i>
1. Altération de l'activité neuronale	80
2. Altération du système endocannabinoïde.....	81
OBJECTIFS DES TRAVAUX DE THESE.....	85
CHAPITRE 1	87
CHAPITRE 2	110

DISCUSSION GENERALE.....	142
1. Résumé des principaux résultats.....	142
2. Différences entre les tâches de mémoire	144
3. Les femelles sont-t-elles protégées des effets du régime obésogène sur l'hippocampe ?.....	145
a) Moindre implication de l'hippocampe dans la mémoire des souris femelles	146
b) Différences mâle/femelle de sensibilité de l'hippocampe au régime obésogène.....	147
4. Vulnérabilité du cortex préfrontal aux effets du régime obésogène	148
5. Dimorphisme sexuel dans les effets neuronaux du régime obésogène ?.....	150
6. Rôle des hormones dans les effets différentiels entre mâles et femelles	152
a) Effet protecteur des œstrogènes sur la mémoire des femelles.....	152
b) Effet protecteur des œstrogènes sur les fonctions hippocampiques et préfrontales.....	153
c) Interaction entre les œstrogènes et le système eCB	154
d) Implication d'autres hormones dans les effets du régime obésogène sur la mémoire.....	155
CONCLUSIONS/PERSPECTIVES.....	157
LISTE DES PUBLICATIONS	159
LISTE DES ABRÉVIATIONS	161
LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES.....	162
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	163

INTRODUCTION GENERALE

I. OBÉSITÉ ET ALIMENTS OBÉSOGÈNES

A. OBÉSITÉ CHEZ L'HOMME

1. Définition et caractérisation

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit le surpoids et l'obésité comme étant une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle qui représente un risque pour la santé. L'utilisation de l'indice de masse corporelle (IMC) est un moyen simple et standardisé permettant d'estimer cette accumulation de graisse chez l'individu. Celui-ci est égal au poids divisé par la taille au carré. Lorsque l'indice obtenu est compris entre 18.5 et 25kg/m², la personne est considérée comme ayant une corpulence normale. En revanche, lorsque cet indice est compris entre 25 et 30kg/m², on considère que la personne est en surpoids. Un IMC supérieur à 30kg/m² est l'indicateur d'une obésité, pouvant être modérée (IMC compris entre 30 et 35kg/m²), sévère (35 à 40kg/m²) ou morbide (IMC supérieur à 40kg/m², OMS, 2013). Bien que préconisé par l'OMS, car utile pour mesurer le surpoids et l'obésité dans une population (la valeur obtenue étant comparable entre les individus), l'IMC reste un outil de mesure du rapport poids/taille ne reflétant pas précisément le degré d'adiposité (ou l'accumulation de graisse) de l'individu. En effet, alors qu'un poids excessif donnera un IMC élevé classant l'individu comme obèse, il n'y a pas de stricte équivalence entre poids et obésité, puisque le poids d'un individu englobe, outre sa masse grasse, le poids de ses tissus osseux, musculaires, ainsi que de l'eau présente dans son organisme. D'autres indicateurs de surpoids présentent l'avantage de tenir compte plus spécifiquement de l'accumulation de graisse au lieu du poids total des individus. C'est le cas du rapport entre le tour de taille et le tour de hanches (RTH : *ratio* taille/hanches).

2. Prévalence et causes

L'obésité est une pandémie (du grec ancien πᾶν / pân « tous », et δῆμος / dêmos « peuple ») qui touche une partie importante de la population mondiale et sa prévalence a beaucoup augmentée ces dernières années. A l'échelle mondiale, le nombre de cas d'obésité a doublé depuis 1980 et les dernières estimations de l'OMS, en 2008, font état de plus de 1,4 milliards

d'adultes (plus de 20 ans) en surpoids, dont 500 millions d'adultes souffrant d'obésité. En France également, bien que la proportion de personnes obèses ou en surpoids y est la plus faible d'Europe, le nombre de personnes obèses a été multiplié par plus de 1,6 en 10 ans et on recense actuellement plus de 30% de personnes en surpoids auxquels s'ajoutent 15% d'obèses dans la population française adulte. Ceci ne touche pas uniquement les pays riches industrialisés puisque selon l'OMS, la prévalence de l'obésité a aussi augmenté dans des pays en voie de développement, notamment dans certains pays d'Afrique, en Inde, en Chine mais également à l'île Maurice ainsi que d'autres îles du Pacifique.

De façon inquiétante, chez les enfants et adolescents âgés entre 5 et 19 ans, le surpoids a été multiplié par 10 en 40 ans (passant de 11 millions en 1975 à 124 millions en 2016 dans le monde). Aux États-Unis par exemple, la proportion d'enfants en surpoids a doublé entre 1975 et 1995, passant de 15 à 30%. De la même façon, en Angleterre, la proportion d'enfants en surpoids a doublé entre 1995 et 2005, soit une augmentation deux fois plus rapide qu'aux États-Unis (Figure 1). Enfin, chez les enfants de moins de 5 ans, le surpoids a été multiplié par 2 en seulement 5 ans (passant de 20 millions en 2005 à 40 millions en 2011).

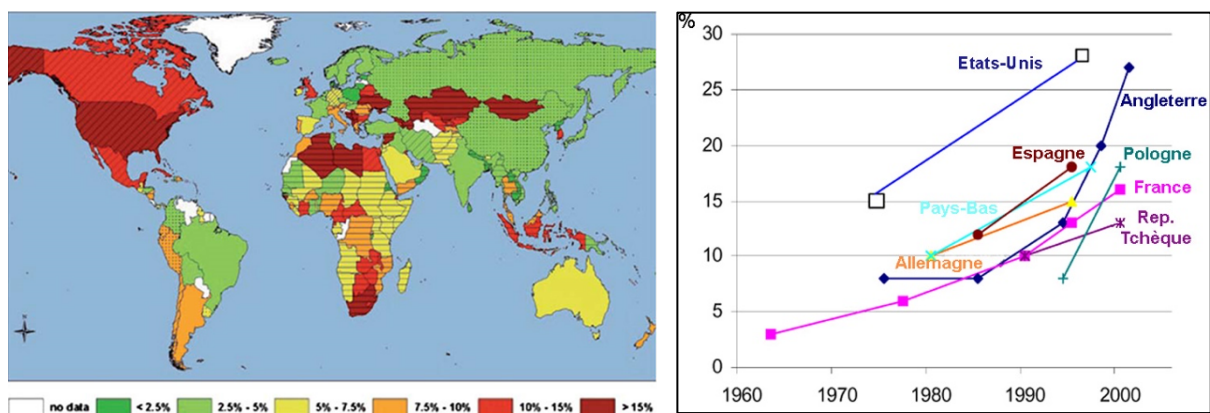


Figure 1 : Prévalence de l'obésité et du surpoids chez les enfants et les adolescents.

Cartographie de la prévalence mondiale de l'obésité chez les enfants et les adolescents (à gauche). Évolution de la prévalence du surpoids en Europe chez les enfants de 5 à 11 ans (à droite ; en pourcentages) (adapté de Wang and Lim, 2012; International Obesity Task Force (IOTF), 2005)

L'obésité provient d'un déséquilibre entre les apports et les dépenses énergétiques. Ce dérèglement de la balance énergétique est causé par plusieurs facteurs pouvant être d'origine génétique ou environnemental aboutissant à une dérégulation du métabolisme glucido-lipidique et une accumulation excessive de graisses.

Il existe des formes génétiques de l'obésité qui touchent très peu d'individus (moins de 1% des cas). Celles-ci sont le plus souvent liées à des mutations des gènes de la voie leptine-mélanocortine impliquée dans la régulation de la prise alimentaire, déterminantes dans le développement de l'obésité. Plus fréquemment, l'obésité est d'origine polygénique, résultant de la mutation de plusieurs gènes de prédisposition, associée à des facteurs environnementaux. En effet, la prévalence actuelle de l'obésité ne peut être imputée à ces seuls facteurs génétiques (Yang et al., 2007). L'un des principaux facteurs environnementaux de l'obésité est l'alimentation, et en particulier l'augmentation des apports énergétiques notamment *via* la surconsommation d'aliments riches en lipides et en sucres. La consommation de ce type d'aliments hypercaloriques est survenue à la suite de grands changements sociaux, économiques et culturels qui ont bouleversé les habitudes alimentaires dans de nombreux pays à travers le monde. De plus, le mode de vie actuel favorise notamment la prise de repas de type cafétéria, fast-food ou à emporter, surtout chez les enfants et les adolescents (Jaworowska et al., 2013). En effet, la surconsommation d'aliments à forte densité énergétique est plus observée chez des individus indépendants socialement et moins contrôlés par leur environnement domestique, c'est-à-dire à la fin de l'enfance et à l'adolescence. Selon un rapport de l'Anses, en France, la consommation de restauration rapide a encore augmenté ces dix dernières années chez les enfants comme chez les adultes (Anses, 2021). De plus, d'autres modifications du comportement alimentaire sont impliquées dans la prise de poids comme une dérégulation des rythmes dans la prise des repas. Par ailleurs, il est important de noter que cette surconsommation énergétique n'est pas, à elle seule, la cause de l'augmentation du surpoids. En effet, on constate actuellement une réduction des apports énergétiques journaliers, et la prise alimentaire n'est pas toujours directement corrélée avec le surpoids (la fréquence des prises alimentaires chez les enfants étant plutôt associée à un faible poids, Kaisari et al., 2013). En revanche, on note une diminution drastique de l'activité physique due à la sédentarisation et l'urbanisation des populations, entraînant une diminution des dépenses énergétiques (Oppert and Charreire, 2012). C'est donc la conjugaison de ces deux facteurs, les apports énergétiques restant supérieurs aux dépenses, qui est responsable de l'augmentation du surpoids, en se traduisant par une balance énergétique déséquilibrée (Hong et al., 2016). De plus, plusieurs facteurs de risque prénatal de l'obésité ont été identifiés : tabagisme maternel, diabète ou surpoids maternel, prise de poids excessive pendant la grossesse, déficit ou excès de croissance du fœtus. Par ailleurs, il existe également de fortes inégalités sociales (Figure 2). En effet, le surpoids et l'obésité sont généralement plus fréquents dans les catégories sociales défavorisées. L'étude

Obépi 2020 confirme cette observation, sur le critère de la qualification professionnelle, avec une prévalence de l'excès de poids de 51 % chez les ouvriers contre 35 % chez les cadres.

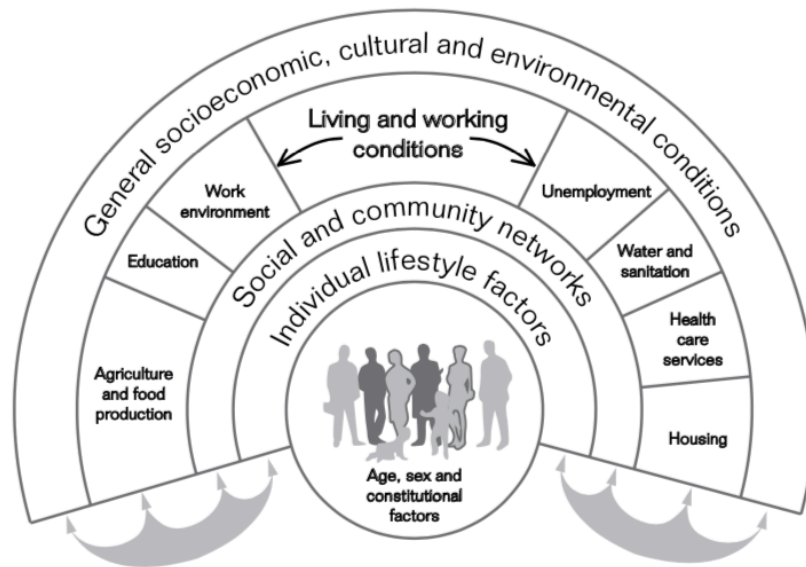


Figure 2 : Les principaux facteurs de l'obésité
(rapport de l'OMS: *Obesity and inequalities*)

3. Co-morbidités associées à l'obésité

Le surpoids et l'obésité sont le cinquième facteur de risque de décès au niveau mondial, responsables de 2,8 millions de décès par an (OMS). De plus, ils représentent un facteur de risque pour le développement de nombreuses co-morbidités. Ainsi, il apparaît que 23% des maladies cardiovasculaires sont attribuables à l'obésité (Valenzuela et al., 2023). Or ces maladies (cardiopathies, hypertension artérielle et accidents vasculaires) sont actuellement la première cause mondiale de décès. L'hypercholestérolémie, l'hyperglycémie, l'augmentation du taux de triglycérides sanguins et l'hyper-insulinémie sont des facteurs de risque pouvant conduire au développement du diabète de type 2, dont 44% des cas sont imputables à l'obésité. Lorsqu'au minimum 3 de ces 5 symptômes sont présents chez le même individu (surpoids, hypertension, hypercholestérolémie, hyperglycémie et hyperinsulinémie), on parle de syndrome métabolique. L'obésité est aussi responsable d'une augmentation du risque de certains cancers, tels ceux de l'endomètre, du sein et du colon dont 10 à 40% des cas lui sont imputables. Enfin l'obésité engendre d'autres complications, comme des troubles musculo-squelettiques, tel l'arthrose, fortement invalidante. Plus récemment, il a été montré que l'obésité est un facteur de risque de développer des formes graves de Covid-19 (Caussy, 2021).

L'indice le plus prédictif du risque de manifester ces co-morbidités associées au surpoids n'est pas l'IMC, mais le rapport taille/hanches (RTH, Dagenais et al., 2005; Yusuf et al., 2020). En

effet, la probabilité de développer des complications secondaires à l'obésité est corrélée avec la distribution androïde de masse grasse et l'accumulation de tissu adipeux viscéral, par opposition au tissu adipeux sous-cutané (Matsuzawa et al., 1995). Par ailleurs, l'obésité chez les enfants et les adolescents est plus délétère car en plus d'affecter la croissance et le développement pubertaire, la grande majorité d'entre eux resteront obèses à l'âge adulte, augmentant leur risque de développer des maladies métaboliques et autres complications (Simmonds et al., 2016). Par ailleurs, chez les enfants et adolescents, l'obésité conduit à des troubles psychosociaux puisqu'elle est l'une des premières causes de harcèlement scolaire à l'école (Kansra et al., 2020).

4. Disparités homme-femme dans la physiopathologie de l'obésité

Les hommes et les femmes ne sont pas égaux face à la prise de poids et à certaines maladies métaboliques. Selon l'OMS, en 2016, 11% des hommes et 15% des femmes étaient obèses dans le monde ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Cependant, cette différence n'est pas retrouvée dans tous les pays. Par exemple en France, la prévalence de l'obésité est la même selon le sexe de 1997 à 2020 d'après l'étude Obépi-Roch 2020 (Fontbonne et al., 2023). En revanche, selon la même étude, les hommes étaient plus sujets au surpoids que les femmes (37% contre 24%) en France en 2020, ainsi qu'aux États-Unis en 2018 selon le NIH (34% contre 27%).

Par ailleurs, les conséquences de l'obésité sur la santé diffèrent entre hommes et femmes, notamment concernant les maladies métaboliques comme le diabète. En effet, au niveau épidémiologique, d'après un rapport de la Fédération Internationale du Diabète, la prévalence du diabète de type 2 dans le monde était plus importante chez les hommes que chez les femmes (40-70 ans) en 2021 et les femmes souffrent généralement moins d'hyperinsulinémie (Espeland et al., 1998). Après la ménopause, la prévalence du diabète devient similaire chez les deux sexes, suggérant que les œstrogènes sont impliqués dans ces différences.

Chez l'humain, il existe un dimorphisme sexuel dans la physiopathologie de l'obésité et du surpoids (pour revues : Palmer and Clegg, 2015; Mauvais-Jarvis, 2015). Tout d'abord le stockage et la répartition du tissu adipeux diffèrent selon le sexe de l'individu. En effet, les femmes en surpoids présentent un profil dit gynoïde (du grec ancien γυνή, *guné* « femme »), avec une accumulation de tissu adipeux sous-cutané au niveau des hanches, des fesses et des cuisses, tandis que les hommes ont un profil dit androïde (du grec ancien ἀνδρός / *andros* « d'homme »), avec accumulation de tissu adipeux viscéral au niveau de l'abdomen et de la poitrine et associée à une augmentation du risque cardio-vasculaire et métabolique (Figure 3). En revanche, l'obésité gynoïde et l'accumulation de tissu adipeux sous-cutané est moins délétère

(Blouin et al., 2009; Shi et al., 2009). Ce dimorphisme est observé dès la puberté et jusqu'à la ménopause, puis s'atténue après la ménopause avec une accumulation de tissu adipeux viscéral chez les femmes ainsi qu'une augmentation de la prévalence de l'obésité chez les femmes. Ceci suggère que les œstrogènes favorisent le développement du tissu adipeux sous-cutané chez les femmes. D'ailleurs un traitement hormonal à la ménopause réduit l'incidence du diabète de type 2 et améliore les paramètres métaboliques chez des femmes ménopausées en surpoids (Lovre et al., 2016; Gambacciani et al., 2001; Salpeter et al., 2006; Margolis et al., 2004). Les études sur les rongeurs ont permis de confirmer ces découvertes et de décrire les mécanismes par lesquels les œstrogènes influencent la physiopathologie de l'obésité (décrit ci-après). En plus de la répartition adipocytaire, l'activité adipocytaire diffère également en fonction du sexe, avec des niveaux plasmatiques de leptine et d'adiponectine plus importants chez les femmes (Considine et al., 1996). Par ailleurs, chez les mammifères, les mâles consomment plus de nourriture que les femelles (Wade, 1972), ce qui a été associé à une plus faible densité de neurones hypothalamiques anorexigènes chez des souris mâles (Nohara et al., 2011).

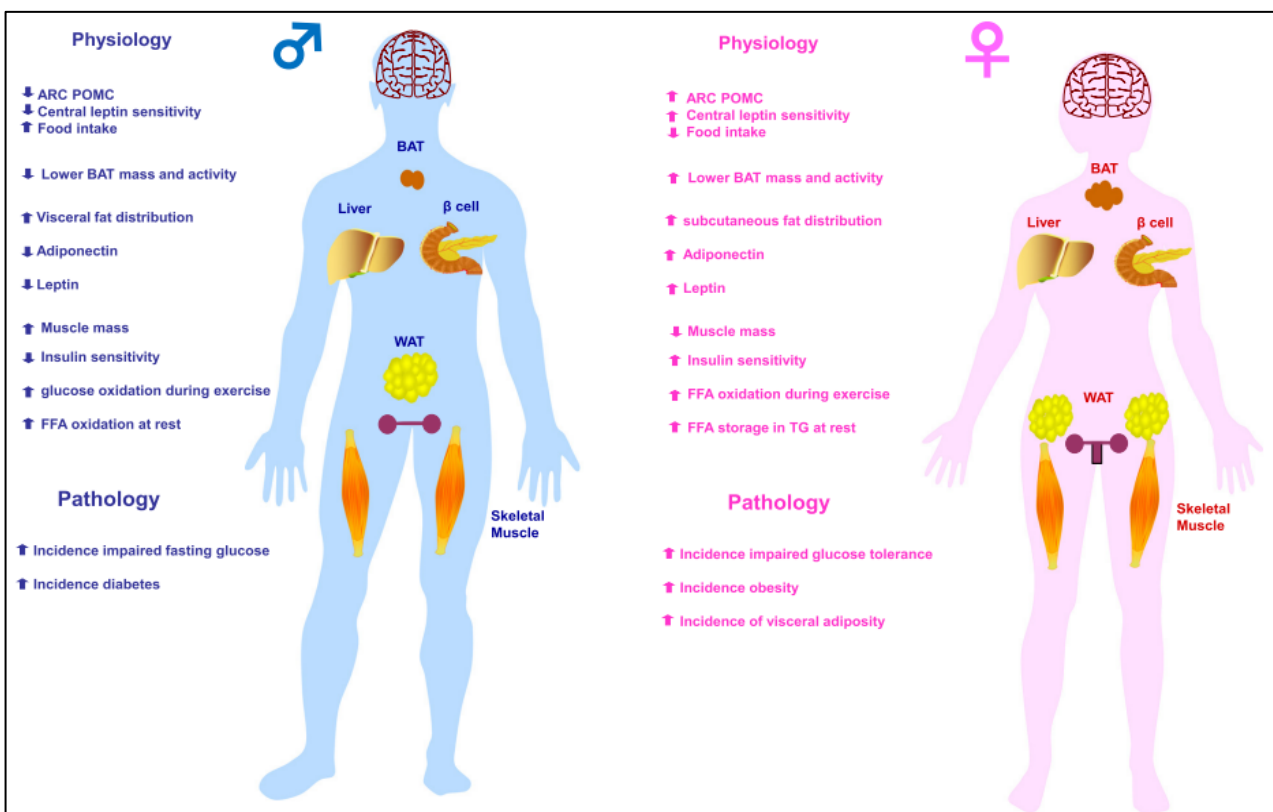


Figure 3 : Résumé du dimorphisme sexuel dans l'homéostasie métabolique, le diabète et l'obésité (Mauvais-Jarvis, 2015).

B. MODÈLES DE L'OBÉSITÉ CHEZ LE RONGEUR

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

1. Modèles génétiques

- La souche de souris KK est un modèle de résistance à l'insuline et d'intolérance au glucose au niveau périphérique, qui se traduit par une obésité modérée et le développement de diabète. Le développement de l'obésité et du diabète chez ce modèle est d'origine polygénique. De plus, lorsque la mutation du gène *agouti* (Ay) est introduite chez la souche KK, le développement du diabète est plus prononcé. Le gène Ay est exprimé d'une manière ubiquitaire chez les souris KK-Ay et la protéine Agouti se comporte comme un antagoniste des récepteurs mélanocortine 4 en inhibant les signaux de l'hormone stimulante alpha-melanocyte (α -MSH) qui régule la balance énergétique. Le poids corporel de ces souris se stabilise à l'âge de 4-5 mois vers 50-60g en moyenne. A cet âge-là, la masse grasse représente approximativement 33% du poids total. L'obésité étant en partie due à une hyperphagie, la restriction alimentaire permet de rétablir un poids normal. Cependant les souris KK-Ay présentent un phénotype incluant l'hyperglycémie, l'hyperinsulinémie et l'intolérance au glucose, ce qui en fait plutôt un modèle du diabète de type 2 (Butler and Gerritsen, 1970).
- Un autre modèle d'étude de l'obésité monogénique et du diabète est la souris *ob/ob*. Ces souris présentent une mutation récessive spontanée du gène codant pour la leptine, hormone anorexigène, engendrant une absence de satiété et donc une augmentation de la prise alimentaire. En plus d'une hyperphagie, elles présentent un syndrome diabétique (diabète de type 2) avec une hyperglycémie, une hyperinsulinémie, une insulino-résistance et une hyperlipidémie ce qui en fait un bon modèle d'étude d'état prédiabétique et du diabète. Cependant, l'obésité chez l'homme est caractérisée par une hyper sécrétion de la leptine et/ou une résistance à la leptine, et non par une absence totale de leptine.
- Les souris *db/db* sont un autre modèle qui portent une mutation des récepteurs de la leptine (Hummel et al., 1966). Elles présentent des phénotypes similaires à ceux des souris *ob/ob* avec une prise du poids plus importante. Elles présentent un syndrome diabétique (diabète de type 2) avec une forte hyperglycémie et une insulino-résistance, mais également des troubles

cardiovasculaires. Par ailleurs, étant basé sur une résistance à la leptine, elles sont par conséquent un modèle plus proche de l'obésité chez l'Homme.

- Par ailleurs, les rats Zucker sont communément utilisés comme modèle d'obésité chez les rats. Ces rats présentent une mutation récessive autosomique du gène *fa* (fatty-gene) induisant une obésité précoce due à la désensibilisation des récepteurs à la leptine. L'hyperphagie (malgré des taux élevés de leptine circulante) et la réduction des dépenses énergétiques conduisent au développement d'une obésité très précoce. Par ailleurs, des peptides orexigéniques comme le neuropeptide Y, la galanine, et l'orexine sont régulés à la hausse chez ces rats. Ne présentant pas de diabète ni d'hyperglycémie mais développant une obésité et une insulino-résistance, ce modèle présente de fortes similarités avec la majorité des sujets obèses.

Induisant une obésité sévère et une forte adiposité, les modèles génétiques sont utiles dans la compréhension des mécanismes de la mise en place de l'obésité et des comorbidités associées. Toutefois ces modèles génétiques comportent certaines limites car ils ne sont pas assez représentatifs de ce qui se passe chez l'Homme, puisque l'obésité génétique représente moins de 1% des cas. Par ailleurs, dans la plupart des modèles génétiques, l'obésité est accompagnée du syndrome métabolique, pouvant aller jusqu'au développement du diabète de type 2. Par conséquent, il est difficile de dissocier les effets de l'obésité elle-même de ceux des comorbidités, en particulier ceux du diabète dont les effets sur la cognition sont bien connus.

2. Modèles induits par l'alimentation

a) Les différents régimes obésogènes

Les modèles d'obésité induite par le régime alimentaire représentent un modèle plus proche de l'obésité chez l'Homme. En effet, chez l'Homme, le surpoids est dû principalement à une dérégulation de la balance énergétique, pouvant notamment être induit par la consommation d'un régime hypercalorique d'origine hyperlipidique et sucré (HLS). L'induction de l'obésité par le régime varie en fonction de la provenance et la quantité des calories apportées. Par exemple, pour un même apport calorique en lipide (42%), l'obésité et l'insulino-résistance seront plus prononcées si les lipides proviennent de source animale, comme le lard riche en acides gras saturés, plutôt que de source végétale, comme l'huile de coco, ou de poisson riche en acides gras saturés et poly-insaturés (Buettner et al., 2006). D'une manière générale, la présence d'acides gras saturés à longue chaîne d'origine animale semble être le facteur prédisposant le plus à l'accumulation de tissu adipeux viscéral (Milanski et al., 2009) et entre donc souvent dans la composition des régimes obésogènes chez les rongeurs. Par ailleurs, la

quantité de calories en provenance des lipides peut varier entre les régimes. Ainsi, les deux régimes HLS les plus couramment utilisés sont les régimes D12451 et D12492, de chez Research Diets, dont respectivement 45% et 60% des kcal viennent des lipides ainsi que des sucres simples (sucrose). Les atteintes métaboliques vont variées en nature et en intensité en fonction du pourcentage de kcal apporté par les lipides présent dans le régime. Ainsi, chez le rat, l'exposition à un régime dont 50% des kcal proviennent des lipides engendre une augmentation des taux circulants de triglycérides et de leptine (Martin et al., 2007). Une exposition à un régime plus riche en lipides (60% de lipides) engendre une hyperglycémie, une hypercholestérolémie et une hyperinsulinémie, premiers symptômes de la résistance à l'insuline, pouvant conduire jusqu'au diabète de type 2 (Pathan et al., 2008).

Concernant les glucides, on remarque dans la littérature l'utilisation de régimes riches en fructose et en sucrose. Les régimes combinant un apport calorique provenant des acides gras saturés et des glucides induisent l'apparition rapide du syndrome métabolique, et notamment de la résistance à l'insuline pouvant aboutir au diabète de type 2 (Couturier et al., 2010).

Un autre type de régime utilisé pour induire le surpoids et l'obésité chez le rongeur est le régime dit « cafétéria », qui consiste à exposer les animaux à un mélange d'aliments palatables (chocolat, biscuits, fromage ...) et ultra transformés. Bien que ce type de régime présente l'avantage d'être très palatable et qu'il mime l'alimentation humaine, il présente aussi l'inconvénient de ne pas de standardiser les contenus nutritionnels pour tous les animaux.

b) Choix de la souche

La consommation d'un régime HLS induit donc une augmentation du poids corporel chez les rongeurs. En revanche, en fonction de leur fond génétique, certains individus peuvent présenter une résistance à l'obésité induite par le régime en maintenant un poids corporel stable. Par exemple, la souche de souris C57BL6/J est considérée comme une souche vulnérable donc souvent utilisée dans les études, alors que les souches A/J et SWR/J présentent un phénotype plus résistant au régime obésogène (Surwit et al., 1995). De la même façon, certaines souches de rats sont résistantes à l'obésité induite par le régime HLS (S5B/PI et Lou/C) alors que d'autres y sont sensibles (Wistar, Sprague-Dawley et Long Evans ; Schemmel et al., 1972). Il est donc évident que le fond génétique joue un rôle dans la prise du poids suite à la consommation d'un régime HLS. Par ailleurs, il existe une variabilité inter-individuelle dans la prise de poids avec les modèles d'obésité d'origine alimentaire, contrairement aux modèles génétiques. Cette variabilité inter-individuelle modélise celle décrite chez l'Homme qui, pour une même alimentation, présente différents degrés de surpoids et d'altérations métaboliques.

c) Choix du régime alimentaire

Lors de ces travaux de thèse, nous nous sommes intéressés aux effets d'un surpoids induit par la consommation d'un régime HLS hyper-calorique. Nous avons utilisé le régime HLS le moins drastique, soit le régime D12451 (Tableau 1), qui induit une obésité modérée sans pour autant induire le diabète de type 2. Ce régime a l'avantage d'apporter des calories provenant des lipides saturés ainsi que des glucides simples (sucrose) et complexes (amidon) ce qui modélise plus fidèlement les apports caloriques actuels chez l'Homme. Enfin, ce régime permet d'induire des altérations cognitives dans notre modèle animal.

	Control diet	High-fat diet (D12451)
Composition	<i>Kcal</i>	<i>Kcal</i>
Lipids	10%	45%
-Soja oil/lard	0	5%/ 40%
Carbohydrates	68%	35%
-Starch/Maltodextrin/Sucrose	44%/-3%	7%/ 11%/ 17%
Proteins	22%	20%
-Casein/ L-Cystine	-	20%/ >0.5%
Total Kcal	2.90	4.73

Tableau : Composition des régimes C et HLS.

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

d) Les différences entre les sexes

Chez l'animal, il existe des différences entre les sexes dans le développement de troubles métaboliques suite à une exposition à un régime obésogène. En effet, des souris femelles ne développent pas d'hyperglycémie ni d'hypertriglycéridémie par rapport aux mâles après une longue exposition à un régime HLS (9 à 12 mois) commençant dès le sevrage. Par ailleurs, elles développent moins d'hyperinsulinémie et d'hypercholestérolémie (Hwang et al., 2010). Chez le rat aussi, les femelles sont, contrairement aux mâles, résistante à l'induction du surpoids et à l'hyperglycémie suite à une exposition de 12 semaines à un régime HLS drastique (Underwood and Thompson, 2016). De façon générale, le poids corporel, la résistance à l'insuline et l'intolérance au glucose sont des paramètres moins altérés chez les femelles (Gallou-Kabani et al., 2007; Hwang et al., 2010; Peng et al., 2020; Stubbins et al., 2012; Underwood and Thompson, 2016). Par ailleurs, les mâles et les femelles engagent différents mécanismes métaboliques compensatoires en réponse à la consommation d'un régime HLS (Maric et al., 2022). Cependant, il est important de noter que mâles et femelles présentent, suite à l'ingestion d'un régime obésogène, une accumulation de masse grasse et une hyperleptinémie (Hwang et al., 2010; Martin et al., 2007). Les différences mâle-femelle varient en fonction de l'âge des

individus. Alors que les femelles développent moins d'altérations métaboliques que les mâles lorsque le régime HLS démarre au sevrage, mâles et femelles sont impactés de la même manière lorsque le régime HLS est démarré à l'âge adulte (Dakin et al., 2015; Salinero et al., 2018). Les stéroïdes sexuels, tels que les œstrogènes, semblent impliqués dans la résistance à l'obésité d'origine alimentaire chez les femelles (Figure 4). En effet, les souris femelles adultes ménopausées sont moins protégées des altérations métaboliques causées par une exposition chronique au régime HLS (Salinero et al., 2018 ; Arcones et al., 2019). De plus, chez des femelles ovariectomisées nourries avec un régime obésogène, la supplémentation en œstrogènes prévient l'apparition de plusieurs désordres métaboliques et diminue l'inflammation dans le tissu adipeux viscéral (Stubbins et al., 2012; Riant et al., 2009). Sur le plan physiologique, les œstrogènes sont des régulateurs importants du métabolisme énergétique. En effet, chez les femelles, les œstrogènes régulent l'accumulation et la répartition du tissu adipeux sous-cutané ainsi que le métabolisme des triglycérides/lipoprotéines, notamment en modulant l'activité de la lipoprotéine lipase, enzyme d'hydrolyse les triglycérides (Tessier et al., 2010). Ainsi, l'injection intracérébrale d'œstradiol augmente l'accumulation du tissu adipeux sous-cutané chez les mâles et les femelles ovariectomisées (Clegg et al., 2006). De même, l'inactivation des récepteurs aux œstrogènes dans certains neurones hypothalamiques SF-1 (*steroidogenic factor -1*) provoque un développement du tissu adipeux viscéral chez la souris femelle de façon similaire aux mâles (Xu et al., 2011). Les œstrogènes régulent également la sensibilité à l'insuline (Bryzgalova et al., 2006) ainsi que la prise alimentaire via leur action sur le noyau arqué de l'hypothalamus. En effet, chez des souris femelles ovariectomisées, l'administration d'œstrogènes augmente le nombre de neurones anorexigènes du noyau arqué (Gao et al., 2007) et diminue la production du neuropeptide Y, puissant orexigène (Nestor et al., 2014), conduisant à la diminution de la prise alimentaire.

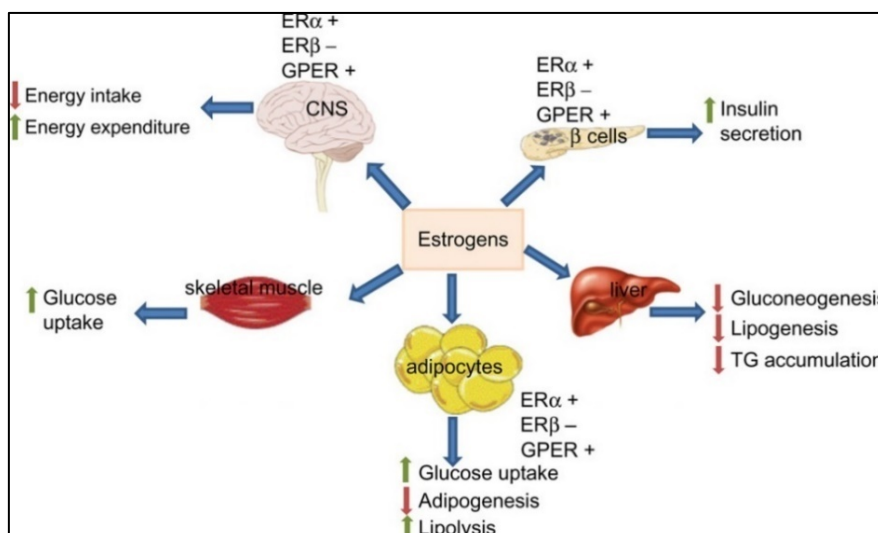


Figure 4 : Schéma du contrôle des œstrogènes sur le métabolisme énergétique.
Effets détaillés des œstrogènes sur l'homéostasie énergétique et sur le métabolisme du glucose et des lipides via sa régulation dans le système nerveux central, le tissu adipeux, les cellules β pancréatiques, les muscles squelettiques et le foie (issu de Shi et al., 2009)

Outre les œstrogènes, la testostérone régule également le métabolisme énergétique glucidique et lipidique, et en particulier la sensibilité à l'insuline (pour revue : Kelly and Jones, 2015). La testostérone serait notamment impliquée dans la répartition androïde du tissu adipeux viscéral chez l'Homme en diminuant l'accumulation de tissu adipeux sous cutané *via* l'inhibition de la lipoprotéine lipase dans le tissu adipeux sous cutané situé dans la région fémorale (Ramirez et al., 1997). D'autre part, de faibles taux de testostérone ont été reliés à l'élévation des taux d'insuline, de cholestérol, de triglycérides et d'apolipoprotéine B alors qu'un traitement à la testostérone a un effet bénéfique sur leurs paramètres métaboliques chez des patients masculins pré-diabétiques et diabétiques de type 2 (Wittert et al., 2021). En effet, la normalisation de la testostéronémie semble réduire la masse grasse abdominale et corriger l'intolérance au glucose.

Ainsi, l'âge et le sexe semblent être des facteurs importants qui interagissent dans certains effets métaboliques de la consommation d'un régime obésogène.

II. OBÉSITÉ ET SYSTÈME ENDOCANNABINOÏDE

A. SYSTÈME ENDOCANNABINOÏDE EN CONDITION PHYSIOLOGIQUE

1. Historique et caractérisation

Les cannabinoïdes sont un groupe de substances chimiques qui activent les récepteurs cannabinoïdes. Il existe trois types de cannabinoïdes : endogènes (endocannabinoïdes, eCB), végétaux (phytocannabinoïdes) et synthétiques. Il existe plus de soixante cannabinoïdes végétaux présents dans le cannabis. Le premier cannabinoïde à avoir été isolé fut le delta-9-tetrahydrocannabinol (THC ; Mechoulam and Gaoni, 1965). Le THC est connu comme le principal composé psychoactif du cannabis (Carlini et al., 1974; Kiplinger et al., 1971). Les recherches sur le THC ont permis d'identifier en 1990 le premier récepteur aux cannabinoïdes, le récepteur aux cannabinoïdes de type 1 (CB1R ; Matsuda et al., 1990). Il est l'un des récepteurs les plus abondants dans le cerveau où sa distribution a été parfaitement caractérisée chez l'Homme et les rongeurs (Glass et al., 1997; Herkenham et al., 1990; Mailleux et al., 1992; Tsou et al., 1998; Westlake et al., 1994). Le CB1R fut initialement classé dans la catégorie des récepteurs orphelins car son ligand, le N-arachidonylethanolamide ou anandamide (du sanskrit, ananda « béatitude ») ou AEA, ne fut isolé qu'en 1992 à partir de cerveaux de porc (Devane et al., 1992). Cette découverte marqua une étape importante dans la caractérisation du système eCB. Le 2-arachidonoylglycérole ou 2-AG, second cannabinoïde endogène, fut isolé 3 ans plus tard à partir de l'intestin canin (Mechoulam et al., 1995), puis du cerveau de rat (Sugiura et al., 2006). Par ailleurs, en 1993, trois ans après la découverte du CB1R, le second récepteur aux cannabinoïdes, CB2R, fut découvert (Munro et al., 1993). Contrairement au CB1R, le CB2R est principalement au niveau périphérique sur les cellules du système immunitaire. D'autres récepteurs aux cannabinoïdes ont été découverts tel le récepteur vanilloïde TRPV1 et le GPR55.

2. Récepteurs des cannabinoïdes

a) Le récepteur CB1

Le CB1R est le principal médiateur des effets des cannabinoïdes endogènes et exogènes sur le cerveau. Le CB1R est un récepteur transmembranaire appartenant à la famille des récepteurs couplés aux protéines G à 7 domaines transmembranaires (Figure 5). Il a d'abord été cloné chez le rat (Matsuda et al., 1990), puis chez l'Homme (Gérard et al., 1991) et la souris (Chakrabarti

et al., 1995). Sa séquence primaire d'acides aminés présente 97-99% d'homologie entre ces trois espèces. Chez l'humain, le gène *cnr1* codant le CB1R est localisé sur le chromosome 6. Certains polymorphismes sont liés à des troubles métaboliques comme l'obésité (Gazzerro et al., 2007; Russo et al., 2007), des migraines mais aussi des troubles du sommeil et de la mémoire (Smith et al., 2017), des maladies neuropsychiatriques telle que la schizophrénie (Chavarría-Siles et al., 2008; Ujike and Morita, 2004) ou encore la dépression chez des patients atteints de la maladie de Parkinson (Barrero et al., 2005). Le système eCB est ubiquitaire. En plus de sa présence dans le cerveau, le CB1R est présent le long des voies de la douleur (Agarwal et al., 2007) mais également dans de nombreux tissus périphériques comme le tractus gastro-intestinal, le foie, les muscles squelettiques, le tissu adipeux, les os, l'utérus et même le pancréas endocrine (Engeli and Jordan, 2006).

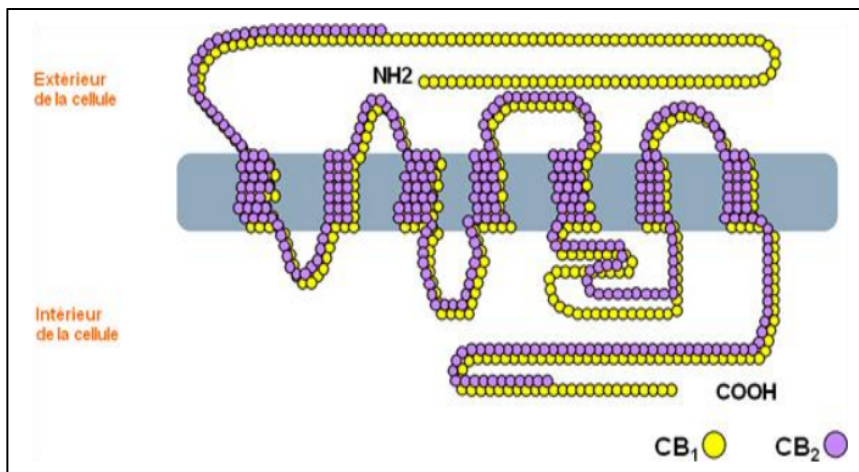


Figure 5 : Structure moléculaire des récepteurs CB1 et CB2.

b) Le récepteur CB2

Le premier clonage du CB2R a été réalisé chez l'Homme (Munro et al., 1993), puis chez la souris et le rat (Griffin et al, 2000; Shire et al, 1996). Comme le CB1R, le CB2R appartient à la famille des récepteurs couplés aux protéines G à 7 domaines transmembranaires, toutefois, les deux récepteurs ne présentent entre eux que 44% d'homologie de séquence et sont codés par des gènes distincts. Le CB2R est connu pour ses actions immunomodulatrices. En effet, il est principalement exprimé au niveau périphérique, et en particulier sur les cellules immunes activées (lymphocytes B et T, macrophages, monocytes, cellules natural killer, etc.) à des concentrations bien plus élevées que le CB1R (Van Sickle et al., 2005). Par ailleurs, le CB2R est exprimé à des niveaux très faibles dans le cerveau (Gong et al., 2006; Skaper et al., 1996).

3. Les endocannabinoïdes

a) Mécanismes de synthèse

Les eCBs sont synthétisés dans les neurones post-synaptiques à la suite d'une dépolarisation calcique induite par la stimulation de différents récepteurs. La synthèse d'AEA a lieu en deux étapes (Figure 6) : la première est la synthèse du phospholipide N-arachidonoyl phosphatidyléthanolamine (NAPE) à partir de phosphatidyléthanolamine, une réaction catalysée par l'enzyme N-acyltransferase qui s'active suite à la libération de calcium ou d'AMPC dans le neurone postsynaptique. La deuxième étape est l'hydrolyse du NAPE par une enzyme phospholipase D qui produit l'AEA. L'AEA est donc un lipide de signalisation intercellulaire directement synthétisé à partir de lipides membranaires ordinaires.

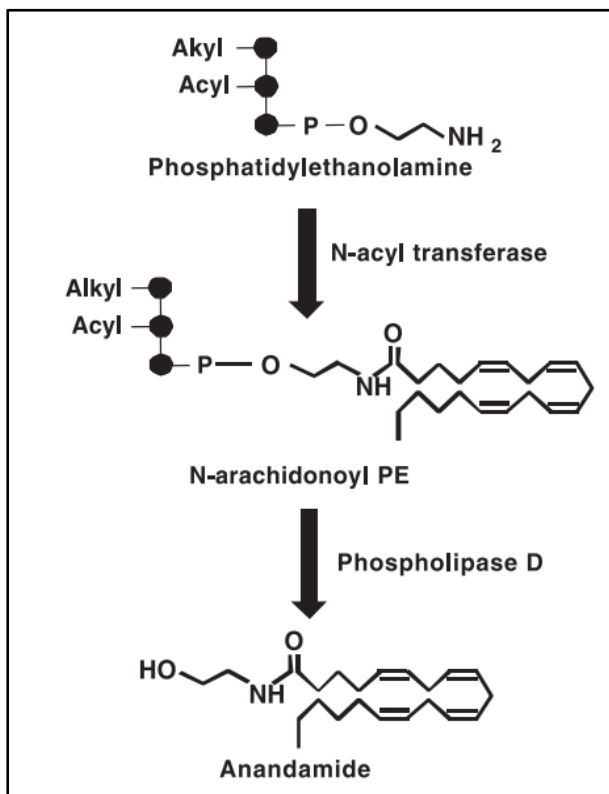


Figure 6 : Schéma illustrant les voies de biosynthèse de l'anandamide.

PE = Phosphatidylethanolamine. (adapté de (Freund et al., 2003)

Le 2-AG est un monoacylglycérol constitué d'un acide arachidonique lié à un glycérol par une liaison ester. La formation de 2-AG est déclenchée par la stimulation de l'activité neuronale ou en réponse à l'activation de certains récepteurs (notamment ceux de l'acétylcholine) (Higgs and Glomset, 1994). La synthèse du 2-AG s'effectue dans le neurone post-synaptique où elle est déclenchée par la dépolarisation postsynaptique et l'influx de Ca^{2+} dans le

neurone suite à l'activation des canaux Ca^{2+} voltage-dépendants. Elle s'effectue selon deux voies de synthèse principales (Figure 7). La première voie implique la transformation de phospholipides membranaires (comme le phosphatidylethanolamine) en diacylglycérol (DAG) sous l'action de l'enzyme phospholipase C (Basavarajappa, 2007), notamment engagée par l'activation de divers récepteurs au glutamate métabotropiques du groupe I (mGluR1 et mGluR5). Le DAG est ensuite hydrolysé par la diacylglycérol lipase (DAGL) pour générer du 2-AG (Bisogno et al., 1999). En plus d'être un intermédiaire dans les voies de biosynthèse des lipides, le DAG est aussi un lipide de signalisation activateur de la protéine kinase C. La

deuxième voie de synthèse conduit à la production de 2-AG à partir du phosphatidyl inositol grâce à l'action de l'enzyme lyso-phospholipase C (Lu and Mackie, 2016).

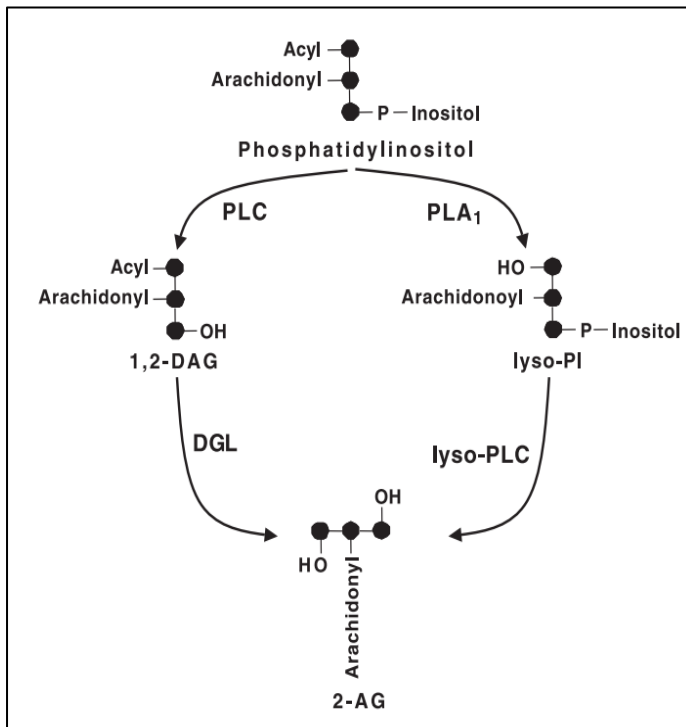


Figure 7 : Schéma illustrant les voies de biosynthèse du 2-arachidonoylglycérol (2-AG). PLC, phospholipase C; DAG, 1,2-diacylglycérol; DGL, 1,2-diacylglycérol lipase; PLA1, phospholipase A1; PI, phosphatidylinositol. Adapté de (Lu and Mackie, 2016)

Une fois dans le cerveau, les acides gras poly-insaturés sont estérifiés en phospholipides des membranes cellulaires. Lorsqu'ils sont libérés de la membrane, ils sont métabolisés en eCB ou en plusieurs dérivés avec les enzymes cyclooxygénase, lipoxygénase et cytochrome P450.

b) Mécanismes de dégradation

Une fois dans le cytosol, les eCBs sont principalement dégradés par deux enzymes intracellulaires spécifiques (sérines hydrolases). La fatty acide amide hydrolase (FAAH) catabolise l'AEA en acide arachidonique et en éthanolamine (Cravatt et al., 1996). Cette enzyme est exprimée de façon ubiquitaire dans le cerveau de rat et se trouve principalement au niveau des corps cellulaires et des dendrites des neurones. Bien que le 2-AG puisse également être dégradé par l'enzyme FAAH (Blankman et al., 2007), il est principalement catabolisé *in vivo* par une lipase du monoacylglycerol (MAGL) localisée sur les terminaisons pré-synaptiques. La MAGL hydrolyse le 2-AG en acide arachidonique et en glycérol. De façon intéressante, la localisation différentielle des enzymes FAAH et MAGL au niveau post- et pré-synaptique respectivement suggère des rôles différents pour leurs substrats préférés (AEA et 2-AG) dans le cerveau (Gulyas et al., 2004). Par ailleurs, les eCBs peuvent être dégradés en parallèle par oxydation via l'enzyme cyclooxygénase et la lipoxygénase (pour revue : Vandevorde and Lambert, 2007).

c) Transport et action

Les eCBs sont des dérivés d'acide gras formés à partir des lipides contenus dans les membranes des cellules. De l'ordre du nanomolaire par gramme de tissu, la concentration cérébrale de 2-AG est 200 fois plus importante que celle d'AEA (Sugiura et al., 2006). Dans le cerveau, ces molécules sont produites « à la demande » au niveau post-synaptique et sont libérées dans l'espace extracellulaire de façon rétrograde pour agir au niveau pré-synaptique. De par leur nature lipidique, ils ne sont pas stockés dans des vésicules synaptiques, et diffusent librement après leur production pour se fixer sur des récepteurs spécifiques, puis sont rapidement métabolisés localement. On les qualifie de ce fait de neurotransmetteurs non conventionnels.

B. SYSTÈME ENDOCANNABINOÏDE EN CONDITION D'OBÉSITÉ

1. Rôle du système endocannabinoïde dans la prise alimentaire et la masse corporelle

Le système eCB régule de nombreuses fonctions de l'organisme tels que la prise alimentaire ou le métabolisme glucido-lipidique au niveau périphérique. Le cannabis ou l'administration de 2-AG et d'AEA au niveau central ou périphérique, augmentent la prise alimentaire (Jamshidi and Taylor, 2001; Kirkham et al., 2002; Williams and Kirkham, 1999). Cet effet est dépendant du CB1R puisque l'administration d'un antagoniste sélectif du CB1R inhibe l'effet orexigène de l'AEA ou du 2-AG (Kirkham et al., 2002; Williams and Kirkham, 1999). Inversement, des souris déficientes en CB1R (KO CB1^{-/-}) sont résistantes à la prise de poids induit par la consommation d'un régime HLS (Massa et al., 2010; Ravinet Trillou et al., 2004). Le système eCB pourrait réguler la prise alimentaire en influençant la sécrétion de différentes hormones régulant l'appétit, telles que la ghréline (hormone orexigénique) et la leptine (hormone anorexigénique). A l'inverse, la leptine inhiberait au niveau hypothalamique la synthèse des eCBs (Di Marzo et al., 2001). D'une autre manière, le système eCB modulerait l'appétit et la digestion en exerçant des effets sur des systèmes liés au stress (axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien) et sur le système de la récompense (Hill and Gorzalka, 2006). Les CB1R sont également exprimés par les adipocytes blancs (Cota et al., 2003). Ils participent à la différenciation du tissu adipeux, puisque le blocage des CB1R *in vitro* induit la transformation de tissu adipeux blanc en tissu adipeux brun (Perwitz et al., 2010). Par ailleurs, le blocage

périphérique des CB1R induit une augmentation de la dépense énergétique, de l'oxydation lipidique et de la thermogénèse (Nogueiras et al, 2008; Verty et al, 2009). Dans les adipocytes, les eCBs inhibent l'expression de l'adiponectine et peuvent également provoquer une stimulation de la visfatine, toutes deux impliquées dans la résistance à l'insuline. Les eCBs régulent également le métabolisme lipidique au niveau hépatique. En effet, l'activation des CB1R des hépatocytes augmente l'expression des enzymes de la lipogénèse, conduisant à l'augmentation de la synthèse *de novo* d'acides gras, et favorisant l'obésité induite par la consommation d'un régime obésogène (Osei-Hyiaman et al., 2005). A l'inverse, le blocage périphérique des CB1R permet de corriger l'insulino-résistance chez des animaux obèses (Tam et al., 2010). Le CB1R est aussi exprimé par les cellules β des îlots pancréatiques où il inhibe la libération d'insuline via la régulation du calcium intracellulaire (Nakata and Yada, 2008). Le CB1R est également présent au sein du tractus gastro-intestinal, où ils régulent la motilité, la sécrétion, l'inflammation et la perméabilité intestinale (pour revue : DiPatrizio, 2016). L'action des eCBs sur le métabolisme peut également passer par le GPR55 et le TRPV1 et les PPAR (peroxisome proliferator activated receptors). De plus, les acyléthanolamides (métabolites de l'AEA) peuvent se lier et activer les PPAR sans pour autant activer les CB1R. Les PPAR appartiennent à une famille de récepteurs nucléaires qui agissent comme des facteurs de transcription et régulent l'expression de nombreux gènes impliqués dans l'homéostasie énergétique, le métabolisme lipidique, la différenciation des adipocytes et l'inflammation.

2. Surpoids, obésité et perturbation du système endocannabinoïde

a) Perturbation du système endocannabinoïde

Il est maintenant bien établi que l'obésité est associée à une hyperactivation du système eCB. En effet, chez l'Homme le système eCB semble être particulièrement actif chez les sujets obèses (pour revue : Bermudez-Silva et al., 2012). Ceci a été mis en évidence pour la première fois chez des femmes en surpoids et obèses souffrant d'hyperphagie boulimique et des femmes ménopausées obèses qui présentaient des taux sanguins élevés d'AEA et de 2-AG (Engeli et al., 2005; Monteleone et al., 2005). D'autres études ont ensuite confirmé cela chez des patients obèses (Blüher et al., 2006; Côté et al., 2007; Engeli, 2008). De plus, la perte de poids de sujets obèses est associée à une diminution des concentrations plasmatiques d'AEA et de 2-AG (Di Marzo, 2009). Par ailleurs, certaines études ont établi chez l'Homme des corrélations entre des polymorphismes du gène codant le CB1R, *cnr1* et l'obésité (Gazzerro et al., 2007).

En condition d'obésité, l'hyperactivité du système eCB se manifeste dans plusieurs organes clés du métabolisme énergétique. Des études ont montré une corrélation positive entre le tissu adipeux viscéral et les eCBs circulants (Blüher et al., 2006; Côté et al., 2007; Di Marzo and Matias, 2005). D'autres études ont également montré une augmentation des niveaux d'AEA et de l'expression des CB1R au niveau hépatique chez des souris nourries avec un régime HLS, impliquée dans l'apparition d'une stéatose et d'une insulino-résistance hépatique (Osei-Hyiaman et al., 2005). Inversement, l'activation des CB1R hépatiques active la néoglucogénèse, la lipogénèse de novo et diminue la β -oxydation des AG. D'autre part, il a été montré que la stimulation du système eCB conduit à une diminution de la captation de glucose par les muscles (Liu et al., 2005) et à une diminution de la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques (Matias et al., 2006). L'hyperactivité du système eCB est également retrouvée au niveau cérébral, et en particulier au niveau du noyau arqué de l'hypothalamus impliqué dans la régulation de la balance énergétique (Di Marzo et al., 2001; Yang et al., 2018).

b) Mécanismes impliqués

En condition d'obésité, l'augmentation des niveaux d'eCBs pourrait être due à une baisse des enzymes de dégradation des eCBs, comme cela a été observé dans les tissus adipeux, sous-cutané et viscéral, de patients obèses (Blüher et al., 2006). Cette baisse d'expression des enzymes de dégradation des eCBs pourrait être favorisée par l'insulino-résistance puisque l'insuline a une action régulatrice sur l'expression de la FAAH, enzyme de dégradation de l'AEA. De façon similaire, une augmentation de leptine circulante (ou hyperleptinémie) associée à l'obésité pourrait favoriser la hausse des niveaux d'eCBs au travers d'une leptino-résistance, puisque la leptine active directement l'expression de la FAAH sur sa région promotrice *via* le facteur de transcription STAT3 (Maccarrone et al., 2003). En effet, la leptine régule les niveaux des eCBs spécifiquement dans l'hypothalamus. En particulier, l'absence de leptine chez les souris *ob/ob* est associée à une augmentation des eCBs hypothalamiques et un traitement à la leptine diminue les concentrations hypothalamiques d'AEA et de 2-AG (Di Marzo et al., 2001).

D'une autre façon, les niveaux d'eCBs pourraient également être modulés directement par les apports nutritionnels en acides gras. En particulier, les niveaux cérébraux de 2-AG et d'AEA sont augmentés chez des souris nourries avec un régime déficient en acides gras polyinsaturés n-3 et riche en acides gras polyinsaturés n-6 (Watanabe et al., 2003). De même, les niveaux de 2-AG et d'AEA sont augmentés dans le foie, l'intestin grêle, le pancréas et le tissu adipeux chez des animaux nourris avec un régime HLS (Artmann et al., 2008; Matias et al., 2006). A

l'inverse, une privation alimentaire à long terme de précurseurs essentiels d'acides gras polyinsaturés induit une diminution des niveaux cérébraux de 2-AG et d'AEA chez les rongeurs (Hanus et al., 2003). Enfin, une élévation des glucocorticoïdes, souvent associée à l'obésité, pourrait aussi favoriser l'augmentation des niveaux d'eCBs, puisque les glucocorticoïdes sont également connus pour inhiber l'expression de l'enzyme de dégradation des eCBs, la FAAH (Malcher-Lopes et al., 2006)

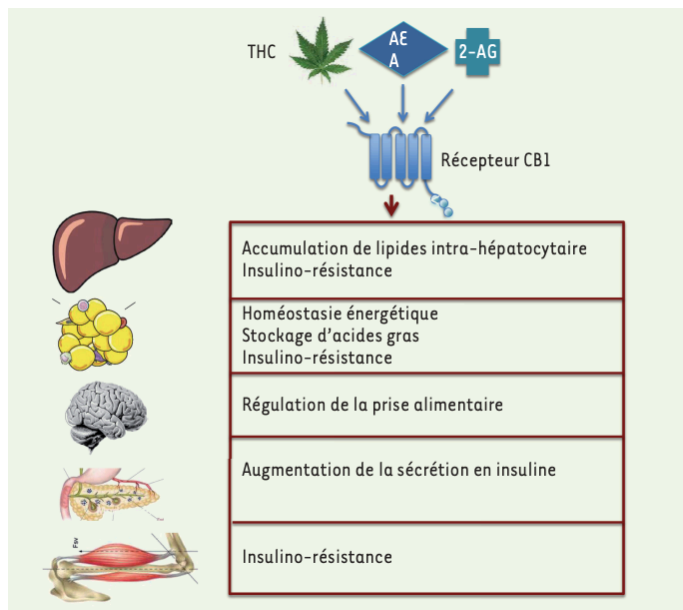


Figure 8 : Effets de l'activation du récepteur CB1 sur la régulation de la prise alimentaire en fonction des organes. (issu de Gilgenkrantz and Lotersztajn, 2018)

c) Les CB1R, une cible thérapeutique

Tandis que l'activation des CB1R affecte la régulation de la prise alimentaire (Figure 8) et augmente généralement le poids corporel, l'inactivation des CB1R par blocage pharmacologique ou par délétion génétique diminue la prise de poids et de nombreux paramètres associés à l'obésité. En effet, le blocage périphérique des CB1R avec un antagoniste spécifique provoque une perte de poids chez des souris obèses, induit par une augmentation de la dépense énergétique (Malcher-Lopes et al., 2006). Chez l'Homme aussi, le blocage des CB1R par l'administration de Rimonabant permet de diminuer significativement le poids corporel de patients en surpoids (Christensen et al., 2007). Par ailleurs, le Rimonabant améliore de nombreux paramètres métaboliques comme la prise alimentaire, la glycémie à jeun, l'hyperinsulinémie ainsi que le cholestérol et les triglycérides plasmatiques (Després et al., 2005; Pi-Sunyer et al., 2006; Scheen et al., 2006; Van Gaal et al., 2005). Malgré ses effets bénéfiques sur le métabolisme énergétique, le blocage chronique des CB1R au niveau du cerveau provoque l'apparition d'effets secondaires indésirables graves tels que l'augmentation de la dépression et les idées suicidaires (Christensen et al., 2007), découverte qui a conduit à

son retrait du marché en 2008, deux années après le début de sa commercialisation (Le Foll et al., 2009). Dès lors, de nombreux antagonistes des CB1R périphériques (ne passant pas la barrière hémato-encéphalique) ont été développés (pour revue : Cinar et al., 2020). Par ailleurs, chez le rongeur, la délétion des CB1R restreinte aux adipocytes diminue la prise de poids, et l'obésité induite par la consommation d'un régime HLS, par une augmentation de la biogenèse mitochondriale et de la thermogénèse (Silvestri and Di Marzo, 2013).

Le système eCB est donc fortement impliqué dans l'obésité et les troubles métaboliques induits par la consommation d'un régime alimentaire obésogène.

III. MÉMOIRE ET ADOLESCENCE

A. LA PHYSIOLOGIE DE LA MÉMOIRE

1. Les différents systèmes de mémoire

a) Généralités

La mémoire est un ensemble de processus qui permet d'acquérir, de stocker et de rappeler des informations, pour permettre l'adaptation du comportement futur de l'individu en fonction de son expérience passée. Après leur intégration sensorielle, certains éléments seront retenus alors que d'autres seront oubliés. Certains éléments ne sont retenus que quelques minutes, de manière transitoire, en mémoire de travail ou mémoire à court terme. D'autres informations vont être gardées plus longtemps en mémoire (heures, jours, semaines ...), on parle alors de mémoire à long terme. La mémoire à long terme se décompose en 3 étapes successives : l'encodage, le stockage, et le rappel des informations. L'encodage, ou acquisition, correspond à l'intégration sensorielle des informations. Le stockage de ces informations se fait par leur consolidation qui permet le passage de l'information d'une forme labile (mémoire à court terme) à une forme stable. Le rappel, ou restitution, est la phase de récupération des informations.

Le terme de « consolidation mnésique » a été utilisé pour la première fois en 1900 par Müller et Pilzecker. Deux processus de consolidation sont maintenant proposés. Tout d'abord, la consolidation cellulaire (ou synaptique), qui a lieu au cours des premières heures suite à un apprentissage. Elle est basée sur la réorganisation de synapses existantes ou la création de nouvelles synapses conduisant à des changements morphologiques permettant de stabiliser les connexions neuronales correspondant à la trace mnésique (Dudai, 2004). Ensuite, la consolidation systémique, s'opérant sur un délai bien plus long (semaines, mois, années). Celle-ci implique la réorganisation des circuits cérébraux avec notamment le désengagement de l'hippocampe au profit des structures corticales (transfert/réorganisation de la trace mnésique ; Frankland and Bontempi, 2005).

b) Machinerie cellulaire de la consolidation

L'inhibition de la synthèse protéique bloque la mémoire à long terme sans affecter la mémoire à court terme, indiquant que la synthèse de nouvelles protéines, indispensable à la réorganisation des synapses, est à la base de la consolidation de la mémoire. En effet la consolidation mnésique impliquerait l'activation spécifique de gènes ou de kinases (PKA, PKC, CREB ou NCAM) dans l'hippocampe pour la stabilisation synaptique (Abel et al., 1998; Colley

et al., 1990; Huang et al., 1992). Au niveau synaptique, un des substrats de la mémoire serait la potentialisation à long terme des synapses qui s'accompagne de nombreux changements cellulaires et moléculaires (Malenka & Nicoll, 1999). Lors d'un apprentissage, cette potentialisation permettrait de renforcer l'efficacité synaptique à long terme, c'est à dire la communication entre deux neurones (Lang et al., 2004; Segal, 2005; Zuo et al., 2005).

c) Proposition de classification des systèmes de mémoire

Les premières études de neuropsychologie ont permis d'observer que des lésions de certaines zones du cerveau chez des patients victimes de traumatismes, d'opérations chirurgicales ou de syndromes lésionnels entraînaient parfois des troubles comportementaux bien spécifiques. Le cas le plus connu est celui du patient H.M. opéré dans les années 50 (Scoville and Milner, 1957). Ce patient présentait un fort syndrome amnésique antérograde après la résection bilatérale de ses lobes temporaux médians, incluant l'hippocampe, pour traiter une épilepsie. En effet, après l'opération, H.M. était incapable de former de nouveaux souvenirs bien que sa mémoire à court terme ainsi que ses autres fonctions cognitives et capacités sensorielles soient préservées. Pour la première fois, ceci mit en évidence l'existence de plusieurs formes de mémoires, possédant des bases neurobiologiques différentes : des mémoires à court terme indépendantes de l'hippocampe et des mémoires à long terme dépendantes, pour certaines, de l'hippocampe (Milner, 1972). Suite à cela, de nombreuses études chez le singe et le rongeur ont permis de découvrir des liens entre l'intégrité de certaines structures cérébrales et certaines mémoires. Il apparait qu'il existe différents systèmes de mémoire à long terme, en fonction de l'information mémorisée, qui repose sur certaines structures cérébrales particulières. Aussi un modèle de classification des mémoires à long terme a été proposé chez l'Homme (Figure 9 ; Henke, 2010)

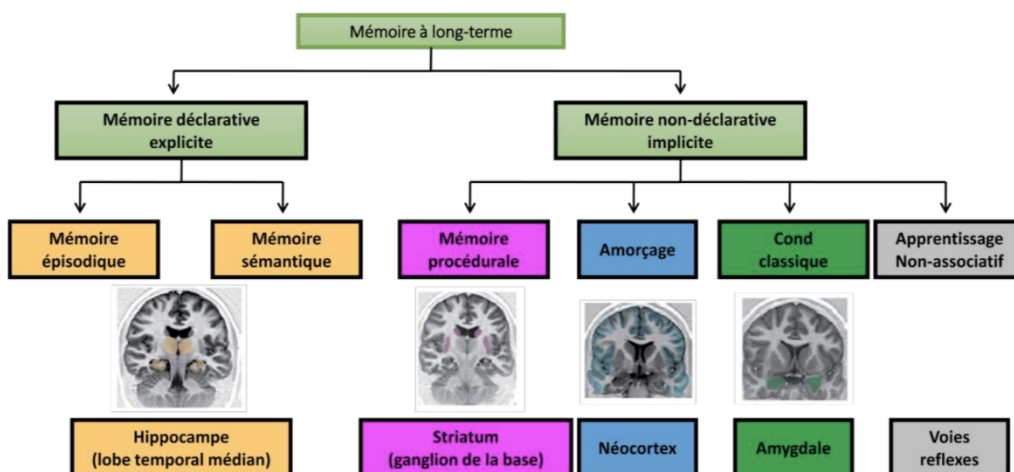


Figure 9 :
Classification des systèmes de mémoires à long terme.
 Cette classification montre les différentes sous catégories de mémoires et les principales structures cérébrales sous-tendant ces mémoires (issu de Henke et al. 2010)

2. Le système hippocampique

a) Cytoarchitecture de l'hippocampe et connexions

L'hippocampe fait partie du lobe temporal médian qui est crucial pour la mémoire épisodique et la navigation spatiale (Morris et al., 1982; Scoville and Milner, 1957; Squire, 1992). Cette structure sous-corticale a une conformation tridimensionnelle complexe et comporte plusieurs subdivisions anatomiques. En effet, l'hippocampe est composé du gyrus denté (DG), et de la corne d'Ammon (constitué des sous-régions CA1, CA2 et CA3). Par ailleurs, la formation hippocampique comprend les structures parahippocampiques permettant l'entrée (cortex entorhinal) et la sortie (*subiculum*) des informations. Pour équilibrer la neurotransmission glutamatergique excitatrice, l'hippocampe contient également un nombre important d'interneurones inhibiteurs GABAergiques. Au sein de la formation hippocampique, il existe deux types de neurones glutamatergiques principaux : les cellules granulaires du DG et les cellules pyramidales des champs ammoniques.

Les corps des cellules granulaires se situent dans la couche principale *stratum granulosum* du DG et leurs projections axonales, appelées « fibres moussues », innervent l'aire CA3. Le DG est également composé de deux autres couches : le *hile*, couche profonde polymorphe, et *stratum moleculare*, couche superficielle formée par les dendrites apicales des cellules granulaires ainsi que leurs afférences. Les corps des cellules pyramidales se trouvent eux dans la couche *stratum pyramidale* de la corne d'Ammon et les projections axonales, du CA3 appelées « collatérales de Schaffer », innervent les aires CA1 et CA2, le CA2 projetant sur le CA1. Les cellules du CA1 projettent vers le subiculum, qui est la principale voie de sortie de l'hippocampe. La corne d'Ammon est composée de deux autres couches : le *stratum oriens*, couche polymorphe comprenant des fibres afférentes et efférentes ainsi que des interneurones GABAergiques, et le *stratum moleculare* formée par les dendrites apicales des cellules pyramidales ainsi que leurs afférences. Ainsi, l'hippocampe possède des connexions intrinsèques reliant l'ensemble de ses régions formant le circuit tri-synaptique (Figure 10). Dans ce circuit, les principales voies hippocampiques sont unidirectionnelles (du DG vers le CA1 en passant par CA3 et CA2). Ce circuit tri-synaptique ainsi que l'activité récurrente au sein du CA3 jouent un rôle central dans les modèles théoriques proposés pour le rôle de l'hippocampe.

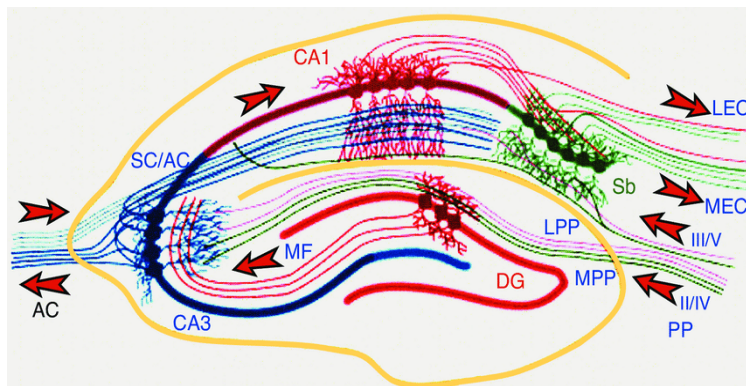


Figure 10 : Représentation schématique de l'hippocampe.

Connexions intra-hippocampiques du circuit trisynaptique en coupe frontale de l'hippocampe. Cortex entorhinal (EC), gyrus denté (DG), subiculum (Sb), voie perforante latérale et médiale (LPP/MPP), fibres moussues (MF), voie collatérale de Schaffer (SC), voie associationnelle et commissurale (AC) (issu de Kesner, n.d., p. 8).

Par ailleurs, l'hippocampe possède des voies de sortie (ou efférences), le reliant à d'autres structures cérébrales. La principale efférence dorsale de l'hippocampe est formée par le *fornix* qui est constitué des axones des cellules pyramidales hippocampiques projetant vers d'autres régions du cerveau comme le *septum* et l'hypothalamus. L'autre voie de sortie importante de l'hippocampe passe par le *subiculum* où les cellules pyramidales du CA1 projettent vers le cortex entorhinal. Ce dernier va à son tour émettre des projections vers différentes aires associatives du néocortex telles que le cortex préfrontal ou le cortex orbitofrontal. En parallèle de ces deux voies principales, le CA1 de l'hippocampe projette vers les noyaux de l'amygdale, les cortex entorhinal, périrhinal et postrhinal et d'autres régions corticales.

Par ailleurs, l'hippocampe peut être divisé en deux parties : une partie dorsale (postérieure chez l'homme) et une partie ventrale (antérieure chez l'homme) avec une anatomie et des fonctions distinctes (Pitkänen et al, 2000; Strange et al, 2014). L'hippocampe dorsal est plus impliqué dans la mémoire et la navigation spatiale alors que l'hippocampe ventral participe plutôt aux comportements de type anxieux (Strange et al, 2014 ; mais voir Bakoyiannis et al., 2023 pour son rôle mnésique). Par ailleurs ils possèdent des afférences et des efférences bien distinctes. L'hippocampe dorsal est principalement connecté avec le néocortex (entorhinal et rétrospléniale) ainsi que le *septum* latéral tandis que l'hippocampe ventral est principalement connecté avec les structures sous-corticales (amygdale, *nucleus accumbens*, *septum* latéral et hypothalamus) et le cortex frontal (Fanselow and Dong, 2010; Figure 11).

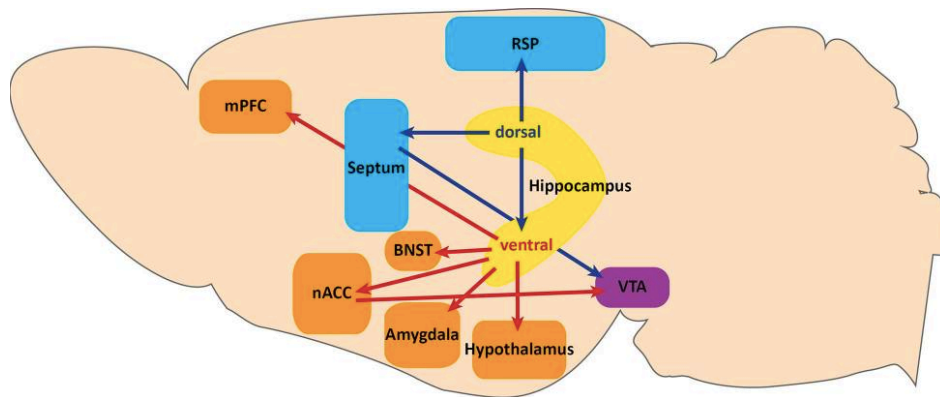


Figure 11 : Projections de l'hippocampe le long de l'axe dorso-ventral.

L'hippocampe dorsale projette vers la zone rétrospléniale (RSP) du cortex cingulaire antérieur, vers l'aire tegmentale ventrale (ATV) via le septum et vers la partie ventrale de l'hippocampe. L'hippocampe ventrale projette vers le cortex préfrontal médian (mPFC), l'hypothalamus, l'amygdale, les noyaux du lit de la strie terminale (BNST) et l'ATV via le noyau accumbens (nACC) (issu de Tannenholz et al., 2014)

b) Hippocampe et mémoire

Chez l'homme, l'hippocampe est indispensable à la *mémoire déclarative*, basée sur la capacité de verbaliser les expériences vécues et notamment « ce que j'ai fait, où et quand je l'ai fait » (*what, where, when*). Par exemple, je suis capable de me rappeler où j'ai mangé hier, ce que j'ai mangé et à quelle heure. Lorsque je me remémore ce souvenir, je suis également capable de me souvenir d'autres éléments contextuels comme par exemple les personnes avec qui j'ai mangé, la couleur de mes aliments, mon humeur à ce moment, etc.

Si l'existence de la verbalisation et la conscience de soi font encore débat chez l'animal, on peut mettre en place chez eux des évaluations comportementales (n'impliquant pas la verbalisation) permettant de tester un proxy de la mémoire déclarative, la *mémoire épisodique*. Ainsi, pour la première fois, Clayton et Dickinson en 1998 démontrèrent que des geais sont capables de retrouver quel type de nourriture ils ont précédemment caché, quand et où ils l'ont cachée, indiquant qu'ils présentent des capacités similaires à celles de la mémoire épisodique chez l'humain. Depuis, d'autres études ont confirmé l'existence de mémoire de type épisodique chez les rongeurs, dépendante de l'intégrité de l'hippocampe (Dere et al., 2005; Eacott and Norman, 2004).

Par ailleurs, l'hippocampe est caractérisé par la présence de cellule « de lieu », cellule s'activant lorsque l'animal passe à des endroits précis de son environnement et qui permettrait donc à l'individu de former une représentation spatiale de son environnement (O'Keefe and Nadel, 1978). D'ailleurs, Richard Morris en 1984 a démontré l'implication de l'hippocampe dans la *mémoire spatiale* puisqu'une lésion de l'hippocampe, en particulier sa partie dorsale, diminue les performances de mémoire spatiale, sans affecter les aspects motivationnels et moteurs

(Moser et al., 1993, 1995). D'autres études ont permis de montrer que l'hippocampe ne serait pas exclusivement dédié à la mémoire spatiale mais contribuerait également à d'autres formes de mémoire, telle que la *mémoire de reconnaissance* (voir paragraphe III.A.4.a) ou la *mémoire contextuelle* (voir paragraphe III.A.4.b) et plus généralement à la *mémoire relationnelle* permettant d'élaborer des liens entre différents éléments (*what*) liés dans l'espace (*where*) et/ou le temps (*when*; Eichenbaum et al., 1989; Etchamendy et al., 2003).

3. Le cortex préfrontal

a) Cytoarchitecture du cortex préfrontal et connexions

Le cortex préfrontal (CPF) est une aire associative située à l'avant du lobe frontal. Chez les rongeurs, le CPF est communément divisé en trois régions (Figure, Dalley et al., 2004) : *ventrale*, principalement composé des aires orbitales, *latérale*, composé du cortex insulaire, et *médiane*, correspondant au cortex préfrontal médian (CPFm ou mPFC) composé du cortex pré-central médian, du cortex cingulaire antérieur, du cortex prélimbique, du cortex infralimbique et du cortex orbital médian (Figure 12).

Par la suite, nous nous intéresserons plus particulièrement au CPFm en raison de son implication dans les processus de mémorisation.

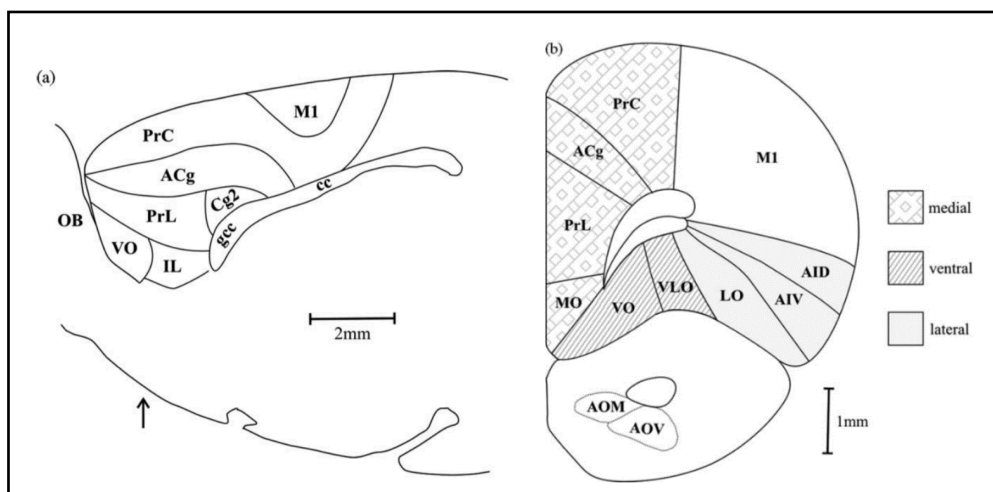


Figure 12 : Organisation du cortex préfrontal chez le rongeur

(a) : Coupe sagittale 0,9 mm depuis la ligne médiane. (b) : Coupe coronale 3,5 mm du bregma (indiqué par la flèche). Les légendes représentent les trois sous-divisions du CPF (médian, ventral et latéral). Abréviations : ACg, cortex cingulaire antérieur ; AID, cortex agranulaire insulaire dorsal ; AIV, cortex agranulaire insulaire ventral ; AOM, noyau olfactif médian antérieur ; AOV, noyau olfactif ventral antérieur ; cc, corps calleux ; Cg2, cortex cingulaire 2 ; IL, cortex infralimbique ; LO, cortex orbital latéral ; MI, aire motrice primaire ; MO, cortex orbital médian ; OB, bulbe olfactif ; PrL, cortex prélimbique ; PrC, cortex précentral ; VLO, cortex orbital ventro-latéral. (issu de : (Dalley et al., 2004).

Considéré comme l'équivalent du CPF dorsolatéral et ventromédian chez le primate (Vertes 2003; Seamans et al. 2008), le CPFm est subdivisé en deux zones selon un axe dorso-ventral (Heidbreder and Groenewegen, 2003): une partie dorsale comprenant le cortex cingulaire antérieur et le cortex prélimbique et une partie ventrale comprenant : le cortex infralimbique et le cortex orbital médian. La partie dorsale du CPFm est connectée de façon réciproque avec les aires corticales sensorimotrices tandis que la partie ventrale est connectée avec le cortex orbitofrontal, les zones corticales temporales (cortex entorhinal et périrhinal) et des structures limbiques comme le noyau accumbens et l'amygdale (Figure 13). De plus, les zones ventrales du CPFm sont les seules à recevoir des projections de l'hippocampe ventral (Vertes, 2004).

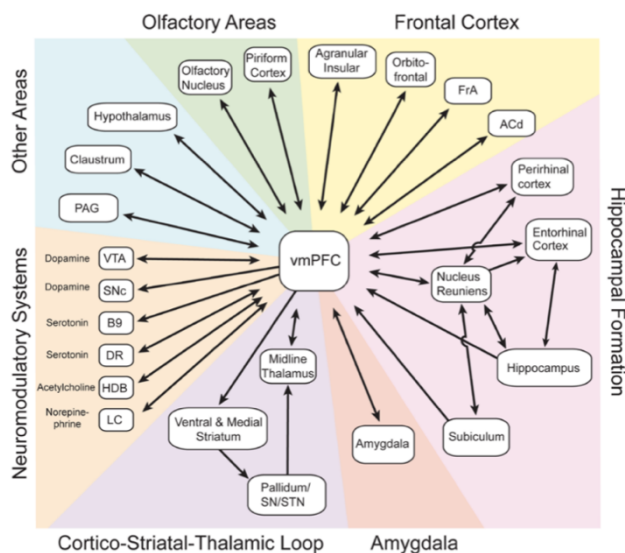


Figure 13 : Connexions anatomiques majeures du cortex préfrontal ventromédian (vmPFC)
(issu de Euston et al., 2012)

Le CPF partage des caractéristiques avec les autres aires du néocortex puisque sa structure est organisée de façon laminaire (Figure 14). Le CPF est ainsi composé de 6 couches distinctes (5 chez le rongeur), numérotées à partir de la surface. Cette organisation laminaire repose sur la répartition des différents types neuronaux et de leurs projections :

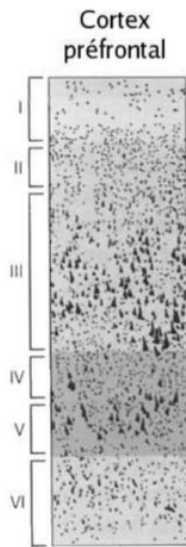
- La **couche I** (couche moléculaire) se compose principalement des dendrites des neurones pyramidaux des couches plus profondes ainsi que des projections axonales en provenance d'autres régions corticales et sous-corticales comme le CPFm, l'hippocampe ventral et certains noyaux thalamiques (Cruikshank et al., 2012).

- La **couche II** (couche granulaire externe) est composée de neurones pyramidaux appelées cellules granulaires, avec une grande arborisation dendritique (van Aerde and Feldmeyer, 2015). Ces neurones reçoivent des afférences du CPFm, des cortex insulaire et périrhinal, du noyau médiodorsal du thalamus, de l'hypothalamus latéral, du striatum, de l'amygdale

basolatérale et de l'hippocampe ventral. En retour, ils projettent vers l'amygdale basolatérale, le cortex périrhinal et le CPFm controlatéral (Gabbott et al., 2005; Little and Carter, 2012).

- La **couche III** (ou couche pyramidale externe), contient une grande concentration de cellules pyramidales aux propriétés hétérogènes. Les couches II et III sont considérées comme une seule et même couche II/III. La majorité des neurones pyramidaux de cette couche ont des projections dites « interlaminaires » vers les couches plus profondes (Ueta et al., 2013).

- La **couche V** (couche pyramidale interne) contient des neurones pyramidaux qui constituent les principales voies de sortie du CPF prélimbique, et sont classés en type de neurones (type A ou type B). Ces neurones projettent vers le cortex controlatéral, le striatum et l'amygdale basolatérale. En retour, ces neurones reçoivent des afférences de nombreuses régions corticales et sous-corticales vers lesquelles le CPF projette, soit directement dans la couche V, soit indirectement via les neurones pyramidaux des couches II/III.



- La **couche VI** (couche polymorphe) contient des neurones étoilés, pyramidaux et fusiformes qui projettent majoritairement vers le thalamus, mais également l'hypothalamus latéral, le striatum et l'amygdale.

Figure 14 : Représentation schématique de l'organisation laminaire du cortex préfrontal

Le CPF se compose principalement de cellules pyramidales glutamatergiques excitatrices (80-90%) et d'interneurones GABA inhibiteurs (10-20%), présents dans toutes les couches laminaires du CPF. Ces derniers, bien que peu nombreux, régulent l'activité excitatrice dans le CPF (Markram et al., 2004). Ils présentent également une forte hétérogénéité en fonction de leurs caractéristiques morphologiques, physiologiques, moléculaires ou de leurs sites d'action (Gabbott et al., 2005; Kawaguchi and Kondo, 2002). L'activité de ces neurones est également sous le contrôle de systèmes neuromodulateurs comme le système eCB ou le système dopaminergique (Seamans and Yang, 2004).

b) Cortex préfrontal et mémoire

Le CPF, du fait de sa cytoarchitecture et de sa connectivité spécifique, assure les fonctions cognitives supérieures, telles que la prise de décision, le raisonnement, la planification ou

encore la flexibilité comportementale (Barbas, 2015; Euston et al., 2012). En jouant le rôle d'interface de nombreux circuits impliqués dans la cognition et les émotions, le CPF permet la planification des actes quotidiens et l'adaptation des comportements. Chez l'Homme, une atteinte du CPF induit de multiples perturbations cognitives et comportementales (mémoire, langage, attention, motricité, jugement, raisonnement, humeur et motivation). Le CPF joue notamment un rôle crucial dans la mémoire de travail, qui elle-même sous-tend le stockage et la manipulation temporaire d'informations pour la réalisation de tâches complexes comme la compréhension du langage ou le raisonnement (Baddeley, 2003). Par ailleurs, le CPF est impliqué dans la consolidation systémique. En effet, les informations sont consolidées par le « transfert » de la trace mnésique de l'hippocampe vers le cortex, en particulier le CPF. En effet, chez l'Homme, l'activation de l'hippocampe lors du rappel diminue avec le passage du temps, alors que celle du cortex augmente.

4. Modèles d'études de la mémoire

a) La mémoire de reconnaissance

- Processus

La mémoire de reconnaissance (des gens, des visages, des objets, des lieux ...) correspond à un sous-type de mémoire de type épisodique. Les théories de la reconnaissance mnésique distinguent deux processus différents lors du rappel de cette mémoire : la familiarité et la remémoration (recollection). La familiarité est un sentiment immédiat d'avoir rencontré précédemment un évènement, un individu ou un objet sans rappel conscient des détails de l'expérience vécue. La remémoration implique un rappel conscient des détails spécifiques de l'expérience vécue (Eichenbaum et al., 2007). Les auteurs s'accordent en général sur l'idée que ces deux processus fonctionnent séparément (Yonelinas et al., 2005). L'identification des structures cérébrales impliquées dans ces processus reste à clarifier.

- Protocoles expérimentaux

La tâche de mémoire de reconnaissance d'objet (MRO) a beaucoup été utilisée pour étudier la mémoire chez le rongeur (Ennaceur and Delacour, 1988). Cette tâche non-spatiale présente l'avantage d'être non aversive et de ne pas utiliser de récompense alimentaire. Elle est systématiquement composée d'une première phase : la phase d'acquisition, où le rongeur explore deux objets (souvent identiques). Après un certain délai temporel (temps de rétention mnésique), dans la phase de test, l'animal explore à nouveau deux objets placés aux mêmes endroits que lors de la phase d'acquisition dans la même arène, mais l'un des deux objets familiers a été remplacé par un nouvel objet (Figure 15). La MRO est alors basée sur la

préférence spontanée des rongeurs à explorer davantage l'objet nouveau par rapport à l'objet familier (Aggleton et al., 2010; Broadbent et al., 2010). Toutefois, les protocoles varient en fonction des études (délai de rétention, présence d'une habituation...). Notamment le temps de rétention mnésique peut varier de 1 h à 24 h (ou plus) afin d'étudier différents types de mémoire (à court ou à long terme) sollicitant différentes structures cérébrales. Certains protocoles incluent également une phase d'habituation au contexte la veille de la phase d'acquisition. Dans ce protocole, les objets sont codés pendant l'acquisition selon un processus qui n'implique probablement pas le traitement d'informations contextuelles (déjà intégrées pendant l'habituation) et donc solliciterait peu l'hippocampe. A l'inverse, sans phase d'habituation, les nouveaux objets sont mémorisés en même temps que le nouveau contexte, ce qui favoriserait les associations contextuelles et augmenterait ainsi l'implication de l'hippocampe.

Par ailleurs, la performance de MRO est influencée par l'état émotionnel de l'animal. Par exemple, l'acquisition de la MRO dans un nouveau contexte altère la MRO à long terme, mais pas à court terme, par rapport à un contexte familier (Maroun and Akirav, 2008). Ces effets impliquent le système glucocorticoïde (Okuda et al., 2004).

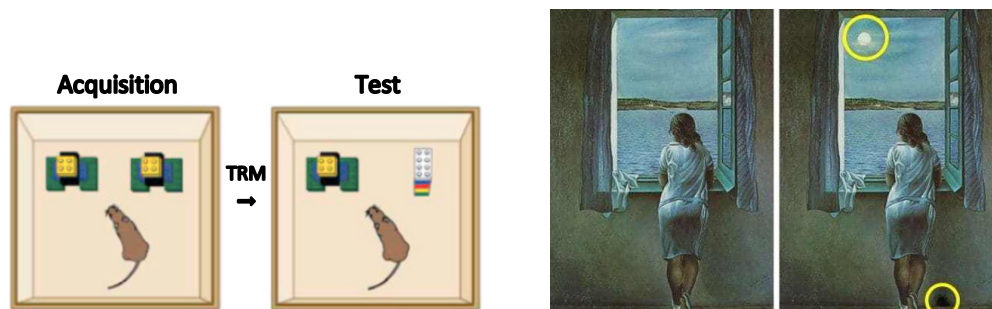


Figure 15 : Les configurations du test de mémoire de reconnaissance d'objet chez le rongeur et chez l'Homme. (adapté de Moreno-Castilla et al., 2018. Peinture : *Jeune fille à la fenêtre*, Salvador Dalí, 1925). TRM: temps de rétention mnésique

- Structures cérébrales impliquées

Parmi les structures cérébrales identifiées chez le rongeur, le cortex périrhinal apparaît comme fortement impliqué dans la MRO, puisque des lésions du cortex périrhinal perturbent fortement la MRO dès le court terme (Bussey et al., 1999; Mumby and Pinel, 1994; Barker and Warburton, 2011). Le rôle de l'hippocampe dans la MRO a quant à lui longtemps été débattu. En effet, la tâche de MRO semble induire certaines modifications dans l'hippocampe, notamment des changements de potentialisation à long-terme et de plasticité synaptique (Clarke et al., 2010). L'acquisition de la MRO induit également une augmentation de l'expression de c-Fos, marqueur de l'activité neuronale, dans le cortex périrhinal mais également dans l'hippocampe,

(Barbosa et al., 2013). Cependant, les lésions de l'hippocampe n'affectent les performances de MRO que pour la MRO à long terme (délai \geq 24 ou 48 heures) ou lorsque le protocole de MRO comporte une composante spatiale, contextuelle et/ou temporelle (Barbosa et al., 2013; Barker and Warburton, 2011; Forwood et al., 2005; Winters et al., 2004).

En revanche, des lésions permanentes peuvent également déclencher des mécanismes compensatoires et une réorganisation des circuits qui masquerait le rôle de la structure lésée, en l'occurrence l'hippocampe. Pour pallier à ce problème, des études ont utilisé des manipulations pharmacologiques transitoires et ont démontré que l'inactivation de l'hippocampe altère la MRO à 24 h, mettant en évidence le rôle crucial de l'hippocampe dans la MRO à long terme chez le rat (de Lima et al., 2006; Rossato et al., 2007) ou la souris (Cohen et al., 2013). Enfin, des études ont récemment suggéré que le cortex périrhinal serait spécifiquement impliqué dans la familiarité, tandis que l'hippocampe serait plutôt impliqué dans la « recollection », c'est-à-dire le souvenir des informations précises de l'acquisition de la MRO (Brown and Aggleton, 2001; Cohen et al., 2013). Plus spécifiquement, les cortex périrhinal, parahippocampique et entorhinal ont été identifiés pour leur rôle dans le traitement des informations « quoi » et « où ». Classiquement, l'information « quoi » du cortex périrhinal et l'information « où » des cortex parahippocampique et entorhinal seraient transmises à l'hippocampe permettant l'association des informations entre elles (« quoi » et « où » ; pour revue : Cohen and Stackman, 2015).

Le rôle du CPF dans la MRO est aujourd'hui encore largement débattu. Bien que dans certaines cas, des lésions du CPFm n'ont pas d'effet sur la MRO (Barker et al., 2007), d'autres études indiquent que des lésions de cette structure altèrent la MRO (Bachevalier and Mishkin, 1986; Kolb et al., 1994; Meunier et al., 1997). Par ailleurs, l'inhibition transitoire du CPFvm altère la MRO à long-terme, sans affecter la MRO à court-terme, ce qui suggère que le CPFvm est impliqué dans la consolidation de la MRO (Akirav and Maroun, 2006). De plus, la MRO induit une augmentation de l'expression de c-Fos dans le CPF suggérant là encore le recrutement du CPF dans la tâche de MRO (Barbosa et al., 2013). Comme le cortex périrhinal, le CPFm semble plus particulièrement impliqué dans la familiarité (Miller et al., 1996; Xiang and Brown, 2004), comme le suggère l'interconnectivité entre ces deux structures (Delatour and Witter, 2002).

b) La mémoire de peur contextuelle

- Protocoles expérimentaux

Dans la nature, l'apprentissage de peur conditionnée permet à une proie d'anticiper l'arrivée d'un prédateur et de déclencher des réponses de fuite, de défense ou d'attaque pour préserver

la survie de l'individu. Si le chien du voisin vous a déjà mordu par exemple, vous allez probablement être craintif à chaque fois que vous retournerez sur son terrain. Vous avez associé le jardin du voisin (arbres/bâtiments) à la morsure du chien.

En laboratoire, le conditionnement Pavlovien aversif consiste à présenter un stimulus sensoriel neutre et unimodal tel qu'un son, appelé *stimulus* conditionnel (SC), qui prédit l'arrivée d'un stimulus inconditionnel (SI) aversif (e.g. un choc électrique sur les pattes) dans un contexte donné. Ici, le SC est saillant car il se distingue des stimuli formés par le contexte qui sont continus, polymodaux et de différentes modalités sensorielles : visuels, auditifs, tactiles et olfactifs. Ainsi, après l'appariement SC-SI lors de l'acquisition (ou conditionnement), la présentation seule du SC produit une réponse conditionnée anticipatrice du SI. Chez le rongeur, il s'agit de réponses comportementales de peur comme l'immobilité (*freezing*) qui est défini par un arrêt total des mouvements exceptés les mouvements respiratoires (Blanchard and Blanchard, 1969; Sigmundi et al., 1980). La présentation répétée du SC seul diminue la réponse de peur puisqu'il ne prédit plus l'arrivée d'un choc électrique (Maren and Quirk, 2004; Quirk and Mueller, 2008). Ce phénomène d'extinction de la peur conditionnée consiste en la formation d'une nouvelle mémoire associée à une situation non-aversive (Pavlov, 1927) et permet donc la diminution progressive des réponses comportementales et somatiques de peur. Il est important de souligner que les protocoles de conditionnement varient en fonction des études : les conditionnements de délai ou de trace implique un SC élémentaire (son), ou bien le conditionnement au contexte où les animaux sont conditionnés au contexte (Figure 16).

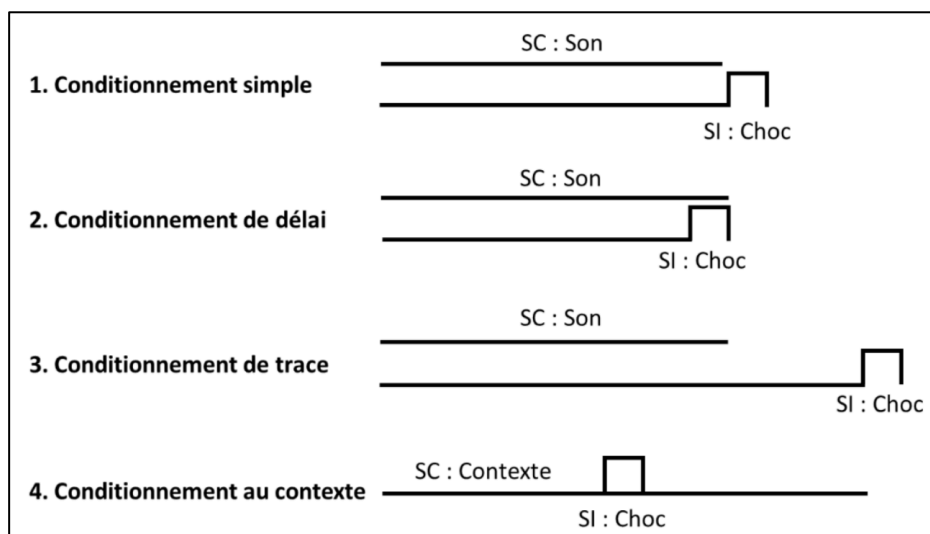


Figure 16 : Schémas des différents types de conditionnement de peur Pavlovien (Issu du manuscrit de thèse de Chloé Bouarab)

- Structures cérébrales impliquées

Le conditionnement de peur implique différentes structures cérébrales comme l'hippocampe, l'amygdale et le CPF. Toutefois, les différents types de conditionnement font intervenir différentes structures cérébrales. Premièrement, l'amygdale semble sous-tendre l'association entre un SC et un SI dans les conditionnements simple et de délai (condition dite « appariée ») où la contingence entre les deux *stimuli* est maximale (LeDoux, 2000; Paré et al., 2004). Le conditionnement au contexte, en dissociant le choc électrique et le son (condition dite « non appariée » ; Trifilieff et al., 2006; Bergstrom et al., 2011, 2012), favoriserait le traitement hippocampique pour l'apprentissage et le traitement de la mémoire de peur contextuelle (Desmedt et al., 2003; Kim and Fanselow, 1992). La majorité des études indique que l'hippocampe est nécessaire au conditionnement au contexte (Holland and Bouton, 1999). En effet, des lésions de l'hippocampe perturbent spécifiquement le conditionnement au contexte, mais pas le conditionnement au son (Kim and Fanselow, 1992; Phillips and LeDoux, 1992). Cependant, des lésions de l'hippocampe avant l'apprentissage ne semblent pas toujours avoir un effet délétère (Cho et al., 1999; Frankland et al., 1998; Maren et al., 1997), suggérant que le conditionnement contextuel pourrait également impliquer d'autres structures cérébrales extra-hippocampiques comme l'amygdale.

Le réseau amygdalo-préfrontal est par ailleurs fortement impliqué dans l'apprentissage et l'extinction du conditionnement de peur Pavlovien. Au niveau anatomique, les efférences du CPF_{dm} projettent vers l'amygdale basolatérale tandis que celles du CPF_{vm} projettent majoritairement vers l'amygdale latérale et basomédiale (McDonald, 1998; McDonald et al., 1996; Vertes, 2004). L'amygdale serait essentielle à l'induction de la peur tandis que le CPF_{dm} permettrait son maintien dans le temps (Miller and Cohen, 2001; Sierra-Mercado et al., 2011; Sotres-Bayon et al., 2012). Par ailleurs, les CPF_{dm} et CPF_{vm} sont différenciellement recrutés (Orsini et al., 2011). En effet, le CPF_{dm} permettrait d'une part de favoriser le maintien de l'expression de la peur et sa rétention mnésique alors que le CPF_{vm} serait impliqué dans l'extinction de la mémoire de peur ainsi que son maintien en mémoire (Corcoran and Quirk, 2007; Orsini et al., 2011; Sotres-Bayon and Quirk, 2010). Compte tenu de ses relations réciproques et étroites avec le système limbique, le CPF joue donc un rôle capital dans la régulation émotionnelle ainsi que dans la mémoire de peur.

5. Système endocannabinoïde et mémoire

a) Signalisation cérébrale du CB1R et modulation des fonctions synaptiques

L'activation des CB1R pré-synaptiques par les eCBs entraîne une diminution de la libération de neurotransmetteurs, comme le glutamate et le GABA (Kreitzer and Regehr, 2001; Maejima et al., 2001; Ohno-Shosaku et al., 2001; Wilson and Nicoll, 2001). Les eCBs peuvent également inhiber la libération d'autres neurotransmetteurs comme la noradrénaline, la sérotonine, l'acétylcholine, la glycine et de nombreux neuropeptides (pour revue : Venance et al., 2004).

Les eCBs, *via* les CB1R, agissent principalement sur quatre voies de signalisation cellulaire dépendantes des protéines G : l'activité de l'adénylate cyclase, l'activation de la voie des MAP kinases, la voie PI3K/Akt et la perméabilité de canaux ioniques (calciques et potassiques) (Barbosa et al., 2013 ; Figure 17). L'activation du CB1R par la liaison d'un agoniste entraîne le recrutement et l'activation de protéines G, principalement de type G α i/o inhibitrice. La protéine G α i/o induit la fermeture des canaux calciques et module différents canaux potassiques (Adermark and Lovinger, 2009; Puente et al., 2011). L'activation de la protéine G α i/o va également moduler l'activité de l'adénylate cyclase. Cette dernière produit l'AMP cyclique, un messager secondaire intracellulaire qui, par l'intermédiaire de la protéine kinase A, active la voie ERK/CREB régulatrice de l'expression génique. Par ailleurs, l'activation de la protéine G α i/o au niveau du récepteur entraîne la libération d'un dimère G $\beta\gamma$ qui agit sur d'autres effecteurs. Tout d'abord, il active l'enzyme phospholipase C qui permet la synthèse d'inositol-triphosphate. En se liant sur des canaux calciques du réticulum endoplasmique, l'inositol-triphosphate permet d'augmenter la concentration cytoplasmique en calcium. En parallèle, G $\beta\gamma$ module l'activité de l'adénylate cyclase et de différentes kinases (dont celles impliquées dans les voies des MAPK, PI3K/Akt, JNK et ERK ; Bouaboula et al., 1995). Les MAP kinases activent à leur tour d'autres kinases comme P38-kinase et JNK, impliquées dans la régulation de gènes et dans l'apoptose (Rueda et al., 2000). Également modulée dans la signalisation des CB1R, la voie PI3K/Akt a un rôle dans la régulation de la survie cellulaire et du métabolisme du glucose (Gómez del Pulgar et al., 2000). Enfin, la protéine kinase ERK, un effecteur majeur de la signalisation des CB1R est impliquée dans le contrôle CB1R-dépendant des processus de récompense (Valjent et al., 2001) et de mémoire (Cannich et al., 2004). Des études ont également montré que le CB1R pouvait également activer des protéines G α s (Hampson and Deadwyler, 2000) et G α q (Navarrete and Araque, 2008) conduisant à la production de d'AMP cyclique et à une augmentation du calcium intracellulaire.

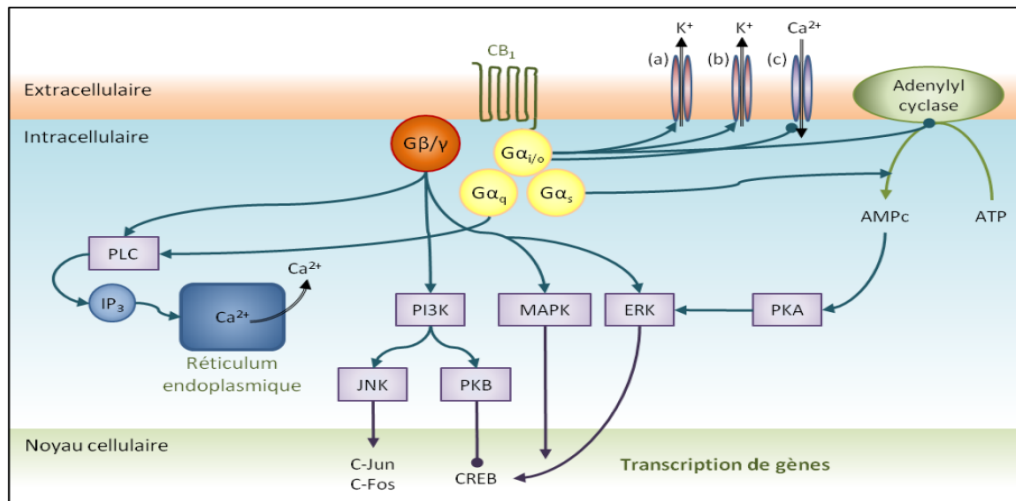


Figure 17 : Schéma des voies de signalisation du récepteur CB1

• *Plasticité à court-terme :*

Comme détaillé précédemment, l'activation des CB1R au niveau présynaptique va inhiber la libération des neurotransmetteurs. Ce mécanisme repose sur une nouvelle forme de plasticité synaptique : la "suppression de l'inhibition induite par la dépolarisation" ou DSI, démontrée en premier dans le cervelet et l'aire CA1 de l'hippocampe (Llano et al., 1991; Pitler and Alger, 1992). Ce phénomène conduit à une diminution de courte durée de la transmission GABA inhibitrice induite par la dépolarisation calcique des neurones postsynaptiques (Brenowitz and Regehr, 2003). Le CB1R régule la DSI puisque l'administration d'antagonistes bloque complètement la DSI dans l'hippocampe (Jennings et al., 2003; Wilson and Nicoll, 2001). Tout d'abord, les eCBs sont synthétisés dans les neurones postsynaptiques à la suite de la dépolarisation calcique induite par la stimulation de différents récepteurs (Figure 18). En effet, la stimulation des mGluRs va induire l'activation de la phospholipase C, nécessaire à la synthèse du 2-AG et la libération de calcium permettant la synthèse d'AEA. Une fois synthétisé, les eCBs vont activer les CB1R localisés sur le neurone présynaptique. Via la protéine Gi/o, le CB1R entraîne la fermeture des canaux calciques voltage-dépendants diminuant l'entrée d'ions calcium, ce qui diminue la libération des neurotransmetteurs par exocytose, phénomène dépendant du calcium. La libération des eCBs étant suffisante pour provoquer une inhibition rétrograde transitoire de la transmission synaptique, ces molécules endogènes apparaissent comme des médiateurs majeurs de la plasticité synaptique à court terme. Un phénomène similaire a lieu dans les neurones glutamatergiques excitateurs : la "suppression de l'excitation induite par la dépolarisation" ou DSE qui correspond à une suppression transitoire de la transmission excitatrice induite par une dépolarisation postsynaptique, découvert au niveau du

cervelet (Kreitzer and Regehr, 2001; Maejima et al., 2001), puis mis en évidence dans le reste du cerveau (néocortex : Trettel and Levine, 2003; hippocampe: Isokawa and Alger, 2005).

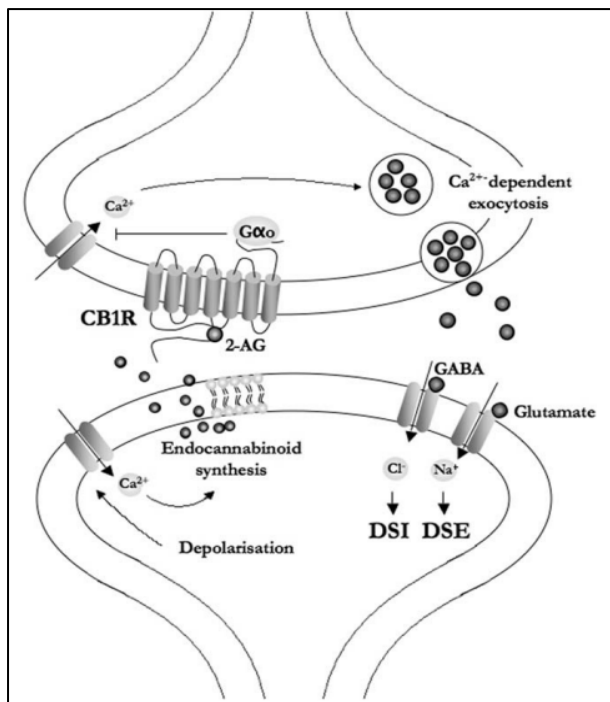


Figure 18 : Suppression de l'inhibition/l'excitation induite par la dépolarisation.

La dépolarisation du neurone postsynaptique (en bas) provoque un influx de calcium permettant la synthèse des endocannabinoïdes à partir de lipides membranaires. Le 2-AG libéré active les récepteurs CB1 terminaux présynaptiques (en haut) qui bloquent l'entrée de calcium via la protéine G, ce qui inhibe la libération de neurotransmetteurs. (Adapté de Cannabinoid Receptor Signal Transduction Pathways, Scooter et al. 2009).

- *Plasticité à long-terme*

Les eCBs sont également impliqués dans la plasticité à long terme. La dépression à long terme (LTD) survient suite à l'activation prolongée des CB1R présynaptiques induite

par une forte libération d'eCBs : c'est la LTD dépendante du système eCB (LTD-eCB). La LTD-eCB se traduit par une diminution à long-terme (30-40 minutes minimum) de la libération de neurotransmetteur dans la synapse. De façon similaire à la DSI, les eCBs sont synthétisés au niveau post-synaptique en réponse à une augmentation de calcium intracellulaire ou à une activation prolongée des récepteurs métabotropiques. Contrairement aux autres formes de plasticité à long terme, la LTD-eCB ne requiert pas l'activation des récepteurs ionotropiques au glutamate de type NMDA (Chevalyere et al., 2006). La LTD-eCB agit à la fois sur la transmission excitatrice (Gerdeman et al., 2002; Robbe et al., 2002; Sjöström et al., 2003) et la transmission inhibitrice (Chevalyere and Castillo, 2003; Marsicano et al., 2002). Bien que présentant des mécanismes d'action différents selon les régions, la LTD-eCB a été mise en évidence dans de nombreuses régions cérébrales comme dans l'amygdale (Marsicano et al., 2002), l'hippocampe (Chevalyere and Castillo, 2003), le néocortex (Sjöström et al., 2003) et le noyau accumbens (Robbe et al., 2002).

- *Distribution cérébrale*

Les CB1R sont les RCPG les plus abondants du cerveau. Le premier clonage des CB1R (Matsuda et al., 1990) a permis d'explorer la distribution régionale, cellulaire et subcellulaire de l'ARNm du CB1R par hybridation *in situ*. Par la suite, de nombreuses études immunohistochimiques ont caractérisé l'expression de la protéine CB1R dans le système nerveux (Figure 19). Ainsi, le CB1R est principalement localisé dans les régions du télencéphale comme l'hippocampe, le cortex, l'amygdale et le bulbe olfactif (Katona et al., 1999; Mailleux et al., 1992; Marsicano and Lutz, 1999; Tsou et al., 1998) mais également dans le striatum, le cervelet et la substance noire (Marsicano and Kuner, 2008) ou il est impliqué, outre la régulation de la mémoire, dans le contrôle du mouvement, la coordination, les perceptions sensorielles, les émotions, les fonctions hormonales et la température corporelle. Par ailleurs, les CB1R de l'Homme et des rongeurs possèdent une homologie de 97% au niveau de leur séquence protéique et présentent une distribution analogue dans le cerveau.

Des analyses ultrastructurales ont permis de détecter des CB1R sur les terminaisons des neurones GABAergiques et glutamatergiques (Eggan and Lewis, 2007; Katona et al., 2006; Mátyás et al., 2008). Cependant, il existe une forte différence des niveaux d'expression des CB1R dans ces deux types neuronaux. En effet, les interneurons GABA expriment des niveaux très élevés de CB1R (jusqu'à 90-95%), variables en fonction des classes d'interneurones, tandis que les neurones glutamatergiques expriment des niveaux faibles à modérés (~5% ; Kawamura et al., 2006; Marsicano and Lutz, 1999). La présence des CB1R dans les neurones glutamatergiques a d'ailleurs longtemps été controversée avant de reconnaître la présence des CB1R sur les terminaisons des neurones pyramidaux (Freund et al., 2003; Mailleux et al., 1992; Marsicano and Lutz, 1999). Parmi les différentes classes de neurones GABA, les interneurons à cholécystokinine expriment abondamment le CB1R contrairement aux interneurons à parvalbumine (Marsicano and Lutz, 1999).

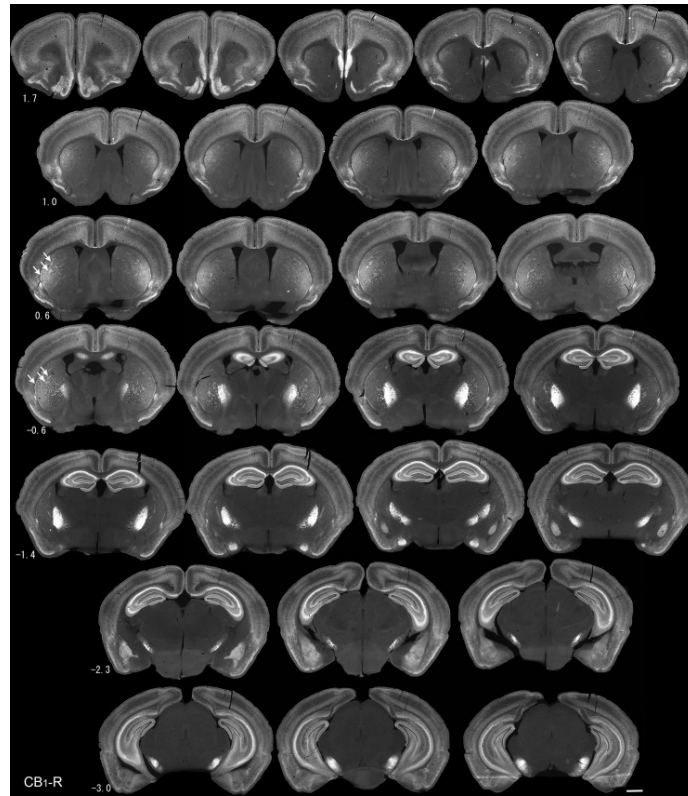


Figure 19 : Distribution cérébrale des CB1R chez la souris adulte.

Immunomarquage du CB1R dans des coupes coronales de cerveau de souris. Le CB1R est abondamment exprimé dans l'hippocampe et le cortex préfrontal ventromédian. Barres d'échelle : 1 mm. (Davis et al., 2018).

Malgré ces différences d'expression entre neurones excitateurs et inhibiteurs, l'activité de signalisation (protéines G) des CB1R des neurones glutamatergiques est supérieure à celle des CB1R des neurones GABA (Steindel et al., 2013), suggérant que les CB1R des neurones glutamatergiques jouent un rôle important dans la physiologie cérébrale. En effet, le rôle de ces deux populations de CB1R a beaucoup été étudié et contrairement à ce qui était attendu, les CB1R des neurones glutamatergiques, bien que beaucoup plus faibles en nombre, ont parfois des effets plus prononcés que les CB1R des neurones GABAergiques. Les CB1R glutamatergiques sont en effet impliqués dans l'excitotoxicité (Monory et al., 2006), la réponse au stress (Steiner et al., 2008), l'adaptation à la peur, le stress et l'anxiété (Dubreucq et al., 2012; Jacob et al., 2009; Kamprath et al., 2009) ou encore le comportement alimentaire (Bellocchio et al., 2010; Lafenêtre et al., 2009).

Il existe également une distribution subcellulaire des CB1R. L'équipe de Giovanni Marsicano a récemment caractérisé la présence de CB1R sur la membrane mitochondriale des neurones de l'hippocampe (Bénard et al., 2012) ainsi que leur rôle clé dans l'homéostasie neuronale mais également dans les effets amnésiants du cannabis et des glucocorticoïdes (voir plus loin). Outre l'expression neuronale des CB1R, ces récepteurs sont présents dans les cellules gliales, et en

particulier dans les astrocytes (Gutiérrez-Rodríguez et al., 2018; Han et al., 2012; Stella, 2010) depuis lesquels ils influencent l'homéostasie et la plasticité neuronale (Robin et al., 2018).

Dans le CPF, les interneurons GABA expriment également des niveaux plus élevés de CB1R (90%) que les neurones glutamatergiques (Kano et al., 2009; Katona and Freund, 2012; Lafourcade et al., 2007). Le CB1R est détecté dans les fibres glutamatergiques du PFC, entourant les neurones pyramidaux des couches profondes (couches V/VI) et superficielles (couche II ; Egertová and Elphick, 2000; Lafourcade et al., 2007). Ainsi, les eCBs dans le CPF peuvent non seulement réguler la transmission synaptique excitatrice et inhibitrice, mais aussi réguler l'activité tonique neuromodulatrice (Katona and Freund, 2012; Lafourcade et al., 2007).

b) Effets des cannabinoïdes sur la mémoire

L'activation des CB1R par des cannabinoïdes exogènes est en général amnésiant chez les rongeurs et les humains (Broyd et al., 2016). En effet, les rongeurs traités au THC présentent des perturbations cognitives et des troubles de la mémoire à court et à long terme (Broyd et al., 2016 ; Zhu et al., 2006), notamment dans des tâches de MRO (Schneider et al., 2008; Abush and Akirav, 2012; Puighermanal et al., 2009) et de mémoire spatiale (Abush and Akirav, 2010). De même, l'activation des CB1R par des eCBs, en particulier de l'AEA, altère la MRO (Busquets-Garcia et al., 2011; Pan et al., 2011). À l'inverse, la diminution de la signalisation des CB1R favorise la consolidation de la MRO et de la mémoire spatiale (Bialuk and Winnicka, 2011; Bura et al., 2007; Wise et al., 2007).

Ces effets sont notamment médiés par l'activation des CB1R de l'hippocampe. L'utilisation combinée d'approches génétiques a permis de montrer que les effets amnésiants du THC (administré juste après l'acquisition) sur la MRO à long terme impliquaient les CB1R des neurones GABA (Puighermanal et al., 2009) mais également les CB1R mitochondriaux de l'hippocampe (Hebert-Chatelain et al., 2016). De façon intéressante, les CB1R mitochondriaux des neurones GABAergiques de l'hippocampe ont été également impliqués dans les effets amnésiants des glucocorticoïdes sur le rappel de la MRO (Skupio et al., 2023). Dans des conditions physiologiques, le rôle des CB1R des neurones GABA de l'hippocampe a également été mis en évidence notamment dans la MRO à long terme (Oliveira da Cruz et al., 2020) mais également dans les apprentissages associatifs complexes (Busquets-Garcia et al., 2018). Les CB1R présents sur les astrocytes de l'hippocampe sont également capables de moduler les performances de MRO (Robin et al., 2018) mais ils joueraient un rôle dès la mémoire à court terme. De façon inattendue, les CB1R périphériques pourraient également moduler la MRO

puisque que le blocage périphérique des CB1R prolonge la MRO à long terme (Martínez-Torres et al., 2023).

En plus de la MRO, les CB1R jouent également un rôle important dans les mémoires aversives et notamment dans l'extinction de la mémoire de peur conditionnée. En effet, suite à l'étude princeps (Marsicano et al., 2002), plusieurs études ont démontré que l'inhibition de la transmission des eCBs, ou l'utilisation de souris CB1R knock-out, empêche ou retarde l'extinction de la peur (Abush and Akirav, 2010; Pamplona and Takahashi, 2006; Ganon-Elazar and Akirav, 2009). À l'inverse, la stimulation de la transmission des eCBs accélère l'extinction de la peur (Abush and Akirav, 2010; Chhatwal et al., 2005; Suzuki et al., 2004).

Étant donné l'importance du système eCB dans la modulation de la mémoire et de la plasticité neuronale, en particulier dans l'hippocampe et le CPF, un dérèglement de ce système, d'origine endogène ou exogène, pourrait avoir des conséquences néfastes sur les fonctions neuronales et synaptiques et conduire à des altérations mnésiques.

c) Dimorphisme sexuel du système eCB

De nombreuses études suggèrent qu'il existe un dimorphisme sexuel du système eCB . D'une façon générale, les données anatomiques chez les rongeurs montrent que comparativement aux femelles, les mâles adultes présentent des niveaux plus importants de CB1R dans l'hippocampe à la fois au niveau protéique (Reich et al., 2009), ARN (Barha and Galea, 2010; González et al., 2000), mais aussi de la fonctionnalité des récepteurs (Llorente-Berzal et al., 2013; Mateos et al., 2011). Au niveau du cortex préfrontal, une plus forte densité de CB1R a été détectée chez les mâles par rapport aux femelles dans certaines structures cérébrales comme le striatum, la région CA1 de l'hippocampe ventral et certaines régions du CPF comme le cortex cingulaire médian et le cortex orbital (Liu et al., 2020) confirmant certains résultats préalables sur le CPF (Castelli et al., 2014). Malgré une plus faible expression des CB1R chez les femelles, la signalisation des récepteurs pourrait être augmentée comparativement aux mâles (Craft et al., 2013; Gorzalka and Dang, 2012; Rubino and Parolaro, 2011). Outre l'expression des récepteurs, il existe un dimorphisme sexuel sur le plan fonctionnel, dans la signalisation des eCBs, notamment au niveau des neurones GABAergiques de l'hippocampe (Ferraro et al., 2020). Des différences sexuelles de maturation du système eCB central ont également été rapportées pendant l'adolescence (voir chapitre III.B.d).

d) Étudier les fonctions du système eCB : Outils pharmacologiques, génétiques et viraux

• *Outils pharmacologiques*

De nombreux cannabinoïdes synthétiques ont été conçus pour agir sur les sites orthostériques ou allosteriques du CB1R comme WIN 55,212-2, HU-210 et CP55940, dont l'affinité pour le CB1R varie (Pertwee et al., 2010). Par ailleurs, il existe des antagonistes sélectifs des CB1R comme le rimonabant (SR141716A) et l'AM251, avec une affinité négligeable pour le CB2R (Pertwee et al., 2010). L'utilisation d'agonistes ou d'antagonistes modifie la plasticité synaptique dépendante des CB1R (Chevaleyre and Castillo, 2003; Kano et al., 2009; Wilson and Nicoll, 2001). Cette approche a pour avantage d'étudier les fonctions des CB1R avec une grande précision temporelle puisque l'injection est effectuée à un moment précis du test. De plus, l'administration locale permet d'étudier les fonctions des CB1R dans des régions cérébrales spécifiques.

• *Outils génétiques et viraux*

L'utilisation du système Cre/LoxP est une stratégie de mutation génétique permettant de supprimer un gène, notamment celui codant le CB1R, uniquement dans une population cellulaire donnée chez la souris (Sauer and Henderson, 1989; Figure 8). Ce système repose sur le croisement de deux lignées de souris génétiquement modifiées. Chez les souris de la première lignée, le gène *cnr1* est encadrée par deux séquences loxP. Le gène dit « floxé » s'exprime normalement, ces souris peuvent donc être considérées comme de type sauvage d'un point de vue de leur phénotype (Nagy, 2000). La deuxième lignée de souris exprime la protéine Cre recombinase de façon ubiquitaire ou sous le contrôle d'une séquence promotrice spécifique d'un type cellulaire. La Cre recombinase ayant pour fonction d'exciser les séquences loxP, le croisement des deux souris va induire dans la descendance une délétion CB1R dans tout l'organisme, ou bien restreinte à un type cellulaire particulier. Plusieurs lignées de souris mutantes conditionnelles pour les CB1R ont été générées grâce à ce système, notamment des souris avec une délétion des CB1R restreinte aux neurones glutamatergiques corticaux (Glu-CB1-KO) et des souris avec une délétion des CB1R des neurones GABA du prosencéphale (GABA-CB1-KO). La délétion constitutive du gène peut toutefois générer des mécanismes compensatoires (Morozov, 2008). Ainsi, en utilisant des souris adultes de la lignée avec le CB1R « floxé », l'injection locale intracérébrale de virus exprimant la Cre recombinase sous le contrôle d'une séquence promotrice aspécifique ou spécifique d'un type cellulaire donné, permet l'inactivation du gène *cnr1* dans une région cérébrale spécifique et dans un type cellulaire spécifiques en s'affranchissant de problèmes développementaux (Zimmer, 2015).

6. Œstrogènes et mémoire

a) Généralités sur les œstrogènes : hormones, récepteurs, synthèse

Les œstrogènes sont des hormones stéroïdiennes comprenant trois membres majeurs : l'œstrone, le 17β -œstradiol (œstradiol ou E2) et l'œstriol; parmi ceux-ci, l'E2 est le plus puissant et prédomine au niveau périphérique. Les œstrogènes se fixent sur les récepteurs aux œstrogènes (ER) qui existent sous 3 isoformes : ER α , ER β et ER γ (aussi appelé ER $\alpha\beta$). Les ER sont présents dans le noyau, le cytoplasme ou à la membrane plasmique et la fixation des ligands induit leur homo- ou hétéro-dimérisation, leur translocation dans le noyau ainsi que le recrutement de co-facteurs de transcription pour se lier ensuite à une séquence de promoteurs cibles : les "Estrogen Response Elements" afin de moduler l'expression de gènes cibles (Shang et al., 2000). Les ER peuvent également moduler l'expression génique de façon non canonique, *via* leurs interactions avec d'autres facteurs de transcription (Levin, 2005). L'E2 peut également se fixer au GPER1 (ou GPR30), qui induit une réponse rapide non génomique de libération du calcium intracellulaire (Hazell et al., 2009).

La synthèse d'E2 s'effectue à partir du cholestérol qui est transporté dans la mitochondrie grâce au transporteur StAR (Steroidogenic Acute Regulatory Protein) puis convertit en prégnénolone par des enzymes du cytochrome P450 (Figure 20). La prégnénolone est ensuite exportée au niveau du réticulum endoplasmique, où elle est convertie en progestérone puis en testostérone. Enfin, la testostérone est convertie en E2 grâce à une enzyme spécifique : l'aromatase (membre de la famille des cytochromes P450), qui est exprimée dans de nombreux tissus de l'organisme.

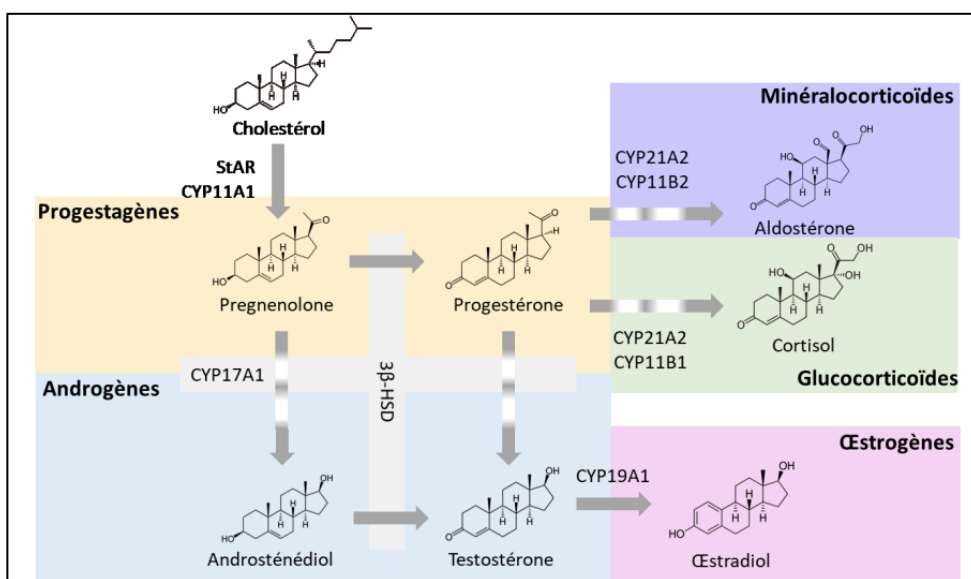


Figure 20 : La stéroïdogénèse (Boron and Boulpaep, 2012)

Avant la ménopause, les concentrations circulantes d'E2 chez les femmes varient en fonction du cycle ovarien et sont maximales au moment de l'ovulation. Après la ménopause, ces concentrations chutent pour atteindre des niveaux équivalents à ceux trouvés chez les hommes (Chambliss and Shaul, 2002). Chez les rongeurs, le cycle ovarien dure en moyenne 4 jours et se divise en 4 phases : le proœstrus, l'œstrus, le metœstrus et le diœstrus (Figure 21). L'ovulation se produit au début du proœstrus avec un pic d'E2. La femelle n'est sexuellement active que pendant l'œstrus, correspondant aux « chaleurs » chez les animaux (Evans and Long, 1922).

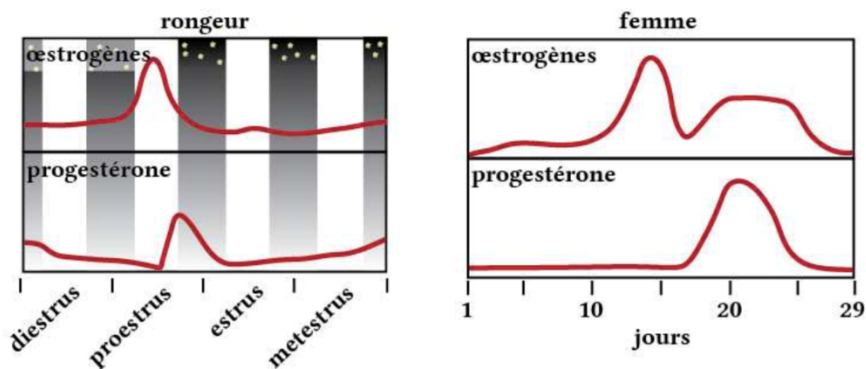


Figure 21 : Cycle ovarien chez les rongeurs et chez les femmes.

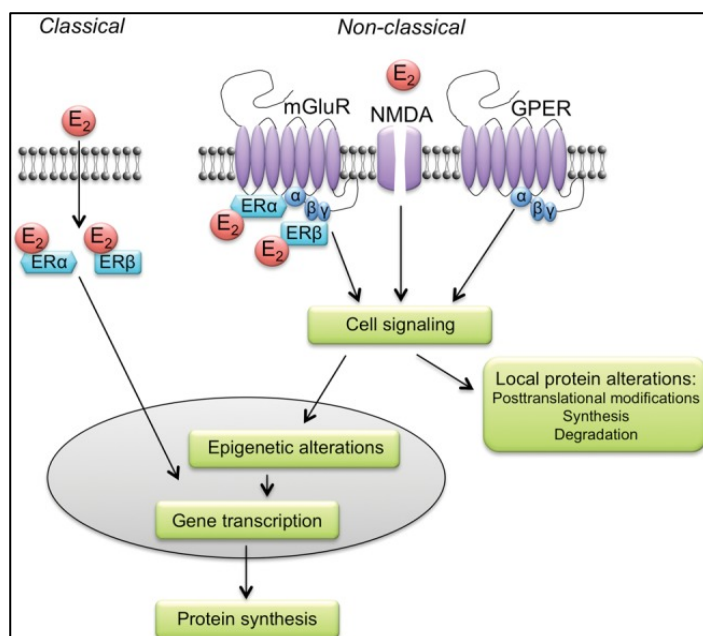
Variations des niveaux d'œstrogènes et de progestérone circulantes au cours du cycle menstruel (issu de Staley et al. 2005)

b) Œstrogènes cérébraux

L'E2 étant une hormone lipophile capable de franchir la barrière hématoencéphalique, l'existence d'une synthèse cérébrale d'E2 a longtemps été ignorée. Celle-ci ne fut découverte que tardivement, après avoir détecté la présence de l'aromatase, enzyme de synthèse des œstrogènes, au niveau de l'hippocampe chez les rongeurs mâles (Hojo et al., 2004) mais également chez les singes et chez l'Homme (Ishunina et al., 2007; Yague et al., 2008). Ainsi, on distingue les neurostéroïdes, hormones produites par le cerveau qui agissent localement de manière paracrine ou intracrine, des stéroïdes neuroactifs, qui sont produits en périphérie par les ovaires et qui exercent une action endocrine sur les structures cérébrales. L'aromatase et l'E2 sont présents à la fois chez les femelles et les mâles au niveau cérébral. Récemment, des mesures fines de concentrations ont montré que chez la femelle, les taux hippocampiques seraient corrélés avec les taux circulants. Chez les mâles, les taux hippocampiques seraient supérieurs aux taux circulants mais également à ceux des femelles (Hojo et al., 2009).

Comme en périphérie, les œstrogènes modulent la physiologie neuronale *via* des effets génomiques et non génomiques (pour revue : Srivastava and Penzes, 2011). Ils régulent l'expression de nombreux gènes, comme HOXC10, impliqué dans la formation des neurones

(Ansari et al., 2012), le gène de l'apolipoprotéine D, protéine de transport des molécules hydrophobes comme le cholestérol (Ordóñez et al., 2012; Rassart et al., 2000), mais également des gènes codant pour la PSD-95 et la synaptophysine, protéines impliquées dans la plasticité synaptique. Une étude a d'ailleurs montré que chez des souris ovariectomisées, le traitement à l'E2 engendre des modifications d'expression de 88 gènes dans le cortex (Humphreys et al., 2014). En outre, des fluctuations de l'expression des récepteurs GABA sont observées en parallèle des fluctuations hormonales durant le cycle ovarien (Sabaliauskas et al., 2015). D'une autre façon, les ER membranaires agissent rapidement (voie non-génomique/non classique) en s'associant avec des récepteurs aux facteurs de croissance ou des récepteurs couplés à des protéines G pour activer des cascades de kinases (Spencer-Segal et al. 2012 ; Filardo et al., 2000), notamment les récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluR ; Figure 22 ; Meitzen



and Mermelstein, 2011). En effet, les récepteurs ER sont majoritairement non nucléaires et se trouvent à la membrane et dans le cytoplasme, notamment au niveau des épines dendritiques et d'autres éléments présynaptiques dans plusieurs régions cérébrales, incluant l'hippocampe et le CPF (pour revue : Srivastava et al., 2013).

Figure 22 : Les mécanismes d'action des œstrogènes (issu de : Frick et al., 2015)

En plus d'être exprimés dans des structures hypothalamiques impliquées dans le comportement sexuel ainsi que la régulation de la production des hormones sexuelles comme l'hypophyse, l'hypothalamus et le noyau du lit de la strie terminale, les ER sont également exprimés dans de nombreuses structures corticales et sous-corticales comme le néocortex, l'hippocampe et l'amygdale.

Dans l'hippocampe, on note des différences d'expression des deux isoformes ERα et ERβ avec une plus forte expression de la forme α aussi bien au niveau ventral que dorsal (Mitra et al., 2003). Il est présent dans le cytoplasme des neurones pyramidaux du CA1 (voie classique) mais aussi dans les épines dendritiques où il active des cascades de signalisation (voie non-classique ;

Bi et al., 2001; Gibbs, 1999). ER α est également présent dans les neurones pyramidaux de l'air CA3, au niveau des boutons pré-synaptiques et des épines dendritiques, ainsi que dans le cytoplasme des interneurons GABA (Adams et al., 2002). ER β quant à lui est présent dans les épines dendritiques et les astrocytes (Smith et al. 2009; Frick 2008). Dans l'amygdale, ER α et ER β sont exprimés dans les régions médiale et corticale (Frick 2008). Enfin, ER β est fortement exprimé en particulier dans le CPF et le cortex entorhinal.

c) Œstrogènes et mémoire

Des nombreuses études indiquent que les hormones sexuelles influencent les processus d'apprentissage et de mémoire (pour revue : Cahill, 2006). De fait, les œstrogènes agissent directement sur l'hippocampe où ils modulent la plasticité neuronale et la mémoire (pour revue: Frick et al., 2018; Hojo et al., 2008). Les performances mnésiques de femmes dans certaines tâches semblent changer avec le cycle menstruel (Kimura, 2002). De plus, le traitement à l'E2 a été associé à une augmentation du volume de l'hippocampe (Barth et al., 2016; Neufang et al., 2009). Une méta-analyse portant sur 2000 femmes ménopausées montre d'ailleurs que celles suivant un traitement anti-œstrogénique pour traiter un cancer présentent de moins bonnes performances d'apprentissage et de mémoire (Underwood et al., 2018).

En 1990, Gould et collaborateurs ont été les premiers à montrer chez les rongeurs, qu'une supplémentation d'E2 augmentait significativement la densité des épines dendritiques dans la région CA1 de l'hippocampe (Gould et al. 1990). Une augmentation de 20 à 30% du nombre d'épines a également été trouvé durant le proestrus du cycle ovarien, lorsque la concentration en E2 est la plus élevée (Woolley & McEwen 1990). Chez des souris ovariectomisées, l'administration d'E2 par injection systémique ou intra-hippocampique a été associée à une augmentation de la densité dendritique dans le CA1 et à une amélioration des performances dans la MRO, la mémoire de localisation d'objet, ou la mémoire sociale. De plus, ceci (Phan et al., 2012, 2011). D'ailleurs, l'injection d'œstradiol juste après l'acquisition prolonge la rétention de MRO chez des souris femelles ovariectomisées (Fernandez et al., 2008; Fortress et al., 2013). À l'inverse, la diminution des niveaux d'œstrogènes par l'administration d'inhibiteur de l'aromatase entraîne des déficits de mémoire spatiale (Zameer and Vohora, 2017).

Au niveau cellulaire, l'E2 possède des propriétés neurotrophiques en augmentant la synaptogenèse au niveau de l'hippocampe (Barha and Galea, 2010) . Il induit également une augmentation rapide de la densité synaptique *in vivo* chez la ratte ovariectomisée (MacLusky et al., 2005) mais également *in vitro* (Srivastava, 2012 ; Sellers et al., 2015). En plus de ces

effets dans l'hippocampe, des études ont montré que l'E2 augmente la densité des épines dendritiques également dans le CPFm (Inagaki et al., 2012; Tuscher et al., 2016).

Par ailleurs, bien que les résultats varient en fonction des modèles utilisés, les études s'accordent à dire que les œstrogènes facilitent l'induction de la plasticité (potentialisation à long terme) dans l'hippocampe, en fonction du cycle menstruel (Warren et al., 1995) ou après injection d'E2 chez des rongeurs gonadectomisés (Córdoba Montoya and Carrer, 1997).

Malgré ces effets prometteurs, les œstrogènes peuvent avoir des effets opposés (bénéfiques ou délétères) en fonction de la dose, sur la mémoire à court terme (Holmes et al., 2002; Wide et al., 2004) ou à long terme (Gresack and Frick, 2006; Packard and Teather, 1997). Ces effets différentiels ont également été mis en évidence au niveau cellulaire, sur la densité des épines dendritiques dans l'hippocampe (Phan et al., 2015). Par ailleurs, les doses d'œstrogènes bénéfiques varient en fonction du test de mémoire employé et des structures cérébrales sollicitées (Inagaki et al., 2010; Packard and Teather, 1997).

Bien que l'effet bénéfique des œstrogènes sur la mémoire soit communément attribué à sa sécrétion ovarienne, la synthèse locale d'E2 dans l'hippocampe dorsal participe à la MRO à long-terme chez des souris mâles et femelles gonadectomisées (Tuscher et al., 2016). De plus, bien que l'ovariectomie diminue les niveaux d'E2 dans l'hippocampe, ils restent cependant comparables à ceux des femelles non-ovariectomisées en diestrus. Récemment, il a été montré que les niveaux de stéroïdes sexuels sont plus élevés dans l'hippocampe que le plasma des mâles, ce qui suggère un rôle prédominant des neurostéroïdes sur les fonctions hippocampiques, et notamment la densité des épines dendritiques, au moins chez le mâle.

En plus des fonctions mnésiques, les œstrogènes influencent les comportements sociaux liés à la reproduction (comportements sexuel et parental), à la communication et la reconnaissance sociale, ou encore l'agressivité et la dominance. Les œstrogènes exercent également des effets anxiolytiques et antidépresseurs (Dombret et al., 2020) et ils sont aussi connu pour leurs effets anti-inflammatoires au niveau du cerveau (Dubal et al., 1999; Suzuki et al., 2007).

d) Œstrogènes et système endocannabinoïde

De façon intéressante, des études ont mis en évidence des interactions bidirectionnelles entre le système eCB et certaines hormones gonadiques comme les œstrogènes, au niveau cérébral et en périphérie. Par exemple, l'ovariectomie augmente l'affinité des CB1R dans le striatum, suggérant que les hormones ovariennes pourraient interférer avec la liaison des eCBs à leur récepteur (Rodriguez de Fonseca et al., 1994). De même, l'administration aiguë d'E2 diminue

le couplage des CB1R aux voies de transduction du signal dans le cortex et l'hippocampe de rats (Mize and Alper, 2000). De la même façon, l'administration d'E2 chez des rates ovariectomisées diminue l'expression des CB1R dans l'hypophyse antérieure et l'hypothalamus (González et al., 2000; Scorticati et al., 2004). L'interaction entre le système eCB et les œstrogènes pourrait également passer par la FAAH, enzyme de dégradation des eCBs. En effet, les œstrogènes diminuent l'activité de la FAAH (MacCarrone et al., 2000) et le gène codant la FAAH contient un élément de réponse aux œstrogènes et son expression est régulée par les œstrogènes (Waleh et al., 2002). Par ailleurs, des études ont montré que l'activité du système eCB fluctue au cours du cycle menstruel (Cooper and Craft, 2018; El-Talatini et al., 2010; González et al., 2000; Gorzalka and Dang, 2012), en particulier l'expression du CB1R dans l'amygdale ou le noyau parabrachial (Liu et al., 2020)

Ces données de la littérature suggèrent que des différences mâle/femelle de niveaux d'hormones sexuelles, ou bien des changements de ces niveaux, en particulier à la suite d'une ovariectomie, peuvent influencer la signalisation des eCBs dans certaines structures cérébrales. Le système eCB peut lui aussi moduler la libération de certaines hormones sexuelles comme les œstrogènes, mais également les androgènes, la progestérone et les hormones gonadotropes (GnRH, LH/FSH) chez l'Homme et chez l'animal. Par exemple, l'administration chronique d'AEA diminue les niveaux de LH plasmatique chez le rat (Habayeb et al., 2002). L'inhibition de la libération de GnRH et de LH par la signalisation eCB dans l'hypothalamus et l'hypophyse réduit la libération d'hormones gonadiques (Gorzalka and Dang, 2012).

En résumé, la mémoire est sous-tendue par différents réseaux neuronaux et mécanismes neurobiologiques parmi lesquels existent des systèmes neuromodulateurs comme le système eCB ou les œstrogènes qui peuvent moduler la neurotransmission, la plasticité neuronale et les processus de mémorisation.

B. L'ADOLESCENCE, PÉRIODE DE MATURATION

1. Définition et caractérisation

- *Chez l'Homme*

Selon l'OMS, l'adolescence (du latin *ādōlescēns*, *-centia*, « croissant, grandissant, se développant ») est « la période de croissance et de développement humain qui se situe entre l'enfance et l'âge adulte, entre les âges de 10 et 19 ans ». En 2015, l'OMS évalue le nombre d'adolescents à 1,2 milliards, soit 1/6 de la population mondiale.

Si l'adolescence fut longtemps associée à la puberté (Blakemore et al., 2010), coïncidant sur le plan temporel, ces deux notions se réfèrent pourtant à des phénomènes distincts (Spear, 2000). L'adolescence correspond à une période de changements importants et rapides sur le plan physique, physiologique, neurobiologique et comportemental lui permettant de développer son indépendance et son autonomie. En effet, au niveau comportemental, elle est caractérisée par une augmentation des comportements sociaux, de la recherche de nouveauté et de l'apparition de conduites à risques (Spear, 2000) et s'étend sur une période allant de 10-11 ans à 20-21 ans. En parallèle, la puberté qui ne constituerait qu'une des premières étapes de la période d'adolescence (Blakemore et al., 2010), s'étend en général entre 10 et 12 ans pour les filles et 11 à 13 ans pour les garçons. Ce phénomène correspond à des processus neuroendocriniens se traduisant par d'importants changements physiques conduisant à la maturité sexuelle. La gonadarche fait référence aux premiers changements gonadiques de la puberté et débute par la libération pulsatile de l'hormone de libération des gonadotrophine hypophysaires (GnRH) par l'hypothalamus, qui induit la production hypophysaire d'hormone lutéinisante (LH) et d'hormone folliculostimulante (FSH). La LH et la FSH activent à leur tour les gonades (ovaires ou testicules) permettant la production des gamètes. Après leur maturation, les ovaires et les testicules synthétisent les stéroïdes sexuels, œstrogènes et testostérone, respectivement. La synthèse et la libération des stéroïdes sexuels déclenchent ensuite l'apparition des caractères sexuels secondaires (Khan, 2019).

- *Chez l'animal*

L'adolescence a longtemps été considérée comme une période propre à l'Homme (Bogin, 1994) et beaucoup d'études chez le rongeur considèrent les animaux comme adultes à partir du sevrage (jours post-natal 21, P21). Cependant il est à présent admis que l'ensemble des mammifères présente un stade développemental qui s'apparente à l'adolescence. Cette période

concomitante à la puberté est caractérisée par une maturation sexuelle, une croissance importante ainsi que de nombreux changements neuro-comportementaux similaires à ceux observés chez l'Homme. Ainsi, comme chez l'Homme, on retrouve une augmentation des comportements sociaux, des comportements de prise de risque, et de recherche de la nouveauté chez le jeune animal (Spear, 2000). L'âge de l'adolescence est compliqué à définir chez l'animal et varie selon les critères pris en compte pour la définir. Ainsi chez le rongeur, elle est considérée comme s'étendant de manière restrictive entre les P28 et P42 ; (Spear, 2000) ou encore entre P30 et P50 (Andersen, 2003). De manière moins restrictive, on parle de péri-adolescence découpée en 3 périodes : la « pré-puberté » allant de P21-34, l'adolescence de P34-46 et l'adolescence tardive de P46-59 (Tirelli et al., 2003; Figure 23). Les études s'accordent généralement à dire que le jeune adulte débute à P60 (McCormick and Mathews, 2007). Par ailleurs, comme chez l'Homme, les femelles ont une maturation à la fois plus précoce mais aussi plus rapide que celle des mâles dans de nombreuses espèces de mammifères (Spear, 2000). Il apparaît donc primordial de prendre en considération les différences entre les sexes survenant au moment de la puberté et de l'adolescence chez les animaux femelles et mâles.

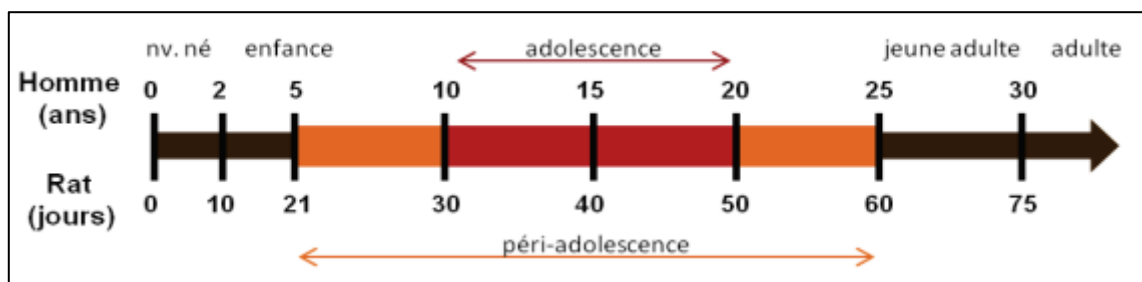


Figure 23 : Les différentes périodes de la vie : Comparaison développementale entre Homme et rongeur (adapté d'Andersen, 2003)

2. Maturation du cerveau à l'adolescence

a) Maturation globale du cerveau

Au niveau du cerveau, l'adolescence est caractérisée par la maturation de différentes structures cérébrales ainsi que par des modifications neuronales qui s'étendent jusqu'à l'âge d'environ 20-25 ans (Crews et al., 2007; Sowell et al., 1999). Les études d'imagerie par résonance magnétique (IRM) ont mis en évidence une augmentation de la matière blanche jusqu'à l'âge de 30 ans chez l'Homme (Lenroot and Giedd, 2006), ainsi qu'une réorganisation de l'orientation des faisceaux d'axones induisant des changements de connectivité cérébrale (Snook et al., 2007). Cette augmentation de la matière blanche à l'adolescence a également été retrouvée chez le rat (Juraska and Markham, 2004). Par ailleurs, la matière grise subit également

des transformations avec une diminution progressive entre l'âge de 12 à 20 ans, en particulier dans les zones pariétales et frontales, mais pas dans les zones occipitales et temporales (Figure 24 ; Lenroot and Giedd, 2006). Cette diminution de la matière grise est classiquement associée au phénomène d'élagage synaptique (*pruning*), qui correspond à l'élimination des synapses sous-utilisées qui ont été produits en surnombre pendant l'enfance.

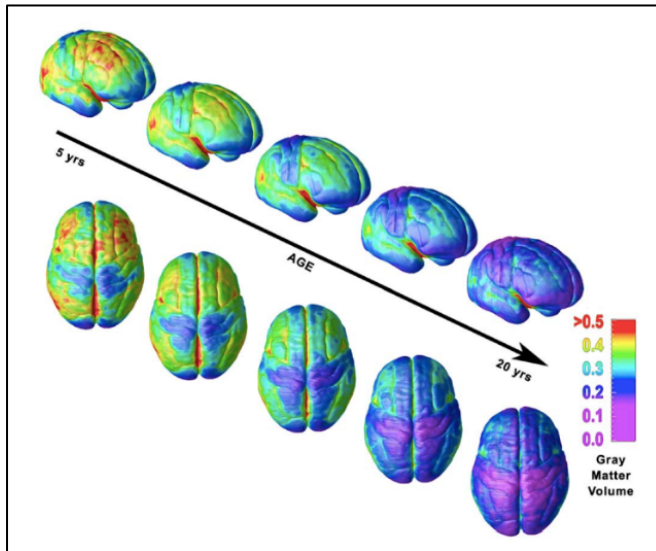


Figure 24 : Maturation du volume de matière grise au niveau de la surface corticale entre 5 et 20 ans. Les couleurs chaudes (rouge, jaune) signalent un important volume de matière grise tandis les couleurs froides (bleu, violet) signalent un volume faible (adapté de Lenroot and Giedd, 2006).

De nombreux remaniements interviennent durant l'adolescence (Andersen, 2003; Spear, 2000; Wolfer and Lipp, 1995 ; Figure 25) tels que la

réorganisation synaptique, l'élagage synaptique, les modifications de la neurotransmission (glutamate, GABA, sérotonine, dopamine et de leurs récepteurs), la myélinisation des fibres nerveuses, la réduction de la substance grise, l'augmentation de la neurogénèse et des modifications dans la densité des épines dendritiques.

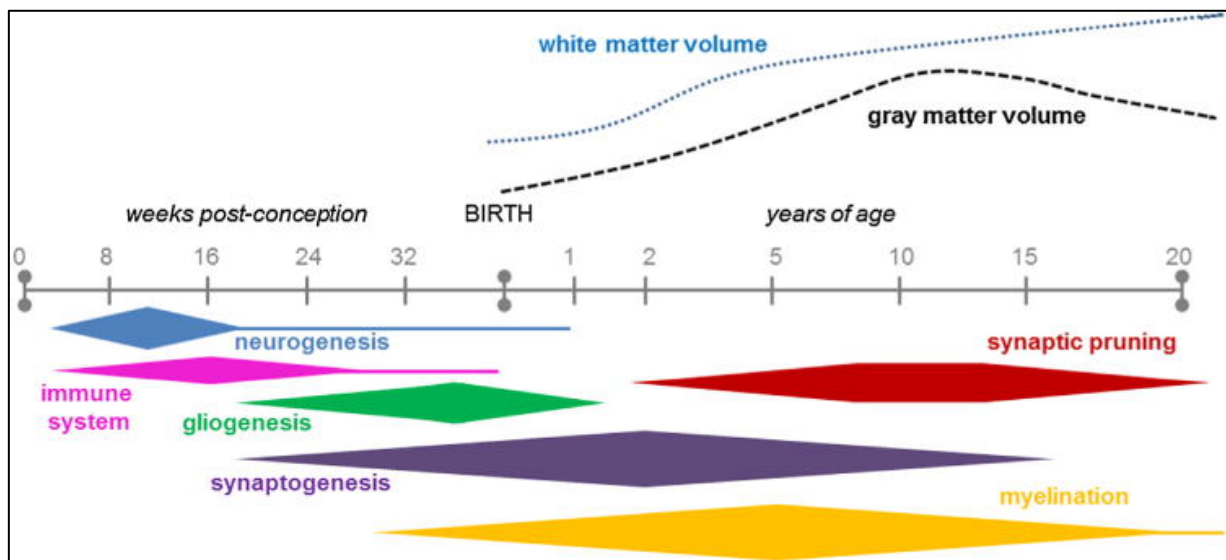


Figure 25 : Représentation schématique de la trajectoire des différents processus neurodéveloppementaux et des changements du volume de la matière blanche et grise chez l'Homme (pendant la gestation et les 20 premières années de vie) (issu de Semple et al., 2013)

La plasticité du système nerveux de l'adolescent rend cette période vulnérable aux facteurs environnementaux. Ainsi, chez l'animal, l'exposition pendant l'adolescence à des drogues telles que la cocaïne, le THC ou l'alcool entraîne des altérations cognitives et prédispose aux conduites addictives plus rapidement qu'une même exposition à l'âge adulte (Crews et al., 2007; Spear, 2000). La consommation d'aliments sucrés pendant l'adolescence (P30-P46), mais pas à l'âge adulte (P60-P76), altère les processus motivationnels (Vendruscolo et al., 2010). Par ailleurs, chez l'Homme, la majorité des maladies psychiatriques telles que les troubles de l'humeur, de la personnalité et des conduites alimentaires, les psychoses et les troubles schizophréniques, ainsi que les abus de drogues se développent avant l'âge de 25 ans. Cette période est également marquée par un accroissement du taux de suicide et de mortalité reliée aux comportements à risque (Costello et al., 2011; Steinberg, 2010).

b) Développement du cortex préfrontal

La maturation du CPF permet la mise en place du contrôle cognitif, de l'inhibition, de la flexibilité comportementale et d'autres réponses cognitives complexes. Cette structure mature le plus tardivement chez l'Homme, jusqu'à l'âge de 25 ans. Cette longue période de réarrangements postnatals permettrait de sculpter les circuits neuronaux du CPF en fonction de l'expérience de l'individu afin de mieux s'adapter à l'environnement.

Parmi les nombreuses modifications qui ont lieu dans le CPF à l'adolescence, on trouve un important phénomène d'élagage synaptique, en particulier au niveau des synapses glutamatergiques (Bourgeois et al., 1994; Huttenlocher, 1984), se traduisant par une diminution du nombre d'épines dendritiques au niveau des cellules pyramidales du CPF. On trouve également chez le rongeur une forte expression des récepteurs glutamatergiques de type NMDA qui atteint sa valeur maximale durant l'adolescence (Insel et al., 1990), mais également des récepteurs dopaminergiques et des protéines impliquées dans le relargage synaptique (Counotte et al., 2010). La connectivité du CPF est également modifiée pendant l'adolescence avec notamment une diminution des connexions du CPF avec l'amygdale (Cressman et al., 2010) et le noyau accumbens (Brenhouse et al., 2008). La maturation des connexions du CPF avec d'autres structures est importante pour le développement neurocomportemental et cognitif des individus. En effet, les adolescents sont moins performants que les adultes dans des tâches complexes engageant le CPF et contenant de fortes charges émotionnelles (Spear, 2013). De même chez l'animal, des déficits de mémoire de peur et d'extinction de la peur sont présents chez des souris adolescentes par rapport à des adultes (Pattwell et al., 2012).

Le neurodéveloppement est également caractérisé par la maturation des réseaux périneuronaux corticaux, qui forment la matrice extracellulaire enveloppant les neurones et favorisent la stabilisation des synapses (pour revue: Reichelt et al., 2019). Chez l'adulte, le blocage pharmacologique des réseaux périneuronaux dans le cortex rétablit les mêmes niveaux de plasticité que chez les juvéniles (Pizzorusso et al., 2002), suggérant qu'il s'agit d'un mécanisme crucial dans la maturation complète du cerveau à l'adolescence.

c) Développement de l'hippocampe

Comme le CPF, l'hippocampe connaît des phénomènes d'élagage synaptique se traduisant par une diminution de 25% des récepteurs glutamatergiques NMDA dans les cellules pyramidales. De plus, la neurogénèse dans le gyrus denté de l'hippocampe est plus forte pendant d'adolescence qu'à l'âge adulte (Crews et al., 2007). Par ailleurs, au niveau fonctionnel chez le rat, l'hippocampe est activé par la nouveauté à partir du début de l'adolescence (Spear, 2000). La connectivité de l'hippocampe est également modifiée pendant l'adolescence notamment avec l'augmentation des connexions entre l'hippocampe et le CPF (Ghetti and Bunge, 2012). Chez l'Homme, la mémoire épisodique se met en place pendant l'enfance, s'améliore aux alentours de 10 ans, puis continue à se développer pendant l'adolescence. Par ailleurs, le volume de l'hippocampe atteint son maximum à l'âge de 10 ans (par rapport à la taille du cerveau ; Uematsu et al., 2012). Ainsi, la maturation hippocampique, mais également amygdalienne, est plus précoce que celle des régions du CPF impliquées dans la planification et la capacité d'inhibition. Ces différences de maturation des structures peuvent expliquer une hypersensibilité (émotionnelle ou à la récompense) conduisant aux comportements caractéristiques de l'adolescence, en particulier l'impulsivité, l'absence de planification, et les abus de drogues, notamment la prise de cannabis (Krebs et al., 2020).

De nombreux remaniements neuronaux sont donc à l'œuvre pendant l'adolescence, et en particulier dans des régions cérébrales impliquées dans les processus cognitifs comme le cortex préfrontal et l'hippocampe.

d) Maturation du système endocannabinoïde

De nombreuses études indiquent le rôle crucial du système eCB dans des étapes clés du neurodéveloppement comme la prolifération et la différenciation des cellules progénitrices, la migration neuronale ou encore le guidage axonal (Figure 26 ; Berghuis et al., 2007; Maccarrone et al., 2014). D'ailleurs, des souris dépourvues de CB1R (knock-out) de façon ubiquitaire ou

uniquement sur les neurones glutamatergiques, développent des déficits de prolifération des progéniteurs neuronaux et de fasciculation axonale, démontrant le rôle crucial du système eCB au cours du développement cortical (corticogénèse ; Mulder et al., 2008). Les eCBs régulent aussi la migration neuronale en interagissant avec d'autres systèmes de signalisation tels que les neurotrophines (Berghuis et al., 2007), les facteurs de croissance (Preet et al., 2008) et les cytokines pro-inflammatoires (Rajesh et al., 2008). Enfin, des gradients d'eCBs pourraient contrôler la direction de la migration cellulaire (Miller and Stella, 2008; Tortoriello et al., 2014).

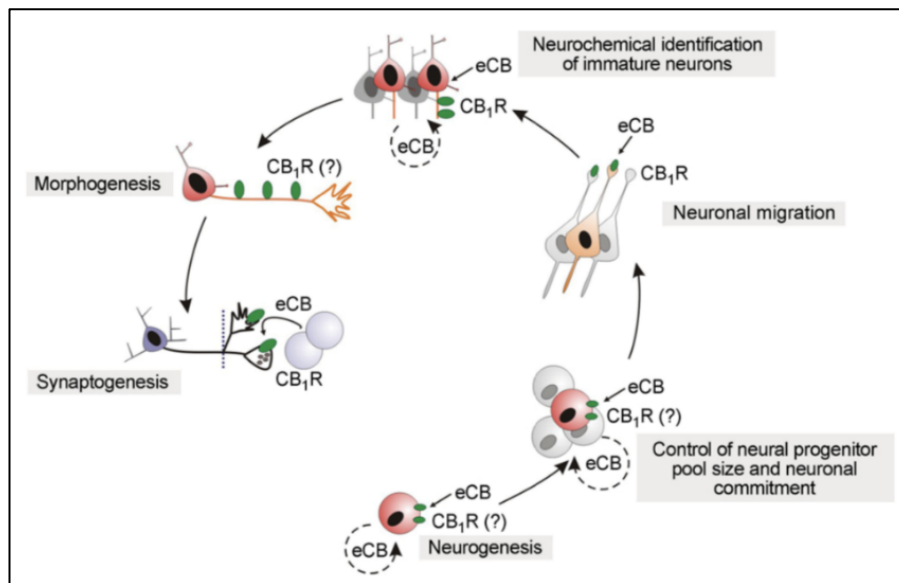


Figure 26 : Rôles du système eCB dans plusieurs mécanismes neurodéveloppementaux.
(issu de Harkany et al., 2007)

Au cours de l'adolescence, étant un important régulateur de la balance entre excitation et inhibition dans le cerveau (Marsicano et al., 2003), le système eCB influence fortement les modifications de transmission neuronale. De plus, le système eCB continue de subir des remaniements durant l'adolescence. En effet, plusieurs études ont pu mettre en évidence des modifications du système eCB et de ses différents composants au cours de l'adolescence (Figure 27, pour revue : Meyer et al., 2018). Chez l'Homme, bien que les études soient peu nombreuses en raison des limites expérimentales, l'expression cérébrale des CB1R semble diminuer progressivement de l'enfance à l'âge adulte, notamment dans le CPF, l'hippocampe (CA1 et gyrus denté) et les ganglions de la base (Mato et al., 2003). De plus, les niveaux de 2-AG ainsi que l'expression de FAAH et de NAPE-PLD (enzyme de dégradation et de synthèse des eCBs) sont augmentés dans le CPF dorsolatéral d'adolescents (Long et al., 2012).

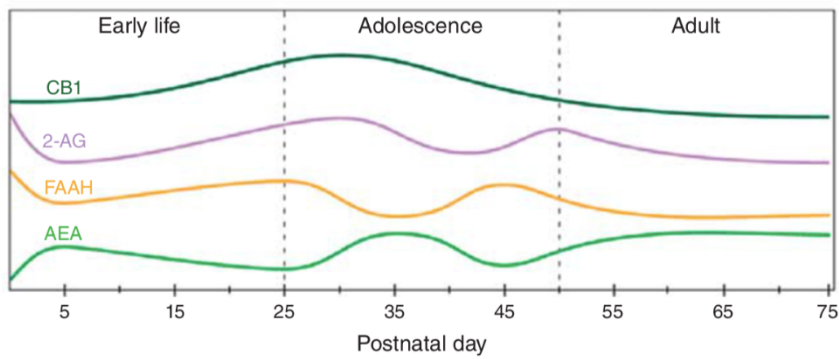


Figure 27 : Représentation schématique de la trajectoire des différents composants du système eCB chez le rongeur (pendant les 75 premiers jours de vie) (Meyer et al., 2018)

Des études menées chez le rat ont confirmé que l'expression des CB1R varie fortement tout au long de l'adolescence, particulièrement dans le CPF et le noyau accumbens. L'expression des CB1R est à son maximum au début de l'adolescence, puis diminue dans le CPF, l'hippocampe et le striatum à partir du milieu de l'adolescence jusqu'à l'âge adulte (Figure 27 ;Heng et al., 2011). En outre, on remarque au cours de l'adolescence une réduction de l'inhibition de transmission synaptique dépendante du CB1R dans le CPF, en accord avec une réduction de l'expression et de la fonctionnalité des CB1R. Par ailleurs, aucune variation d'expression du CB1R n'est observée pendant l'adolescence dans d'autres zones corticales comme le cortex sensori-moteur (Heng et al., 2011), suggérant que la maturation du système eCB suit des trajectoires développementales distinctes en fonction des structures cérébrales.

Durant cette période de développement, en plus des récepteurs, il existe également des variations des niveaux d'eCBs dans ces mêmes régions. Par exemple, une étude a montré une augmentation de l'AEA (multiplié par 3) et une diminution du 2-AG dans le CPF pendant l'adolescence (Ellgren et al., 2008). Par ailleurs, certaines études ont également rapporté des changements dans la machinerie enzymatique de synthèse et de dégradation des eCBs pendant l'adolescence, en particulier concernant l'activité de FAAH, qui pourrait ainsi contribuer aux fluctuations des niveaux d'AEA (Lee et al., 2016), ainsi que MAGL (Long et al., 2012). De plus, une consommation intensive et régulière de THC pendant l'adolescence a des effets beaucoup plus délétères et persistants sur les fonctions cognitives qu'à l'âge adulte, suggérant que le cerveau des adolescents est particulièrement vulnérable aux effets du cannabis. D'ailleurs, la consommation de cannabis à l'adolescence augmenterait le risque de développer des troubles psychotiques voire une schizophrénie (Arseneault et al., 2002; Veen et al., 2004). Des différences sexuelles de maturation du système eCB central ont également été rapportées pendant l'adolescence. En effet, le pic d'expression des CB1R est plus précoce chez les femelles que chez les mâles (Rodriguez de Fonseca et al., 1994). Sur le plan fonctionnel, une

étude a récemment identifier des différences sexuelles dans la plasticité synaptique (LTD) dépendante du système eCB se met en place plus tôt au sein du CPF des femelles que des mâles, avant et après la puberté respectivement (Bernabeu et al., 2023; Borsoi et al., 2019), suggérant que les hormones sexuelles jouent un rôle dans la plasticité synaptique pendant l'adolescence (voir chapitre III.B.e). De plus, la LTD dépendante des eCBs implique différents récepteurs selon le sexe, les CB1R chez les mâles et les récepteurs endovanilloïdes TRPV1R chez les femelles, indiquant des différences mâle/femelle dans les mécanismes neurobiologiques sous-tendant la LTD (Bernabeu et al., 2023). Enfin, les effets du cannabis administré pendant l'adolescence diffèrent selon le sexe et les rongeurs femelles semblent plus sensibles aux effets des cannabinoïdes exogènes sur la mémoire spatiale (Craft et al., 2013).

Étant donné l'importance du système eCB dans la modulation des processus neurodéveloppementaux et des remaniements qu'il subit pendant l'adolescence dans des régions cérébrales impliquées dans la cognition, un dérèglement de ce système à l'adolescence pourrait avoir des conséquences délétères sur le fonctionnement cérébral, et en particulier sur les fonctions cognitives.

e) Dimorphisme sexuel cérébral et cognitif

Les effets cognitifs et mnésiques des œstrogènes s'accompagnent de différences liées au sexe. Pendant longtemps, l'idée générale fut que les rongeurs mâles surpassaient les femelles dans plusieurs tâches de mémoire spatiale telles que la piscine de Morris, le labyrinthe radial, le labyrinthe de Barnes ou le test de localisation d'objets (pour revue : Koszałka et al., 2023). Cependant, de récentes études ont suggéré que ces différences de résultats s'expliqueraient plutôt par des différences de stratégies comportementales entre les mâles et les femelles (pour revues : Fleischer and Frick, 2023; Yagi and Galea, 2019). De même, selon un autre dogme, les femelles auraient une moins bonne mémoire de peur au contexte que les mâles puisqu'elles s'immobilisent généralement moins (Colon et al., 2018; Maren et al., 1994; Sase et al., 2019; Tronson and Keiser, 2019), ce qui a globalement conduit à exclure les femelles des études portant sur ce sujet. De nouvelles études ont cependant démontré que les femelles développent bien une mémoire de peur mais l'expriment différemment que les mâles et utilisent préférentiellement une stratégie de réponse active plutôt que passive (Gruene et al., 2015; Mitchell et al., 2022). Des méta-analyses ont révélé que les différences mâle/femelle concernant les fonctions mnésiques ne sont pas généralisables puisqu'elles dépendent de divers paramètres, comme l'espèce et la souche de rongeur, l'âge, la tâche d'apprentissage et le protocole expérimental (Farr et al., 2008; Frick et al., 2000; Jonasson, 2005).

Par ailleurs, les différences comportementales entre mâles et femelles, notamment dans des tâches de mémoire, apparaissent le plus souvent pendant ou après l'adolescence, avec la libération des hormones sexuelles (Hodes and Shors, 2005; Kanit et al., 2000; Krasnoff and Weston, 1976). Le rôle des hormones sexuelles, et en particulier des œstrogènes dans les différences de mémoire entre les mâles et les femelles a en effet été démontré dans de nombreuses études (pour revue : Marrocco and McEwen, 2016). L'ovariectomie permet par exemple d'atténuer les différences mâle/femelle de mémoire de peur, qui sont rétablies suite à l'administration exogène d'E2 (Gupta et al., 2001). Si les différences sexuelles sur le plan cognitif sont encore débattues, il existe un important dimorphisme sexuel sur le plan cérébral dans plusieurs régions comme l'hypothalamus, le néocortex, l'amygdale et l'hippocampe. L'hippocampe diffère en effet dans sa structure anatomique, ses neurotransmetteurs, sa composition moléculaire et sa sensibilité aux glucocorticoïdes. Par exemple, dans la région CA1 de l'hippocampe dorsal, les femelles expriment plus les sous-unités GluN1 et GluN2A/B du récepteur NMDA (Brandt et al., 2020) et présentent une plus forte phosphorylation de la sous-unité GluA2 du récepteur AMPA (Monfort et al., 2015). Par ailleurs, on remarque une plus forte expression du marqueur d'activité c-Fos dans l'hippocampe des mâles par rapport aux femelles suite à un apprentissage de MRO (Torromino et al., 2022) ou un apprentissage spatial (Yagi et al., 2017, 2016). A noter que pour l'apprentissage spatial l'expression d'un autre marqueur d'activité, Zif268, est préférentiellement augmenté dans l'hippocampe des femelles par rapport aux mâles. On note également, suite à un conditionnement de peur au contexte, des niveaux de dégradation de protéines dans l'amygdale basolatérale plus élevés chez les femelles que les mâles (Martin et al., 2021).

On retrouve également certaines différences chez l'Homme. Sur le plan cognitif, de nombreuses études ont suggéré que les hommes présentaient de meilleures performances que les femmes dans des tests de mémoire spatiale dépendantes de l'hippocampe à l'âge adulte (Hampson, 1990a), mais également chez les enfants et les adolescents (Kerns and Berenbaum, 1991; Voyer et al., 1995). À l'inverse, les femmes présenteraient de meilleurs résultats dans des tâches de mémoire verbale (Hampson, 1990b) et de mémoire à court terme (Duff and Hampson, 2001). Il est cependant important de souligner que ces différences liées au genre ne sont pas toujours présentes. En effet, d'autres études n'ont détecté aucune différence de mémoire entre les hommes et les femmes ou bien uniquement des différences de stratégies utilisées (Chamizo et al., 2011; Dabbs et al., 1998; Lawton, 1994; Rentz et al., 2017; Silverman and Choi, 2006). Aux vues de ces données, bien que le sexe et les hormones sexuelles pourraient avoir un effet sur la physiologie cérébrale et les fonctions cognitives, de nombreux autres facteurs peuvent

influencer les résultats des tests comme l'âge, le mode de vie, l'expérience et les tests utilisés pour évaluer les fonctions cognitives. Bien que certaines études aient montré des différences homme-femme sur le plan cérébral (DeLacoste-Utamsing and Holloway, 1982), la notion de dimorphisme sexuel cérébral a été contredite par une étude qui a évalué la connectivité, le volume de la matière grise et de la matière blanche ainsi que l'épaisseur et les volumes corticaux et sous-corticaux grâce à la neuroimagerie. Les auteurs ont mis en évidence de nombreuses similitudes et recouvrements de distribution entre hommes et femmes, suggérant que le cerveau ne serait pas différent entre les sexes (Joel et al., 2015).

Ainsi, les œstrogènes apparaissent comme des modulateurs complexes des processus de mémorisation et de la plasticité neuronale dans le cerveau, notamment dans l'hippocampe, le cortex préfrontal et l'amygdale et pourraient être impliqués dans des différences mâle/femelle de plasticité neuronale et dans les processus de mémorisation.

IV. OBÉSITÉ, RÉGIME OBÉSOGÈNE ET MÉMOIRE

A. ALTÉRATIONS MNÉSIQUES

1. Chez l'homme

L'obésité est aujourd'hui largement associée à des altérations du fonctionnement cérébral et à un risque élevé de démence chez les personnes âgées, indépendamment du diabète et d'autres troubles cardiovasculaires (Whitmer et al., 2008). En effet, les personnes obèses présentent certaines altérations cognitives et plusieurs études épidémiologiques ont rapporté des baisses de leur capacité de mémorisation. En effet, une étude longitudinale menée à Baltimore sur 1700 sujets, a associé l'obésité à une diminution des performances de mémoire, d'attention et de certaines fonctions exécutives (Gunstad et al., 2010). Plusieurs études ont d'ailleurs confirmé une association entre un IMC élevé et de faibles résultats dans des tâches de mémoire épisodiques, spatiales et sémantiques (Loprinzi and Frith, 2018; Nilsson et al., 2012). De façon intéressante, l'apport nutritionnel prolongé en graisses saturées ou en aliments hypercaloriques, indépendamment des atteintes métaboliques liées à l'obésité, ont directement été corrélé négativement à des performances dans certaines tâches de mémoire (Attuquayefio and Stevenson, 2015; Francis and Stevenson, 2013). De plus, une récente étude longitudinale australienne a associé la baisse de la qualité nutritionnelle à une réduction du volume de l'hippocampe chez 250 sujets adultes (Jacka et al., 2015). Ces résultats sont en accord avec une autre étude indiquant une réduction de l'activité de l'hippocampe en réponse à un repas chez des sujets obèses (DelParigi et al., 2004), suggérant dans son ensemble une baisse des fonctions hippocampiques. En effet, l'obésité semble altérer principalement la mémoire dépendante de l'hippocampe, sans affecter d'autres fonctions cognitives (Cheke et al., 2016; Francis and Stevenson, 2011). Une étude a montré une moindre activation du CPF dorsolatéral chez des personnes obèses en réponse à un repas (Son NT Le et al., 2007), suggérant également une baisse des fonctions frontales. Toutefois, certaines études n'ont pas trouvé d'association entre l'obésité et des altérations mnésiques spécifiques (Knopman et al., 2001; Sabia et al., 2009) Kanoski and Davidson, 2011). Ces divergences de résultats sont probablement dues au grand nombre de facteurs confondants (estime de soi, mode de vie, activité physique, *etc.*), ainsi qu'à la diversité des tests utilisés pour évaluer les fonctions cognitives. Enfin, bien que menée sur un faible nombre d'individu (16 hommes), une étude a montré qu'une courte exposition de

5 jours à un régime hypercalorique suffit à diminuer certaines fonctions cognitives, indépendamment de l'obésité (Holloway et al., 2011).

Ces déficits cognitifs se retrouvent aussi bien chez les adultes que chez les enfants et adolescents obèses. Ainsi chez les enfants et adolescents obèses, on observe une diminution des performances dans des tâches mesurant les fonctions exécutives, telles que la flexibilité mentale, l'adaptation aux changements de règle et l'inhibition (Li et al., 2008; Lokken et al., 2009; Reinert et al., 2013). Par ailleurs, des études récentes montrent que les adolescents obèses présentent de moins bonnes performances à des tests cognitifs dépendants de l'hippocampe tels que des problèmes géométriques/visuo-spatiaux ou des tâches de mémoire relationnelle et que ceci est associé à de moindres résultats scolaires (Khan et al., 2015; Nyaradi et al., 2014). De plus, une étude transversale norvégienne a associé la baisse de la qualité nutritionnelle à des difficultés d'apprentissage chez près de 500 adolescents (Overby et al., 2013), sans avoir évalué le statut socio-économique des familles. De même, beaucoup d'autres facteurs confondants (lieu d'habitation, éducation des parents, activité physique *etc.*) peuvent influencer les résultats scolaires et biaiser les résultats de ces études (Santana et al. 2017). Au niveau cérébral, plusieurs études ont récemment montré que des enfants/adolescents obèses, comme observé chez les adultes, présentent une réduction du volume de l'hippocampe (Bauer et al., 2015; Mestre et al., 2020, 2017). De façon intéressante, une étude récente menée sur plus de 3000 enfants aux États-Unis montre une association entre un IMC élevé et une réduction du volume de plusieurs régions corticales, avec une plus forte corrélation dans le CPF (Laurent et al., 2020). Toutefois, d'autres études n'ont pas trouvé d'association entre l'obésité et des altérations mnésiques pendant l'enfance ou l'adolescence (Cserjési et al., 2007; Gunstad et al., 2008).

2. Dans les modèles animaux

De nombreuses études ont démontré que la consommation de régimes obésogènes engendre certaines perturbations cognitives (Kanoski and Davidson, 2011). Aux vues des perturbations de la mémoire déclarative dépendante de l'hippocampe chez l'Homme, la majorité des études ont évalué la mémoire des animaux dans des tâches de mémoire principalement dépendantes de l'hippocampe. De façon intéressante, bien que les modèles et les souches de rongeurs (rats ou souris) ainsi que la composition du régime alimentaire varient en fonction des études, les résultats indiquent majoritairement des altérations de la mémoire dépendante de l'hippocampe (Kanoski et al., 2010; Kanoski and Davidson, 2011; Greenwood and Winocur, 2005), en particulier la mémoire spatiale (le labyrinthe en Y, le labyrinthe radial, la piscine de Morris ou

le test de localisation d'objet), la mémoire contextuelle (conditionnement de peur), la mémoire épisodique (association entre un objet et un contexte) ou encore la MRO. Alors que la MRO à court-terme n'est généralement pas affectée (Kosari et al., 2012; Naneix et al., 2021; Tucker et al., 2012; Yan et al., 2020), la MRO à long-terme est généralement altérée (Ayabe et al., 2020; Beilharz et al., 2018; Biyong et al., 2021; de Andrade et al., 2017; Hayashi et al., 2020; Jeong et al., 2019; Kendig et al., 2019; Kim et al., 2021; Naneix et al., 2021; Rahigude et al., 2012; Reichelt et al., 2020; Wang et al., 2018, 2016; Zuloaga et al., 2016), suggérant un effet spécifique du régime HLS sur la consolidation mnésique. Quelques études ont évalué les effets d'un régime HLS prolongé sur la mémoire de peur au contexte (MPC) dépendante de l'hippocampe en utilisant différents protocoles. La plupart d'entre elles ont ainsi montré des altérations de la MPC à long-terme chez plusieurs modèles de rongeurs (Hwang et al., 2010; Reichelt et al., 2015b; Sobesky et al., 2014; Wang et al., 2020; Yamada-Goto et al., 2012), suggérant là-encore des dysfonctionnements hippocampiques. De façon intéressante, certaines études ont également mis en évidence des dysfonctionnements de l'amygdale chez les animaux sous régime HLS en évaluant la réponse de peur au son (Boitard et al., 2015; Reichelt et al., 2015b; Yamada-Goto et al., 2012; Zuloaga et al., 2016).

La composition du régime, notamment le pourcentage d'énergie apportée par les lipides saturés, est un facteur déterminant dans les effets délétères du régime HLS sur la mémoire. En effet, alors qu'un régime dont 40% des kcal proviennent des lipides n'a pas d'effet sur la mémoire spatiale, un régime plus drastique dont 60% des kcal proviennent des lipides a un effet délétère sur la mémoire spatiale après 4 mois d'exposition (Pistell et al., 2010). Par contre, une plus longue période d'exposition (6 mois) à ces deux régimes (40% et 60%) a les mêmes effets perturbateurs sur la mémoire spatiale dépendante de l'hippocampe (Lizarbe et al., 2019). D'autre part, les modèles d'obésité génétique présentent aussi certaines altérations mnésiques. Le rat Zucker et la souris *db/db* présentent des déficits d'apprentissage et de mémoire spatiale (piscine de Morris) ainsi que des perturbations de la plasticité hippocampique (Li et al., 2002; Stranahan et al., 2008a), suggérant qu'elle soit d'origine génétique ou alimentaire, l'obésité entraînent des altérations hippocampiques. Enfin, certains auteurs ont proposé l'hypothèse d'un cercle vicieux où des altérations de la mémoire hippocampique conduiraient à une augmentation de la prise alimentaire qui favoriserait la prise de poids et augmenterait les altérations mnésiques hippocampiques (Kanoski and Davidson, 2011).

Comme évoqué précédemment, l'enfance et l'adolescence sont des périodes de vulnérabilités à certains facteurs environnementaux comme une alimentation riche en gras et en sucre (pour revue : Tsan et al., 2021). Ainsi, bien que l'obésité ou la consommation du régime HLS peuvent

être délétères à l'âge adulte, les effets sur la mémoire pourraient être plus importants en cas d'exposition plus précoce, notamment pendant l'adolescence. En ce sens, de nombreuses études ont montré qu'un régime obésogène induit des altérations cognitives lorsqu'il est commencé à l'adolescence (HLSado), mais pas à l'âge adulte (Boitard et al., 2015, 2014, 2012; Glushchak et al., 2021; Hsu et al., 2015; Khazen et al., 2019; Klein et al., 2016; Labouesse et al., 2017; Privitera et al., 2011; Valladolid-Acebes et al., 2013; Noble and Kanoski, 2016). Dans l'ensemble, ces données démontrent que l'adolescence est une période de développement critique, particulièrement vulnérable aux effets du régime obésogène sur la mémoire, en particulier les mémoires dépendantes de l'hippocampe.

3. Différences mâles/femelles

- *Chez l'Homme*

De façon générale, les études épidémiologiques ont été menées sur des populations équilibrées d'hommes et de femmes afin d'ajuster les analyses sur le « sexe », éliminant ainsi un effet potentiel de cette variable sur les résultats. En revanche, les différences entre les sexes ne sont généralement pas examinées. Par exemple, chez des adolescents, la baisse de la qualité nutritionnelle est associée à des difficultés d'apprentissage chez 236 garçons et 239 filles après ajustement des analyses avec la variable « sexe », sans qu'il n'y ait eu d'analyses différentielles en fonction du sexe (Overby et al., 2013). De la même façon, des enfants obèses présentent une réduction du volume de l'hippocampe et des changements d'activation du CPF après ajustement des analyses avec la variable « sexe » (Son NT Le et al., 2007). De façon intéressante, un IMC élevé a été associé à des altérations de mémoire épisodique chez les hommes et les femmes après des analyses différentielles en fonction du sexe (Mestre et al., 2020). De plus, une étude a montré de plus fortes altérations de la mémoire à court-terme ou de la mémoire verbale chez des femmes atteintes de diabète de type 2 (Devore et al., 2009). De façon intéressante, des différences homme/femme ont été découvertes dans une vaste étude japonaise portant sur 1500 personnes avec une corrélation négative entre un IMC élevé et le volume de la matière grise dans différentes régions du cortex chez les hommes mais pas les femmes (Taki et al., 2008).

- *Chez l'animal*

À ce jour, seules quelques études ont comparé les effets d'un régime obésogène sur la mémoire chez les deux sexes à l'âge adulte. Certaines études comparatives ont montré les mêmes effets délétères d'un régime obésogène sur la mémoire spatiale et l'excitabilité neuronale dans l'hippocampe de rats mâles et femelles (Underwood and Thompson, 2016). Plus récemment,

une étude a confirmé chez la souris que le régime obésogène altère la MRO et la mémoire spatiale chez les mâles et les femelles (Garcia-Serrano et al., 2022). D'autres études se sont focalisées sur des rongeurs femelles nourries avec un régime HLS pendant 20 semaines et ont noté des altérations de la mémoire dépendante de l'hippocampe et de la plasticité hippocampique (Braga et al., 2021; Mantor et al., 2018). Par ailleurs, des souris femelles nourries avec un régime HLS à l'adolescence, mais pas à l'âge adulte, présentent des perturbations de mémoire spatiale dans la piscine de Morris démontrant la vulnérabilité de la période d'adolescence chez les femelles comme chez les mâles (Klein et al., 2016). Il est important de noter que ces études ont utilisé un régime HLS drastique (60% de kcal issus des lipides), une longue durée d'exposition (20 semaines) et ont évalué la mémoire non-aversive. Toutefois, d'autres études suggèrent que les femelles sont moins sensibles que les mâles aux effets d'un régime obésogène sur la mémoire. En effet, alors que la consommation prolongée d'un régime HLS démarrant au sevrage (donc incluant l'adolescence) perturbe la plasticité synaptique hippocampique ainsi que la MPC dépendante de l'hippocampe chez le mâle, elle n'affecte pas ces paramètres chez la femelle (Hwang et al., 2010). De même, la surconsommation de sucrose pendant l'adolescence perturbe la mémoire associative entre un objet et sa position spatiale chez le mâle mais pas chez la femelle (Abbott et al., 2016). Les œstrogènes pourraient atténuer les déficits de mémoire associés à la consommation du régime HLS chez les femelles. En particulier, il a été montré que les œstrogènes, sécrétés durant le proœstrus chez la femelle, permettent de résister aux effets amnésiants de la surconsommation de sucrose pendant l'adolescence (Abbott et al., 2016).

Des études ont également mis en évidence des différences entre les sexes au niveau cellulaire et moléculaire. En effet, une longue exposition à un régime HLS (8 mois) induit moins d'inflammation dans certaines structures cérébrales, comme le cortex antérieur et le cervelet, chez des souris femelles que chez les mâles. De plus l'analyse transcriptionnelle indique que les deux sexes présentent bien une réduction de l'expression de certains gènes impliqués dans la plasticité synaptique dans le cortex, mais que seuls les mâles présentent une diminution des récepteurs AMPA et NMDA (Murtaf et al., 2022). En accord avec ces résultats, une étude a montré qu'un régime HLS induit une augmentation des cellules microgliales activées chez les mâles mais pas chez les femelles et une diminution des cytokines pro-inflammatoires chez les femelles mais pas chez les mâles (Abi-Ghanem et al., 2023). Par ailleurs, la consommation d'aliments de type « cafétéria » n'induit pas les mêmes altérations de la plasticité synaptique dans le noyau accumbens de rats mâles et femelles. Enfin, une étude a découvert des différences mâle/femelle dans les altérations des réseaux périneuronaux du CPF induites par 20 jours

d'exposition à un régime HLS chez le rat. En effet, alors que les femelles présentent des modifications de réseaux périneuronaux dans le CPFvm, elles se situent dans le CPFdm et le cortex orbitofrontal ventromédian chez les mâles (Dingess et al., 2020).

Ainsi, ces données suggèrent que la consommation d'un régime obésogène à l'adolescence pourrait induire différentes altérations neuronales et cérébrales en fonction du sexe de l'individu, se traduisant par des différences dans la nature des altérations mnésiques.

B. Mécanismes impliqués

a) Plasticité neuronale

Chez le rongeur, de nombreuses études ont associé les déficits mnésiques induit par l'exposition à un régime HLS à des altérations de l'expression de plusieurs facteurs neurotrophiques ou marqueurs des fonctions synaptiques comme les transporteurs vésiculaires du glutamate et du GABA, en particulier dans l'hippocampe (Camer et al., 2015; Liu et al., 2014; Lizarbe et al., 2019; Molteni et al., 2002; Park et al., 2010; Reichelt et al., 2015b; Wang et al., 2020), mais également dans le CPFm (Xia et al., 2015; Liu et al., 2014; Camer et al., 2015; Kanoski et al., 2007; Labouesse et al., 2017; Lizarbe et al., 2019; Reichelt et al., 2020; Yoon et al., 2019). De toute évidence, les altérations moléculaires varient en fonction de nombreux facteurs comme l'âge et la durée du régime, sa composition lipidique et glucidique et le modèle animal utilisé dans l'étude. Au niveau de la plasticité synaptique, plusieurs études électrophysiologique *in vivo* et *ex vivo* ont rapporté que la consommation d'un régime HLS induit des altérations de la LTP dans l'hippocampe (Hao et al., 2016 ; Hwang et al., 2010 ; Stranahan et al., 2008 ; Gault et al., 2010; Porter et al., 2010 ; Vouimba et al., 2021). La consommation précoce d'un régime HLS a aussi été associée à une réduction des concentrations de GABA et du nombre de neurones GABA dans le CPF et l'hippocampe, conduisant à des modifications de la transmission inhibitrice (Reichelt et al., 2019a, 2015a; Sandoval-Salazar et al., 2016; Seabrook et al., 2023; Thompson et al., 2017; Xu and Reichelt, 2018).

En outre, l'exposition au régime HLS diminue la neurogénèse dans le gyrus denté de l'hippocampe (Hwang et al., 2008; Lindqvist et al., 2006; Park et al., 2010). Notre équipe a d'ailleurs montré que la consommation d'un régime HLS à l'adolescence, mais pas à l'âge adulte, altère la neurogénèse hippocampique (Boitard et al., 2012), démontrant à nouveau la vulnérabilité de l'hippocampe pendant l'adolescence. Les régimes HLS semblent également impacter la morphologie neuronale, notamment en diminuant l'arborisation dendritique des neurones de la région CA1 de l'hippocampe (Stranahan et al., 2008b) ou dans le CPF

(Thompson et al., 2017). Par ailleurs, une étude a montré que 8 semaines d'exposition à un régime HLS pendant l'adolescence, mais pas à l'âge adulte, modifie la densité des épines dendritiques dans l'hippocampe (Valladolid-Acebes et al., 2013), suggérant encore une fois la vulnérabilité de l'hippocampe à l'adolescence. Par ailleurs, une exposition courte ou prolongée à un régime HLS à l'adolescence peut également altérer la formation des réseaux périneuronaux dans le CPF et l'hippocampe (Dingess et al., 2018; Reichelt et al., 2021). Ainsi, toutes ces données mettent en évidence les effets délétères d'un régime HLS sur la plasticité cérébrale.

b) Glucocorticoïdes

L'obésité est associée à une dérégulation de l'axe corticotrope chez l'Homme (Duclos et al., 2001; Jessop et al., 2001; Pasquali et al., 2006) et chez les modèles animaux d'obésité induite par l'alimentation qui se caractérise par une plus forte libération de glucocorticoïdes après des événements stressants (Boitard et al., 2015; Legendre and Harris, 2006; Sharma and Fulton, 2013). De plus, l'adolescence est une période critique pour la maturation de l'axe corticotrope (McCormick and Mathews, 2007) qui est un modulateur important de la consolidation de la mémoire (McGaugh, 2004). Ainsi, notre laboratoire a montré que la consommation d'un régime HLS à l'adolescence induit de plus fortes libérations de glucocorticoïdes qu'une exposition similaire à l'âge adulte, après différents stress (Boitard et al., 2015) ou simplement après avoir exposé les animaux à de nouveaux objets dans un nouvel environnement (acquisition de la MRO). Le blocage des récepteurs aux glucocorticoïdes immédiatement après l'acquisition améliore la MRO à long terme, démontrant l'implication de ce système dans les altérations mnésiques induites par le régime HLS à l'adolescence (Janthakhin et al., en préparation). De façon similaire, d'autres équipes ont montré que la diminution des glucocorticoïdes circulants permet également de prévenir les déficits de MRO dans des modèles d'obésité d'origine alimentaire (Janthakhin et al., 2022) ou génétique (Stranahan et al., 2008a; Wosiski-Kuhn et al., 2014).

c) Altérations métaboliques

Étant donné que l'obésité est fortement associé au diabète de type 2 (Bonadonna et al., 1990), la résistance à l'insuline pourrait être un mécanisme clé du dysfonctionnement hippocampique en condition d'obésité (Chabot et al., 1997; Lamport et al., 2014; Li et al., 2002; Molteni et al., 2002; Zhao et al., 2004), d'autant plus que l'*insuline* est connue pour son rôle modulateur de la physiologie cérébrale et la plasticité neuronale (pour revue : Kleinridders et al., 2014). Chez l'Homme, une étude a d'ailleurs montré que l'administration intranasale et chronique d'insuline

améliore certaines performances de mémoire (Benedict et al., 2004). De plus, contrairement aux patients obèses non-diabétiques, des personnes obèses diabétiques présentent des réductions du volume de l'hippocampe (Brue et al., 2011 ; Ursache et al., 2012) et une diminution de leurs performances de mémoire (Lampont et al., 2014). Cependant, d'autres études ont trouvé des réductions du volume de l'hippocampe chez des obèses non-diabétiques (Jagust et al., 2005; Raji et al., 2010). Ces données cliniques suggèrent que la résistance à l'insuline aurait un effet additif plutôt qu'explicatif dans les altérations hippocampiques et mnésiques associées à l'obésité. Chez le rat, un régime HLS induit une hyper-insulinémie et une diminution de la phosphorylation du récepteur à l'insuline et d'IRS-1 (substrat de l'activation du récepteur) dans l'hippocampe (Pratchayasakul et al., 2011).

L'obésité est également associée à une forte production de *leptine* par le tissu adipeux conduisant à terme à une résistance à la leptine. La consommation de régime HLS pendant 8 semaines à l'adolescence, mais pas à l'âge adulte, désensibilise dans l'hippocampe la phosphorylation de la protéine kinase B (voie de signalisation Akt) couplée au récepteur à la leptine suggérant une résistance à la leptine suite à l'exposition au régime HLS se développant plus rapidement dans l'hippocampe à l'adolescence (Valladolid-Acebes et al. 2013).

Par ailleurs, quelques jours de régime HLS diminue la production du neurostéroïde *prégnénone* dans l'hypothalamus et l'administration de prégnénone permet de prévenir les altérations de la MRO et de la plasticité synaptique hippocampique (Ramirez et al., 2022).

L'hypertriglycéridémie, souvent associée à l'obésité, pourrait également être impliquée puisqu'une injection de *triglycérides* dans le cerveau peut perturber les fonctions cognitives et notamment la mémoire spatiale (Farr et al., 2008).

Enfin, une carence en *vitamine A* pourrait également participer aux effets de l'obésité sur la mémoire. Après absorption intestinale et stockage hépatique, la vitamine A (ou rétinol), uniquement fourni par l'alimentation, est sécrétée dans la circulation pour atteindre le cerveau où elle régule la plasticité de l'hippocampe et les fonctions mnésique via la régulation de l'expression génique grâce à ses récepteurs nucléaires RAR et RXR (Lane and Bailey, 2005). L'obésité est associée à une carence en vitamine A chez l'homme (Virounudomphol et al., 2003) et chez l'animal la biodisponibilité de la vitamine A est réduite après exposition à un régime HLS, étant captée par le tissu adipeux (Blaner, 2019; Trasino and Gudas, 2015). De façon intéressante, l'équipe a récemment montrée qu'une supplémentation nutritionnelle en vitamine A est capable de prévenir les altérations hippocampiques chez les animaux HLS (Biyong et al., 2021).

d) Microbiote et dysbiose

L'obésité et la consommation de régime HLS modifie la flore intestinale (Cani and Delzenne, 2009) dont la composition peut prédisposer à l'obésité (Leigh and Morris, 2020). Certaines études ont suggéré l'implication de la dysbiose intestinale dans les altérations cognitives et mnésiques induites par le régime HLS. En effet, de nombreuses études ont corrélés des altérations neurocomportementales à des altérations de la composition du microbiote intestinale chez des souris nourries à un régime HLS (voir par exemple Wu et al., 2023). De plus, l'effet bénéfique de la supplémentation nutritionnelle en vitamine A sur les altérations hippocampiques s'accompagne d'une correction de la dysbiose chez les animaux HLS (Biyong et al., 2021). Enfin, en plus de ces études corrélationnelles, certaines études récentes ont permis de faire un lien causal. Par exemple, après avoir mis en évidence des niveaux très faible de la bactérie commensale *Akkermansia muciniphila* suite au régime HLS à l'adolescence, un apport de cette bactérie chez les souris HLS a permis d'annuler leurs altérations de plasticité hippocampique et leurs déficits mnésiques (Yang et al., 2019). Dans le même sens, des études ont montré les effets bénéfiques de certains probiotiques/prébiotiques sur les fonctions hippocampiques d'animaux HLS (Beilharz et al., 2018; de Paiva et al., 2023). Ces effets pourraient passés par le nerf vague compte tenu de la découverte récente de son rôle modulateur sur les fonctions hippocampiques (Suarez et al., 2018). De plus, la stimulation du nerf vague semble pouvoir prévenir les altérations hippocampiques d'animaux HLSado (Scott Kanoski, communication personnelle).

e) Neuroinflammation et stress oxydatif

L'obésité est qualifiée d'état inflammatoire chronique à bas-bruit. En effet, on observe une plus forte concentration sanguine de facteurs pro-inflammatoires chez les personnes obèses (Hansen et al., 2010; Olszanecka-Glinianowicz et al., 2008; Visser et al., 1999). Chez l'Homme comme chez l'animal, l'élévation de masse grasse abdominale est associée à une élévation, modérée mais chronique, des taux circulants de médiateurs inflammatoires (Brooks et al., 2010 Thewissen et al., 2011). En effet, le tissu adipeux blanc est à l'origine de la sécrétion de marqueurs pro-inflammatoires : les adipokines comme le TNF α , l'Il-6, le MCP-1 et la leptine (Tilg and Moschen, 2006).

Au niveau cérébral, notre laboratoire a mis en évidence une exacerbation de la réponse inflammatoire, spécifiquement dans l'hippocampe, chez des animaux exposés au régime HLS à l'adolescence, mais pas à l'âge adulte (Boitard et al., 2014). Parmi plusieurs régimes, seul le régime HLS le plus drastique (60%) induit des déficits de mémoire associés à une augmentation

de l'inflammation et de l'activation gliales dans le cortex (Pistell et al, 2010), suggérant l'importance de la composition du régime HLS sur la neuroinflammation et les déficits mnésiques associés. Des données récentes confirment qu'une longue exposition à un régime HLS conduit à une microgliose dans l'hippocampe et le CPF (Cope et al., 2018; Reichelt et al., 2021). Par ailleurs l'exposition précoce à un régime HLS pendant 13 semaines induit des altérations de la mémoire spatiale, associées à une augmentation des marqueurs inflammatoires et du stress oxydatif dans l'hippocampe (Tan and Norhaizan, 2019). En effet, l'inflammation va souvent de pair avec le stress oxydatif puisque les cellules immunitaires activées génèrent de grandes quantités d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Tan and Norhaizan, 2019). Ainsi, la consommation d'un régime obésogène est associée à l'augmentation du stress oxydatif dans l'hippocampe et le CPF (Freeman et al., 2013; Stranahan et al., 2011).

Un lien causal entre cette neuroinflammation et les perturbations de mémoire existe dans le contexte de l'obésité d'origine alimentaire. En effet, le blocage de la cytokine pro-inflammatoire IL-1 dans l'hippocampe reverse les déficits de mémoire contextuelle, spatiale et de MRO dans un modèle d'obésité d'origine alimentaire (Sobesky et al., 2014) ou génétique (Erion et al., 2014). De façon similaire, l'administration orale d'acide ursolique, un agent anti-inflammatoire et antioxydant, prévient l'augmentation de la signalisation inflammatoire, les changements d'expression de protéines impliquées dans la plasticité neuronale et les déficits de mémoire induits par l'exposition prolongée à régime HLS (60%) pendant 20 semaines (Lu et al., 2011). De plus, le resvératrol, puissant antioxydant, diminue l'inflammation et le stress oxydatif dans l'hippocampe et améliore les déficits de mémoire spatiale induit par 20 semaines d'exposition au régime HLS chez la souris (Jeon et al., 2012).

f) Barrière hématoencéphalique

Les régimes HLS augmentent également la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE), affectant en particulier l'hippocampe (Banks et al., 2004, 2008). En revanche, contrairement à des rats obèses, des rats exposés à un régime HLS mais résistants à l'obésité ne présentent pas d'altération de la BHE, suggérant un lien possible entre le poids corporel et la perméabilité à la BHE. L'augmentation de la perméabilité de la BHE est susceptible de modifier le transport des nutriments, des hormones métaboliques, des cytokines inflammatoires et des macrophages, pouvant par conséquent exacerber les effets délétères sur l'hippocampe (Cordner and Tamashiro, 2015; Kanoski et al., 2010). De plus, chez des souris obèses nourries au régime HLS, l'inhibition de la protéine kinase C ou le blocage du récepteur de l'adénosine 2a réduit la

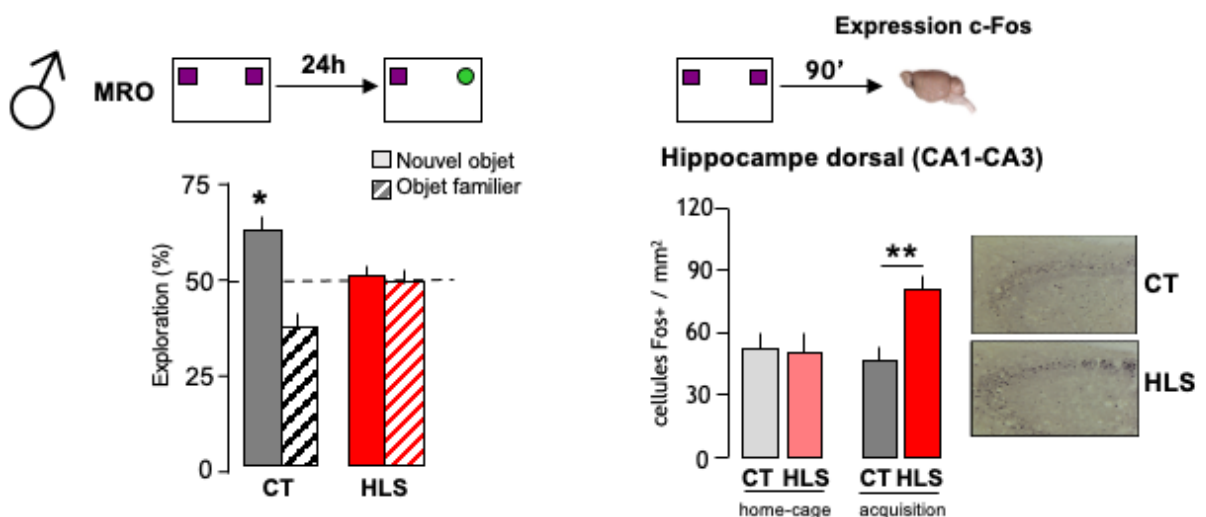
perméabilité de la BHE et améliore la mémoire dépendante de l'hippocampe et la plasticité hippocampique (Yamamoto et al., 2019).

C. Deux mécanismes potentiels à l'étude

1. Altération de l'activité neuronale

Il a récemment été montré dans notre laboratoire que les perturbations mnésiques induites par la consommation d'un régime HLSado sont associées à des altérations fonctionnelles de l'hippocampe chez les rongeurs mâles. En particulier, l'acquisition de la MRO induit une augmentation de l'expression de c-Fos, marqueur de l'activité neuronale, dans l'hippocampe d'animaux nourries au régime HLS pendant 12 semaines (Biyong et al., 2021). L'inactivation chémozogénétique des neurones pyramidaux de l'hippocampe permet d'améliorer les performances de MRO des animaux HLSado (Figure 28 ; Naneix et al., 2021 ; Bakogiannis et al., en préparation), montrant que la suractivation de l'hippocampe est à l'origine des déficits mnésiques induits par le régime HLSado chez les souris mâles. Il reste à évaluer si des altérations similaires sont présentes chez les femelles exposées au régime HLSado.

A. Effets du régime HLSado sur la MRO et l'activation de l'hippocampe



B. Effets de l'inactivation de l'hippocampe sur les déficits de MRO des animaux HLSado

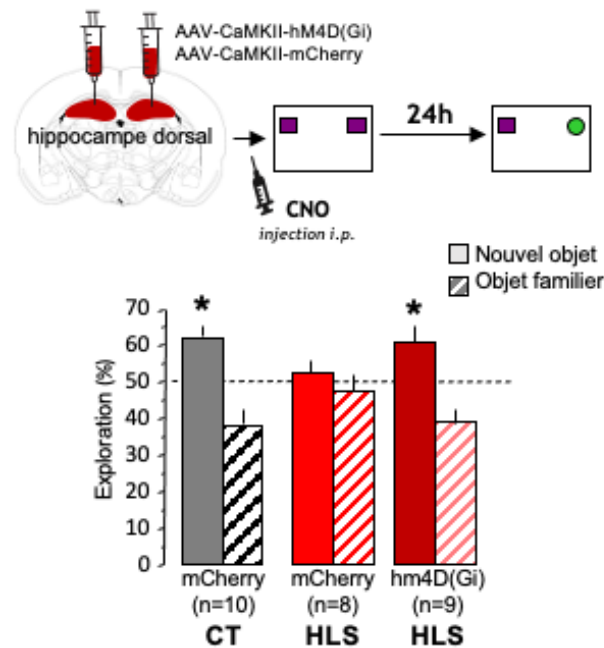


Figure 28 : Effets de l'inactivation chimogénétique de l'hippocampe dorsal sur les déficits de mémoire de reconnaissance d'objet chez les mâles HLSado.

A. Effet du régime HLSado sur le test de mémoire de reconnaissance d'objet (MRO) à long-terme (24h ; à gauche) et sur le nombre de cellules c-Fos positives dans l'hippocampe dorsal 90 minutes après l'acquisition de la MRO ou au niveau basal (home-cage ; à droite). B. Effet de l'inactivation chimogénétique de l'hippocampe sur le test de MRO. Les résultats sont exprimés en moyenne des pourcentages + SEM. Statistiques : one sample t-test ou unpaired t-test. Abréviations : CT, régime contrôle; HLS, régime hyperlipidique et sucré; MRO, mémoire de reconnaissance d'objet (issu de Biyong et al., 2020 ; Naneix et al., 2021).

2. Altération du système endocannabinoïde

Comme vu précédemment, l'obésité est fortement associée à des dérégulations du système eCB dans les tissus périphériques et cérébraux impliqués dans le métabolisme énergétique (Di Marzo et al., 2001; Yang et al., 2018) mais également dans d'autres régions cérébrales impliquées dans les fonctions cognitives comme l'hippocampe et le CPF. Une première étude montre une diminution de la densité des CB1R dans l'hippocampe de rat nourris avec des aliments palatables pendant 10 semaines (Harrold et al., 2002). Par la suite, les études indiquent que 3 semaines d'exposition à un régime HLS n'affecte pas l'activité des CB1R dans l'hippocampe (South and Huang, 2008), alors que l'expression des CB1R est augmentée dans l'hippocampe de rats nourris avec un régime HLS pendant 12 semaines. Le régime induit une augmentation des niveaux d'AEA ainsi que du *ratio* des enzymes de synthèse et de dégradation en faveur de la synthèse d'AEA (Rivera et al., 2013). De façon similaire, une augmentation de la densité des CB1R dans les régions CA1 et CA3 de l'hippocampe ainsi que des niveaux d'AEA, de 2-AG

et de DAGL α (enzyme de synthèse du 2-AG) a été mis en évidence chez des souris obèses nourries avec un régime HLS pendant 12 semaines (Massa et al., 2010). Ainsi, les modifications du système eCB dépendent de nombreux paramètres expérimentaux comme la durée d'exposition et la composition du régime HLS.

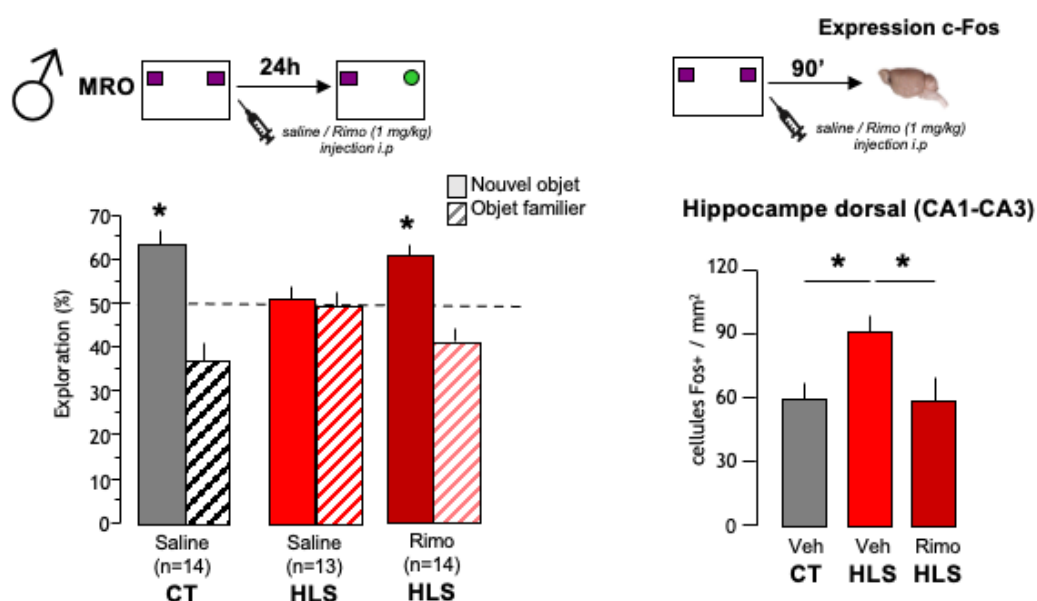
De façon intéressante, l'activité du système eCB est également altérée dans le CPF à la suite d'une exposition à un régime HLS. En effet, l'expression des enzymes de synthèses et de dégradation des eCBs est diminuée dans le cortex cingulaire antérieur de rats nourris au régime HLS (Bourdy et al., 2021). De plus, l'activité de liaison des CB1R est augmentée dans le CPF de rates après 4 à 12 semaines de régime HLS. Par ailleurs, ce même régime ne modifie pas l'activité des CB1R de l'hippocampe (Rojo et al., 2013) suggérant de potentielles différences entre ces deux structures chez la femelle.

Le régime obésogène entraîne des dérégulations du système eCB dans l'hippocampe ou le cortex préfrontal qui pourraient être responsables des altérations mnésiques associées.

Ainsi, notre laboratoire a évalué l'implication du système eCB dans les déficits de MRO induit par la consommation d'un régime obésogène à l'adolescence chez des souris mâles. Le régime HLSado augmente les niveaux d'AEA et d'expression des CB1R dans l'hippocampe après la phase d'acquisition de la MRO (Janthakhin et al. en préparation) suggérant que la suractivation du système eCB participerait aux altérations de la MRO à long terme. Le blocage des CB1R par l'injection d'un antagoniste juste après la phase d'acquisition de la MRO normalise la suractivation de c-Fos dans l'hippocampe dorsal (CA1-CA3) et améliore les déficits de MRO à long terme des animaux HLSado (Figure 29). La diminution des CB1R de l'hippocampe dorsal, dans la totalité des cellules de l'hippocampe ou spécifiquement dans les neurones glutamatergiques excitateurs, restaure également la MRO à long terme des souris nourries avec un régime HLS (Figure 29 ; Janthakhin et al. en préparation), démontrant que l'hyperactivité du système eCB de l'hippocampe participe aux déficits de MRO des souris mâles HLSado.

Il apparait que les dérégulations de l'activité neuronale et du système eCB de l'hippocampe sont responsables des perturbations mnésiques induites par la consommation d'un régime obésogène à l'adolescence chez le mâle. Il reste maintenant à déterminer si ces résultats peuvent être généralisés aux femelles.

A. Effets du blocage des CB1R sur la MRO et l'activation de l'hippocampe



B. Effets de la diminution des CB1R de l'hippocampe sur les déficits de MRO des animaux HLSado

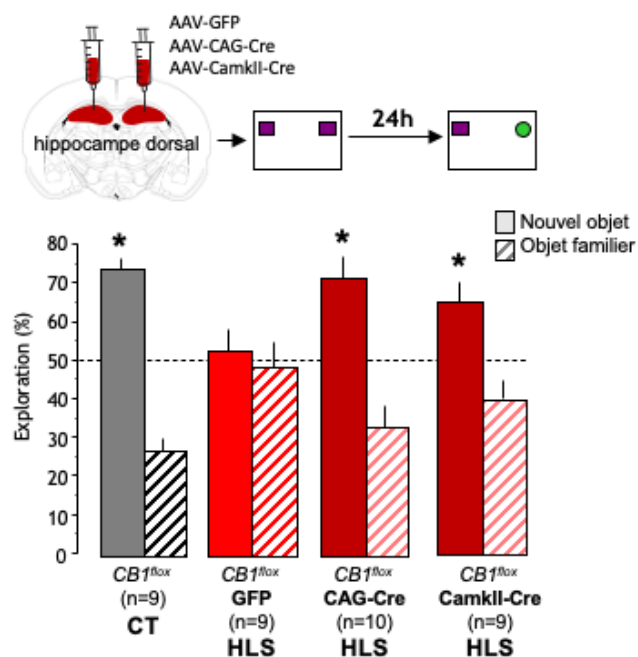


Figure 29 : Rôle des CB1R dans les déficits de mémoire de reconnaissance d'objet et l'activation c-Fos de l'hippocampe chez les mâles HLSado.

A. Effet de l'injection d'un antagoniste des CB1R (Rimonabant, Rimo 1mg/kg) sur le test de mémoire de reconnaissance d'objet (MRO) à long-terme (24h) (à gauche) et sur le nombre de cellules c-Fos positives dans l'hippocampe dorsal 90 minutes après l'acquisition de la MRO **B.** Effet de la délétion virale des CB1R de l'hippocampe sur le test de MRO. Les résultats sont exprimés en moyenne des pourcentages +/- SEM. Statistiques : one sample t-test ou one-way ANOVA. Abréviations : CT, régime contrôle ; HLS, régime hyperlipidique et sucré; MRO, mémoire de reconnaissance d'objet ; Rimo (rimonabant) : antagoniste des CB1R (issu de Janthakhin et al., en préparation)

OBJECTIFS DES TRAVAUX DE THESE

L'obésité est l'un des problèmes de santé publique les plus graves du XXI^e siècle qui touche de plus en plus les enfants et les adolescents. En plus de favoriser l'apparition de maladies métaboliques et cardiovasculaires ainsi que de cancers, l'obésité est associée à l'apparition de troubles cognitifs, en particulier mnésiques, et ce dès le plus jeune âge. Des effets similaires sont retrouvés sur des modèles animaux dont le surpoids ou l'obésité est obtenu par la consommation de nourritures obésogènes hyper-lipidiques et sucrées (HLS). L'exposition à ces nourritures obésogènes précocement, en particulier lors de l'adolescence (HLSado), engendre des effets plus forts sur la mémoire que la même exposition à l'âge adulte. Cette période développementale correspond à la maturation finale de structures cérébrales telles que l'hippocampe ou le cortex préfrontal, qui jouent un rôle fondamental dans la mémoire.

D'ailleurs, les perturbations mnésiques des animaux HLSado dans la mémoire de reconnaissance d'objet (MRO) à long-terme sont associées à une suractivation anormale de l'hippocampe lors de l'acquisition. La diminution chimogénétique de cette activité hippocampique aberrante améliore la mémoire indiquant que **les changements d'activités neuronales hippocampiques sont à l'origine des déficits mnésiques induits par l'aliment obésogène consommé à l'adolescence**. Un des modulateurs les plus puissants de l'activité neuronale, en particulier au niveau hippocampique, est le système endocannabinoïde qui est d'ailleurs hyperactif sous régime HLS. Le blocage systémique des principaux récepteurs du système endocannabinoïde, les CB1R, ou leur diminution au niveau hippocampique améliore les performances de MRO des souris HLSado suggérant que **l'hyperactivation des CB1R de l'hippocampe participe aux déficits de mémoire**. Ces expériences ont cependant été réalisées exclusivement chez des souris mâles et aucune étude n'a comparé les mécanismes impliqués dans les effets comportementaux d'un régime HLSado chez des rongeurs mâles et femelles.

Ainsi, l'objectif général de mes travaux de thèse sera de **déterminer si les femelles présentent la même sensibilité que les mâles aux effets d'un régime obésogène consommé à l'adolescence sur la mémoire, afin de caractériser les mécanismes neurobiologiques à l'origine de ces différences ou similitudes.**

Dans la première partie de ces travaux de thèse, des souris femelles et mâles exposées à une alimentation HLSado ont été soumises à une tâche de mémoire de peur contextuelle (MPC) à long terme. Ayant mis en évidence des différences comportementales entre mâles et femelles HLSado, nous avons abordé **la caractérisation des différences neurobiologiques à l'origine des effets différentiels sur la mémoire de peur entre les sexes.**

Nous avons tout d'abord quantifié les activations cérébrales induites par l'acquisition de la MPC chez les mâles et les femelles. Les souris mâles HLSado présentant une activation plus forte de l'hippocampe, une approche de chimogénétique a ensuite permis d'évaluer si la diminution de l'activité neuronale hippocampique améliorerait les déficits de MPC de ces souris.

La deuxième partie de ce travail de thèse s'est focalisée sur une autre tâche mnésique, la MRO à long terme, connue pour être perturbée chez les mâles HLSado et impliquant les CB1R hippocampique. Ayant également mis en évidence une perturbation de la MRO à long terme chez les femelles HLSado, nous avons évalué si **les déficits de mémoire des femelles HLSado dépendaient de mécanismes similaires (structures cérébrales et types neuronaux) impliquant le système endocannabinoïde et les CB1R.**

Pour répondre à cette question, nous avons examiné les effets du blocage systémique des CB1R sur la MRO à long terme des mâles et des femelles HLSado et sur les activations cérébrales induites lors de l'acquisition de la tâche chez les femelles HLSado, en nous focalisant sur l'hippocampe et le cortex préfrontal médian, connu pour être également impliqué dans la MRO à long terme. Nous avons ensuite quantifié chez les femelles et les mâles HLSado l'expression cérébrale des CB1R dans ces structures cérébrales d'intérêt et caractérisé les effets sur les déficits de MRO de la diminution sélective des CB1R dans l'hippocampe ou dans le cortex préfrontal médian chez les femelles et les mâles HLSado.

Nous nous sommes ensuite intéressés aux types neuronaux impliqués (neurones glutamatergiques ou GABAergiques) en évaluant les effets sur les déficits de MRO d'une diminution sélective des CB1R sur chaque type neuronal dans chaque structure.

Enfin, nous avons investigué le rôle des hormones sexuelles femelles, en particulier les œstrogènes, dans les différences mâles-femelles, l'adolescence étant une période caractérisée par des changements hormonaux drastiques. Pour cela, nous avons examiné si une ovariectomie très précoce modifiait les effets de la diminution des CB1R de l'hippocampe ou du cortex préfrontal médian sur les déficits de MRO des femelles HLSado.

CHAPITRE 1

**Effet d'un régime obésogène à l'adolescence
sur la mémoire de peur contextuelle
et les activations hippocampiques
chez des souris mâles et femelles**

Sex and obesogenic diet effects on contextual fear memory and associated hippocampal activity in mice

N'Diaye Matéo*, Ducourneau Eva-Gunnel*, Bakogiannis Ioannis, Potier Mylène, Lafenetre Pauline, Ferreira Guillaume

NutriNeuro Lab, FoodCircus team, Université de Bordeaux, UMR 1286 INRAE, Bordeaux INP, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux, France.

*: contributed equally to this work

Corresponding Author: Guillaume Ferreira, +33 557 571 248, guillaume.ferreira@inrae.fr

Short Title: Sex and diet effects on fear conditioning

Keywords: fear conditioning, memory, hippocampus, obesity, high-fat, sex, females

Highlights

- ❖ Adolescent obesogenic diet increases fat mass and glucose levels in males and females
- ❖ Obesogenic diet induces contextual fear memory deficits in males but not females
- ❖ Fear conditioning enhances hippocampal activation in obesogenic diet-fed males only
- ❖ Chemogenetic hippocampal inactivation restores diet-induced fear memory deficits in males

1. Abstract

In addition to metabolic and cardiovascular disorders, obesity is associated with cognitive deficits in humans as well as in animal models. We have previously shown in rodents that obesogenic high-fat and sugar diet intake during adolescence (adoHFSD) impairs hippocampal-dependent relational, spatial and object-based memory. These results were obtained in males only and it remains to evaluate whether adoHFSD has similar effect in females. Therefore, we investigated here the effects of adoHFSD consumption on hippocampal-dependent contextual fear memory and associated brain activation in male and female mice to provide new insight regarding potential sex differences. Exposure to adoHFSD increased fat mass accumulation and glucose levels in both males and females but impaired contextual fear memory only in males. At brain levels, contextual fear conditioning induced higher activation in the dorsal and ventral hippocampus (CA1 and CA3) as well as in the medial prefrontal cortex in males compared to females. More importantly, adoHFSD-fed males showed enhanced c-Fos expression in the dorsal hippocampus, particularly in the dentate gyrus, and in the basolateral amygdala compared to the other groups. Finally, chemogenetic inactivation of the dorsal hippocampus, targeting the dentate gyrus, rescued adoHFSD-induced memory deficits in males. Altogether, our results suggest that male mice are more vulnerable than females to the effects of adoHFSD on hippocampal-dependent aversive memory due to an overactivation of the dorsal hippocampus, particularly the dentate gyrus.

1. Introduction

Obesity is an increasing global health issue resulting from an imbalance between energy intake and expenditure, especially through the overconsumption of hypercaloric high-saturated fat and sugar diet (HFSD). Obesity has been associated not only with metabolic and cardiovascular disorders (Hall et al., 2002; Head, 2015) but also with deleterious cognitive outcomes. The prevalence of obesity is also increasing at early stage of life, i.e. during childhood and adolescence (Hedley et al., 2004; Ogden et al., 2016). This is particularly worrisome since these are critical periods for brain development of cognitive structures such as the hippocampus (HPC), (Andersen, 2003; Spear, 2000). Recent studies show that obese children/teenagers present smaller HPC volumes (Bauer et al., 2015; Mestre et al., 2017, 2020) and blunted performances in HPC-dependent tasks such as geometric and visuo-spatial problems or relational and episodic memory (Overby et al., 2013; Nyaradi et al., 2014; Khan et al., 2015; Lynch et al., 2021). In animal models, obesogenic HFSD consumption during adolescence (adoHFSD) has more detrimental effect on HPC function than the same duration of HFSD exposure at adulthood, suggesting it is a vulnerable period (for reviews: Murray and Chen, 2019; Tsan et al., 2021). Indeed, we showed that HFSD intake during adolescence, but not during adulthood, impairs long-term HPC-dependent memory in spatial, relational and object-based memory tasks (Boitard et al., 2014, 2012; Khazen et al., 2019). Interestingly, object-based memory deficits were associated with abnormal overactivity in the hippocampus of adoHFSD-fed animals (Biyong et al., 2021) and its normalisation, thanks to chemogenetic hippocampal manipulation, prevents adoHFSD-induced memory deficits (Naneix et al., 2021).

All of these results were exclusively obtained in male rodents. Only few reports were performed in females. They indicate that HFSD induces in females similar impairment in spatial and object-based memory as in males (Abbott et al., 2016; Garcia-Serrano et al., 2022; Klein et al., 2016; Underwood and Thompson, 2016) but has no effect on contextual fear memory (CFM) contrary to males (Hwang et al., 2010). This last result was obtained after very long HFSD exposure (8 to 11 months) and further investigations are required to establish whether adoHFSD, a period during which sexual maturation occurs (Berenbaum et al., 2015), could lead to similar sex dissociation in CFM. Moreover, it remains to examine whether HPC overactivity is a general feature of memory deficits in adoHFSD-fed animals and whether HPC manipulation could improve CFM alterations.

Therefore, in this study, we evaluate the effects of HFSD consumption during adolescence on CFM and associated brain activation including both male and female mice to provide new insight regarding potential sex differences. Having identified overactivity in the dorsal HPC, specifically in the dentate gyrus, associated with impaired CFM in adoHFSD-fed

males, we then determined the effects of chemogenetic inhibition of the dorsal HPC on HFSD-induced CFM deficits.

2. Materials and Methods

2.1. Animals and diets

Three week-old males and females C57BL/6JRj mice (Janvier Labs, France) were divided randomly into groups of 8 per cage (45x 25x 20 cm, containing a paper house, nesting material and a small wooden stick) and had *ad libitum* access to a control diet (CD; 2.9 kcal/g; 8% lipids, 19% proteins, 73% carbohydrates; A04, NEUTRAL) or a high-fat and sugar diet (HFSD; 4.7 kcal/g; 45% lipids, 20% proteins, 35% carbohydrates; D12451, Research Diet). All animals were housed in a temperature-controlled room (22 ±1°C) maintained under a 12 h light/dark cycle (lights on at 8:00 am, lights off at 8:00 pm) and had free access to food and water for 15 weeks (behavioral procedures starting after 12 weeks of diet exposure). All animal care and experimental procedures were in accordance with the INRAE Quality Reference System and French (Directive 87/148, Ministère de l'Agriculture et de la Pêche) and European legislations (Directive 86/609/EEC). They followed ethical protocols approved by the Region Aquitaine Veterinary Services (Direction Départementale de la Protection des Animaux, approval ID: B33-063-920) and by the local animal ethic committee of Bordeaux CEEA50. Every effort was made to minimize suffering and reduce the number of animals used. Animals were weighed once a week. After 12-14 weeks of diet exposure, fat mass was obtained by nuclear magnetic resonance (NMR, minispec LF90 II, Bruker, Wissembourg, 67166) and blood glucose was measured after a 4-5 h fasting at a tail nick using a glucose monitor (Accu-Check®, Roche).

2.2. Contextual fear conditioning

An unpaired fear conditioning protocol was used as an alternate Pavlovian conditioning procedure capable of robustly producing contextual fear memory in mice (Trifilieff et al., 2006). Firstly, animals were handled twice a day for 3 days before the beginning of the behavioral test. The day before fear conditioning, all mice were individually placed for 4 min into a white chamber (20 cm side) with an opaque PVC floor (neutral context). The box was cleaned with 1% acetic acid before each trial. The day after (Day 1), the acquisition of fear conditioning was performed in a black enlightened conditioning chamber (24 × 24 cm) (conditioning context). The box was cleaned with 70% ethanol before each trial. The floor of the chamber consisted of stainless-steel rods connected to a shock generator. During the unpaired conditioning, tones and foot-shocks are presented at random non-overlapping times. Specifically, for a total of 232 seconds (sec), 100 sec after being placed in the chamber, animals received a shock (0.3 mA, 1s), then, after a 20-s interval, a tone (70dB, 1000 Hz, 15s); finally, after a 30s delay, the same

tone and the same shock spaced by a 30 s interval were presented. After 20 s, animals were returned to their home cage. After 24 h, mice were submitted to two memory retention tests (Day 2). In the tone re-exposure test, mice were placed in the neutral familiar chamber during 6 minutes (min) divided in three successive sessions: one before (first 2 min), one during (next 2 min), and one after (2 last min) tone presentation. Two hours later, mice were submitted to the contextual re-exposure test: they were placed for 6 min in the conditioning context without any tone or foot-shock. Freezing behavior of animals, defined as a lack of all movement except for respiratory-related movements, was used as an index of conditioned fear response and continuously recorded for off-line s-by-s scoring of freezing by an observer blind of experimental groups. During conditioning, freezing behaviour was scored during the 20 s prior to the first foot-shock and the 20 s after each of the two foot-shocks to rule out any obvious signs of generalized fear, lethargy, or sickness that could confound exploratory behavior. During tests, in order to compare the freezing time in the neutral and conditioning contexts, data are presented as the percentage of time scored as freezing during the first 2 min in both contexts (i.e. before tone presentation in the neutral context).

2.3. Surgery

After 7–8 weeks under CD or HFSD, wild-type C57BL/6J male mice were anesthetized under isoflurane (5% induction; 1–2% maintenance), injected with the analgic buprenorphine (Buprecare; 0.05 mg/kg, s.c.) and mounted on a stereotaxic apparatus (David Kopf Instruments). The scalp was shaved, cleaned and locally anesthetized with a local subcutaneous injection of lidocaine (Lurocaine, 0.1ml). Viral vectors were infused using a 10 μ L Hamilton syringe (Hamilton) and an ultra-micro pump (UMP3, World Precision Instruments, USA), bilaterally in the dorsal hippocampus (AP -2 mm, ML \pm 1.5 mm from bregma, DV -2 and -1.5 mm from the skull surface; Paxinos & Franklin, 2004). Mice were injected with 1 μ l over 5 min (200 nl/min) at 2 sites in each hemisphere (i.e. 2 μ l per hemisphere) of the AAV-CaMKII-mCherry (as controls) or AAV8-CaMKII α -hM4D(Gi)-mCherry to induce specific DREADD expression in hippocampal glutamatergic neurons. The pipette was left in place for 5 additional min before being slowly removed. The incision was closed with sutures and the animal was kept on a heating pad until recovery. Mice were housed in pairs immediately after surgery and were allowed at least 4 weeks to recover before the start of behavioral testing to allow ample time for virus expression. In order to inactivate neurons carrying the DREADD, the exogenous DREADD ligand clozapine-N-oxide (CNO, 2 mg/kg; Tocris Bioscience, Bristol, UK) was dissolved in saline (NaCl 0.9%) and injected intraperitoneally (*i.p.*) in a volume of 10 ml/kg in all mice, 45 min before fear conditioning.

2.4. Gene expression

CD or HFSD-fed male and female home-cage mice (n = 3/group) or mice that were fear conditioned 90 min earlier (n = 6–7/group) were given injections of a lethal dose of pentobarbital sodium (1 ml, i.p.). The hippocampus from one hemisphere was collected on ice in RNase free conditions, frozen in isopentane and stored at -80°C. RNA was extracted using TRIzol Reagent™ (Invitrogen, France). RNA integrity, concentration and purity were obtained with Nanodrop spectrophotometer (NanoDrop™ technologies, Fisher Scientific) and RNA 6000 Nano LabChip kit for 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies). Then, 500 ng of RNA were reverse transcribed into cDNAs using random primers and Transcriptase inverse SuperScript IV™ (Fisher scientific). Gene amplification was performed using a SYBR Green I Master kit (ref RR420L, TAKARA BIO Europe, France) and appropriate primers for *fos* (Forward primer: GGAATGGTGAAGACCGTGTCA; Reverse primer: CCTCTTCAGGAGATAGCTGCTCTAC) and *egr1* (Forward primer: AGCCGAGCGAACAACCC; Reverse primer: TGTCAGAAAAGGACTCTGTGGTCA). The real-time PCR was operated with the LightCycler 480 system (Roche Diagnostics) and actin and b2m served as housekeeping genes. mRNA relative quantification was obtained using the GenEx™MultiD software, as previously described (Pfaffl, 2001).

2.5. Tissue preparation and immunohistochemistry

At sacrifice, the other hemisphere was post-fixed in 4% paraformaldehyde and stored at 4°C for 2 weeks in paraformaldehyde solution and then switched to PBS solution and stored at 4°C until slicing. 40-µm coronal sections were cut via a vibratome (Leica), divided equally in six serial separate sets of brain slices and stored in a cryoprotective solution (glycerol and ethylene glycol Sigma-Aldrich in PBS) at -20°C.

To assess neuronal activation, we performed *c-Fos* immunostaining. Thus, slices were washed with PBS and incubated with a rabbit anti-*c-Fos* antibody (1:2000; Cell Signaling Technology) at 4°C during 72 h. Then were rinsed and incubated with a goat anti-rabbit antibody (2h, 1:2000; Vector Laboratories) at room temperature. Slices were finally mounted on gelatin-coated slides and coverslipped. All slices were photographed with Nanozoomer slide scanner Hamamatsu NANOZOOMER 2.0HT (Bordeaux Imaging Center, University of Bordeaux, France). QuPath program (QuPath v.0.3.0 40) was used for quantification of *c-Fos* positive cells. Labelling was quantified in 3-6 sections (spaced 240 µm apart) in the CA1, CA3 and dentate gyrus (DG) of the dorsal hippocampus (AP: -1.5 to -2.2 mm; Paxinos & Franklin, 2004), the ventral hippocampus (AP: -2.8 to -3.5 mm), the basolateral amygdala (AP: -1.5 to -2.2 mm) and the medial prefrontal cortex (AP: +2.2 to +1.4 mm). Results are expressed as the number of positive cells per mm².

To assess *DREADD* expression, the 40- μ m coronal sections were mounted on slides with mounting medium to preserve fluorescence-stained tissue sections (Calbiochem, Billerica, MA, USA) and coverslipped. The sections were visualized with fluorescent microscope Nikon Eclipse E400 at 10x magnification and were photographed using NIS-Element AR 3.2 software

2.6. Statistics

For males/females experiments, morphometric, behavioral and immunohistochemical data were compared using two-way repeated measures (RM) ANOVA followed by Fisher's *post-hoc* tests when appropriate and metabolic parameters and gene expression were analysed using unpaired t-tests. For *DREADD* experiments, morphometric and metabolic parameters were compared using one-way ANOVA and behavioral data were using two-way RM ANOVA followed by Fisher's *post-hoc* tests. Data were expressed as the mean \pm SEM, and statistical analyses were conducted using GraphPad Prism version 8. Significance was set at $p \leq 0.05$.

3. Results

3.1. HFSD intake induces overweight in males but not females

At weaning, male and female mice were divided to create four groups of similar body weight, and then exposed to either CD or HFSD (Figure 1A). Whereas HFSD-fed males were significantly heavier than control males already 6 weeks after diet exposure [two-way RM ANOVA: Time x Diet: $F_{(5,88)} = 7.9$, $p < 0.0001$; *post-hoc* tests: $p \leq 0.05$ from week 6 until the end], HFSD-fed females were not heavier compared to control females during diet exposure [Time x Diet: $F_{(5,79)} = 0.38$, $p = 0.86$; Figure 1B].

Regarding body composition, HFSD intake enhanced fat mass in both males and females [unpaired t-test: $t_{(29)} = 3.1$, $p < 0.01$ and $t_{(16)} = 5.4$, $p < 0.0001$, respectively; Figure 1C]. Moreover, HFSD intake increased fasting glucose in both males and females [$t_{(11)} = 2.3$ and $t_{(16)} = 2.2$, respectively, $p < 0.05$; Figure 1D].

These results reveal that adoHFSD exposure induces overweight and metabolic alterations in males, while HFSD-fed females are resistant to overweight but still present increased fat mass accumulation and higher glucose levels similar to males.

3.2. HFSD intake impairs contextual fear memory in males but not in females

During fear conditioning on day 1 (Figure 1E), all groups similarly increased freezing after foot-shocks in both males (two-way RM ANOVA: Time: $F_{(2,32)} = 8.1$, $p = 0.0014$; Time x Diet: $F < 0.1$; Figure 1F) and females (Time: $F_{(2,22)} = 20.0$, $p < 0.0001$; Time x Diet: $F < 1$; Figure 1H) indicating similar reactivity and sensitivity to the unconditioned stimulus.

Figure 1

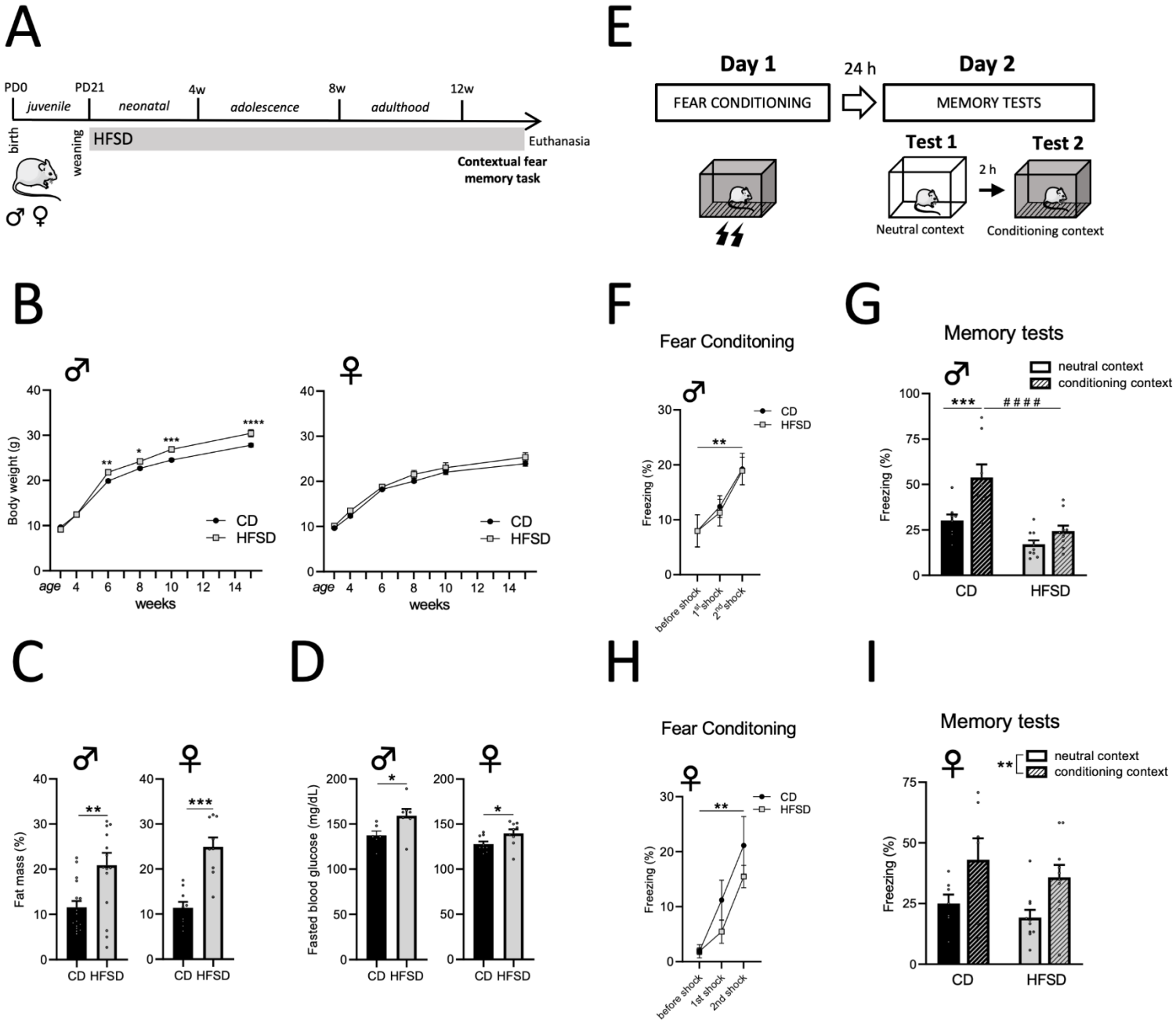


Figure 1 : Effects of obesogenic diet on metabolic parameters and contextual fear memory in males and females.

A. Schematic representation of diet exposure and the experimental design. **B.** Body weight curves of male (♂) and female (♀) mice fed with standard (black circles) or HFSD (white squares) from weaning and during 12 weeks, **C.** Fat mass accumulation after 12 weeks of diet exposure **D.** Fasted blood glucose after 12 weeks of diet exposure **E.** Protocol used for the assessment of long-term contextual fear memory **F.H.** Freezing levels during contextual fear conditioning before and immediately after each foot-shock in CD and HFSD-fed males (**F**) and females (**H**). **G.I.** Freezing levels during the two first minutes in the neutral context (filled bars) and the conditioning context (hatched bars) in CD and HFSD-fed males (**G**) and females (**I**). Results are expressed as mean ± SEM and circles show individual data points.

Statistics : **B.** * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$ (2-way RM ANOVA: interaction followed by post-hoc test); **C.D.** * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$ (unpaired t test); **F.H.** ** $p < 0.01$ (2-way RM ANOVA: general shock effect). **G.** *** $p < 0.001$ difference between contexts in CD group, # $p < 0.05$ difference between diets in conditioning context (2-way RM ANOVA: interaction followed by post-hoc test); **I.** ** $p < 0.05$ (2-way ANOVA: general context effect).

Abbreviations: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet.

(Figure 1H), in comparison to the neutral context, in the controls males but not in HFSD-fed males (Diet x Context: $F_{(1,16)} = 6.3$, $p = 0.02$; *post-hoc* tests: CD: $p < 0.0002$, HFSD: $p = 0.11$), that expressed less freezing than the CD males in the conditioning context ($p < 0.001$; Figure 1G), indicating an impaired contextual fear memory. In females, freezing was higher in the conditioning than in the neutral context for both HFSD-fed and control mice (Context: $F_{(1,15)} = 16.5$, $p = 0.001$, Diet or Diet x Context: $F < 1$; Figure 1H). Moreover, in all groups, no freezing response was obtained to the non-predictive tone in the neutral context confirming the unpaired protocol (Supplementary Figure S1A).

These data indicate that adoHFSD exposure impairs long-term contextual fear memory in males, but not in females, without affecting fear conditioning.

3.3. HFSD intake enhances hippocampal activation after fear conditioning in males only

In order to determine whether HFSD-induced fear memory deficits in males could be related to hippocampal alterations, we assessed neuronal activation in the hippocampus of CD and HFSD-fed males and females after fear conditioning (Figure 2A).

In the dorsal hippocampus, the expression of genes *fos* and *egr1*, coding for proteins involved in neuronal activity/plasticity, is increased after fear conditioning in HFSD-fed males [unpaired t-test: $t_{(12)} = 2.3$, $p = 0.039$ and $t_{(12)} = 2.0$, $p = 0.067$, respectively] but not females [$t_{(10)} < 0.5$; Figure 2B]. In contrast, no difference of *fos* and *egr1* expression was observed in the ventral hippocampus after fear conditioning neither in males nor in females [$t < 1.3$, $p > 0.19$; Figure 2C]. Basal expression of *fos* and *egr1* (homecage mice) did not differ between groups in the dorsal and ventral hippocampus (Supplementary Figure S2A-B).

Using *c-Fos* immunoreactivity, we then looked at the different subfields of the dorsal and ventral hippocampus to localize where *c-Fos* expression was increased in HFSD-fed males. Comparing males and females in the dorsal hippocampus, we found a higher *c-Fos* expression in males in the dorsal CA1 and CA3 of males [Sex effect: $F_{(1,22)} = 12.6$, $p = 0.0018$ and $F_{(1,23)} = 34.3$, $p < 0.0001$, respectively; Interaction or Diet effect: $F < 2.4$, $p > 0.12$] and, more importantly, a Diet x Sex interaction in the dorsal DG [Diet x Sex: $F_{(1, 23)} = 7.7$, $p = 0.011$; Diet: $F_{(1, 23)} = 1.0$, $p = 0.31$]. HFSD-males showed a higher number of *c-Fos*-positive cells than the other three groups ($p \leq 0.05$; Figure 2D).

In the ventral hippocampus, *c-Fos* expression was in the CA1 and CA3 of males than those of females [Sex effect: $F_{(1,21)} = 4.5$, $p = 0.046$ and $F_{(1,20)} = 11.25$, $p = 0.003$, respectively; Interaction or Diet effect $F < 0.5$] but not DG [Sex or Diet effect: $F < 0.3$; Diet x Sex: $F_{(1,21)} = 3.2$, $p = 0.085$; Figure 2F].

Figure 2

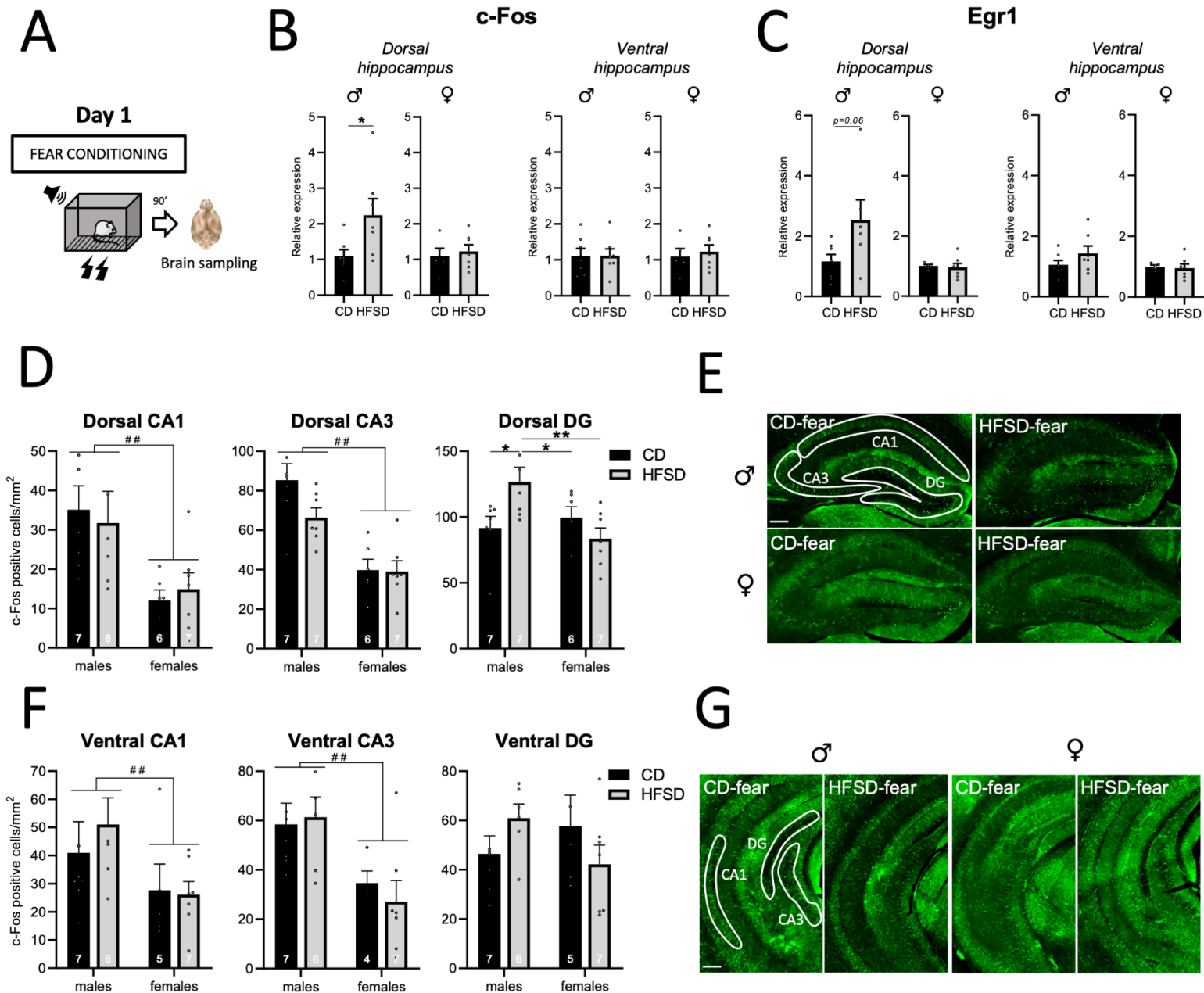


Figure 2 : Effects of obesogenic diet on hippocampal activations DG after contextual fear conditioning in males and females.

A. Schematic representation of the experimental design. **B.C.** mRNA levels of c-Fos (**B**) and Erg1 (**C**) in the dorsal and ventral hippocampus 90 min after contextual fear conditioning in CD and HFSD-fed males and females. **D.F.** c-Fos positive neurons in dorsal (**D**) and ventral (**F**) CA1, CA3 and dentate gurus (DG) subregions 90 min after contextual fear conditioning in the different groups. Data are shown as the number of c-Fos positive cells per mm². Results are expressed as mean \pm SEM and dots represent individual data points. **E.G.** Representative pictures for c-Fos labelling in the dorsal (**E**) and the ventral hippocampus (**G**) of the different groups. The areas corresponding to CA1, CA3 and DG areas are delineated (scale bars represents 250 μ m).

Statistics : **B.C.** * $p < 0.05$ (unpaired t test); **D.F.** ## $p < 0.01$ (2-way ANOVA: general sex effect); * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (2-way ANOVA: interaction followed by post-hoc test).

Abbreviations: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet; DG, dentate gyrus.

We also examined c-Fos expression in two other brain structures known to be involved in fear memory, namely the basolateral amygdala and the medial prefrontal cortex. A significant Diet x Sex interaction was found in the basolateral amygdala after fear conditioning [$F_{(1,21)} = 5.1, p = 0.034$; Diet effect: $F_{(1,21)} = 6.1, p = 0.022$; Sex effect $F_{(1,21)} = 2.4, p = 0.14$] with HFSD-fed males showing higher c-Fos expression than the other three groups ($p < 0.012$; Figure 3A).

Regarding the medial prefrontal cortex, c-Fos expression was higher in males than females in both the dorsal and ventral parts [Sex effect: $F_{(1,22)} = 12.6, p = 0.0018$ and $F_{(1,22)} = 8.8, p = 0.0072$, respectively; Interaction or Diet effect: $F < 1.6, p > 0.2$; Figure 3B].

Figure 3

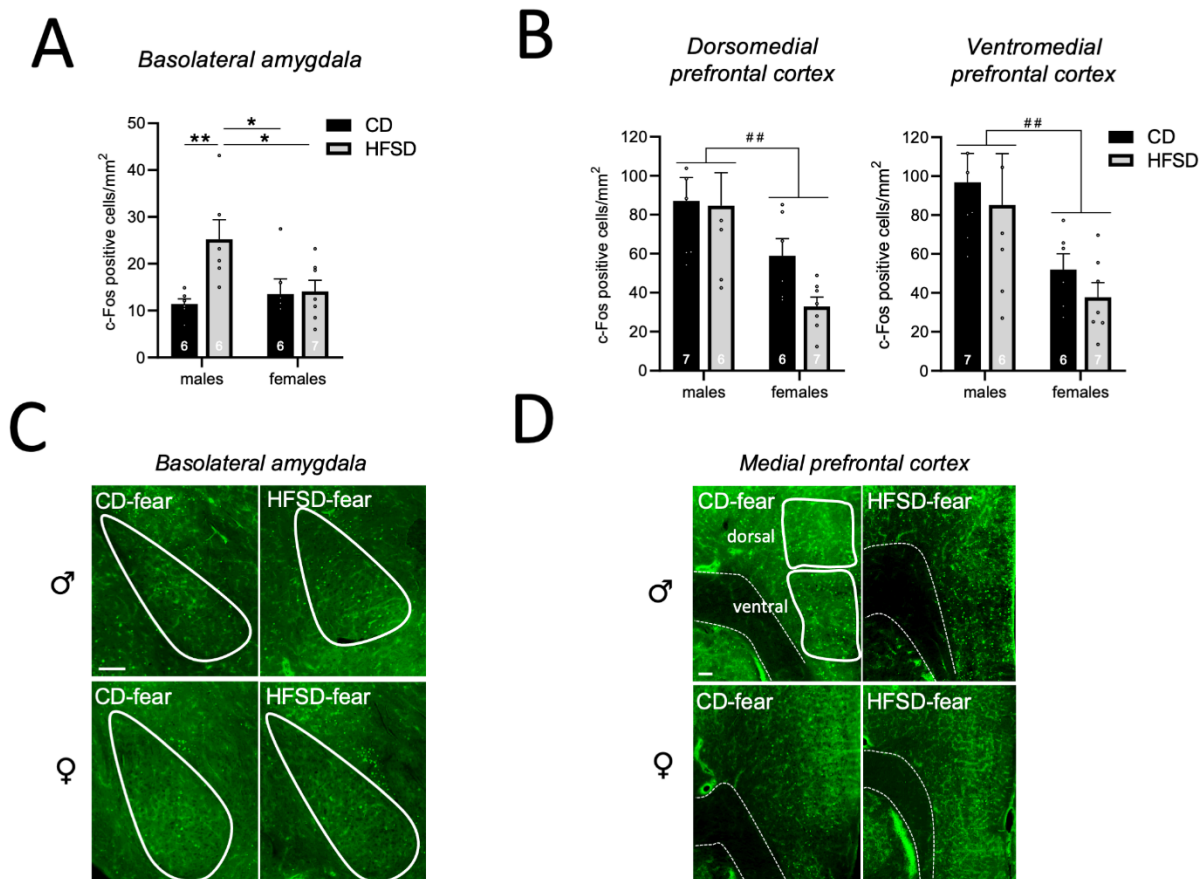


Figure 3 : Effects of obesogenic diet on amygdalar and prefrontal activations after contextual fear conditioning in males and females.

A.B. c-Fos positive neurons in the basolateral amygdala (**A**) and the dorsal and ventral part of the medial prefrontal cortex (**B**) 90 min after contextual fear conditioning in CD and HFSD-fed males and females. Data are shown as the number of Fos positive cells per mm². Results are expressed as mean ± SEM and circles show individual data points. **C.D.** Representative pictures for c-Fos labelling in the basolateral amygdala (**C**) and the medial prefrontal cortex (**D**) of the different groups. The areas corresponding to BLA and dorsal and ventral mPFC are delineated (scale bars represents 250 μm).

Statistics: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ (2-way ANOVA: interaction followed by post-hoc test); ## $p < 0.01$ (2-way ANOVA : general sex effect).

Abbreviations: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet.

These data show that fear conditioning induces a higher neuronal activation in males than in females in dorsal and ventral CA1 and CA3 as well as in the medial prefrontal cortex and a higher activation specifically in HFSD-fed males in the dorsal DG and the basolateral amygdala.

3.4. Chemogenetic inhibition of dorsal hippocampus rescues HFSD-induced contextual fear memory deficits

In order to investigate the contribution of enhanced activity in the dorsal DG in adoHFSD-induced contextual fear memory deficits in male mice, we used a chemogenetic approach with the inhibitory DREADD hM4D(Gi) to decrease hippocampal activity during fear conditioning (Figure 4A). Histological analysis confirmed viral expression in the dorsal hippocampus, mostly in the DG region, in the 3 groups, namely CD-mCherry, HFSD-mCherry and HFSD-Gi (Figure 4B). Moreover, both HFSD-fed groups were slightly heavier (one-way ANOVA: $F_{(2,23)} = 3.2$, $p = 0.06$; *post-hoc* tests: CD vs HFSD-mCherry: $p = 0.032$; CD vs HFSD-Gi: $p = 0.058$) and had more fat content ($F_{(2,23)} = 5.8$, $p = 0.009$; *post-hoc* tests: CD vs both HFSD: $p < 0.025$; Figure 4C).

All groups were injected with CNO (2mg/kg, i.p.) before fear conditioning (Figure 4A). They all showed similar increase in freezing after foot-shocks (two-way RM ANOVA: Time: $F_{(2,42)} = 19.5$, $p < 0.0001$; Time x Conditions: $F < 0.4$; Figure 4D) indicating that neither the CNO nor the DREADD treatments affected sensitivity or reactivity to the unconditioned stimulus.

On the test day (day 2; Figure 4A), as expected, freezing was higher in the conditioning context than in the neutral context in CD-mCherry group but not in HFSD-mCherry group. Interestingly, the HFSD-Gi group behaved similarly (Conditions x Context: $F_{(2,22)} = 5.1$, $p = 0.015$; *post-hoc* tests: CD-mCherry: $p < 0.0001$, HFSD-mCherry: $p = 0.059$; HFSD-Gi: $p < 0.0001$). Indeed, CD-mCherry and HFSD-Gi mice froze more in the conditioning context than HFSD-mCherry males ($p < 0.0016$ and $p < 0.037$, respectively; Figure 4E), which did not differ from each other ($p = 0.25$). Moreover HFSD-Gi group froze less in the neutral context than the CD-mCherry group ($p = 0.043$). None of the groups froze to the non-predictive tone in the neutral context (Supplementary Figure S1B).

Altogether, these results show that enhanced activation of the dorsal hippocampus in HFSD-fed male mice after fear conditioning mediates contextual fear memory deficits.

Figure 4

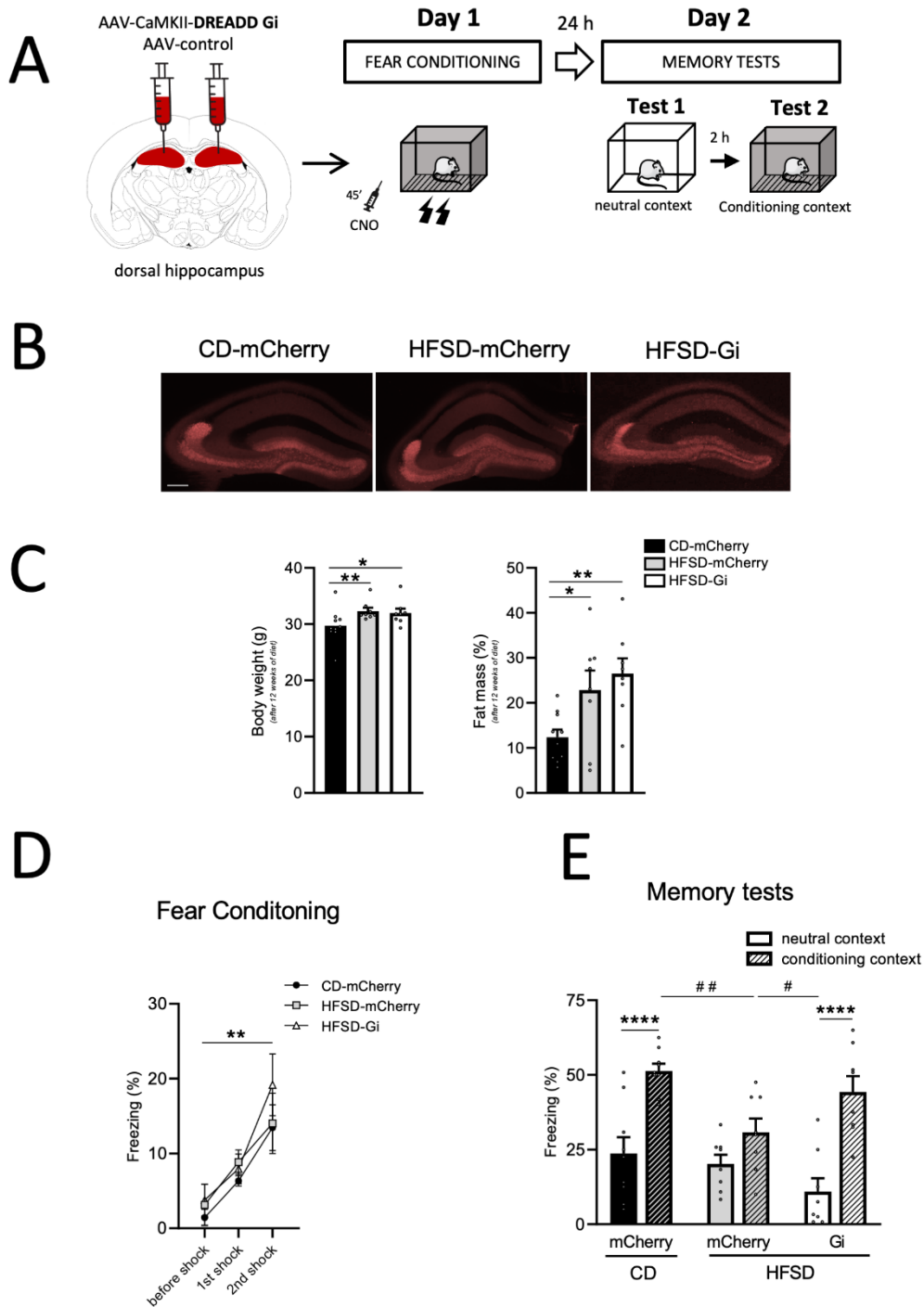


Figure 4 : Effect of chemogenetic inhibition of the dorsal hippocampus on contextual fear memory in obesogenic diet-fed male mice.

A. Schematic representation of the experimental design. DREADD surgery was performed after 7–8 weeks of diet exposure (starting at weaning). Four weeks after surgery, the DREADD ligand CNO was injected 45min before fear conditioning. **B.** Representative pictures for mCherry immunofluorescence in the dorsal hippocampus of the different groups (scale bar represents 250 μm). **C.** Body weight and body fat mass (%) of the different groups after 12 weeks of diet exposure. **D.** Freezing levels during contextual fear conditioning before and immediately after each foot-shock in the different groups. **E.** Freezing levels during the first two minutes in the neutral context (filled bars) and the conditioning context (hatched bars) in the different groups. Results are expressed as mean ± SEM and circles show individual data points.

Statistics : **C.** * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$ (One-way ANOVA); **D.** ** $p < 0.01$ (2-way RM ANOVA: general shock effect). **E.** **** $p < 0.0001$ difference between contexts; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ difference between groups in conditioning context (2-way RM ANOVA: interaction followed by post-hoc test).

Abbreviations: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet.

4. Discussion

This study investigated in males and females the effects of HFSD consumption during adolescence on CFM in males and females at the behavioral and neurobiological levels. It revealed that adoHFSD consumption induces long-term CFM impairments in males, but not in females. These sex differences were associated with higher activation in HPC and prefrontal cortex in males after fear conditioning and more importantly with an increased activity of the dorsal dentate gyrus and the basolateral amygdala in adoHFSD-fed males. Finally, the chemogenetic silencing of the dorsal HPC, targeting the dentate gyrus, restored HFSD-induced CFM deficits in males.

Effects of adoHFSD on contextual fear memory in males and females

Consistent with our previous studies showing that adoHFSD consumption impairs non-aversive long-term HPC-dependent relational, spatial and recognition memory in males (Biyong et al., 2021; Boitard et al., 2012; 2014; Naneix et al., 2021), this study shows that adoHFSD induces long-term HPC-dependent CFM deficits in males, with similar low freezing levels in the conditioning and neutral contexts. Similar impairments of long-term CFM were previously reported in HFSD-fed males (Heyward et al., 2012; Hwang et al., 2010; Reichelt et al., 2015; Sobesky et al., 2014; Wang et al., 2020; Yamada-Goto et al., 2012). In addition to a decrease in HPC-dependent CFM, we conversely showed that adoHFSD exposure enhances long-term auditory fear memory in males, which does not depend on HPC but rather on basolateral amygdala (Boitard et al., 2015) suggesting a bidirectional effect of adoHFSD on amygdala and HPC-dependent memory. This opposite effect rules out non-specific outcome of adoHFSD on foot-shock sensitivity or freezing behavior, also supported by the normal post-shock freezing of adoHFSD-fed males in the present experiment, and therefore indicate specific effects on long-term memory.

Interestingly, our results also indicate that adoHFSD did not affect CFM in females, with similar higher freezing levels in the conditioning context than in the neutral context. These freezing levels of females were similar to those of CD-fed males which is inconsistent with studies suggesting females typically freeze less than males, leading to a general belief that females have impaired contextual fear conditioning relative to males (for reviews: Fleischer and Frick, 2023; Tronson and Keiser, 2019). The sex effect we obtained corroborates previous CFM results obtained after 8-11 months of HFSD exposure (Hwang et al., 2010) and extends this effect to a shorter period (12 weeks of HFSD exposure) centred on adolescence. As both studies started HFSD exposure at weaning, and therefore include adolescence, it would now be interesting to evaluate in males and females the effect of 12 weeks of HFSD exposure starting at adulthood on CFM.

This sex difference in the effect of HFSD on memory seems specific to CFM. Indeed, as in males, HFSD impairs non-aversive HPC-dependent spatial and object-based memory when females are tested alone (Klein et al., 2016; Mantor et al., 2018; Braga et al., 2021) or compared to males (Underwood and Thompson, 2016; Garcia-Serrano et al., 2022). These findings suggest that depending on the aversive component of the task, adoHFSD consumption does not similarly affect HPC-dependent memory in males and females.

It is not yet clear why females are “protected” against the effects of HFSD on CFM. In our study, HFSD similarly increased fat mass accumulation and glucose levels in both sexes. If these metabolic parameters cannot explain the sex difference on CFM, we cannot exclude that other metabolic differences between HFSD-fed males and females may participate as hypertriglyceridemia, hyperinsulinemia and hypercholesterolemia were reported to be less severe in HFSD-fed females than in males (Garcia-Serrano et al., 2022; Hwang et al., 2010; Maric et al., 2022; Underwood and Thompson, 2016). However, shorter HFSD exposure that does not induce any metabolic dysfunction still impaired CFM in males (Spencer et al., 2017). This highlights that the sex differences are more probably related to sexual hormones, especially estrogenic signalling, as it has been reported they could influence in a sex-dependent manner cellular processes related to fear memory (for review: Fleischer and Frick, 2023).

Effects of adoHFSD on brain activations after fear conditioning in males and females

Given our behavioral results, we therefore wondered whether contextual fear conditioning could lead to particular brain activation pattern depending on sex and diet. We focused on the HPC, the basolateral amygdala and the medial prefrontal cortex, three brain structures involved in contextual fear conditioning (for review: Maren et al., 2013) and analyzed separately the dorsal and ventral parts of the HPC based on their distinct roles in memory (for reviews: Bakoyiannis et al., 2023; Fanselow and Dong, 2010). First, we found sex differences with higher c-Fos protein expression in medial prefrontal cortex and HPC (in both dorsal and ventral CA1 and CA3) after conditioning in males than in females, despite similar freezing levels in CD-fed male and female mice. This brings evidence to sex-specific recruitment of brain structures for CFM as recently suggested (for reviews: Tronson and Keiser, 2019; Fleischer and Frick, 2023).

We also found a clear diet effect in males. Indeed, looking at genes expression, our results showed that HFSD enhanced *fos* and *egr-1* expression in the dorsal, but not the ventral HPC after fear conditioning. At the protein level, these results were replicated with higher c-Fos activation specifically in the dentate gyrus of the dorsal HPC in HFSD-fed male mice. Interestingly, we have recently shown that adoHFSD exposure in males induced a stronger c-Fos expression in the dorsal but also ventral HPC after object-based training (Biyong et al.,

2021; Bakoyannis et al., in revision) suggesting that HPC overactivity could be a general feature of memory deficits in adoHFSD-fed males and that this overactivation of the dorso-ventral HPC axis may depend on the memory task. Moreover, a decrease of neurogenesis in the dentate gyrus was found in adoHFSD-fed male mice (Boitard et al., 2012) stressing the possibility that decreased hippocampal neurogenesis could participate in this aberrant activation of the dentate gyrus.

Finally, our results also revealed an enhanced c-Fos activation in the basolateral amygdala after conditioning in HFSD-fed males, but not females. We have previously reported basolateral amygdala overactivation in adoHFSD-fed males after cued aversive conditioning associated with enhanced cued aversive memory (Boitard et al., 2015) suggesting this amygdala overactivation is not specifically related to the CFM deficit.

Chemogenetic HPC manipulation rescues HFSD-induced fear memory deficits in males

Given the enhanced c-Fos activation of the dorsal HPC in adoHFSD-fed males after fear conditioning and its prominent role in CFM in control animals (for reviews: Anagnostaras et al., 2001; Fanselow and Dong, 2010) and particularly in the dorsal dentate gyrus (Liu et al., 2012; Ramirez et al., 2013), we therefore wondered whether chemogenetic inhibition of the dorsal dentate gyrus could alleviate HFSD-effect on CFM in males.

To rule out any non-specific effects of the DREADD ligand CNO (Gomez et al., 2017; Ilg et al., 2018), all groups were injected with CNO. In comparison to the first experiment, CNO injection did not change the freezing levels in Control-mCherry and HFSD-mCherry groups (high and low, respectively; Fig 1G vs Fig 4E), suggesting that CNO *per se* did not have any behavioral effects. In HFSD-DREADD group, CNO enhanced the freezing to the conditioning context but not to the neutral context, inducing a clear improvement of long-term CFM. This finding is consistent with the prominent role of the dentate gyrus in pattern separation and context discrimination (for review: Hainmueller and Bartos, 2020). Moreover, these results are in accordance with our previous results demonstrating that silencing the HPC improves long-term object recognition memory in adoHFSD-fed males (Naneix et al., 2021), adding evidence that HFSD-induced aberrant HPC overactivation during training disrupts both aversive and non-aversive HPC-dependent memory formation. This also suggests that the absence of CFM deficits in HFSD-fed females could be the result of a normal activation of the dorsal dentate gyrus compared to males. If it is the case, the chemogenetic activation of dorsal HPC could induce CFM deficits in HFSD-fed females, but also in control females and males. This remains to be evaluated.

Conclusion

In conclusion, our study confirmed that HFSD consumption during adolescence impairs long-term HPC-dependent memory processes in male mice, impairing an aversive CFM through abnormal hippocampal overactivity. AdoHFSD consumption does not impair CFM and associated hippocampal activity in females revealing a strong sex-specific effect. This is of a prime interest as we consider the existence of sex differences in the prevalence and severity of memory-related disorders, such as Alzheimer's disease and post-traumatic stress disorder (Launer et al., 1999; Lebron-Milad and Milad, 2012). Based on our study, future sex comparative investigations are needed to better understand to what extent and how sex influences the effects of HFSD consumption on cognition and memory.

References

- Abbott, K.N., Morris, M.J., Westbrook, R.F., Reichelt, A.C., 2016. Sex-specific effects of daily exposure to sucrose on spatial memory performance in male and female rats, and implications for estrous cycle stage. *Physiol. Behav.* 162, 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.01.036>
- Anagnostaras, S.G., Gale, G.D., Fanselow, M.S., 2001. Hippocampus and contextual fear conditioning: recent controversies and advances. *Hippocampus* 11, 8–17. [https://doi.org/10.1002/1098-1063\(2001\)11:1<8::AID-HIPO1015>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1098-1063(2001)11:1<8::AID-HIPO1015>3.0.CO;2-7)
- Andersen, S.L., 2003. Trajectories of brain development: point of vulnerability or window of opportunity? *Neurosci. Biobehav. Rev.* 27, 3–18. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(03\)00005-8](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(03)00005-8)
- Bakoyiannis, I., Ducourneau, E.-G., Parkes, S.L., Ferreira, G., 2023. Pathway specific interventions reveal the multiple roles of ventral hippocampus projections in cognitive functions. *Rev. Neurosci.* <https://doi.org/10.1515/revneuro-2023-0009>
- Bauer, C.C.C., Moreno, B., González-Santos, L., Concha, L., Barquera, S., Barrios, F.A., 2015. Child overweight and obesity are associated with reduced executive cognitive performance and brain alterations: a magnetic resonance imaging study in Mexican children. *Pediatr. Obes.* 10, 196–204. <https://doi.org/10.1111/ijpo.241>
- Berenbaum, S.A., Beltz, A.M., Corley, R., 2015. The importance of puberty for adolescent development: conceptualization and measurement. *Adv. Child Dev. Behav.* 48, 53–92. <https://doi.org/10.1016/bs.acdb.2014.11.002>
- Biyong, E.F., Alfos, S., Dumetz, F., Helbling, J.-C., Aubert, A., Brossaud, J., Foury, A., Moisan, M.-P., Layé, S., Richard, E., Patterson, E., Murphy, K., Rea, K., Stanton, C., Schellekens, H., Cryan, J.F., Capuron, L., Pallet, V., Ferreira, G., 2021. Dietary vitamin A supplementation prevents early obesogenic diet-induced microbiota, neuronal and cognitive alterations. *Int. J. Obes.* 2021, 588–598. <https://doi.org/10.1038/s41366-020-00723-z>
- Boitard, C., Cavaroc, A., Sauvant, J., Aubert, A., Castanon, N., Layé, S., Ferreira, G., 2014. Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. *Brain. Behav. Immun.* 40, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.03.005>
- Boitard, C., Etchamendy, N., Sauvant, J., Aubert, A., Tronel, S., Marighetto, A., Layé, S., Ferreira, G., 2012. Juvenile, but not adult exposure to high-fat diet impairs relational memory and hippocampal neurogenesis in mice. *Hippocampus* 22, 2095–2100. <https://doi.org/10.1002/hipo.22032>
- Boitard, C., Maroun, M., Tantot, F., Cavaroc, A., Sauvant, J., Marchand, A., Layé, S., Capuron, L., Darnaudery, M., Castanon, N., Coutureau, E., Vouimba, R.-M., Ferreira, G., 2015. Juvenile obesity enhances emotional

- memory and amygdala plasticity through glucocorticoids. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 35, 4092–4103. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3122-14.2015>
- Braga, S.P., Delanogare, E., Machado, A.E., Prediger, R.D., Moreira, E.L.G., 2021. Switching from high-fat feeding (HFD) to regular diet improves metabolic and behavioral impairments in middle-aged female mice. *Behav. Brain Res.* 398, 112969. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112969>
- Fanselow, M.S., Dong, H.-W., 2010. Are The Dorsal and Ventral Hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.031>
- Fleischer, A.W., Frick, K.M., 2023. New perspectives on sex differences in learning and memory. *Trends Endocrinol. Metab. TEM* 34, 526–538. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.06.003>
- Garcia-Serrano, A.M., Mohr, A.A., Philippe, J., Skoug, C., Spéjel, P., Duarte, J.M.N., 2022. Cognitive Impairment and Metabolite Profile Alterations in the Hippocampus and Cortex of Male and Female Mice Exposed to a Fat and Sugar-Rich Diet are Normalized by Diet Reversal. *Aging Dis.* 13, 267–283. <https://doi.org/10.14336/AD.2021.0720>
- Gomez, J.L., Bonaventura, J., Lesniak, W., Mathews, W.B., Sysa-Shah, P., Rodriguez, L.A., Ellis, R.J., Richie, C.T., Harvey, B.K., Dannals, R.F., Pomper, M.G., Bonci, A., Michaelides, M., 2017. Chemogenetics revealed: DREADD occupancy and activation via converted clozapine. *Science* 357, 503–507. <https://doi.org/10.1126/science.aan2475>
- Hainmueller, T., Bartos, M., 2020. Dentate gyrus circuits for encoding, retrieval and discrimination of episodic memories. *Nat. Rev. Neurosci.* 21, 153–168. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0260-z>
- Hall, J.E., Crook, E.D., Jones, D.W., Wofford, M.R., Dubbert, P.M., 2002. Mechanisms of obesity-associated cardiovascular and renal disease. *Am. J. Med. Sci.* 324, 127–137. <https://doi.org/10.1097/00000441-200209000-00003>
- Head, G.A., 2015. Cardiovascular and metabolic consequences of obesity. *Front. Physiol.* 6, 32. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00032>
- Hedley, A.A., Ogden, C.L., Johnson, C.L., Carroll, M.D., Curtin, L.R., Flegal, K.M., 2004. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults, 1999-2002. *JAMA* 291, 2847–2850. <https://doi.org/10.1001/jama.291.23.2847>
- Heyward, F.D., Walton, R.G., Carle, M.S., Coleman, M.A., Garvey, W.T., Sweatt, J.D., 2012. Adult mice maintained on a high-fat diet exhibit object location memory deficits and reduced hippocampal SIRT1 gene expression. *Neurobiol. Learn. Mem.* 98, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2012.04.005>
- Hwang, L.-L., Wang, C.-H., Li, T.-L., Chang, S.-D., Lin, L.-C., Chen, C.-P., Chen, C.-T., Liang, K.-C., Ho, I.-K., Yang, W.-S., Chiou, L.-C., 2010. Sex differences in high-fat diet-induced obesity, metabolic alterations and learning, and synaptic plasticity deficits in mice. *Obes. Silver Spring Md* 18, 463–469. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.273>
- Ilg, A.-K., Enkel, T., Bartsch, D., Bähner, F., 2018. Behavioral Effects of Acute Systemic Low-Dose Clozapine in Wild-Type Rats: Implications for the Use of DREADDs in Behavioral Neuroscience. *Front. Behav. Neurosci.* 12, 173. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00173>
- Khan, N.A., Baym, C.L., Monti, J.M., Raine, L.B., Drollette, E.S., Scudder, M.R., Moore, R.D., Kramer, A.F., Hillman, C.H., Cohen, N.J., 2015. Central Adiposity is Negatively Associated with Hippocampal-Dependent Relational Memory among Overweight and Obese Children. *J. Pediatr.* 166, 302-308.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2014.10.008>
- Khazen, T., Hatoum, O.A., Ferreira, G., Maroun, M., 2019. Acute exposure to a high-fat diet in juvenile male rats disrupts hippocampal-dependent memory and plasticity through glucocorticoids. *Sci. Rep.* 9, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48800-2>
- Klein, C., Jonas, W., Iggena, D., Empl, L., Rivalan, M., Wiedmer, P., Spranger, J., Hellweg, R., Winter, Y., Steiner, B., 2016. Exercise prevents high-fat diet-induced impairment of flexible memory expression in the water maze and modulates adult hippocampal neurogenesis in mice. *Neurobiol. Learn. Mem.* 131, 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2016.03.002>

- Launer, L.J., Andersen, K., Dewey, M.E., Letenneur, L., Ott, A., Amaducci, L.A., Brayne, C., Copeland, J.R., Dartigues, J.F., Kragh-Sorensen, P., Lobo, A., Martinez-Lage, J.M., Stijnen, T., Hofman, A., 1999. Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's disease: results from EURODEM pooled analyses. EURODEM Incidence Research Group and Work Groups. *European Studies of Dementia. Neurology* 52, 78–84. <https://doi.org/10.1212/wnl.52.1.78>
- Lebron-Milad, K., Milad, M.R., 2012. Sex differences, gonadal hormones and the fear extinction network: implications for anxiety disorders. *Biol. Mood Anxiety Disord.* 2, 3. <https://doi.org/10.1186/2045-5380-2-3>
- Liu, X., Ramirez, S., Pang, P.T., Puryear, C.B., Govindarajan, A., Deisseroth, K., Tonegawa, S., 2012. Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature* 484, 381–385. <https://doi.org/10.1038/nature11028>
- Lynch, K.M., Page, K.A., Shi, Y., Xiang, A.H., Toga, A.W., Clark, K.A., 2021. The effect of body mass index on hippocampal morphology and memory performance in late childhood and adolescence. *Hippocampus* 31, 189–200. <https://doi.org/10.1002/hipo.23280>
- Mantor, D., Pratchayasakul, W., Minta, W., Sutham, W., Palee, S., Srietchwande, J., Kerdphoo, S., Jaiwongkum, T., Sriwichaiin, S., Krinratun, W., Chattipakorn, N., Chattipakorn, S.C., 2018. Both oophorectomy and obesity impaired solely hippocampal-dependent memory via increased hippocampal dysfunction. *Exp. Gerontol.* 108, 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2018.04.010>
- Maren, S., Phan, K.L., Liberzon, I., 2013. The contextual brain: implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. *Nat. Rev. Neurosci.* 14, 417–428. <https://doi.org/10.1038/nrn3492>
- Maric, I., Krieger, J.-P., van der Velden, P., Borchers, S., Asker, M., Vujicic, M., Wernstedt Asterholm, I., Skibicka, K.P., 2022. Sex and Species Differences in the Development of Diet-Induced Obesity and Metabolic Disturbances in Rodents. *Front. Nutr.* 9, 828522. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.828522>
- Mestre, Z., Grethe, A.-B., Wierenga, C.E., Jernigan, T., Eichen, D.M., Chang, L., Ernst, T., Boutelle, K.N., 2020. Associations between body weight, hippocampal volume or tissue signal intensity in 12 to 18-year olds. *Obes. Silver Spring Md* 28, 1325–1331. <https://doi.org/10.1002/oby.22841>
- Mestre, Z.L., Bischoff-Grethe, A., Eichen, D.M., Wierenga, C.E., Strong, D., Boutelle, K.N., 2017. Hippocampal atrophy and altered brain responses to pleasant tastes among obese compared to healthy weight children. *Int. J. Obes.* 2005 41, 1496–1502. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.130>
- Murray, S., Chen, E.Y., 2019. Examining Adolescence as a Sensitive Period for High-Fat, High-Sugar Diet Exposure: A Systematic Review of the Animal Literature. *Front. Neurosci.* 13. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01108>
- Naneix, F., Bakoyiannis, I., Santoyo-Zedillo, M., Bosch-Bouju, C., Pacheco-Lopez, G., Coutureau, E., Ferreira, G., OBETEEN Consortium, 2021. Chemogenetic silencing of hippocampus and amygdala reveals a double dissociation in periadolescent obesogenic diet-induced memory alterations. *Neurobiol. Learn. Mem.* 178, 107354. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2020.107354>
- Nyaradi, A., Foster, J.K., Hickling, S., Li, J., Ambrosini, G.L., Jacques, A., Oddy, W.H., 2014. Prospective associations between dietary patterns and cognitive performance during adolescence. *J. Child Psychol. Psychiatry* 55, 1017–1024. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12209>
- Ogden, C.L., Carroll, M.D., Lawman, H.G., Fryar, C.D., Kruszon-Moran, D., Kit, B.K., Flegal, K.M., 2016. Trends in Obesity Prevalence Among Children and Adolescents in the United States, 1988-1994 Through 2013-2014. *JAMA* 315, 2292–2299. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.6361>
- Overby, N.C., Lüdemann, E., Høigaard, R., 2013. Self-reported learning difficulties and dietary intake in Norwegian adolescents. *Scand. J. Public Health* 41, 754–760. <https://doi.org/10.1177/1403494813487449>
- Ramirez, S., Liu, X., Lin, P.-A., Suh, J., Pignatelli, M., Redondo, R.L., Ryan, T.J., Tonegawa, S., 2013. Creating a false memory in the hippocampus. *Science* 341, 387–391. <https://doi.org/10.1126/science.1239073>
- Reichelt, A.C., Maniam, J., Westbrook, R.F., Morris, M.J., 2015. Dietary-induced obesity disrupts trace fear conditioning and decreases hippocampal reelin expression. *Brain. Behav. Immun.* 43, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.07.005>

- Sobesky, J.L., Barrientos, R.M., De May, H.S., Thompson, B.M., Weber, M.D., Watkins, L.R., Maier, S.F., 2014. High-fat diet consumption disrupts memory and primes elevations in hippocampal IL-1 β , an effect that can be prevented with dietary reversal or IL-1 receptor antagonism. *Brain. Behav. Immun.* 42, 22–32. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.06.017>
- Spear, L.P., 2000. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 24, 417–463. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(00\)00014-2](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(00)00014-2)
- Spencer, S.J., D'Angelo, H., Soch, A., Watkins, L.R., Maier, S.F., Barrientos, R.M., 2017. High-fat diet and aging interact to produce neuroinflammation and impair hippocampal- and amygdalar-dependent memory. *Neurobiol. Aging* 58, 88–101. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.06.014>
- Trifilieff, P., Herry, C., Vanhoutte, P., Caboche, J., Desmedt, A., Riedel, G., Mons, N., Micheau, J., 2006. Foreground contextual fear memory consolidation requires two independent phases of hippocampal ERK/CREB activation. *Learn. Mem. Cold Spring Harb. N* 13, 349–358. <https://doi.org/10.1101/lm.80206>
- Tronson, N.C., Keiser, A.A., 2019. A Dynamic Memory Systems Framework for Sex Differences in Fear Memory. *Trends Neurosci.* 42, 680–692. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2019.07.009>
- Tsan, L., Décarie-Spain, L., Noble, E.E., Kanoski, S.E., 2021. Western Diet Consumption During Development: Setting the Stage for Neurocognitive Dysfunction. *Front. Neurosci.* 15, 632312. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.632312>
- Underwood, E.L., Thompson, L.T., 2016. High-fat diet impairs spatial memory and hippocampal intrinsic excitability and sex-dependently alters circulating insulin and hippocampal insulin sensitivity. *Biol. Sex Differ.* 7. <https://doi.org/10.1186/s13293-016-0060-3>
- Wang, Z., Ge, Q., Wu, Y., Zhang, J., Gu, Q., Han, J., 2020. Impairment of Long-term Memory by a Short-term High-fat Diet via Hippocampal Oxidative Stress and Alterations in Synaptic Plasticity. *Neuroscience* 424, 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.10.050>
- Yamada-Goto, N., Katsuura, G., Ochi, Y., Ebihara, K., Kusakabe, T., Hosoda, K., Nakao, K., 2012. Impairment of fear-conditioning responses and changes of brain neurotrophic factors in diet-induced obese mice. *J. Neuroendocrinol.* 24, 1120–1125. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2012.02327.x>

Supplemental data

Figure S1

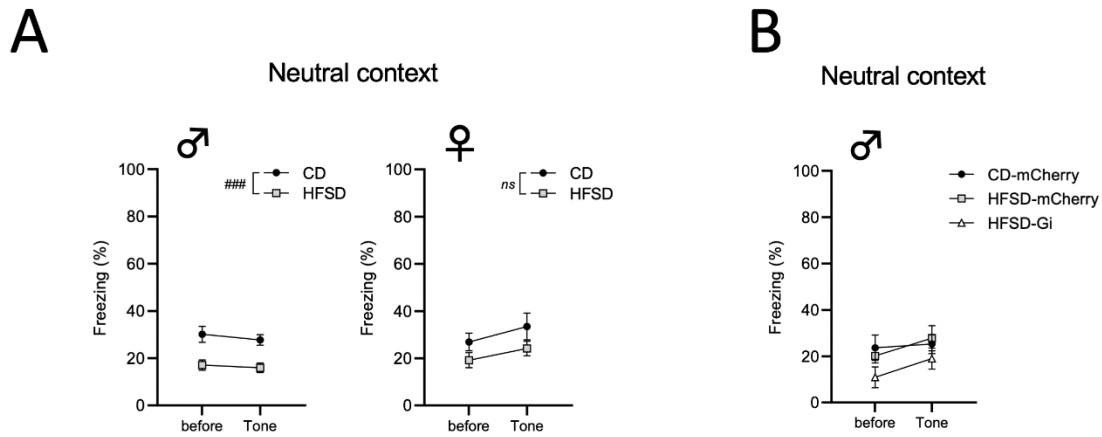


Figure S1 : Effect of obesogenic diet on response to the non-predictive cue in males and females.

A.B. Freezing levels before and during tone presentation in the neutral context for all groups. Results are expressed as mean \pm SEM and circles show individual data points.

Statistics : A. ### p < 0.001 (2-way ANOVA: general diet effect); ns p = 0.06 (2-way ANOVA: general diet effect).

Abbreviations: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet.

Figure S2A

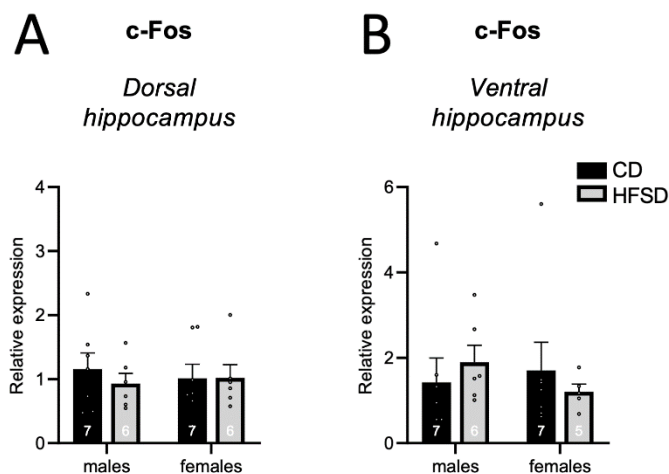


Figure S2A : Effect of obesogenic diet on basal c-Fos expression in the dorsal and ventral hippocampus in males and females.

A.B. Basal mRNA levels of c-Fos in the dorsal hippocampus (**A**) and the ventral hippocampus (**B**) in homecage CD and HFSD-fed males and females. Results are expressed as mean \pm SEM.

Abbreviations: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet.

Figure S2B

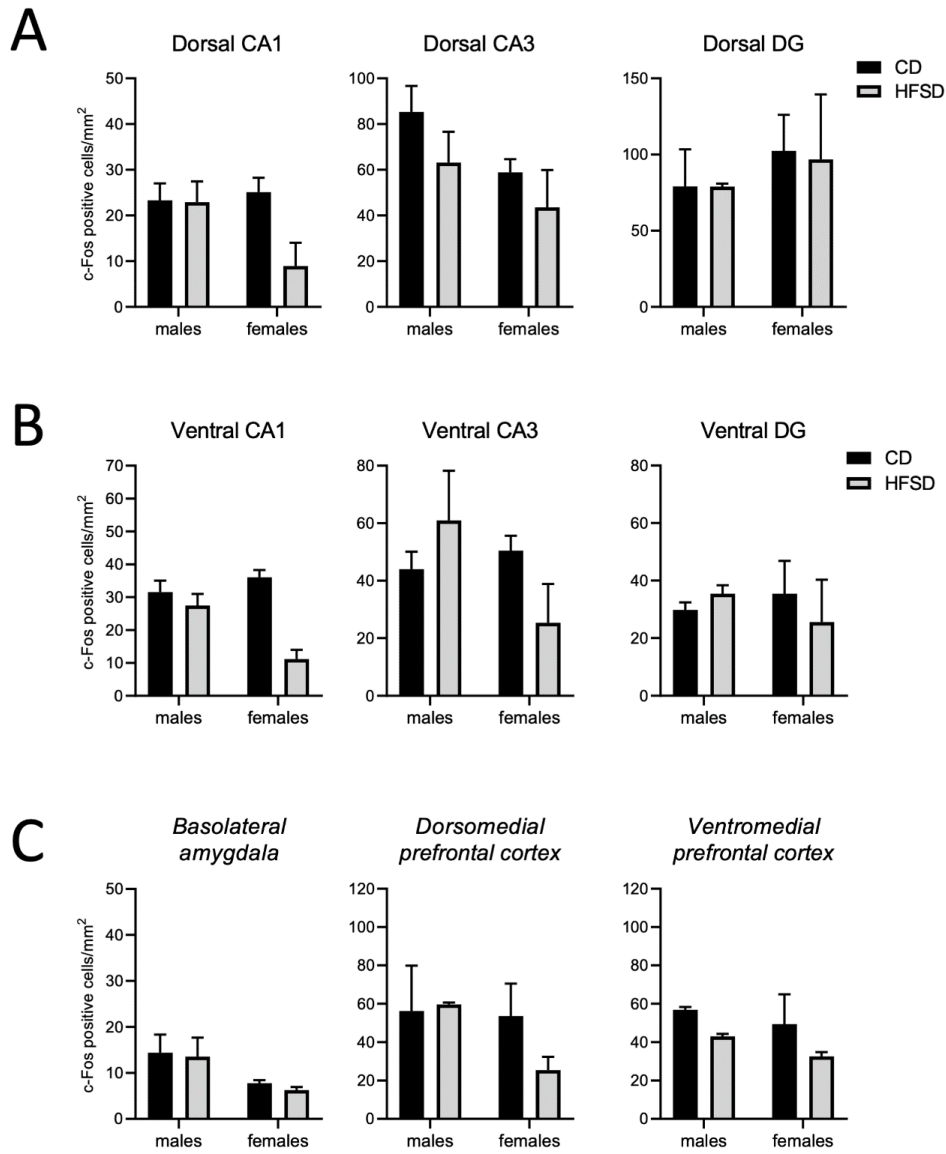


Figure S2B : Effect of obesogenic diet on basal hippocampal, amygdalar and prefrontal activations in males and females. c-Fos positive neurons in the dorsal (**A**), the ventral hippocampus (**B**), the basolateral amygdala and the dorsomedial/ventromedial prefrontal cortex (**C**) in homecage (n=3) CD and HFSD-fed males and females. Data are shown as the number of Fos positive cells per mm². Results are expressed as mean \pm SEM. *Abbreviations*: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet.

CHAPITRE 2

**Rôle du système endocannabinoïde
dans les déficits de mémoire induits
par un régime obésogène à l'adolescence
chez des souris mâles et femelles**

Hippocampal and prefrontal CB₁ receptors differentially mediate obesogenic diet-induced recognition memory deficits in males and females.

N'Diaye Matéo^{1,2*}, Ducourneau Eva-Gunnel^{1,2*}, Potier Mylène^{1,2}, Décarie-Spain Léa³, Bakogiannis Ioannis^{1,2}, Fermigier Alice^{1,2}, Lafenetre Pauline^{1,2}, Luigi Bellocchio^{2,4}, Marsicano Giovanni^{2,4#} & Ferreira Guillaume^{1,2#°}

¹ NutriNeuro, UMR 1286 INRAE, Bordeaux INP, Bordeaux, France.

² University of Bordeaux, Bordeaux, France.

³ Department of Biological Sciences, University of Southern California, Los Angeles, USA.

⁴ Neurocentre Magendie, U1215 INSERM, Bordeaux, France.

*: contributed equally to this work

#: senior authors

° Corresponding Author: Guillaume Ferreira, guillaume.ferreira@inrae.fr

Short Title: Sex, CB1 and diet effects on memory

Keywords : endocannabinoid system, object recognition memory, hippocampus, prefrontal cortex, obesity, high-fat, Sex, females

Highlights

- ❖ Systemic CB1R antagonist reverses obesogenic diet-induced memory deficits in both sexes
- ❖ Hippocampal CB1R decrease rescues diet-induced memory deficits in males only
- ❖ Prefrontal CB1R decrease restores diet-induced memory deficits in females only
- ❖ Involvement of CB1R on glutamatergic neurons in males and GABAergic neurons in females
- ❖ Hippocampal, but not prefrontal, CB1R decrease rescues diet-induced memory deficits in ovariectomized females

Abstract

In addition to peripheral (metabolic and cardiovascular) disorders, obesity is associated with brain dysfunction in humans leading to cognitive deficits. Similarly, obesogenic high-fat and sugar diet (HFSD) consumption in animal models, in particular during adolescence, induces hippocampal-dependent memory deficits. Interestingly, recent results from the laboratory indicate that alterations of the hippocampal endocannabinoid system and its main receptor CB1R, well known to regulate brain plasticity and memory processes, participates in HFD-induced memory deficits in male mice. Indeed, systemic blockade of CB1R or decrease of hippocampal CB1R improved memory in HFD-fed males. This study aims at identifying whether the endocannabinoid-CB1R system contributes to HFSD-induced memory deficits in females and whether similar mechanisms (brain structures and cell types) are involved.

First, we showed that systemic blockade of CB1R rescued deficits of long-term object recognition memory in HFSD-fed females, as in males. This indicates CB1R signaling regulates the impact of HFSD on memory function in both sexes. However, while CB1R blockade was shown to specifically abolish hippocampal c-Fos over-activation in HFSD-fed males, this treatment normalized lower c-Fos activation in HFSD-fed females in the ventromedial prefrontal cortex but not in the hippocampus. Contrary to males, decrease of prefrontal, but not hippocampal, CB1R reversed HFSD-induced recognition memory deficits in females despite similar levels of CB1R decrease in both sexes. These results show a double dissociation in the hippocampal and prefrontal CB1R regulation of HFSD effects on memory in females and males. Furthermore, whereas hippocampal CB1R on glutamatergic (but not GABAergic) neurons are involved in memory deficits in HFSD-fed males, prefrontal CB1R on GABAergic (but not glutamatergic) neurons are involved in HFSD-fed females. We finally wondered whether these sexual differences could be mediated by ovarian hormones during puberty. Ovariectomy by itself did not affect HFSD-induced memory deficits in females, but decrease of hippocampal, but not prefrontal, CB1R rescued memory deficits in ovariectomized HFD-fed females.

Altogether our results indicate that endocannabinoid-CB1R system is involved in HFSD-induced memory deficits in both sexes but that brain structures and cells types involved differ between males and females through an ovarian hormones modulation.

1. Introduction

Obesity is an increasing global health issue resulting from an imbalance between energy intake and expenditure, especially through overconsumption of hypercaloric diet high in saturated fat and sugar (HFSD). In addition to metabolic and cardiovascular disorders ([Hall et al., 2002](#); [Head, 2015](#)) obesity has been associated with deleterious cognitive outcomes. The prevalence of obesity is also increasing at early stage of life, i.e. during childhood and adolescence ([Hedley et al., 2004](#); [Ogden et al., 2016](#)). This is particularly worrisome since these are critical periods for brain development of cognitive structures such as the hippocampus (HPC) and the prefrontal cortex (PFC, [Andersen, 2003](#); [Spear, 2000](#)). Recent studies show that obese adolescents present smaller HPC volumes ([Bauer et al., 2015](#); [Mestre et al., 2020, 2017](#)), less activation in the PFC ([Son NT Le et al., 2007](#)) and blunted performances in HPC-dependent tasks ([Khan et al., 2015](#); [Lynch et al., 2021](#); [Nyaradi et al., 2014](#); [Overby et al., 2013](#)). In animal models, obesogenic HFSD consumption during adolescence (adoHFSD) has more detrimental effect on HPC plasticity and memory than the same HFSD exposure at adulthood, indicating that adolescence is a vulnerable period to the HFSD effects on memory ([Boitard et al., 2014, 2012](#); [Khazen et al., 2019](#); for reviews: [Murray & Chen, 2009](#); [Tsan et al., 2021](#)). Although the HPC is well-known to be highly susceptible to the deleterious effects of HFSD consumption ([Boitard et al., 2012, 2012](#); [Kanoski et al., 2010](#)), the PFC is also profoundly affected by HFSD consumption in animal models, specifically during adolescence ([Labouesse et al., 2017](#); [Lowe et al., 2019](#); [Reichelt and Rank, 2017](#)).

The endocannabinoid (eCB) system is well known to regulate synaptic plasticity and memory processes, in particular in the HPC ([Busquets-Garcia et al., 2018](#); [Chevaleyre and Castillo, 2003](#); [Loisy et al., 2022](#)) and the PFC ([López-Moreno et al., 2008](#)). Indeed, its main cerebral receptor, cannabinoid type 1 receptor (CB1R), is densely expressed in corticolimbic regions such as the HPC and the PFC ([Freund et al., 2003](#); [Kano et al., 2009](#)). Furthermore, it is well known that the eCB system is overactive in obesity in all brain and peripheral organs involved in the control of energy balance such as the hypothalamus ([Di Marzo, 2008](#); [Mazier et al., 2015](#)). More recently, few studies demonstrated in rodents that the eCB system is also overactive in the HPC after obesogenic diet consumption ([Massa et al., 2010](#); [Rivera et al., 2013](#)). Interestingly, recent results from the laboratory indicate that alterations of the eCB system in HPC participate in adoHFSD-induced memory deficits. Indeed, systemic CB1R blockade normalized training-induced abnormal c-Fos activation in HPC and rescued deficits of long-term object recognition memory (ORM) in HFSD-fed males. In addition, adoHFSD intake enhanced CB1R expression and eCB levels (specifically anandamide) in the HPC after ORM training and decreasing CB1R in HPC, and in particular on glutamatergic cells, rescued adoHFSD-induced long-term ORM deficits ([Janthakhin et al., in preparation](#)).

All of these results were exclusively obtained in male rodents. According to data indicating that the eCB-CB1R system plays a key role in brain sex differences, particularly in HPC and PFC (Bernabeu et al., 2023; Cooper & Craft, 2018; Ferraro et al., 2020; Huang & Wooley, 2012), it remains to determine whether brain eCB-CB1R system is also involved in adoHFSD-induced memory deficits in females. Therefore, using non-aversive and non-rewarded ORM, we examined in adoHFSD-fed females the effect of systemic CB1R blockade on ORM and training-induced Fos expression. Then, we compared in males and females the effect of decreasing CB1R in dorsal HPC, ventral HPC or ventromedial PFC, on glutamatergic or GABAergic neurons, on adoHFSD-induced ORM deficits. Finally, we manipulated ovarian hormones to better characterize sex differences in CB1R modulation of ORM deficits in adoHFSD-fed females.

2. Materials and Methods

2.1. Animals and diets

LoxP-flanked CB1R transgenic male and female mice (CB1R-flox) aged of 3 weeks old were divided randomly into groups of 8 per cage (45x 25x 20 cm, containing a paper house, nesting material and a small wooden stick) and had ad libitum access to a control diet (CD; 2.9 kcal/g; 8% lipids, 19% proteins, 73% carbohydrates mainly starch; A04, SAFE) or a high-fat and sugar diet (HFSD; 4.7 kcal/g; 45% lipids mainly saturated fat coming from lard, 20% proteins, 35% carbohydrates mainly sucrose; D12451, Research Diet). All animals were housed in a temperature controlled room ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) maintained under a 12 h light/dark cycle (lights on at 8:00 am, lights off at 8:00 pm) and had free access to food and water during 12 weeks (before the beginning of behavior) as well as during all behavioral procedures before euthanasia (13-14 weeks of diet exposure in total). All animal care and experimental procedures were in accordance with the INRAE Quality Reference System and French (Directive 87/148, Ministère de l'Agriculture et de la Pêche) and European legislations (Directive 86/609/EEC). They followed ethical protocols approved by the Region Aquitaine Veterinary Services (Direction Départementale de la Protection des Animaux, approval ID: B33-063-920) and by the animal ethic committee of Bordeaux CEEA50. Every effort was made to minimize suffering and reduce the number of animals used. The day before euthanasia, animals were weighed and fat mass was obtained by nuclear magnetic resonance (NMR) minispec LF90 II (Bruker, Wissembourg, 67166).

2.2 Object recognition memory (ORM)

An object recognition memory task was used as a non-aversive and non-rewarded memory task to assess long-term hippocampal-dependent memory. Animals were handled twice a day

for three days before the beginning of the behavioral test. Behavioral tests were performed during light phase and under white light (15 lux). During training, two identical new objects (A1 and A2) were presented in a novel open field arena (40x 40x 40cm, wood) and each mouse was left freely to explore them. The objects to be discriminated were Lego brick towers and cylinders and between each trial, the arena and the objects were cleaned with 10% of alcohol to avoid the presence of olfactory trails. Long-term memory was assessed 48 hours after training, by randomly replacing one of the objects by a novel one (A3 and N). Object exploration, defined as nose and whiskers pointed towards the object in a distance of less than 1-1.5cm away, was manually quantified by a trained experimenter blind of experimental groups. In both phases, an inclusion criterion of 20 seconds of total exploration was set (Leger et al., 2013), otherwise mice were excluded from analysis. All objects were previously tested to avoid biased preference and all combinations and locations of objects were used in a counterbalanced manner to reduce potential biases due to preference for particular location or objects. Data was expressed as the percentage of exploration of the novel object during the testing phase, calculated as following: $(\text{Time spent exploring the novel object} / \text{Time spent exploring both objects}) \times 100$. A value above 50% indicates a higher exploration of the novel object over the familiar one.

2.3. Drugs

The CB1R antagonist Rimonabant (1 mg/kg; Cayman Chemical, Michigan, USA) was dissolved in a mixture of 4% ethanol, 4% Cremophor-EL and 92% of saline (NaCl 0.9%). A mixture of 4% ethanol, 4% Cremophor-EL and 92% of saline served as vehicle injection. Drugs were injected intraperitoneally (i.p.) in a volume of 10 ml/kg in all mice, immediately after ORM training.

2.4. Surgery and viral injection

After 7–8 weeks under CD or HFSD (i.e. 11 weeks-old mice), CB1-flox mice were anaesthetized under isoflurane (5% induction; 1–2% maintenance), injected with the analgesic buprenorphine (Buprekar, 0.05 mg/kg s.c.) and the non-steroidal anti-inflammatory drug carproxifen (Carprox, 5mg/kg s.c.) and were placed on a stereotaxic apparatus (David Kopf Instruments). The scalp was shaved, cleaned and locally anaesthetized with a local subcutaneous injection of lidocaine (Lurocaine, 0.1ml). Viral vectors were infused using a 10 μ L Hamilton syringe (Hamilton) and an ultra-micro pump (UMP3, World Precision Instruments, USA). CB1-flox mice were injected with adeno-associated virus (AAV) carrying Cre-recombinase driven by different promoters or only fluorophore: AAV-CAG-GFP or AAV-CaMKII-mCherry (as controls; 4.8×10^{12} vg/ml; Viral Vector Core, ETH Zurich), AAV-CAG-Cre (fused to GFP, titre 2.1×10^{12} vg/ml; Viral Vector Core, ETH Zurich Zurich) to induce

unspecific deletion of the CB1 gene in all cell types; AAV-CaMKII-Cre (fused to GFP, titre 4.6×10^{12} vg/ml; Viral Vector Core, ETH Zurich) to induce a specific deletion of the CB1 gene in cortical glutamatergic neurons; and AAV-Dlx1-Cre (not-fused, kindly provided by Luigi Bellocchio) to induce a specific deletion of the CB1 gene in GABAergic neurons. Viral vectors were bilaterally infused into the dorsal hippocampus (dHPC; coordinates: AP -2 mm, ML \pm 1.5 mm, DV -2 and -1.5 mm from Bregma; Paxinos & Franklin, 2004), the ventral hippocampus (vHPC; AP -3 mm, ML \pm 3 mm, DV -3 and -4 mm from Bregma) or into the medial prefrontal cortex (mPFC; AP +1.9 mm, ML \pm 0.3 mm, DV -3 mm from Bregma). For the dHPC and vHPC, 1 μ l of the AAV was injected over 5 min (200 nl/min) at 2 sites in each hemisphere (i.e. 2 μ l per hemisphere) and the pipette was left in place for 5 additional minutes before being slowly removed. For the mPFC, 300 μ l of the AAV was injected over 3 min (100 nl/min) at one site in each hemisphere. The incision was closed with sutures and the animal was kept on a heating pad until recovery. Behavioral task was performed 4-5 weeks after injections in order to get an optimal CB1R deletion.

2.5. Tissue preparation and immunohistochemistry

Neuronal activation: c-Fos immunoreactivity

Home-cage (n=4-5/group) or ORM-trained (n=7-8/group) CD or HFSD-fed females received an i.p. injection of vehicle or CB1R antagonist (1 mg/kg) and 90 min later were injected with a lethal dose of pentobarbital sodium (1 ml, i.p.) and their brains were collected for histological analysis. The brain was stored at 4°C for 3 days in PFA solution and then switched to PBS 1x solution and stored at 4°C until slicing. 40- μ m coronal sections were cut via vibratome (Leica), divided equally in six serial separate sets of brain slices and stored in cryoprotective solution (glycerol and ethylene glycol Sigma-Aldrich in PBS 1x) at -20°C. On the first immunolabeling day, slices were incubated in PBS containing 3% bovine serum albumin (BSA) and 0.3% Triton 100X (blocking buffer) to block nonspecific binding sites and to facilitate antibody penetration and then saturated with 0.3% hydrogen peroxide for 30 min to eliminate endogenous peroxidase. Slices were then incubated with a rabbit anti-c-Fos antibody (1:2000; Cell Signaling Technology) at 4°C during 72 h. Slices were then incubated with a biotinylated goat anti-rabbit antibody (2h, 1:2000; Vector Laboratories) at room temperature, followed by 1 h incubation in the avidin–biotin–peroxidase complex solution (Vectastain, diluted 1:1000 in PBS; Vector Laboratories) and a 19 min incubation with diaminobenzidine. Slices were then mounted on gelatin-coated slides and coverslipped. All slices were photographed with Nanozoomer slide scanner Hamamatsu NANOZOOMER 2.0HT (Bordeaux Imaging Center, University of Bordeaux, France). QuPath program (QuPath v.0.3.0 40) was used for quantification of c-Fos positive cells. Labeling was quantified bilaterally chosen to cover the dHPC (CA1, CA3 and DG regions; AP: -1.5 to -2.2 mm; Paxinos & Franklin, 2004), the vHPC

(AP: -2.8 to -3.5 mm), the mPFC (dorsomedial, dmPFC, and ventromedial, vmPFC, parts; AP: +2.2 to +1.4 mm), the perirhinal cortex (PRH) and the basolateral amygdala (BLA; AP: -1.5 to -2.2 mm). Results are expressed as the number of positive cells per mm².

Cre recombinase expression

In order to verify Cre expression in the targeted brain structures, mice were given injections of a lethal dose of pentobarbital sodium (1 ml, i.p.) and quickly perfused with 4% paraformaldehyde (PFA) in phosphate-buffered solution (PBS). For animals injected with controls and GFP-fused Cre viruses (CAG-Cre and CaMKII-Cre), 40- μ m coronal sections were mounted on slides with mounting medium to preserve fluorescence-stained tissue sections (Calbiochem, Billerica, MA, USA) and coverslipped. For animals injected with unfused Cre viruses (Dlx-Cre), 40- μ m coronal sections were incubated with a rabbit anti-Cre antibody (1:1000; Cell Signaling Technology) for 24 h at 4°C, then incubated with a goat anti-rabbit antibody (2h, 1:2000; Vector Laboratories) at room temperature, followed by 1 h incubation in the avidin–biotin–peroxydase complex solution (Vectastain, diluted 1:1000 in PBS; Vector Laboratories) and a 19 min incubation with diaminobenzidine. Slices were then mounted on gelatin-coated slides and coverslipped. The sections were visualized with fluorescent microscope Nikon Eclipse E400 at 10x magnification and were photographed using NIS-Element AR 3.2 software.

CB1R expression

In order to quantify the extend of CB1R decrease in animals injected with Cre recombinase, another set of floating slices were incubated with a guinea pig anti-CB1 antibody (1:1000; Cell Signaling Technology) for 24 h at 4°C. Slices were then incubated with a biotinylated goat anti-rabbit antibody (2h, 1:2000; Vector Laboratories) at room temperature, followed by 1 h incubation in the avidin–biotin–peroxydase complex solution (Vectastain, diluted 1:1000 in PBS; Vector Laboratories) and a 20 min incubation with diaminobenzidine. Slices were then mounted on gelatin-coated slides and coverslipped. All slices were photographed with Nanozoomer slide scanner Hamamatsu NANOZOOMER 2.0HT (Bordeaux Imaging Center, University of Bordeaux, France). QuPath program (QuPath v.0.3.0 40) was used for quantification of CB1R density (number of CB1R/ μ m²). Labeling was quantified in the dHPC, vHPC and mPFC (coordinates as previously described) specifically in the areas of Cre recombinase expression.

2.6 Ovariectomy

One week after weaning and start of HFSD exposure (PND28), females were anesthetized under isoflurane (5% induction; 1–2% maintenance), injected with the analgesic buprenorphine (Buprecar, 0.05 mg/kg s.c.) and the non-steroidal anti-inflammatory drug carprofen (Carprox, 5mg/kg s.c.). After incision of abdominal skin and muscles, the ovaries were gently removed from the fallopian tubes. The muscle layer and the skin were then sutured. Some of the “control” animals received a “sham” surgery following the same procedure but without removal of the ovaries.

2.6. Statistics

For morphometric/metabolic, behavioral, pharmacological, and immunohistochemical (Fos) experiments, data were compared using two-way ANOVA followed by Fisher’s post-hoc tests when appropriate. For viral experiments, behavioral data were compared to chance level (50% of the exploration of the novel object) using one sample t-tests and compared to other groups using one-way ANOVA followed by Fisher’s post-hoc tests when appropriate. Otherwise, immunohistochemical data for CB1R were compared using two-way (Figures 2D, 3C and 5C) or one-way ANOVA (Figure 4C-D) when appropriate. Data were expressed as the mean \pm SEM, and statistical analyses were conducted using GraphPad Prism version 8. Significance was set at $p \leq 0.05$.

3. Results

CB1R blockade rescued HFSD-induced memory deficits in females as in males.

Similar to males, HFSD-fed females were slightly heavier [Diet effect: $F_{(1,35)}=6.24$, $p=0.01$] and had more fat content compared to CD females [Diet effect: $F_{(1,35)}=9.0$, $p=0.004$; Table 2].

First, we evaluated whether adoHFSD exposure impaired long-term recognition memory in female mice and whether post-training blockade of CB1R (Rimo) could improve memory in HFSD-fed females. During training, all groups similarly explored the two objects [Diet and Diet x treatment: $F_{(1,32)} < 1$; see Table 1]. During the long-term ORM test performed 48 hours later, CD-Vehicle and HFSD-Rimo females explored preferentially the novel object whereas HFSD-vehicle did not [one sample t-test: CD-vehicle: $t_{(13)}=4.7$, $p=0.0004$; HFSD-vehicle: $t_{(9)}=1.3$, $p=0.22$; HFSD-Rimo: $t_{(8)}=4.5$, $p=0.002$; Figure 1A]. Two-way ANOVA confirmed a significant diet x treatment interaction [$F_{(1,37)}=11.36$, $p=0.0018$] and post-hoc analysis indicated a significant difference between HFSD-veh group and both CD-veh and HFSD-Rimo groups ($p < 0.05$). Similarly, in males, CD-vehicle and HFSD-Rimo group preferentially explore the novel object compared to HFSD-veh group [Diet x treatment interaction: $F_{(1,46)}=9.24$, $P=0.003$; Post-hoc: $p < 0.05$; Supplementary Figure S1A]. These results indicate that, in both sexes,

adoHFSD consumption induces long-term ORM deficits and blocking CB1R immediately after training rescued these deficits.

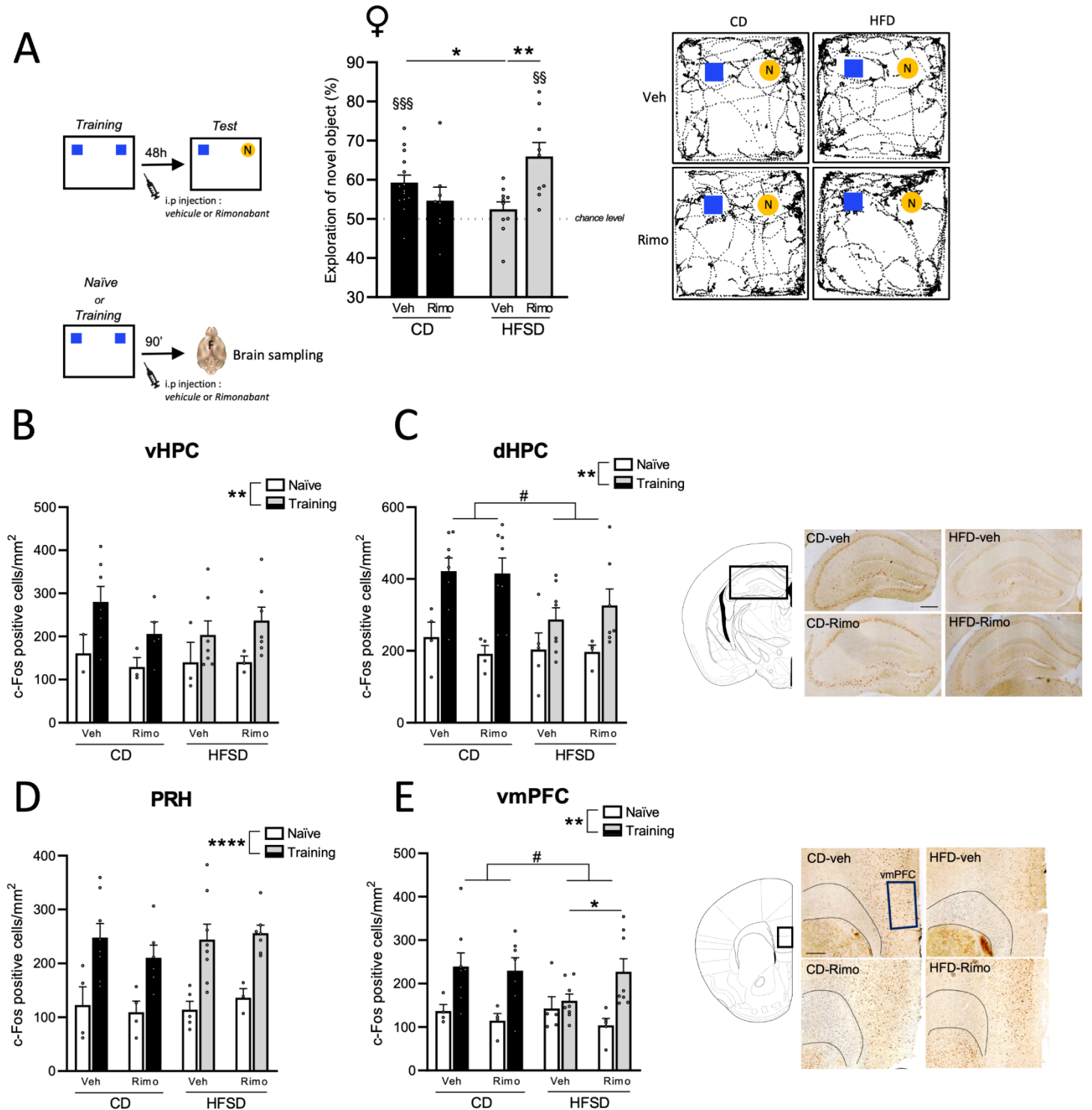
HFSD-fed females showed decrease activation in dHPC and vmPFC after training and CB1R blockade normalized it in vmPFC.

In order to identify which brain structure(s) could be involved in the beneficial effect of CB1R blockade, CD and HFSD-fed females were exposed to ORM training followed by i.p. injection of vehicle or CB1R blockade (no group/diet differences for exploration time; Table 3). c-Fos positive cells were counted in brain structures known to be involved in recognition memory, namely the dHPC and vHPC (CA1, CA3 and DG), the vmPFC and dmPFC, the perirhinal cortex (PRH) and the basolateral amygdala (BLA). First, two-way ANOVA (training X diet) for c-Fos immunoreactivity revealed an increase of c-Fos positive cells after ORM training in comparison to home-cage (naïve) whatever the diet in all brain structures [Training effect: $F > 9$, $p < 0.05$; Figure 1B-E and Supplementary Figures S1B and S1C]. The same analysis revealed also a diet effect, with a lower number of c-Fos positive cells in HFSD-trained groups than CD-trained groups in the dHPC [Diet effect: $F_{(1,27)} = 7.8$, $p = 0.009$, Figure 1C; similar in each CA1, CA3 and DG subregions, Supplementary Figure S1B] and vmPFC [Diet effect: $F_{(1,25)} = 7.7$, $p = 0.045$].

Looking for a treatment effect, we did not find any Treatment X Diet interactions in any brain areas investigated for either trained or home-cage groups ($F < 2.6$, $p > 0.11$). However, by comparing home-cage and trained mice for each diet condition, we found a significant Training x Treatment interaction in the vmPFC of HFSD-fed mice only [$F_{(1,22)} = 4.5$, $p = 0.044$]. Post-hoc analysis indicated that after training HFSD-Rimo group showed a higher number of c-Fos-positive cells than the other 3 groups ($p \leq 0.05$), HFSD-veh trained and both home-cage groups, which did not differ from each other (Figure 2D). This indicates that training did not increase c-Fos in vmPFC of HFSD-veh mice whereas it did in HFSD mice treated with CB1R antagonist, like in CD-fed mice. These data show that adoHFSD exposure induces a lower activation of the dHPC and the vmPFC after training in female mice. Moreover, systemic blockade of CB1R normalized training-induced activation in the vmPFC of HFSD-fed females.

Figure 1

ORM



CB1R decrease in dHPC rescued HFSD-induced memory deficits in males but not females.

In order to investigate the involvement of the HPC in the beneficial effect of CB1R blockade in males and females, we used a viral approach with the Cre recombinase to specifically decrease CB1R in the dHPC or vHPC of HFSD-fed mice (Figure 2A, 2B). HFSD increased both the weight and the fat mass of males and only the fat mass of females (Table 5). During training, all male and female groups similarly explored the two objects ($F < 1$; Table 4).

During the long-term ORM test performed 48h later, CD-fed and HFSD-Cre dHPC males explored preferentially the novel object whereas HFSD-GFP and HFSD-Cre vHPC males did not [one sample t-test: CD: $t_{(12)}=3.6$, $p=0.003$; HFSD-GFP: $t_{(10)}=0.66$, $p=0.52$; HFSD-Cre dHPC: $t_{(8)}=4.59$, $p=0.0018$; HFSD-Cre vHPC: $t_{(6)}=0.76$, $p=0.47$; Figure 2C]. One-way ANOVA revealed a significant difference among the 4 male groups [$F_{(3,36)}=3.2$, $p=0.032$] with the percentage of exploration of the novel object being significantly lower in HFSD-GFP group than in both CD-fed group and HFSD-Cre dHPC group ($p < 0.05$, Figure 2C left). Conversely, in female mice, the percentage of exploration of the novel object was lower in all HFSD-fed groups than in CD-fed group [$F_{(3,38)}=3.7$, $p=0.02$; post-hoc: $p < 0.05$], which was the only group to explore preferentially the novel object (one sample t-test: $t_{(12)}=3.65$, $p=0.003$). Moreover, similar decrease of hippocampal CB1R was found in both sexes [Virus effect: $F_{(1,20)}=7.7$, $P=0.01$; Virus x Sex interaction: $F < 1$; Figure 2D; mainly in the dentate gyrus: Virus effect: $F_{(1,19)}=20.3$, $p < 0.001$; Supplementary Figure S2), excluding any differential viral efficacy in the different behavioral effect. These findings indicate that CB1R decrease, specifically in the dHPC prevented HFSD-induced ORM deficits in male mice, but not in females.

Figure 2

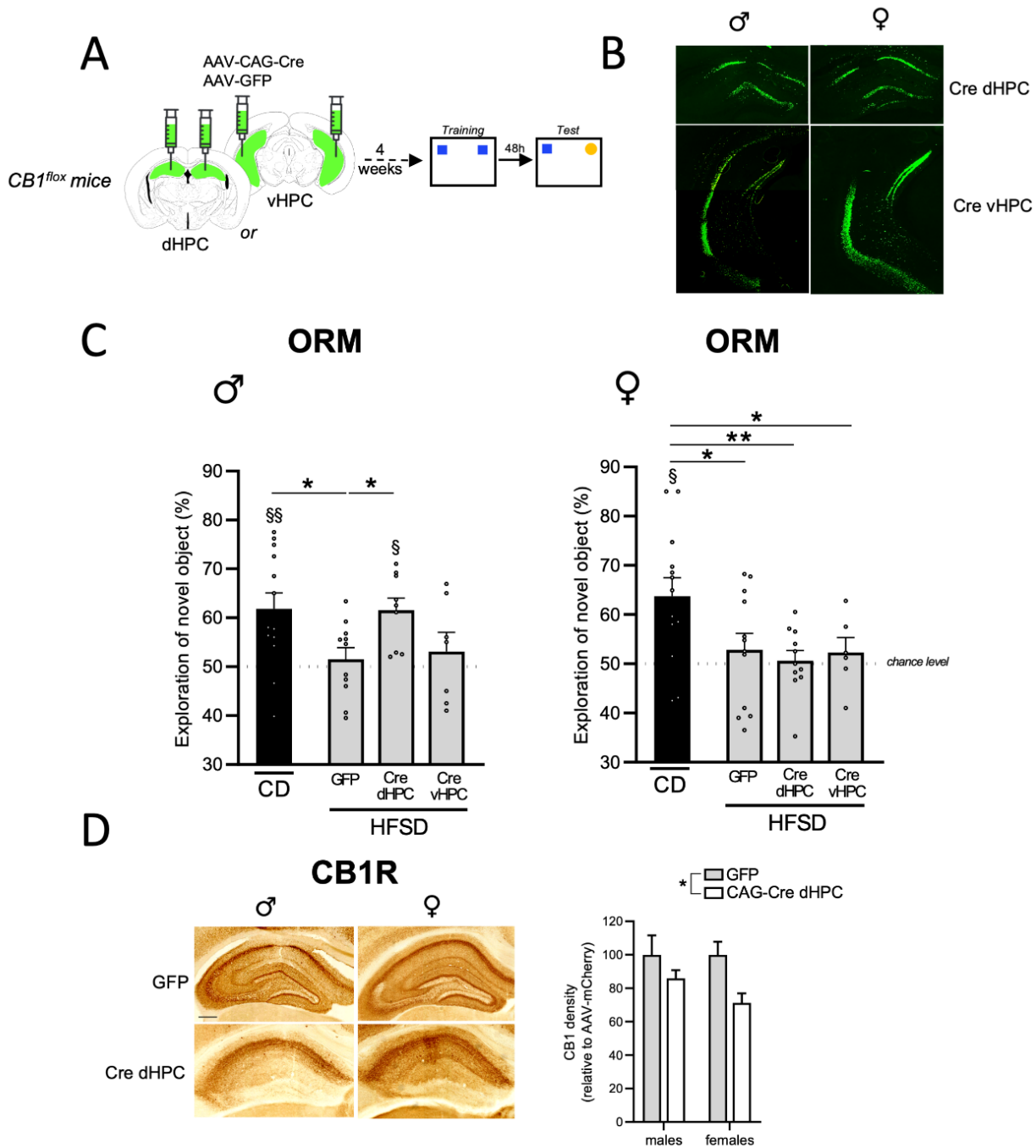


Figure 2. Effects of a specific genetic decrease of hippocampal CB1R in HFSD-induced ORM deficits in males and females

A. Schematic representation of the experimental design. Cre surgery was performed at adulthood (7–8 weeks of diet) and mice recovered 4 weeks before the start of behavioral testing. **B.** Representative pictures for Cre immunofluorescence in the dorsal (Cre dHPC) and the ventral hippocampus (Cre vHPC) of HFSD-fed CB1R floxed mice injected with AAV-CAG-Cre (scale bar represents 250 μ m). **C.** Percentage of exploration of the novel object during the test in the different groups of males (left) and females (right). **D.** Quantification of CB1R density in the dorsal hippocampus of males and females injected with control virus (GFP, gray bars) or Cre virus (white bars) with representative pictures for CB1R immunoreactivity.

Statistics : C. § p <0.05, §§ p <0.01 (One-sample t-test); * p <0.05, ** p <0.001 (One-way ANOVA). D. * p <0.05 (2-way ANOVA : virus effect). **Abbreviations:** CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet; ♂, males; ♀, females; dHPC, dorsal hippocampus; vHPC, ventral hippocampus

CB1R decrease in vmPFC reversed memory deficits in HFSD-fed females but not males.

In order to evaluate the involvement of the vmPFC in the beneficial effect of CB1R blockade in females and males, we used the same viral approach to decrease CB1R in the vmPFC of HFSD-fed mice (Figure 3A, 3B). HFSD-fed male groups were slightly heavier than CD group and all HFSD-fed male and female groups had more fat content than their corresponding CD group (Table 7). During training, all groups similarly explored the two objects [males: $F_{(2,31)}=1.26$, $p=0.29$; females: $F_{(2,33)}=1.67$, $p=0.20$; Table 6].

During ORM test, CD-fed males explored preferentially the novel object whereas HFSD-GFP and HFSD-Cre PFC males did not [one sample t-test: CD: $t_{(8)}=3.65$, $p=0.006$; HFSD-GFP: $t_{(7)}=0.64$, $p=0.53$; HFSD-Cre PFC: $t_{(12)}=0.42$, $p=0.67$; Figure 3B left]. One-way ANOVA revealed that two HFSD groups did not show preference for the novel object compared to CD-fed mice ($F_{(2,27)}=4.96$, $p=0.014$; Post-hoc: $p<0.05$; Figure 3B left). Conversely in females, CD and HFSD-Cre PFC groups explored preferentially the novel object whereas HFSD-GFP group did not [one sample t-test: CD: $t_{(13)}=4.22$, $p=0.001$; HFSD-GFP: $t_{(12)}=0.025$, $p=0.98$; HFSD-Cre PFC: $t_{(8)}=3.16$, $p=0.013$; Figure 3B right]. Indeed, the percentage of exploration of the novel object was significantly lower in HFSD-GFP group than in the other 2 groups ($F_{(2,33)}=4.77$, $p=0.015$; Post-hoc: $p<0.05$; Figure 3B). Moreover, similar decrease of prefrontal CB1R was found in both sexes [Virus effect: $F_{(1,28)}=19.4$, $p=0.0001$; Virus x Sex interaction: $F<1$; Figure 3C]. This finding indicates that specific CB1R decrease in the vmPFC rescued ORM deficit in HFSD-fed females but not in males.

Figure 3

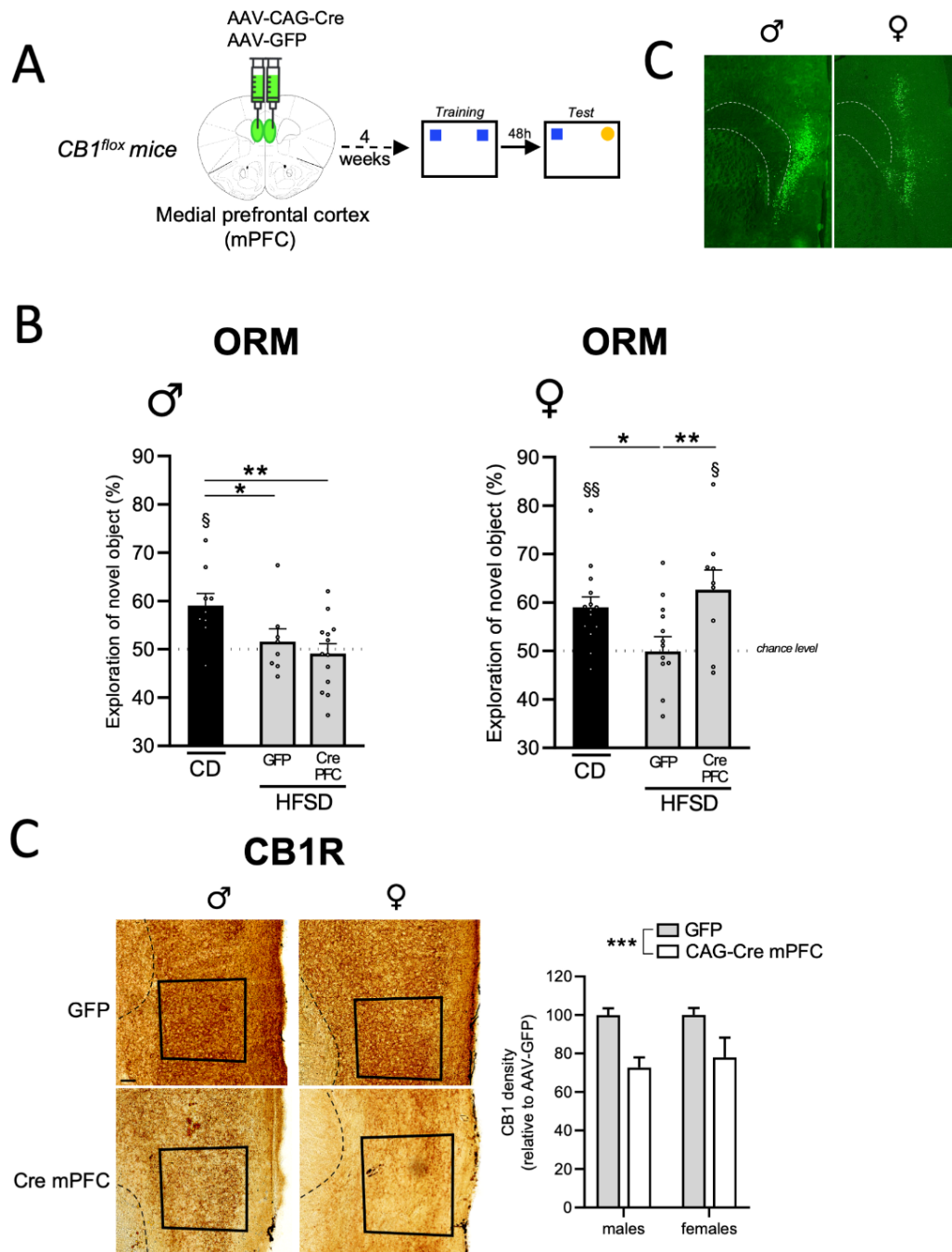


Figure 2. Effects of a specific genetic decrease of prefrontal CB1R in HFSD-induced ORM deficits in males and females

A. Schematic representation of the experimental design. Cre surgery was performed at adulthood (7–8 weeks of diet) and mice recovered 4 weeks before the start of behavioral testing. **B.** Representative pictures for Cre immunofluorescence in the medial prefrontal cortex of HFSD-fed $CB1R$ floxed males and females injected with AAV-CAG-Cre (scale bar represents 250 μ m). **C.** Percentage of exploration of the novel object during the test in the different groups of males (left) and females (right). **D.** Quantification of CB1R density in the ventromedial prefrontal cortex of males and females injected with control virus (GFP, gray bars) or Cre virus (white bars) with representative pictures for CB1R immunoreactivity.

Statistics : **C.** $\$p < 0.05$, $\$\$p < 0.01$ (One-sample t-test); $*p < 0.05$, $**p < 0.001$ (One-way ANOVA). **D.** $***p < 0.001$ (2-way ANOVA : virus effect). *Abbreviations*: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet; ♂, males; ♀, females; mPFC, medial prefrontal cortex

CB1R decrease on hippocampal glutamatergic neurons in males or on prefrontal GABAergic neurons in females rescued HFSD-induced memory deficits

We then evaluated the specific role of CB1R on glutamatergic and GABAergic neurons on HFSD-induced ORM deficits in males and females. For this purpose, we used viral approach with specific promoter to drive CB1R decrease on glutamatergic (CaMKII-Cre virus) or on GABAergic neurons (Dlx-Cre virus) in the dHPC for males (Figure 4A) or the vmPFC for females (Figure 4D). During training, all male and female groups similarly explored the two objects (Table 8).

During ORM test at 48 h, one-way ANOVA did not show significant difference between male groups, but both CD and HFSD-CaMKII-Cre groups explored preferentially the novel object whereas HFSD-GFP and HFSD-Dlx-Cre groups did not (one sample t-test: CD: $t_{(9)}=6.2$, $p=0.0002$; HFSD-GFP: $t_{(12)}=1.75$, $p=0.10$; HFSD-CaMKII-Cre: $t_{(10)}=2.4$, $p=0.03$; HFSD-Dlx-Cre: $t_{(8)}=0.45$, $p=0.66$; Figure 4B, see also results at 24 h). CB1R immunoreactivity revealed a significant decrease of hippocampal CB1R with both viruses (Figure 4C).

In females, both CD and HFSD-Dlx-Cre groups explored preferentially the novel object whereas HFSD-GFP and HFSD-CaMKII-Cre groups did not (one sample t-test: CD: $t_{(11)}=3.44$, $p=0.005$; HFSD-GFP: $t_{(4)}=0.13$, $p=0.89$; HFSD-CaMKII-Cre: $t_{(6)}=0.23$, $p=0.82$; HFSD-Dlx-Cre: $t_{(7)}=3.18$, $p=0.015$; Figure 4E). One-way ANOVA revealed a significant difference among the 4 female groups [$F_{(3,28)}=3.1$, $p=0.04$] with the percentage of exploration of the novel object being significantly higher in HFSD-Dlx-Cre group than in the other two HFSD groups ($p<0.05$, Figure 4E). CB1R immunoreactivity revealed a significant decrease of prefrontal CB1R with both viruses (Figure 4F).

This finding suggests that specific CB1R decrease on hippocampal glutamatergic neurons, but not GABAergic neurons, improved ORM deficits in HFSD-fed males, while CB1R decrease on prefrontal GABAergic neurons, but not glutamatergic neurons, prevented ORM deficits in HFSD-fed females.

Figure 4

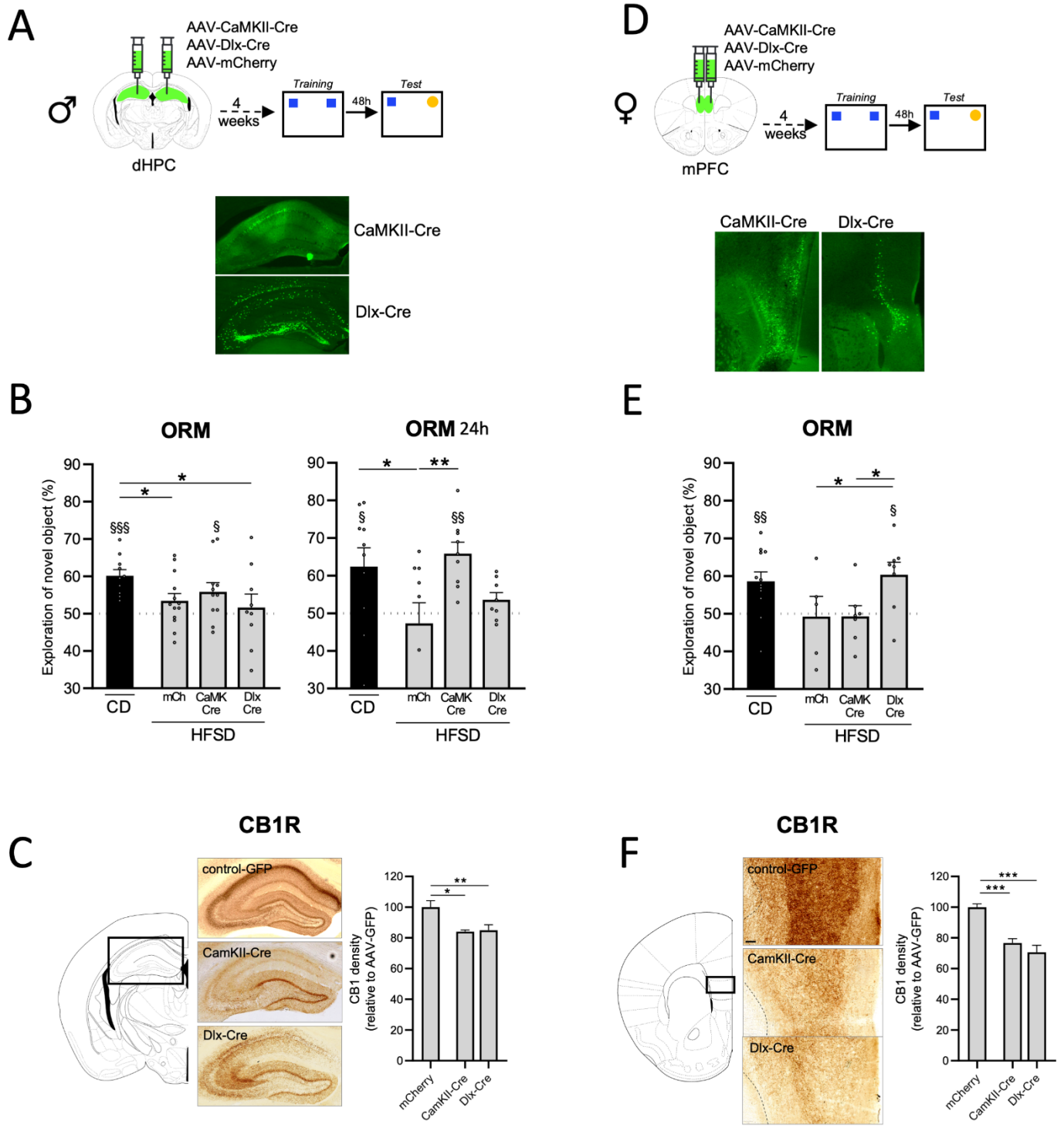


Figure 4. Effects of a specific genetic decrease of hippocampal or prefrontal CB1R on glutamatergic or GABAergic neurons in males and females

A. Schematic representation of the experimental design. Cre surgery was performed at adulthood (7–8 weeks of diet) and mice recovered 4 weeks before the start of behavioral testing. Representative pictures for Cre immunofluorescence in the dorsal hippocampus or the medial prefrontal cortex of HFSD-fed CB1R floxed males (left) and females (right) injected with AAV-CaMKII-Cre or AAV-Dlx-Cre (scale bar represents 250 μ m). **B.E** Percentage of exploration of the novel object during the test at 24h or 48 h in the different groups of males (B) and females (E). **C.F.** Quantification of CB1R density in the dorsal hippocampus (C) or the ventromedial prefrontal cortex (F) injected with control virus (GFP) or CaMKII-Cre/Dlx-Cre virus with representative pictures for CB1R immunoreactivity.

Statistics : **B.E.** $\$p < 0.05$, $\$\$p < 0.01$, $\$\$\$p < 0.001$ (One-sample t-test); $*p < 0.05$, $**p < 0.01$ (One-way ANOVA). **C.F.** $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$ (One-way ANOVA). **Abbreviations:** CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet; σ , males; ρ , females; mPFC, medial prefrontal cortex

CB1R decrease in the dHPC, but not the mPFC, reversed HFSD-induced memory deficits in ovariectomized females.

We finally wondered whether ovarian hormones, especially estrogens, could mediate sexual differences regarding hippocampal and prefrontal CB1R involvement in HFSD-induced memory deficits. For this purpose, we used the same viral approach on HFSD-fed females ovariectomized (OVX) early after weaning (Figure 5A). OVX and sham HFSD-fed groups had more fat content compared to CD-fed mice (Table 10). During training, all groups similarly explored the two objects (Table 9).

During ORM test, CD, HFSD-Cre PFC sham and HFSD-Cre dHPC OVX groups explored preferentially the novel object whereas HFSD-GFP (sham and OVX), HFSD-Cre dHPC sham and HFSD-Cre PFC OVX groups did not (one sample t-test: CD: $t_{(7)}=2.85$, $p=0.02$; HFSD-GFP sham: $t_{(3)}=0.68$, $p=0.54$; HFSD-Cre dHPC sham: $t_{(5)}=2.11$, $p=0.08$; HFSD-Cre PFC sham: $t_{(4)}=2.9$, $p=0.04$; HFSD-GFP OVX: $t_{(11)}=1.36$, $p=0.20$; HFSD-Cre dHPC OVX: $t_{(8)}=9.33$, $p<0.0001$; HFSD-Cre PFC OVX: $t_{(7)}=0.27$, $p=0.78$; Figure 5B). One-way ANOVA revealed a significant difference between the 7 groups [$F_{(6,45)}=3.86$, $p=0.0034$]. Post-hoc analyses indicated that the percentage of exploration of the novel object was significantly higher in CD-fed mice than in both HFSD-GFP groups, sham and OVX ($p<0.05$). In addition, in HFSD-OVX females, the percentage of exploration of the novel object was higher in the Cre dHPC group than in the Cre PFC and GFP group ($p<0.05$ and $p=0.06$; Figure 5B). Moreover, CB1R immunoreactivity revealed similar decrease in both sham and OVX-females of hippocampal CB1R [Virus effect: $F_{(1,15)}=14.8$, $p=0.001$; Virus x OVX interaction: $F<1$; Figure 5C]. This finding showed that whereas OVX by itself did not affect HFSD-induced memory deficits in females, decreasing hippocampal CB1R, but not prefrontal CB1R, rescued memory deficits in HFSD-OVX females, resembling a “male” phenotype.

Figure 5

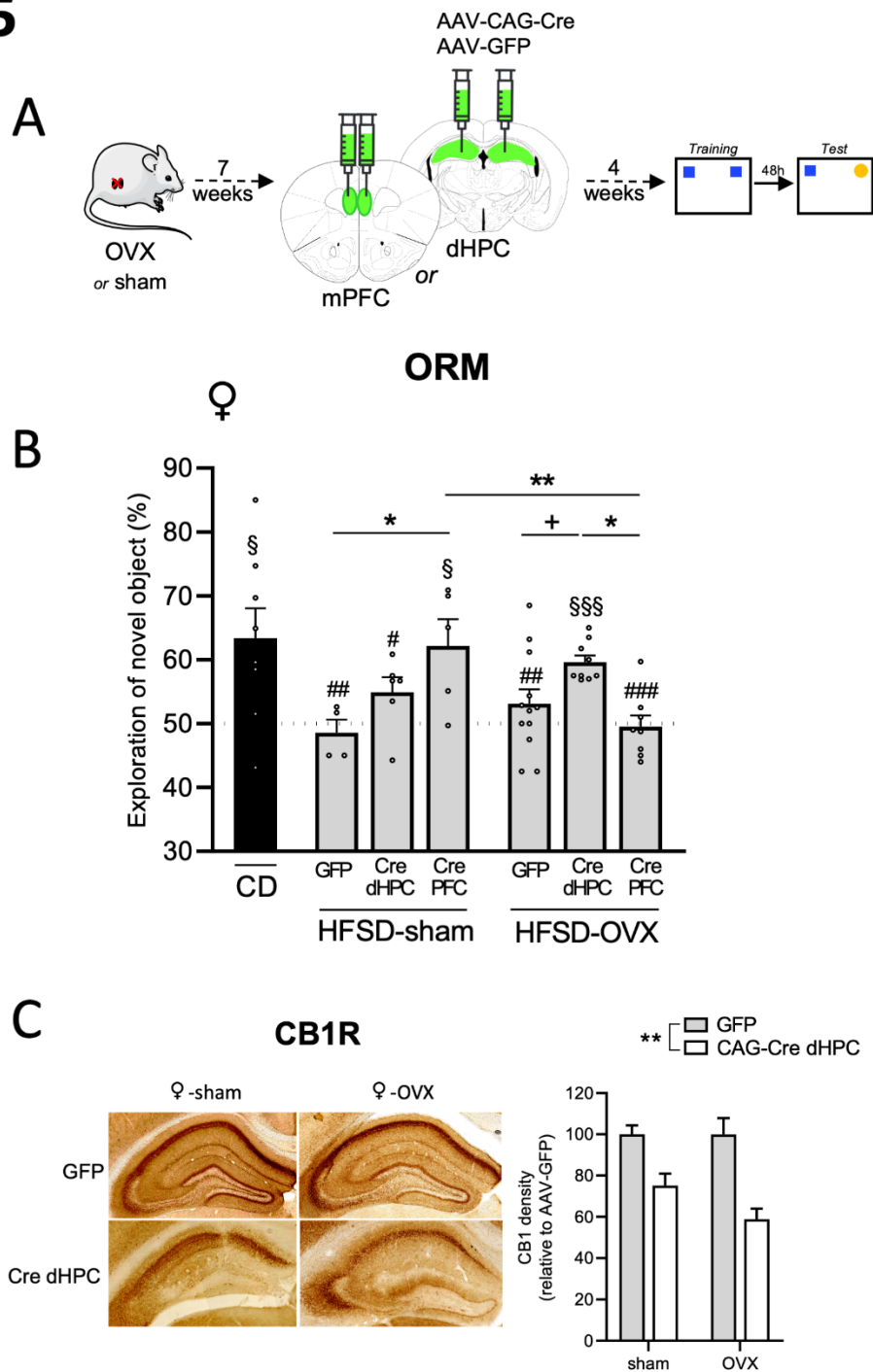


Figure 5. Effects of a specific genetic decrease of hippocampal or prefrontal CB1R in HFSD-induced ORM deficits in ovariectomized-females

A. Schematic representation of the experimental design. Ovariectomy was performed one week after the weaning, then, Cre surgery was performed at adulthood (7–8 weeks of diet) and mice recovered 4 weeks before the start of behavioral testing. Representative pictures for Cre immunofluorescence in the dorsal hippocampus or the medial prefrontal cortex of HFSD-fed CB1R floxed females injected with AAV-CAG-Cre (scale bar represents 250 μ m). **B.** Percentage of exploration of the novel object during the test in the different groups of females. **C.** Quantification of CB1R density in the dorsal hippocampus of sham and OVX females injected with control virus (GFP, gray bars) or CAG-Cre (white bars) with representative pictures for CB1R immunoreactivity.

Statistics : C. § $p < 0.05$, §§§ $p < 0.001$ (One-sample t-test); + $p = 0.06$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$ (One-way ANOVA). # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ (One-way ANOVA : different from control group). **D.** *** $p < 0.001$ (2-way ANOVA : virus effect).

Abbreviations: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet; ♀, females; dHPC, dorsal hippocampus; OVX, ovariectomized

4. Discussion

We first confirmed that HFSD consumption during adolescence induced long-term ORM deficits in both sexes. In addition, using a pharmacological approach, we found that systemic CB1 blockade rescued adoHFSD-induced long-term ORM deficits in both males and females and normalized training-induced lower activation in the vmPFC, but not in the dHPC, of HFSD-females. Using a viral approach in transgenic CB1R-flox mice, we revealed that decrease of CB1R in the vmPFC, but not in dHPC or vHPC, restored adoHFSD-induced ORM deficits in females. On the contrary, decrease of CB1R in the dHPC, but not in vHPC and vmPFC, rescued adoHFSD-induced ORM deficits in males. To go further, we showed that decrease of CB1R on prefrontal GABAergic, but not glutamatergic, neurons restored ORM deficits in adoHFSD-fed females, while decrease of CB1R on hippocampal glutamatergic, but not GABAergic, cells restored adoHFSD-induced ORM deficits in males. Finally, decrease of CB1R in the dHPC, but not vmPFC, restored ORM deficits in ovariectomized adoHFSD-fed females.

CB1R blockade rescued adoHFSD-induced ORM deficits in both males and females.

Our previous studies demonstrated that adoHFSD consumption impairs long-term relational, spatial and recognition memory in male rodents (Biyong et al., 2021; Boitard et al., 2014, 2012; Naneix et al., 2021). Here we showed that adoHFSD also induces long-term ORM deficits in females, corroborating recent results indicating that HFSD similarly impairs spatial and object-based memory in both male and female rodents (Braga et al., 2021; Garcia-Serrano et al., 2022; Klein et al., 2016; Mantor et al., 2018; Underwood and Thompson, 2016).

Given that CB1R blockade prevented HFSD-induced ORM deficits in males (Janthakhin et al., in preparation), we therefore wondered whether CB1R blockade could also alleviate HFSD-effect on ORM in females. Interestingly, peripheral injection of a CB1R antagonist (Rimonabant, 1 mg/kg) enhanced the exploration of the novel object in both adoHFSD-fed females and males, inducing a clear improvement of long-term ORM in both sexes.

We then evaluated whether ORM training in females would lead to particular brain activation pattern depending on the diet and whether CB1 blockade would modify this pattern. We found that ORM training enhanced c-Fos expression in all the brain structures investigated whatever the diet. However, adoHFSD-fed females showed lower c-Fos expression after training than CD-fed groups in the dHPC and the vmPFC, but not in vHPC, dmPFC, perirhinal cortex and basolateral amygdala. Systemic CB1R blockade immediately after training enhanced, and normalized, c-Fos expression in the vmPFC, but did not modify the lower activation in the dHPC. Conversely, in adoHFSD-fed males, we recently showed that ORM training enhanced c-Fos expression in the dHPC, the perirhinal cortex and the basolateral amygdala (Biyong et

al., 2021), and systemic CB1R blockade normalized it only in the dHPC (Janthakhin et al., in preparation). This suggests a sex difference in the brain network affected by training, but more importantly in brain structures modulated by CB1R in adoHFSD-fed mice, dHPC in males and vmPFC in females. Moreover, the opposite effect of training on brain activation in adoHFSD-fed males and females (higher and lower than their CD group, respectively) suggests a potential action on different cell types.

Prefrontal, but not hippocampal, CB1R mediates adoHFSD-induced ORM deficits in females.

These c-Fos results strongly suggest that CB1R activation specifically in the vmPFC, but not in the HPC (contrary to males), contributes to ORM impairment in adoHFSD-fed females. Indeed, specific decrease of CB1R in the vmPFC, but not in the dHPC, was sufficient to prevent long-term ORM deficits in adoHFSD-fed females. Given that dHPC and vHPC exhibit functional heterogeneity (for review: Fanselow and Dong, 2010), we also decreased CB1R in the vHPC but it did not improve ORM in adoHFSD-fed females, indicating that hippocampal-CB1R do not mediate HFSD-induced ORM deficits in females. In addition, the current study confirmed in males a beneficial effect of CB1R decrease in the dHPC, but not in vHPC or vmPFC, on adoHFSD-induced long-term ORM deficits. This difference is not due to different viral efficacy as we found similar levels of CB1R decrease in dHPC and vmPFC in both sexes. Altogether these results indicate that CB1R over-activation in either HPC or PFC triggered ORM deficits in HFSD-fed mice corroborating previous studies in lean rodents indicating that activation of prefrontal or hippocampal CB1R using exogenous ligand impairs ORM (Ito et al., 2019; Clarke et al., 2008).

Our findings revealed a double dissociation in the hippocampal and prefrontal CB1R regulation of adoHFSD effects on memory in males and females, suggesting that adoHFSD-induced memory deficits are specifically triggered by hippocampal CB1R over-activation in males, but prefrontal CB1R over-activation in females. Interestingly, previous results demonstrated that the eCB-CB1R system is overactive in the HPC of males after HFSD consumption (Massa et al., 2010; Rivera et al., 2013) whereas another study showed that obesogenic diet consumption affects prefrontal, but not hippocampal, eCB signalling in female rats (Rojo et al., 2013).

Even if we did not find any sex difference for CB1R expression in the HPC and the PFC, sex dimorphism was reported for CB1R-dependent plasticity in HPC and PFC and eCB-CB1R signaling (Bernabeu et al., 2023; Cooper and Craft, 2018; Ferraro et al., 2020) and sex-specific CB1R regulation is crucial for adolescent brain development (Simone et al., 2022). Future experiments will characterize CB1R signaling efficacy in HPC and PFC of males and females under different diet condition.

CB1R on glutamatergic neurons in males and on GABAergic neurons in females mediates adoHFSD-induced ORM deficits.

c-Fos experiment revealed an opposite alteration of neuronal activation in adoHSFD-fed males and females after training (higher activity in males but lower activity in females), that is CB1R-dependent, suggesting sex differences in cellular mechanisms and/or cell types involved in adoHFSD-induced memory. Our results indicate a sex-dependent alteration that CB1R could mediate. Indeed, whereas decrease of CB1R on glutamatergic, but not GABAergic, neurons (of the dHPC) prevents adoHFSD-induced ORM deficits in males (see also Janthakhin et al., in preparation), decrease of CB1R on GABAergic, but not glutamatergic, neurons (in the vmPFC) are able to prevent HFSD-induced ORM deficits in females. After the double dissociation of brain structures involved in CB1R modulation (HPC vs PFC), these findings revealed another double dissociation in the cell types involved in CB1R regulation of adoHFSD effect on memory in females and males. This adds strong evidence regarding sex differences on mechanisms mediating HFSD-induced memory deficits. It will be now important to determine if diet and sex influence CB1R distribution between glutamatergic and GABAergic neurons in HPC and PFC.

These results also suggest that CB1R over-activation on hippocampal glutamatergic neurons triggered higher c-Fos expression in dHPC of HFSD-fed males whereas CB1R over-activation on prefrontal GABAergic neurons is responsible for lower c-Fos expression in vmPFC of HFSD-fed females. Regarding this aberrant neuronal activity in adoHSFD-fed animals, it is interesting to note that chemogenetic inactivation of the HPC prevented ORM deficits in HFSD-fed males stressing the causal role of hippocampal over-activity in their memory deficits (Naneix et al., 2021). Future experiments will evaluate in adoHFSD-fed females whether chemogenetic activation of the vmPFC could reverse their ORM deficits which would demonstrate, if it is the case, prefrontal hypo-activity would be responsible for their memory deficits.

Ovarian hormones mediate sex differences in hippocampal and prefrontal CB1R involvement in adoHFSD-induced memory deficits.

Gonadal steroid hormones drive many brain structural changes during adolescence and are well-known to modulate neuronal plasticity and HPC- or PFC-dependent memory (for reviews : Cahill, 2006; Frick et al., 2018). Therefore, ovarian hormones could mediate sex differences in CB1R modulation of adoHFSD-induced memory deficits. In ovariectomized adoHFSD-fed females, decrease of CB1R in the dHPC, but not vmPFC, prevents long-term ORM deficits, resembling results obtained in adoHFSD-fed males. Therefore, by rendering HFSD-fed females now sensitive to CB1R decrease in the HPC (and insensitive to CB1R decrease in the PFC), ovariectomy switched the HFSD phenotype from females to males. Ovaries produce and

release both estrogen and progesterone and it remains to clearly demonstrate which ovarian hormone is involved. However, estrogen seems the best candidate as it is known to regulate eCB tone in the HPC of females but not of males (Huang and Woolley, 2012). Therefore, estrogen could prevent in adoHFSD-fed females hippocampal eCB system overactivity seen in males. In addition to responding to ovarian estrogen, the HPC of both males and females synthesizes estrogen that could acutely modulate HPC function. However, even if local estrogen synthesized in the HPC can modulate long-term ORM in ovariectomized females (Tuscher et al., 2016) our effect is clearly dependent on ovaries secretion.

Conclusion

In conclusion, our study demonstrates that HFSD consumption during adolescence impairs long-term object recognition memory through abnormal brain CB1R activation in both males and females. Our study also revealed that memory deficits are triggered by CB1R over-activation in a sex-specific manner across brain regions and cell types, involving a modulation from ovarian hormones. These results highlight the need for additional investigations of the cellular and molecular mechanisms mediating HFSD-induced memory deficits in both sexes. Future studies will in particular aim at deciphering how estrogens modulate brain eCB system alterations induced by HFSD consumption.

References

- Andersen, S.L., 2003. Trajectories of brain development: point of vulnerability or window of opportunity? *Neurosci Biobehav Rev* 27, 3–18. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(03\)00005-8](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(03)00005-8)
- Bauer, C.C.C., Moreno, B., González-Santos, L., Concha, L., Barquera, S., Barrios, F.A., 2015. Child overweight and obesity are associated with reduced executive cognitive performance and brain alterations: a magnetic resonance imaging study in Mexican children. *Pediatr Obes* 10, 196–204. <https://doi.org/10.1111/ijpo.241>
- Beiranvand, A., Nasehi, M., Zarrindast, M.-R., Moghaddasi, M., 2016. Involvement of medial prefrontal cortex alpha-2 adrenoceptors on memory acquisition deficit induced by arachidonylcyclopropylamide, a cannabinoid CB1 receptor agonist, in rats; possible involvement of Ca²⁺ channels. *J Psychopharmacol* 30, 945–954. <https://doi.org/10.1177/0269881116652585>
- Bernabeu, A., Bara, A., Murphy Green, M.N., Manduca, A., Wager-Miller, J., Borsoi, M., Lassalle, O., Pelissier-Alicot, A.-L., Chavis, P., Mackie, K., Manzoni, O.J.J., 2023. Sexually Dimorphic Adolescent Trajectories of Prefrontal Endocannabinoid Synaptic Plasticity Equalize in Adulthood, Reflected by Endocannabinoid System Gene Expression. *Cannabis Cannabinoid Res.* <https://doi.org/10.1089/can.2022.0308>
- Biyong, E.F., Alfos, S., Dumetz, F., Helbling, J.-C., Aubert, A., Brossaud, J., Foury, A., Moisan, M.-P., Layé, S., Richard, E., Patterson, E., Murphy, K., Rea, K., Stanton, C., Schellekens, H., Cryan, J.F., Capuron, L., Pallet, V., Ferreira, G., 2021. Dietary vitamin A supplementation prevents early obesogenic diet-induced microbiota, neuronal and cognitive alterations. *Int J Obes (Lond)* 45, 588–598. <https://doi.org/10.1038/s41366-020-00723-z>
- Boitard, C., Cavaroc, A., Sauviant, J., Aubert, A., Castanon, N., Layé, S., Ferreira, G., 2014. Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. *Brain Behav. Immun.* 40, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.03.005>
- Boitard, C., Etchamendy, N., Sauviant, J., Aubert, A., Tronel, S., Marighetto, A., Layé, S., Ferreira, G., 2012. Juvenile, but not adult exposure to high-fat diet impairs relational memory and hippocampal neurogenesis in mice. *Hippocampus* 22, 2095–2100. <https://doi.org/10.1002/hipo.22032>

- Braga, S.P., Delanogare, E., Machado, A.E., Prediger, R.D., Moreira, E.L.G., 2021. Switching from high-fat feeding (HFD) to regular diet improves metabolic and behavioral impairments in middle-aged female mice. *Behav Brain Res* 398, 112969. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112969>
- Busquets-Garcia, A., Oliveira da Cruz, J.F., Terral, G., Pagano Zottola, A.C., Soria-Gómez, E., Contini, A., Martin, H., Redon, B., Varilh, M., Ioannidou, C., Drago, F., Massa, F., Fioramonti, X., Trifileff, P., Ferreira, G., Marsicano, G., 2018. Hippocampal CB1 Receptors Control Incidental Associations. *Neuron* 99, 1247-1259.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.08.014>
- Cahill, L., 2006. Why sex matters for neuroscience. *Nat. Rev. Neurosci.* 7, 477–484. <https://doi.org/10.1038/nrn1909>
- Chevalayre, V., Castillo, P.E., 2003. Heterosynaptic LTD of hippocampal GABAergic synapses: a novel role of endocannabinoids in regulating excitability. *Neuron* 38, 461–472. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00235-6](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00235-6)
- Cooper, Z.D., Craft, R.M., 2018. Sex-Dependent Effects of Cannabis and Cannabinoids: A Translational Perspective. *Neuropsychopharmacology* 43, 34–51. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.140>
- Di Marzo, V., 2008. Targeting the endocannabinoid system: to enhance or reduce? *Nat Rev Drug Discov* 7, 438–455. <https://doi.org/10.1038/nrd2553>
- Fanselow, M.S., Dong, H.-W., 2010. Are The Dorsal and Ventral Hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.031>
- Ferraro, A., Wig, P., Boscarino, J., Reich, C.G., 2020. Sex differences in endocannabinoid modulation of rat CA1 dendritic neurotransmission. *Neurobiol Stress* 13, 100283. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2020.100283>
- Freund, T.F., Katona, I., Piomelli, D., 2003. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev* 83, 1017–1066. <https://doi.org/10.1152/physrev.00004.2003>
- Frick, K.M., Tuscher, J.J., Koss, W.A., Kim, J., Taxier, L.R., 2018. Estrogenic regulation of memory consolidation: A look beyond the hippocampus, ovaries, and females. *Physiol Behav* 187, 57–66. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.07.028>
- Garcia-Serrano, A.M., Mohr, A.A., Philippe, J., Skoug, C., Spéjel, P., Duarte, J.M.N., 2022. Cognitive Impairment and Metabolite Profile Alterations in the Hippocampus and Cortex of Male and Female Mice Exposed to a Fat and Sugar-Rich Diet are Normalized by Diet Reversal. *Aging Dis* 13, 267–283. <https://doi.org/10.14336/AD.2021.0720>
- Hall, J.E., Crook, E.D., Jones, D.W., Wofford, M.R., Dubbert, P.M., 2002. Mechanisms of obesity-associated cardiovascular and renal disease. *Am J Med Sci* 324, 127–137. <https://doi.org/10.1097/00000441-200209000-00003>
- Head, G.A., 2015. Cardiovascular and metabolic consequences of obesity. *Front Physiol* 6, 32. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00032>
- Hedley, A.A., Ogden, C.L., Johnson, C.L., Carroll, M.D., Curtin, L.R., Flegal, K.M., 2004. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults, 1999-2002. *JAMA* 291, 2847–2850. <https://doi.org/10.1001/jama.291.23.2847>
- Huang, G.Z., Woolley, C.S., 2012. Estradiol acutely suppresses inhibition in the hippocampus through a sex-specific endocannabinoid and mGluR-dependent mechanism. *Neuron* 74, 801–808. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.03.035>
- Kano, M., Ohno-Shosaku, T., Hashimoto-dani, Y., Uchigashima, M., Watanabe, M., 2009. Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. *Physiol Rev* 89, 309–380. <https://doi.org/10.1152/physrev.00019.2008>
- Kanoski, S.E., Zhang, Y., Zheng, W., Davidson, T.L., 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, 207. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-091414>
- Khan, N.A., Baym, C.L., Monti, J.M., Raine, L.B., Drollette, E.S., Scudder, M.R., Moore, R.D., Kramer, A.F., Hillman, C.H., Cohen, N.J., 2015. Central Adiposity is Negatively Associated with Hippocampal-Dependent Relational Memory among Overweight and Obese Children. *J Pediatr* 166, 302-308.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2014.10.008>

- Khazen, T., Hatoum, O.A., Ferreira, G., Maroun, M., 2019. Acute exposure to a high-fat diet in juvenile male rats disrupts hippocampal-dependent memory and plasticity through glucocorticoids. *Scientific Reports* 9, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48800-2>
- Klein, C., Jonas, W., Iggena, D., Empl, L., Rivalan, M., Wiedmer, P., Spranger, J., Hellweg, R., Winter, Y., Steiner, B., 2016. Exercise prevents high-fat diet-induced impairment of flexible memory expression in the water maze and modulates adult hippocampal neurogenesis in mice. *Neurobiol Learn Mem* 131, 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2016.03.002>
- Labouesse, M.A., Lassalle, O., Richetto, J., Iafrati, J., Weber-Stadlbauer, U., Notter, T., Gschwind, T., Pujadas, L., Soriano, E., Reichelt, A.C., Labouesse, C., Langhans, W., Chavis, P., Meyer, U., 2017. Hypervulnerability of the adolescent prefrontal cortex to nutritional stress via reelin deficiency. *Mol Psychiatry* 22, 961–971. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.193>
- Leger, M., Quiedeville, A., Bouet, V., Haelewyn, B., Boulouard, M., Schumann-Bard, P., Freret, T., 2013. Object recognition test in mice. *Nat Protoc* 8, 2531–2537. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.155>
- Loisy, M., Bouisset, G., Lopez, S., Muller, M., Spitsyn, A., Duval, J., Piskorowski, R.A., Verret, L., Chevalleyre, V., 2022. Sequential inhibitory plasticities in hippocampal area CA2 and social memory formation. *Neuron* 110, 2854–2866.e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2022.06.013>
- López-Moreno, J.A., González-Cuevas, G., Moreno, G., Navarro, M., 2008. The pharmacology of the endocannabinoid system: functional and structural interactions with other neurotransmitter systems and their repercussions in behavioral addiction. *Addict Biol* 13, 160–187. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2008.00105.x>
- Lowe, C.J., Reichelt, A.C., Hall, P.A., 2019. The Prefrontal Cortex and Obesity: A Health Neuroscience Perspective. *Trends in Cognitive Sciences* 23, 349–361. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2019.01.005>
- Lynch, K.M., Page, K.A., Shi, Y., Xiang, A.H., Toga, A.W., Clark, K.A., 2021. The effect of body mass index on hippocampal morphology and memory performance in late childhood and adolescence. *Hippocampus* 31, 189–200. <https://doi.org/10.1002/hipo.23280>
- Mantor, D., Pratchayasakul, W., Minta, W., Sutham, W., Palee, S., Sripetchwandee, J., Kerdphoo, S., Jaiwongkum, T., Sriwichaiin, S., Krinratun, W., Chattipakorn, N., Chattipakorn, S.C., 2018. Both oophorectomy and obesity impaired solely hippocampal-dependent memory via increased hippocampal dysfunction. *Exp Gerontol* 108, 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2018.04.010>
- Massa, F., Mancini, G., Schmidt, H., Steindel, F., Mackie, K., Angioni, C., Oliet, S.H.R., Geisslinger, G., Lutz, B., 2010. Alterations in the hippocampal endocannabinoid system in diet-induced obese mice. *J. Neurosci.* 30, 6273–6281. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2648-09.2010>
- Mazier, W., Saucisse, N., Gatta-Cherifi, B., Cota, D., 2015. The Endocannabinoid System: Pivotal Orchestrator of Obesity and Metabolic Disease. *Trends Endocrinol. Metab.* 26, 524–537. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2015.07.007>
- Mestre, Z., Grethe, A.-B., Wierenga, C.E., Jernigan, T., Eichen, D.M., Chang, L., Ernst, T., Boutelle, K.N., 2020. Associations between body weight, hippocampal volume or tissue signal intensity in 12 to 18-year olds. *Obesity (Silver Spring)* 28, 1325–1331. <https://doi.org/10.1002/oby.22841>
- Mestre, Z.L., Bischoff-Grethe, A., Eichen, D.M., Wierenga, C.E., Strong, D., Boutelle, K.N., 2017. Hippocampal atrophy and altered brain responses to pleasant tastes among obese compared to healthy weight children. *Int J Obes (Lond)* 41, 1496–1502. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.130>
- Naneix, F., Bakoyiannis, I., Santoyo-Zedillo, M., Bosch-Bouju, C., Pacheco-Lopez, G., Coutureau, E., Ferreira, G., OBETEEN Consortium, 2021. Chemogenetic silencing of hippocampus and amygdala reveals a double dissociation in periadolescent obesogenic diet-induced memory alterations. *Neurobiol Learn Mem* 178, 107354. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2020.107354>
- Nyaradi, A., Foster, J.K., Hickling, S., Li, J., Ambrosini, G.L., Jacques, A., Oddy, W.H., 2014. Prospective associations between dietary patterns and cognitive performance during adolescence. *J Child Psychol Psychiatry* 55, 1017–1024. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12209>
- Ogden, C.L., Carroll, M.D., Lawman, H.G., Fryar, C.D., Kruszon-Moran, D., Kit, B.K., Flegal, K.M., 2016. Trends in Obesity Prevalence Among Children and Adolescents in the United States, 1988-1994 Through 2013-2014. *JAMA* 315, 2292–2299. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.6361>
- Overby, N.C., Lüdemann, E., Høigaard, R., 2013. Self-reported learning difficulties and dietary intake in Norwegian adolescents. *Scand J Public Health* 41, 754–760. <https://doi.org/10.1177/1403494813487449>

- Reichelt, A.C., Rank, M.M., 2017. The impact of junk foods on the adolescent brain. *Birth Defects Res* 109, 1649–1658. <https://doi.org/10.1002/bdr2.1173>
- Rivera, P., Luque-Rojas, M.J., Pastor, A., Blanco, E., Pavón, F.J., Serrano, A., Crespillo, A., Vida, M., Grondona, J.M., Cifuentes, M., Bermúdez-Silva, F.J., de la Torre, R., de Fonseca, F.R., Suárez, J., 2013. Diet-dependent modulation of hippocampal expression of endocannabinoid signaling-related proteins in cannabinoid antagonist-treated obese rats. *Eur. J. Neurosci.* 37, 105–117. <https://doi.org/10.1111/ejn.12012>
- Rojo, M.L., Söderström, I., Olsson, T., Fowler, C.J., 2013. Changes in cannabinoid CB(1) receptor functionality in the female rat prefrontal cortex following a high fat diet. *Life Sci* 92, 757–762. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.02.002>
- Silva de Melo, L.C., Cruz, A.P., Rios Valentim, S.J., Marinho, A.R., Mendonça, J.B., Nakamura-Palacios, E.M., 2005. Delta(9)-THC administered into the medial prefrontal cortex disrupts the spatial working memory. *Psychopharmacology (Berl)* 183, 54–64. <https://doi.org/10.1007/s00213-005-0141-1>
- Simone, J.J., Green, M.R., McCormick, C.M., 2022. Endocannabinoid system contributions to sex-specific adolescent neurodevelopment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 113, 110438. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2021.110438>
- Spear, L.P., 2000. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Rev* 24, 417–463. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(00\)00014-2](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(00)00014-2)
- Tuscher, J.J., Szinte, J.S., Starrett, J.R., Krentzel, A.A., Fortress, A.M., Remage-Healey, L., Frick, K.M., 2016. Inhibition of local estrogen synthesis in the hippocampus impairs hippocampal memory consolidation in ovariectomized female mice. *Horm Behav* 83, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2016.05.001>
- Underwood, E.L., Thompson, L.T., 2016. A High-Fat Diet Causes Impairment in Hippocampal Memory and Sex-Dependent Alterations in Peripheral Metabolism. *Neural Plast* 2016, 7385314. <https://doi.org/10.1155/2016/7385314>

Supplemental data

Figure S1A

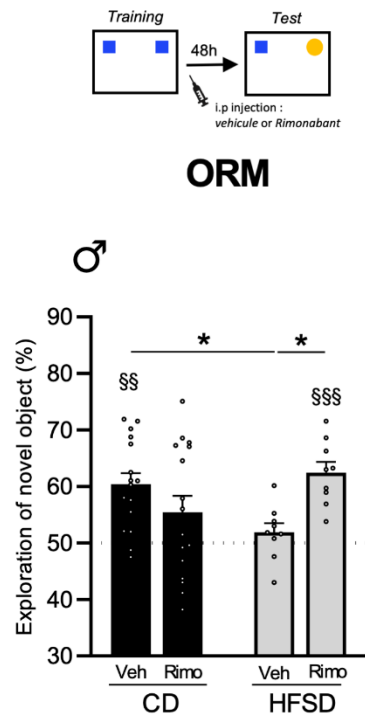
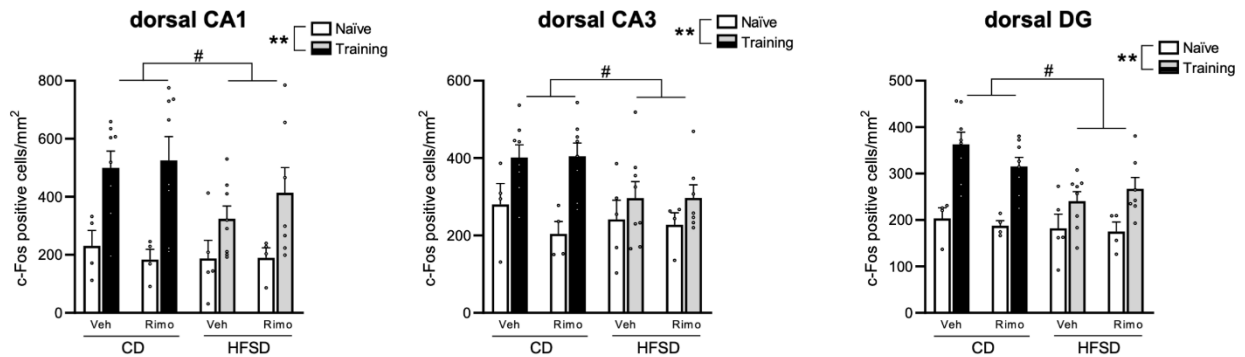


Figure S1A : Effects of CB1R blockade on adoHFSD-induced recognition memory deficits in males

A. Male mice were fed with standard (CD) or high-fat and sugar diet (HFSD) from weaning and during 12 weeks. Schematic representation of the object recognition memory task. Immediately after training, mice received intraperitoneal injection of Rimonabant (1 mg/kg) to induce CB1R systemic blockade. Data are presented as the percentage of exploration of the novel object (N) during the test in CD (black bars) and HFSD groups (gray bars). Results are expressed as mean \pm SEM and circles show individual data points. *Statistics* : §§ p <0.01, §§§ p <0.001 (One-sample t-test); * p <0.05, ** p <0.001 (One-way ANOVA). *Abbreviations*: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet; Veh, vehicle; Rimo, rimonabant.

Figure S1B

A



B

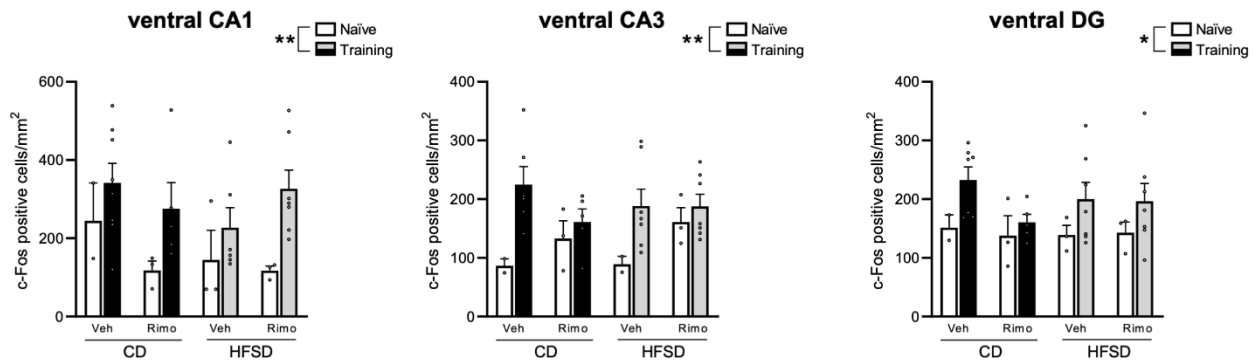


Figure S1B : Effects of CB1R blockade on adoHFSD-effects on hippocampal CA1, CA3 and DG activation after training in females

A.B. c-Fos positive neurons in dorsal (D) and ventral (F) CA1, CA3 and dentate gurus (DG) subregions neurons in naïve mice (white bars) or 90 min after training (filled bars). Data are shown as the number of Fos positive cells per mm². Results are expressed as mean ± SEM and circles show individual data points. *Statistics* : A.B. *p<0.05, **p<0.01 (2-way ANOVA : training effect); A. #p<0.05 (2-way ANOVA : diet effect). *Abbreviations*: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet; Veh, vehicle; Rimo, rimonabant; DG, dentate gyrus.

Figure S1C

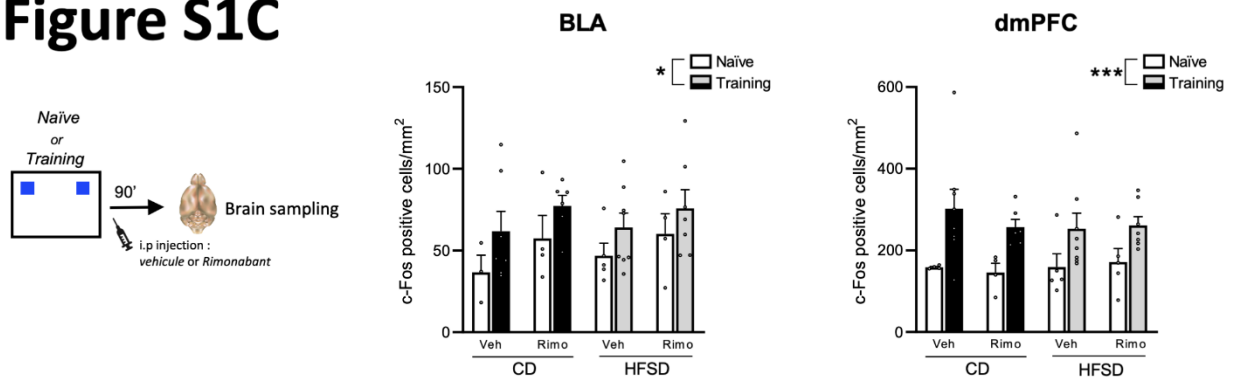


Figure S1B : Effects of CB1R blockade on adoHFSD-induced amygdalar and dorsomedial prefrontal c-Fos activation after training in females

c-Fos positive neurons in the basolateral amygdala (BLA) and the dorsal part of the medial prefrontal cortex (dmPFC) in naïve mice (white bars) or 90 min after training (filled bars). Data are shown as the number of Fos positive cells per mm². Results are expressed as mean ± SEM and circles show individual data points. *Statistics* : *p<0.05, ***p<0.001 (2-way ANOVA : training effect). *Abbreviations*: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet; Veh, vehicle; Rimo, rimonabant.

Figure S2A

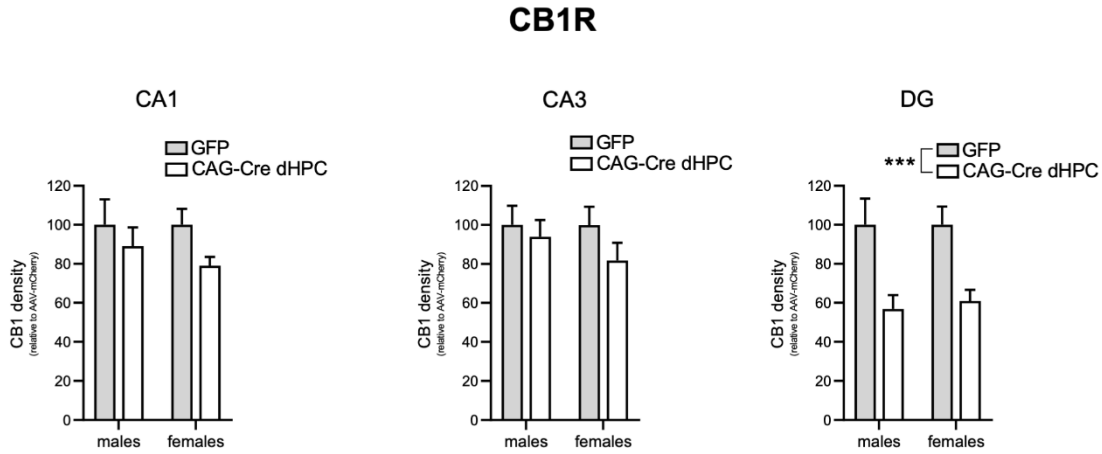


Figure S2A. CB1R quantification in the hippocampal CA1, CA3 and DG in HFSD-fed males and females
 Quantification of CB1R density in the dorsal hippocampus CA1, CA3 and dentate gyrus (DG) of males and females injected with control virus (GFP, gray bars) or Cre virus (white bars). *Statistics* : C. *** $p < 0.001$ (2-way ANOVA : virus effect). *Abbreviations*: dHPC, dorsal hippocampus; DG, ventral hippocampus

Figure S2B

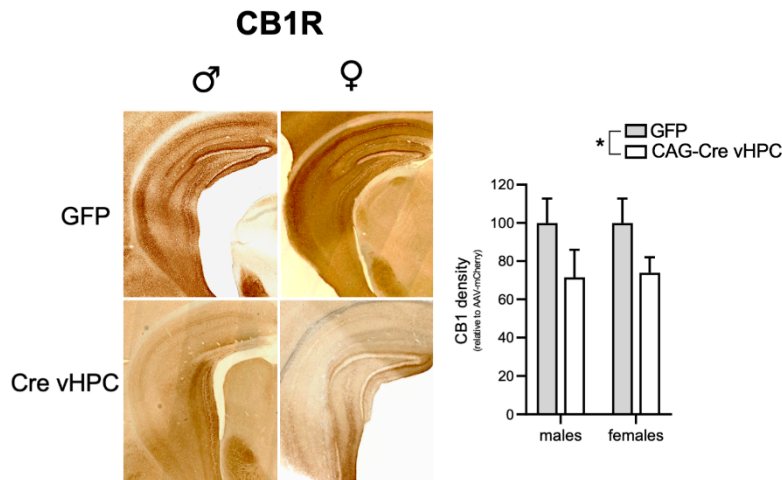


Figure S2B. CB1R quantification in the ventral hippocampus in HFSD-fed males and females
 Quantification of CB1R density in the ventral hippocampus in HFSD-fed males and females injected with control virus (GFP, gray bars) or Cre virus (white bars) with representative pictures for CB1R immunoreactivity. *Statistics* : C. * $p < 0.05$ (2-way ANOVA : virus effect). *Abbreviations*: dHPC, dorsal hippocampus; DG, ventral hippocampus

Table 1 :

Object Recognition Memory. Two-way ANOVA statistical analysis. Exploration ratio during training was expressed as time exploring object 1 (in seconds) on total object exploration time X 100.

Abbreviations: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet; Veh, vehicle; Rimo, rimonabant.

Table 2 :

Body weight and fat mass measurements. Two-way ANOVA statistical analysis. *, **, ***, ****: diet effect. Results are expressed as a percentage of fat mass versus body weight (in grams). Abbreviations: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet; Veh, vehicle; Rimo, rimonabant.

Table 3 :

Exposure to novel objects for 8min. One-way ANOVA statistical analysis.

Table 4-6-8-9 :

Object Recognition Memory. One-way ANOVA statistical analysis. ** different from CD group. Exploration ratio during training was expressed as time exploring object 1 (in seconds) on total object exploration time X 100. Abbreviations: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet; ♂, males; ♀, females; dHPC, dorsal hippocampus; vHPC, ventral hippocampus; mPFC, medial prefrontal cortex; OVX, ovariectomy

Table 5-7-10 :

Body weight and fat mass measurements. One-way ANOVA statistical analysis. *, **, ***, ****: different from CD group. Results are expressed as a percentage of fat mass versus body weight (in grams). Abbreviations: CD, control diet; HFSD, high-fat and sugar diet; ♂, males; ♀, females; dHPC, dorsal hippocampus; vHPC, ventral hippocampus; mPFC, medial prefrontal cortex; OVX, ovariectomy

Table 1

	♀CD-veh			♀CD-Rimo			♀HFD-veh			♀HFD-Rimo		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
%exploration ratio (training)	51.4	2.5	9	52.1	1.7	8	50.7	2.5	10	50.4	2.8	9
Time (s) object to be changed	10.3	0.5	9	10.4	0.3	8	10.1	0.5	10	9.8	0.6	8
Time (s) object not to be changed	9.7	0.5	9	9.6	0.3	8	9.9	0.5	10	10.2	0.6	8
Time (s) to reach criterium (training)	405.9	55.0	9	358.5	39.1	8	440.2	46.4	10	430.8	44.7	9
Time (s) to reach criterium (test)	516.0	55.8	9	452.1	70.0	7	523.4	23.8	10	507.0	38.3	9

	♂CD-veh			♂CD-Rimo			♂HFD-veh			♂HFD-Rimo		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
%exploration ratio (training)	51.7	2.8	16	51.6	2.5	16	54.0	1.7	9	54.5	3.6	10
Time (s) object to be changed	10.4	0.6	16	10.3	0.5	16	10.8	0.3	9	10.9	0.7	10
Time (s) object not to be changed	9.7	0.6	16	9.7	0.5	16	9.3	0.6	9	9.1	0.7	10
Time (s) to reach criterium (training)	373.1	34.3	16	422.4	31.0	16	462.3	42.2	9	380.1	28.9	10
Time (s) to reach criterium (test)	413.6	35.8	16	409.8	34.9	16	554.1	16.5	9	484.3	43.8	10

Table 2

	♂CD-veh			♂CD-Rimo			♂HFD-veh			♂HFD-Rimo		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
Body weight	35.0	1.7	8	33.3	1.4	9	42.6	2.0	9 ****	40.9	1.3	9
% of fat content	34.7	2.4	8	30.7	3.6	9	41.8	1.5	9 ***	42.4	1.7	9

	♀CD-veh			♀CD-Rimo			♀HFD-veh			♀HFD-Rimo		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
Body weight	24.4	1.5	8	24.3	0.7	9	26.9	1.2	12 *	27.5	1.0	10
% of fat content	26.3	3.8	8	23.9	3.1	9	38.7	4.1	12 **	35.1	4.0	10

Table 3

	♀CD-veh			♀CD-Rimo			♀HFD-veh			♀HFD-Rimo		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
Time (s) Object 1	9.4	1.5	8	9.2	1.3	8	7.5	0.6	8	7.569	0.882	8
Time (s) Object 2	9.2	0.9	8	9.7	2.0	8	8.3	1.3	8	9.944	1.539	8
Total time (s) object exploration	18.6	1.9	8	18.8	2.6	8	15.8	1.7	8	17.513	2.159	8

Table 4

	♂CD			♂GFP			♂CAG-Cre dHPC			♂CAG-Cre vHPC		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
%exploration ratio (training)	51.2	2.3	13	46.9	3.0	10	50.8	3.1	9	49.6	4.7	6
Time (s) object to be changed	10.2	0.5	13	8.9	0.7	10	10.1	0.7	9	9.9	0.9	6
Time (s) object not to be changed	9.8	0.5	13	10.2	0.9	10	9.7	0.5	9	10.1	0.9	6
Time (s) to reach criterium (training)	348.5	40.2	13	366.2	39.6	10	327.3	58.8	9	314.0	57.5	7
Time (s) to reach criterium (test)	414.3	36.1	13	440.9	44.9	10	293.1	53.4	9	289.9	43.7	7

	♀CD			♀GFP			♀CAG-Cre dHPC			♀CAG-Cre ventral		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
%exploration ratio (training)	50.0	2.7	13	49.1	2.7	12	48.6	3.1	11	52.6	4.0	5
Time (s) object to be changed	10.0	0.5	13	9.8	0.5	12	9.8	0.6	11	10.5	0.8	5
Time (s) object not to be changed	10.0	0.5	13	10.2	0.6	12	10.4	0.6	11	9.5	0.8	5
Time (s) to reach criterium (training)	375.8	34.3	13	361.1	30.4	12	271.2**	34.1	11	271.6	33.7	5
Time (s) to reach criterium (test)	426.7	34.0	13	374.3	36.1	12	288.7	27.7	11	387.2	55.2	5

Table 5

	♂CD			♂GFP			♂CAG-Cre dHPC			♂CAG-Cre vHPC		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
Body weight	26.5	1.5	4	31.3*	1.3	9	37.1*	2.3	8	32.150*	1.671	12
% of fat content	14.4	2.2	8	31.3*	4.9	6	40.5***	5.2	7	37.955**	8.822	4

	♀CD			♀GFP			♀CAG-Cre dHPC			♀CAG-Cre vHPC		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
Body weight	22.1	0.9	11	23.0	1.2	9	24.9	1.2	8	22.445	1.247	11
% of fat content	12.2	0.9	6	30.4***	5.8	5	26.8**	4.5	8	27.4500.06	8.404	4

Table 6

	♂CD			♂GFP			♂CAG-Cre mPFC		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
%exploration ratio (training)	53.1	1.9	13	47.3	3.2	8	47.8	3.5	13
Time (s) object to be changed	10.6	0.4	13	9.5	0.7	8	9.6	0.7	13
Time (s) object not to be changed	9.4	0.4	13	10.6	0.7	8	10.4	0.7	13
Time (s) to reach criterium (training)	330.2	26.8	13	370.3	47.0	8	327.0	30.0	13
Time (s) to reach criterium (test)	328.8	35.2	13	389.1	51.1	8	406.7	27.5	13

	♀CD			♀GFP			♀CAG-Cre mPFC		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
%exploration ratio (training)	50.6	1.8	14	50.6	1.8	13	44.9	3.9	9
Time (s) object to be changed	9.6	0.6	14	10.2	0.4	13	9.4	0.7	9
Time (s) object not to be changed	10.4	0.6	14	9.8	0.4	13	10.6	0.7	9
Time (s) to reach criterium (training)	298.2	28.8	14	389.9	42.8	13	345.3	39.9	9
Time (s) to reach criterium (test)	374.7	22.6	13	425.3	32.8	13	413.2	41.7	9

Table 7

	♂CD			♂GFP			♂CAG-Cre PFC		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
Body weight	27.7	0.7	13	31.2*	1.4	10	31.3*	1.2	15
% of fat content	14.4	2.2	8	31.3***	3.5	10	22.8*	4.7	8

	♀CD			♀GFP			♀CAG-Cre PFC		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
Body weight	21.6	0.7	11	24.2	0.9	9	24.5	1.7	7
% of fat content	14.9	1.6	11	28.8*	3.3	9	33.4***	4.8	7

Table 8

	♂CD			♂mCherry			♂CamKII-Cre dHPC			♂Dlx-Cre dHPC		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
%exploration ratio (training)	45.6	2.3	10	48.8	3.4	12	49.7	2.3	11	50.229	2.406	9
Time (s) object to be changed	9.1	0.5	10	9.8	0.7	12	9.9	0.5	11	10.046	0.481	9
Time (s) object not to be changed	10.9	0.5	10	10.2	0.7	12	10.1	0.5	11	9.954	0.481	9
Time (s) to reach criterium (training)	337.5	37.8	10	379.0	33.3	13	342.0	40.7	11	410.222	51.708	9
Time (s) to reach criterium (test)	494.5	38.2	10	456.8	39.5	13	334.6**	36.0	11	394.556	41.275	9

	♀CD			♀mCherry			♀CamKII-Cre mPFC			♀Dlx-Cre mPFC		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
%exploration ratio (training)	44.1	2.7	12	48.2	3.3	7	60.5	3.1	7	54.489	3.375	8
Time (s) object to be changed	8.8	0.5	12	9.6	0.7	7	12.1	0.6	7	10.910	0.673	8
Time (s) object not to be changed	11.2	0.5	12	10.4	0.7	7	7.9	0.6	7	9.090	0.673	8
Time (s) to reach criterium (training)	399.3	27.8	12	423.1	39.6	7	440.1	59.3	7	460.625	37.095	8
Time (s) to reach criterium (test)	475.6	34.6	12	380.6	49.2	7	473.6	51.0	7	478.125	29.082	8

Table 9

	♀CD			♀OVX-GFP			♀OVX-Cre dorsal			♀OVX-Cre PFC		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
%exploration ratio (training)	49.4	2.3	8	53.5	2.6	12	46.9	1.4	9	42.866	7.291	5
Time (s) object to be changed	9.9	0.4	8	10.7	0.5	12	9.4	0.3	9	8.732	1.201	6
Time (s) object not to be changed	10.1	0.4	8	9.3	0.5	12	10.6	0.3	9	11.268	1.201	6
Time (s) to reach criterium (training)	349.8	46.0	8	395.1	38.4	12	388.0	39.9	9	347.333	45.316	6
Time (s) to reach criterium (test)	397.1	50.1	8	442.8	38.5	11	364.0	52.1	9	429.000	61.564	6

Table 10

	♀CD			♀OVX-GFP			♀OVX- cre dHPC			♀CAG-Cre PFC		
	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N	Mean	SEM	N
Body weight	21.1	0.3	9	23.6	1.1	11	28.7***	2.4	8	30.0***	1.296	6
% of fat content	11.4	1.3	9	23.2*	3.4	11	37.6****	6.1	8	42.0****	3.082	6

Discussion générale

1. Résumé des principaux résultats

L'objectif de cette thèse était de déterminer si les femelles présentent la même sensibilité que les mâles aux effets d'un régime obésogène, consommé à l'adolescence, sur la mémoire, afin de caractériser les mécanismes neurobiologiques à l'origine de ces différences ou similitudes.

Dans le premier volet des résultats, nous avons mis en évidence que la consommation d'un régime HLSado induit des déficits de mémoire de peur contextuelle (MPC) à long-terme chez les souris mâles, mais aucun déficit chez les femelles. De façon intéressante, ceci est associé à une plus forte activation c-Fos dans l'hippocampe dorsal (gyrus denté) chez les mâles HLS, mais pas chez les femelles, suggérant des différences neurobiologiques à l'origine des effets comportementaux différentiels du régime HLSado sur la mémoire entre les sexes. Enfin, l'implication causale de l'hippocampe dans les déficits de MPC des mâles HLS est confirmée par l'inactivation chémozogénétique (DREADD-Gi) des neurones principaux de l'hippocampe qui restaurent une bonne mémoire. Ces résultats suggèrent que le régime HLSado agit différemment sur l'hippocampe des mâles et des femelles avec pour conséquence les effets délétères sur la mémoire des mâles et/ou l'absence d'effet chez les femelles.

Dans le deuxième volet de cette thèse, nous révélons que la consommation d'un régime HLSado induit des déficits de la mémoire de reconnaissance d'objet (MRO) à long-terme chez les femelles et les mâles. Alors que chez l'apprentissage de la MRO induit chez les mâles HLS une plus forte activation c-Fos dans l'hippocampe (Biyong et al., 2021), celui-ci induit une moins forte activation c-Fos dans l'hippocampe dorsal et dans le cortex préfrontal ventromédian (CPFvm) chez les femelles HLS, suggérant là aussi des différences sexuelles dans les effets du régime HLS sur le recrutement des structures cérébrales impliquées dans la mémoire.

L'implication de la suractivité du système endocannabinoïde (eCB) dans les déficits de la MRO a été confirmée chez les deux sexes par le blocage générale des récepteurs CB1 (CB1R) juste après l'apprentissage qui améliore la MRO chez les mâles et les femelles HLS, et qui normalise les activations c-Fos du CPFvm, mais pas de l'hippocampe, des femelles HLS.

D'ailleurs la diminution des CB1R du CPFvm, mais pas de l'hippocampe (dorsal ou ventral), annule les déficits de MRO chez les souris femelles HLSado. À l'inverse, la diminution des

CB1R de l'hippocampe dorsal, mais pas du CPFvm, améliore la MRO à long-terme des mâles HLSado. De plus, ces effets impliquent spécifiquement les CB1R des neurones GABAergiques du CPFvm chez les femelles HLS et des neurones glutamatergiques de l'hippocampe chez les mâles HLS. Enfin, chez des femelles HLS ovariectomisées, la diminution des CB1R de l'hippocampe, mais pas du CPFvm, supprime les déficits de MRO (comme chez les mâles HLS). Ces résultats montrent que les déficits de MRO induits par le régime HLSado reposent sur une suractivité cérébrale du système eCB-CB1R impliquant des mécanismes d'action spécifiques à chaque sexe, reposant sur des structures cérébrales et des types neuronaux différents, et déterminés par les hormones sexuelles à la puberté.

Au travers de tâches de mémoire affectées de façon différente (MPC) ou similaire (MRO) par le régime HLSado chez les mâles et les femelles, nous montrons de fortes différences sexuelles sur les structures cérébrales impliquées, engageant fortement l'hippocampe chez les mâles mais pas chez les femelles. En outre celles-ci semblent préférentiellement solliciter les structures frontales.

Evènements	Mâles HLSado	Femelles HLSado	Femelles OVX HLSado
MPC			
test 24h	↘	0	
Fos hippocampe post-acquisition	+	0	
MRO			
test 24h	↘	0	?
test 48h	↘	↘	↘
Fos hippocampe post-acquisition	+	-	?
Fos CPF post-acquisition	?	-	?
Effet sur test MRO 48h			
CB1R antag systemic	↗	↗	?
↘ CB1R hippocampe	↗	↘	↗
↘ CB1R CPF	↘	↗	↘
↘CB1R glutamatergique	↗	↘	?
↘CB1R GABAergique	↘	↗	?

Tableau : Bilan récapitulatif des principaux résultats

↘ : perturbation de la mémoire ; ↗ : annulation des déficits de mémoire ; + : augmentation de l'expression ; - : moindre expression ; 0 : pas d'effet ; ? : non évalué

2. Différences entre les tâches de mémoire

Nos résultats suggèrent que chez la femelle, la consommation d'un régime HLSado a des effets différentiels en fonction du type de mémoire évalué puisqu'elle n'a pas d'effet sur la MPC alors qu'elle a des effets délétères sur la MRO.

Les deux tâches de MRO et de MPC évaluent la mémoire à long-terme et des études préliminaires ont montré que le régime HLS altère spécifiquement la mémoire à long-terme spatial, aversive ou de MRO sans en affecter l'acquisition ni la mémoire à court terme chez des rongeurs mâles (Boitard et al., 2014 ; Boitard et al., 2015 ; Naneix et al. 2021) suggérant un effet sur la consolidation mnésique. Ces deux tâches comportementales utilisent cependant différents temps de rétention mnésique, 24h pour la MPC et 48h pour la MRO, ce qui pourrait expliquer les effets différentiels du régime HLSado sur les différentes fonctions mnésiques chez les souris femelles. En effet, contrairement aux mâles, les femelles HLSado n'ont pas de déficit de MRO à 24h (résultats non montré) ce qui nous a conduit à tester les femelles à 48h. Ayant obtenu un déficit, nous avons également utilisé ce délai de 48h chez les mâles pour comparer les effets des différentes manipulations pharmacologiques et virales. Ainsi, les différences de performances de MRO et MPC des femelles HLSado pourraient dépendre du temps de rétention mnésique. De futures expériences évalueront la MPC des femelles en augmentant le délai de rétention à 48h ou 7 jours afin de voir si dans ces conditions, les femelles HLSado présenteraient un déficit de MPC similaire aux mâles.

Néanmoins, il est vraisemblable que la différence des effets du HLS entre ces deux tâches mnésiques puissent plutôt provenir de leurs caractéristiques que du délai de rétention. En effet, alors que la tâche de MRO est spontanée et non aversive, celle de MPC est associative et aversive. La délivrance du choc électrique constitue un événement stressant pour l'animal qui en général améliore la mise en mémoire (intensité, persistance, ...) et pourrait donc « compenser » un déficit apparent sur des mémoires incidentes et non aversives (MRO). En effet, ces deux tâches de mémoire (aversive vs non-aversive) sollicitent différemment l'axe du stress HPA, impliquant une forte libération de glucocorticoïdes dans le cas de la MPC à cause des chocs électriques (de Quervain et al., 2017). Des études au laboratoire portant sur des mâles HLS ont montré que les altérations mnésiques pouvaient impliquer une suractivation des glucocorticoïdes et que le blocage des récepteurs normalisait les performances (Boitard et al., 2015 ; Khazen et al., 2019). Tout ceci reste à évaluer chez les femelles HLS mais il est envisageable qu'un recrutement « plus optimal » de l'axe HPA chez les femelles, que chez les

mâles, puissent leur permettre d'apprendre normalement la MPC et donc de corriger un déficit mnésique révélé uniquement dans des conditions non stressantes.

Par ailleurs, bien que les souris femelles ne présentent pas de déficits de MPC à long-terme, elles pourraient présenter des déficits d'extinction de la MPC. En effet, nous avons mis en évidence dans le second volet des résultats des altérations du CPFvm, structure qui est fortement impliqué dans l'extinction de la mémoire de peur (Corcoran and Quirk, 2007; Orsini et al., 2011; Sotres-Bayon and Quirk, 2010). Le système eCB, altéré dans le CPFvm des femelles HLSado, est également fortement impliqué dans les processus d'extinction de la mémoire de peur (Marsicano et al., 2002). De façon intéressante, nous avons observé une baisse (non-significative) de l'activation c-Fos dans le CPF des femelles HLSado après le conditionnement de peur. Il est donc envisageable qu'au lieu de présenter des altérations d'apprentissage de la MPC, les femelles HLS puissent présenter des altérations d'extinction de la MPC. Il serait donc opportun de tester cette hypothèse en évaluant l'extinction de la MPC chez ces souris et en mesurant l'activation du CPF suite à l'extinction.

3. Les femelles sont-elles protégées des effets du régime obésogène sur l'hippocampe ?

Ces travaux de thèse mettent en évidence que les bonnes performances de MPC des femelles HLSado sont liées à l'activation normale de l'hippocampe observée après le conditionnement, suggérant une absence d'altération des fonctions hippocampiques chez les souris femelles HLSado par rapport aux mâles. Ceci est en accord avec une étude précédente indiquant que la consommation prolongée d'un régime obésogène n'affecte pas la plasticité synaptique hippocampique ainsi que la MPC chez les femelles, contrairement aux mâles (Hwang et al., 2010). Dans la MRO, on remarque une moindre activation de l'hippocampe dorsal associée aux déficits de mémoire à long-terme chez les femelles HLSado, suggérant un impact du régime HLSado sur l'hippocampe des femelles. Néanmoins, nous ne révélons pas d'altération du système eCB hippocampique puisque le blocage des CB1R, qui améliore la MRO, ne normalise pas la moindre activation c-Fos dans l'hippocampe et la diminution des CB1R de l'hippocampe (dorsal ou ventral) ne prévient pas les déficits de MRO à long-terme des femelles HLSado, contrairement aux mâles. Ces différences mâle/femelle pourraient être dues à une faible implication de l'hippocampe dans la mémoire chez les femelles et/ou une sensibilité moindre de l'hippocampe des femelles aux effets du régime HLS.

a) Moindre implication de l'hippocampe dans la mémoire des souris femelles

Certaines études suggèrent que les femelles adultes solliciteraient moins l'hippocampe que les mâles. Lors de tâches de mémoire spatiales, les femelles utiliseraient davantage de stratégies de navigation non dépendantes de l'hippocampe (pour revue : Torromino et al., 2021) et il y aurait une plus forte activation c-Fos dans l'hippocampe des mâles après différents types d'apprentissage (Torromino et al., 2022; Fleischer et Frick, 2023). De façon similaire, nous avons mis en évidence une plus forte activation de l'hippocampe chez les mâles que chez les femelles, quel que soit le régime, après le conditionnement de peur, suggérant des différences mâle/femelle de recrutement de l'hippocampe à la suite d'un apprentissage. Dans le cas d'une moindre implication de l'hippocampe dans la MPC chez la femelle, les potentielles altérations hippocampiques induites par le régime HLSado n'auraient pas d'effet sur la MPC, qui serait maintenue grâce à d'autres structures extra-hippocampiques moins affectées par le régime HLS que l'hippocampe. En effet, des études ont suggéré que dans certaines conditions, le conditionnement de peur contextuel pourrait être assuré par l'amygdale sans requérir l'hippocampe (Cho et al., 1999; Frankland et al., 1998; Maren et al., 1997). Afin de vérifier que l'hippocampe n'appartient pas au réseau impliqué dans la MPC chez les femelles, il serait intéressant d'évaluer l'effet de la manipulation chémogénétique (inhibitrice et/ou excitatrice) de l'hippocampe sur leurs performances de MPC. Par ailleurs, si le freezing est un comportement classiquement utilisé pour évaluer la MPC (Fanselow, 1980), d'autres réponses comportementales sont également observables (Metna-Laurent et al., 2012) et des différences mâle/femelle ont déjà été rapportées chez des animaux contrôles. En effet, par rapport aux mâles, les femelles utiliseraient préférentiellement une stratégie de réponse active plutôt que passive (Gruene et al., 2015; Mitchell et al., 2022). Ainsi, il serait intéressant d'évaluer ces autres comportements sur les souris HLS afin de s'assurer que nos différences de freezing entre mâles et femelles HLSado traduisent bien une différence de mémoire de peur, et non des différences de stratégie comportementale entre les sexes.

Par ailleurs, l'absence d'implication du système eCB hippocampique dans les déficits de MRO des femelles HLSado, suggère là aussi que l'hippocampe pourrait ne pas être impliqué dans la MRO à long-terme, contrairement aux mâles. Afin de répondre à cela, il faudrait évaluer chez des femelles HLSado l'effet de la manipulation chémogénétique (inhibitrice et/ou excitatrice) de l'hippocampe dorsal sur leurs performances de MRO. Chez les souris sous régime standard, le système eCB hippocampique pourrait également réguler différenciellement la MRO à long-terme selon le sexe. En effet, bien que le rôle des CB1R des neurones de l'hippocampe dans la MRO à long-terme est établi chez des souris mâles contrôles (Oliveira da Cruz et al., 2020),

cela n'a à notre connaissance jamais été étudié chez la femelle. Un dimorphisme sexuel pour certains composants du système eCB (CB1R, eCBs, enzymes) a d'ailleurs été rapporté chez les rongeurs dans l'hippocampe (Ferraro et al., 2020; Liu et al., 2020; Llorente-Berzal et al., 2013; Mateos et al., 2011; Reich et al., 2009a) et il serait donc intéressant d'évaluer l'effet de la diminution génétique des CB1R de l'hippocampe sur la MRO à long-terme de souris femelles sous régime standard.

b) Différences mâle/femelle de sensibilité de l'hippocampe au régime obésogène

Les moindres altérations hippocampiques des souris femelles qui leur permettraient d'assurer le maintien de leurs capacités de mémorisation à long-terme, dans la MPC et la MRO à 24h, pourraient être dues à une moindre action du régime HLS sur l'hippocampe des femelles par rapport aux mâles.

Cette potentielle différence de sensibilité de l'hippocampe au régime obésogène selon le sexe se retrouve au *niveau cellulaire*. Ainsi on remarque une plus faible induction de la neuro-inflammation hippocampique chez des rats femelles par rapport aux mâles (Abi-Ghanem et al., 2023) une absence de perturbation de la plasticité synaptique hippocampique contrairement aux mâles (Hwang et al., 2010) et des analyses transcriptionnelles détaillées ont mis en évidence des différences mâle/femelle de modification d'expression de certains gènes impliqués dans les fonctions synaptiques suite à la consommation d'un régime HLS (Murtaj et al., 2022). Une exposition prolongée à un régime HLS n'altère pas la fonctionnalité des CB1R dans l'hippocampe des femelles (Rojo et al., 2013), contrairement aux mâles (Massa et al., 2010). Toutefois, les données cellulaires et moléculaires manquent chez la femelle et d'autres études comparatives sont nécessaires afin de mieux caractériser les effets du régime HLSado sur l'hippocampe des femelles et des mâles.

La moindre sensibilité de l'hippocampe des femelles au régime obésogène est également suggéré par des éléments du régime obésogène, comme la *composition et la durée d'exposition*, qui semblent conditionner l'apparition d'altérations hippocampiques chez les femelles. En effet, les études ayant réussi à induire des altérations des fonctions hippocampiques chez les femelles ont généralement utilisé un régime plus drastique (60% des kcal issus des lipides) et/ou une plus longue durée d'exposition (20 semaines ; (Braga et al., 2021; Garcia-Serrano et al., 2022; Klein et al., 2016; Mantor et al., 2018; Underwood and Thompson, 2016) que celle utilisée ici (45% des kcal issus des lipides pendant 12 semaines). Un régime obésogène plus drastique ou une exposition prolongée vont accroître les effets métaboliques (Garcia-Serrano

et al., 2022), plus faible chez la femelle que le mâle, ce qui pourrait à terme vulnérabiliser l'hippocampe des femelles aux effets du régime obésogène.

Les travaux de notre équipe, et de nombreuses autres équipes, ont mis en évidence la vulnérabilité de l'hippocampe aux effets d'un régime obésogène consommé à *l'adolescence* par rapport à l'âge adulte (Boitard et al., 2014, 2012; pour revue : Noble and Kanoski, 2016). Cette vulnérabilité s'explique par la maturation tardive de l'hippocampe, qui perdure pendant l'enfance et l'adolescence. Or on sait qu'une même stimulation aura des effets plus importants sur des systèmes immatures que sur des systèmes matures (Andersen, 2003). La quasi-totalité des études à ce sujet ont été menées chez des rongeurs mâles. Or, à l'adolescence, les femelles ont une puberté avancée par rapport aux mâles (pour revue : Schneider, 2013). Il est donc envisageable que l'hippocampe des femelles soit mature plus tôt que celui des mâles (pour revue : Koss and Frick, 2017), le rendant ainsi moins vulnérable que celui des mâles aux effets de la consommation d'un régime obésogène.

Une étude récente a montré que des altérations *hypothalamiques*, impliquant la prégnénolone au niveau du noyau arqué, participeraient aux déficits de MRO et de plasticité hippocampique chez des souris mâles sous régime HLS (Ramirez et al., 2022). Etant donnée l'important dimorphisme sexuel dans les effets des régimes HLS sur l'hypothalamus, les œstrogènes ayant des effets protecteurs chez les femelles (pour revue : Morselli et al., 2016), l'étroite connectivité entre l'hypothalamus et l'hippocampe (voir chapitre III.A.a) pourrait influencer le fonctionnement hippocampique de façon totalement différente chez les mâles et les femelles. Ceci reste à investiguer.

4. Vulnérabilité du cortex préfrontal aux effets du régime obésogène

Ces travaux de thèse mettent également en évidence des dysfonctionnements du CPF suite au régime HLSado, et notamment des altérations d'activation neuronale et d'activité du système eCB. Le CPF subit d'importants remaniements pendant l'adolescence et sa maturation est la plus tardive du cerveau (Arain et al., 2013) et pourrait donc être très vulnérable à la consommation d'un régime obésogène pendant cette période. D'ailleurs on note de plus fortes altérations du CPF chez des rongeurs soumis à un régime HLS à l'adolescence plutôt qu'à l'âge adulte (Reichelt et al., 2019, 2015). Plus généralement, de nombreuses études ont rapporté des dysfonctionnements du CPF suggérant que cette structure est particulièrement sensible aux effets délétères d'une exposition prolongée à un régime HLS (Xia et al., 2015; Liu et al., 2014;

Camer et al., 2015; Kanoski et al., 2007; Labouesse et al., 2017; Lizarbe et al., 2019; Reichelt et al., 2020; Yoon et al., 2019 ; Dingess et al., 2018 ; Freeman et al., 2013). Nos travaux ont également permis de préciser, en accord avec une autre étude (Reichelt et al., 2019), des dysfonctionnements spécifiques de la partie ventromédiane du CPF chez des animaux HLS.

Par ailleurs, en condition normale, le neurodéveloppement se caractérise par une augmentation des interneurons et de l'inhibition GABAergique au niveau cortical et le système eCB régule la migration et la maturation des interneurons pendant l'adolescence dans des régions cérébrales comme le CPF (pour revue : Harkany et al., 2007). Après exposition à un régime obésogène pendant l'adolescence, certaines études montrent notamment une réduction des interneurons GABAergiques dans le CPF (Reichelt et al., 2019, 2015) et des altérations de l'activité de plusieurs composants du système eCB (CB1R, eCBs, enzymes) dans le CPF (Bourdy et al., 2021; Harrold et al., 2002; Rojo et al., 2013). Nos travaux indiquent que l'hyperactivité du système eCB-CB1R des interneurons du CPF serait à l'origine des altérations de MRO à long-terme des femelles HLSado suggérant là encore la présence de défauts de maturation des interneurons inhibiteurs dans le CPF des femelles suite au régime obésogène consommé à l'adolescence. Il serait intéressant d'évaluer la contribution des différents interneurons GABAergique du CPF, en particulier ceux exprimant fortement le CB1R (interneurons à CCK), dans les déficits de MRO induit par le régime HLSado.

De façon intéressante, il semble exister des différences mâle/femelle dans les trajectoires de maturation du CPF (Markham et al., 2013, 2007; Willing and Juraska, 2015) et dans les trajectoires de maturation du système eCB du CPF (Bernabeu et al., 2023; Borsoi et al., 2019). Ceci pourrait expliquer pourquoi les effets d'une exposition aux cannabinoïdes pendant l'adolescence diffèrent selon le sexe chez l'Homme (Lubman et al., 2015; Schepis et al., 2011; Stinson et al., 2006) et chez l'animal (Bara et al., 2018; Cha et al., 2007; Harte and Dow-Edwards, 2010; Rubino et al., 2008), en particulier concernant les fonctions préfrontales (pour revue : Ginder et al., 2022). Hommes et femmes ne sont pas égaux face à l'apparition de nombreuses maladies neuropsychiatriques (Riecher-Rössler, 2017) souvent associées à des dysfonctionnements des régions préfrontales (Goto et al., 2010). Les femmes ont par exemple deux à trois fois plus de chance de développer des troubles dépressifs, avec une plus forte sévérité des symptômes (Kuehner, 2003). Chez les rongeurs, les femelles semblent plus vulnérables aux effets du stress sur le CPF (Bowman et al., 2003; Xing et al., 2013). Ce dimorphisme sexuel pourrait donc expliquer la plus forte vulnérabilité des femelles aux effets délétères du régime HLSado sur les fonctions frontales. Néanmoins, il serait intéressant de le montrer en comparant entre mâle et femelle, l'expression ou l'activité de certains composants

du système eCB (CB1R et enzymes) à différents moments de l'adolescence (avant et après puberté par exemple) et à l'âge adulte, dans le CPF.

5. Dimorphisme sexuel dans les effets neuronaux du régime obésogène ?

Nos résultats suggèrent également des différences mâle/femelle dans la nature cellulaire des altérations neurobiologiques à l'origine des altérations mnésiques induites par le régime HLSado. En effet, nos résultats indiquent que les femelles HLSado présentent une moindre activation Fos du CPFvm et de l'hippocampe (par rapport aux femelles contrôles) après un apprentissage de MRO, alors qu'à l'inverse des résultats précédents de l'équipe indiquent que les mâles HLSado présentent une activation Fos plus forte de l'hippocampe et du cortex périrhinal (par rapport aux mâles contrôles) après un apprentissage similaire (Biyong et al., 2021). Ces changements d'activation Fos sont normalisés par le blocage des CB1R spécifiquement dans le CPFvm chez les femelles (nos résultats) et dans l'hippocampe chez les mâles HLS (Janthakhin et al., en préparation) impliquant donc une suractivité eCB-CB1R dans ces effets. Ces changements d'activation neuronale suite à un apprentissage sont opposés chez les mâles HLS (plus forte activation par rapport aux contrôles) et les femelles HLS (plus faible activation par rapport aux contrôles) suggérant des effets sur différents types neuronaux selon le sexe. Nous avons d'ailleurs mis en évidence, au travers de la manipulation des CB1R, des effets du régime HLS spécifiquement sur les neurones glutamatergiques (de l'hippocampe dorsal) chez les mâles et les neurones GABAergiques (du CPFvm) chez les femelles.

Cependant ces données d'activations neuronales Fos et de manipulation des CB1R sur types neuronales spécifiques ne sont pas si simples à concilier. En effet, si nous prenons l'exemple de l'hippocampe des mâles HLS, les résultats concernant les CB1R suggèrent que la suractivité du système eCB engendre une plus forte stimulation des CB1R des neurones glutamatergiques qui, selon le mode d'action canonique des CB1R, engendre une diminution de la libération de glutamate. La protéine Fos étant un marqueur d'activité neuronal, essentiellement exprimé par les cellules glutamatergiques au niveau cortical (pour revue : Flavell and Greenberg, 2008), on s'attendrait donc à avoir une plus faible expression de Fos chez les mâles HLSado suite à l'apprentissage de la MRO. Or cet apprentissage induit une plus forte activation Fos dans l'hippocampe des mâles HLS, normalisée par le blocage des CB1R. De même, dans les CPFvm des femelles HLS, la suractivité du système eCB engendre une plus forte stimulation des CB1R des neurones GABAergiques qui, selon le mode d'action canonique des CB1R, engendre une diminution de la libération de GABA et donc une désinhibition des neurones glutamatergiques,

ce qui devrait aboutir à une plus forte expression de Fos. Or cet apprentissage induit une plus faible activation Fos dans le CPFvm des femelles HLS, normalisée par le blocage des CB1R. Si nos résultats n'indiquent aucun effet sexe ni régime sur le niveau d'expression globale des CB1R dans l'hippocampe et le CPFvm (données non présentées), il est maintenant indispensable d'évaluer précisément la distribution des CB1R sur les différents types neuronaux dans ces différentes structures (par double hybridation *in situ* ; voir (Di Franco et al., 2022) mais également l'impact de l'activation des CB1R sur la transmission excitatrice et inhibitrice (par électrophysiologie *ex vivo*; voir Navarro-Romero et al., 2019) ou encore sur la signalisation de la protéine G (par binding GTP γ ; voir Steindel et al., 2013) en fonction du sexe et du régime. Ceci pourrait aider à mieux comprendre ces résultats contradictoires.

Pour aller plus loin, il faudrait également obtenir plus d'informations sur les effets du régime HLSado sur la libération des neurotransmetteurs et les voies de signalisation recrutées dans ces structures en fonction du sexe. Certaines études ont trouvé chez le mâle, suite à la consommation d'un régime HLS, une altération de la neurotransmission glutamatergique dans l'hippocampe (Martínez-Orozco et al., 2022; Ribeiro et al., 2023; Valladolid-Acebes et al., 2013) ainsi qu'une diminution de la neurotransmission GABAergique dans l'hippocampe et le CPF (Sandoval-Salazar et al., 2016). Afin de mieux comprendre ces différences entre mâles et femelles HLSado, il serait opportun de mesurer les niveaux de glutamate et de GABA dans l'hippocampe et le CPF après apprentissage (MRO ou MPC).

Par ailleurs, chez des souris mâles HLSado, l'équipe a mis en évidence une activation plus forte de la voie de signalisation mTOR, mais pas celle de ERK1/2, dans l'hippocampe après l'apprentissage de MRO qui est normalisée par un blocage des CB1R, suggérant que la suractivation des CB1R entraîne une suractivation spécifique de la voie mTOR dans l'hippocampe des mâles HLSado (Janthakhin et al., en préparation). Ceci n'ayant jamais été évalué chez les femelles, on peut se demander quelle voie de signalisation est recrutée par l'activation des CB1R dans le CPFvm des femelles HLSado suite à l'apprentissage de la MRO. Des différences d'implication de ces voies de signalisation dépendantes du CB1R pourraient participer aux différences sexuelles d'implication des CB1R (pour revue : Frick et al., 2015).

6. Rôle des hormones dans les effets différentiels entre mâles et femelles

Dans la deuxième partie des travaux de cette thèse, nous montrons que les hormones gonadiques jouent un rôle clé dans l'implication différentielle du système eCB-CB1R de l'hippocampe et du CPF dans les déficits de MRO des mâles et des femelles sous régime HLSado. Les principaux candidats restent les œstrogènes dont l'implication dans ces différences mâle/femelle pourrait se voir à différents niveaux : comportemental, structures cérébrales et neuromodulation (système eCB).

a) Effet protecteur des œstrogènes sur la mémoire des femelles

Les œstrogènes sont connus pour leurs effets bénéfiques sur les fonctions mnésiques (voir chapitre III.A.6.c) et ils sont également connus pour leur rôle neuroprotecteur dans le cadre du déclin cognitif lié à l'âge, l'ischémie cérébrale ou encore dans les maladies neurodégénératives (Brann et al., 2007). Chez des souris femelles, les performances de mémoire spatiale et de MRO sont améliorées en proestrus (pic d'œstrogènes ; Frick and Berger-Sweeney, 2001) et suite à l'administration d'œstrogènes chez des rates ovariectomisées (Liu et al., 2004). En plus des mémoires non-aversives, les œstrogènes modulent également les mémoires aversives comme la MPC (pour revue : Fleischer and Frick, 2023). Par ailleurs, des effets protecteurs des œstrogènes sur la mémoire ont déjà été rapportés chez des animaux exposés à un régime hypercalorique. Une étude récente montre qu'un régime HLS altère la MRO à long-terme (24h) de femelles ovariectomisées, mais pas de femelles normales (Chavez-Gutiérrez et al., 2022), suggérant que les œstrogènes seraient protecteurs. De plus, les effets sur la mémoire de la surconsommation du sucrose pendant l'adolescence dépendent du stade du cycle menstruel des souris testées. En effet, les femelles exposées au sucrose en metestrus (faibles œstrogènes) présentent des déficits de mémoire spatiale, mais pas celles en proestrus (pic d'œstrogènes), suggérant que les œstrogènes permettraient de résister aux effets néfastes d'un tel régime alimentaire à l'adolescence (Abbott et al., 2016). Il serait intéressant d'identifier le stade du cycle menstruel dans lequel se trouve les souris HLSado au moment de l'apprentissage et du test de MPC ou de MRO, afin de voir si les femelles en proestrus ont de meilleures performances que les femelles en metestrus. Ces données suggèrent que les œstrogènes endogènes pourraient améliorer les performances de mémoire des femelles HLSado, les rendant moins vulnérables que les mâles aux effets délétères du régime HLS. Ceci pourrait impliquer un effet protecteur des fonctions hippocampiques.

Les œstrogènes pourraient également participer aux effets délétères du régime HLS sur les fonctions mnésiques puisque l'obésité induite par un régime HLS provoque des défauts de cycle

menstruel chez les femelles ainsi que des altérations des niveaux d'hormones sexuelles et d'enzymes impliquées dans la stéroïdogenèse (Hohos et al., 2018; Lai et al., 2014; Long et al., 2021). Il serait donc intéressant de mesurer les niveaux d'œstrogènes circulants et l'expression des récepteurs aux œstrogènes dans l'hippocampe et le CPF des femelles à différents temps d'exposition au régime et de les mettre en relation avec leur performance mnésique, afin de mieux caractériser l'effet du régime HLSado sur les œstrogènes.

b) Effet protecteur des œstrogènes sur les fonctions hippocampiques et préfrontales

Les œstrogènes pourraient être impliqués dans des différences physiologiques mâle/femelle d'implication des structures cérébrales ou de stratégies utilisées chez des animaux contrôles. En effet, en fonction de la phase du cycle et du statut hormonal, les femelles privilégient une stratégie cognitive engageant préférentiellement une structure cérébrale pour remplir une même tâche mnésique (pour revue : Fleischer and Frick, 2023). Ainsi, dans notre modèle, les œstrogènes pourraient être à l'origine de différences mâle/femelle de recrutement des structures cérébrales et pourraient notamment privilégier l'implication du CPF à la place de l'hippocampe dans la MRO et/ou la MPC chez les femelles. Ceci expliquerait alors pourquoi chez les femelles HLSado, l'ovariectomie provoque un changement d'implication du système eCB de l'hippocampe et du CPF dans la MRO.

Les œstrogènes pourraient prévenir et/ou atténuer les effets délétères du régime HLSado sur l'hippocampe chez les femelles par rapport aux mâles. En effet, les œstrogènes ont des actions neurotrophiques, en particulier dans l'hippocampe (Wise et al., 2001), ils augmentent la plasticité synaptique et la densité des épines dendritiques des neurones de l'hippocampe chez le rongeur (Scharfman et al., 2007; Warren et al., 1995; Woolley and McEwen, 1993). De façon intéressante, les œstrogènes sont connus pour leur implication dans le neurodéveloppement de l'hippocampe et dans la corticogénèse du CPF via la régulation fine de la machinerie cellulaire (pour revue : Denley et al., 2018). Des analyses transcriptomiques ont d'ailleurs révélé qu'au niveau cortical, l'estradiol modifie l'expression de nombreux gènes impliqués dans l'activité synaptique, la myélinisation, le métabolisme, la neurotransmission et la signalisation des kinases chez des souris femelles (Humphreys et al., 2014).

Aux vues des effets particulièrement délétères d'une exposition précoce au régime HLS sur l'hippocampe et le CPF au cours de leur maturation, les œstrogènes pourraient donc être impliqués dans des différences mâle/femelle d'atteintes des fonctions cérébrales suite à l'exposition au régime HLSado. Nos résultats suggèrent en effet de moindres altérations hippocampiques chez les femelles par rapport aux mâles, se traduisant par de bonnes

performances de MPC et une absence d'implication du système eCB de l'hippocampe dans les déficits de MRO chez les femelles. De façon intéressante, chez des souris mâles et femelles sous régime standard, l'estradiol module la plasticité synaptique hippocampique et la MPC (Lu et al., 2019). Bien que les œstrogènes soient également présents et influents chez les mâles, des différences de statut oestrogénique entre les sexes notamment dues à la production hormonale ovarienne, suggèrent que les œstrogènes pourraient être impliqués dans les différences mâle/femelle d'altérations de la MPC et des activations cérébrales et hippocampiques. Nos résultats préliminaires (non montrés) indiquent que les femelles HLSado ovariectomisées conservent de bonnes performances de MPC à long-terme, au même niveau que les femelles contrôles et HLSado non-ovariectomisées. Ces résultats rejettent l'hypothèse de l'implication des œstrogènes dans la protection de la MPC chez les femelles HLS. Toutefois, il serait intéressant de caractériser chez les femelles (ovariectomisées ou non), les effets du régime HLSado sur des marqueurs de la plasticité neuronale hippocampique et préfrontale, afin de mieux déterminer le rôle des œstrogènes dans les effets du régime HLSado. D'après plusieurs études, l'inflammation dans l'hippocampe induite par l'exposition à un régime HLS participe aux effets délétères d'un tel régime sur la mémoire (voir chapitre IV.B.d). Or comme le suggère une récente étude (Abi-Ghanem et al., 2023), les femelles présenteraient une plus faible inflammation dans l'hippocampe, par rapport aux mâles, en réponse au régime HLS, conduisant à une protection des fonctions hippocampique chez les femelles. De façon intéressante, les œstrogènes pourraient être impliqués dans ces différences mâle/femelle puisque les stéroïdes sexuels comme les œstrogènes sont de puissants régulateurs de la réponse neuro-inflammatoire, leurs effets anti-inflammatoires ayant notamment été mis en évidence dans le cadre de nombreuses atteintes neurologiques (pour revue : Yilmaz et al., 2019).

c) Interaction entre les œstrogènes et le système eCB

Les hormones gonadiques et en particulier les œstrogènes sont capables de moduler l'activité du système eCB dans l'organisme, en particulier au niveau cérébral, en agissant sur ses différents composants (CB1R, eCB, enzymes) (Proto et al., 2012; Waleh et al., 2002; voir chapitre 3.A.6.d). Différents niveaux d'hormones entre mâles et femelles ou bien des changements de ces niveaux suite à une ovariectomie peuvent ainsi influencer la signalisation des eCBs dans certaines structures cérébrales. En effet, des différences entre mâles et femelles ont été mises en évidence concernant l'activité du système eCB impliquant les œstrogènes (Huang & Woolley, 2012 ; Tabatadze et al., 2015). L'administration d'estradiol diminue l'activité des neurones GABAergiques de l'hippocampe spécifiquement chez les femelles, en

augmentant la libération post-synaptique d'anandamide (Tabatadze et al., 2015). Par ailleurs, l'ovariectomie augmente la densité des CB1R dans le CPF des rates femelles au même niveau que les mâles (Castelli et al., 2014). Il reste à comprendre si de tels effets des œstrogènes permettraient d'expliquer l'absence d'implication du système eCB de l'hippocampe des femelles HLSado dans leurs déficits de MRO.

Bien que nous n'ayons pas mis en évidence un dimorphisme sexuel du système eCB (expression des enzymes de synthèse et dégradation et densité des CB1R) dans l'hippocampe et le CPF dans ces travaux de thèse (données non présentées), il reste à évaluer l'effet de l'ovariectomie sur ces paramètres. De plus, il faudrait enrichir cette comparaison en évaluant l'activité du système eCB au travers de la libération des eCBs, l'activité de liaison des CB1R ou encore la signalisation puisque la présence d'un dimorphisme sexuel a été observée dans certaines études (Liu et al., 2020; Llorente-Berzal et al., 2013; Mateos et al., 2011; Reich et al., 2009). Par ailleurs, notre laboratoire a également démontré chez les mâles l'implication des glucocorticoïdes dans les altérations de mémoires induites par le régime HLSado (Boitard et al., 2015; Khazen et al., 2019). Ceux-ci exerceraient leurs effets néfastes en altérant l'activité du système eCB chez les mâles HLSado (Janthakhin et al., en préparation). De façon intéressante, l'axe corticotrope est sexuellement dimorphique (pour revue : Moisan, 2021), et les œstrogènes régulent l'action des glucocorticoïdes. Ainsi, chez les femelles, les œstrogènes pourraient prévenir les altérations des glucocorticoïdes dans l'hippocampe lors de l'apprentissage de MRO, ce qui expliquerait l'absence d'altération du système eCB de l'hippocampe chez les femelles HLSado et pourraient également permettre aux femelles de conserver de bonnes performances de MPC. Il serait donc intéressant d'étudier l'implication des glucocorticoïdes chez les femelles comme cela a été réalisé chez le mâle.

d) Implication d'autres hormones dans les effets du régime obésogène sur la mémoire

Les ovaires produisent d'autres hormones sexuelles que les œstrogènes, notamment la progestérone. Or l'allopregnanolone, métabolite neuroactif de la progestérone peut réguler les fonctions mnésiques (pour revue : Guennoun, 2020). En particulier, l'injection intra-hippocampique d'allopregnanolone altère la MRO et la MPC à long-terme de souris (Rabinowitz et al., 2014), ce qui serait dû à son action inhibitrice sur les neurones de l'hippocampe dorsal via l'activation du récepteur GABA.

Par ailleurs, la prégnénolone, précurseur de la progestérone, est un agoniste des CB1R qui modifie leur activité, notamment en cas d'exposition au THC (Vallée et al., 2014). De plus, la prégnénolone dans l'hypothalamus est impliquée dans les déficits de MRO induits par une

courte exposition à un régime HLS (Ramirez et al., 2022). Ainsi, la prégénolone est un bon candidat pour expliquer l'effet de l'ovariectomie sur l'implication des CB1R de l'hippocampe chez les femelles. Dans un premier temps, afin de tester l'implication spécifique des œstrogènes, il faudrait vérifier que l'ovariectomie accompagnée d'administration d'œstradiol ne permet pas cette récupération suite à la délétion des CB1R de l'hippocampe.

Étant donné que les hormones sexuelles agissent sur de nombreux tissus de l'organisme, une baisse de leurs niveaux, en particulier à la suite d'une ovariectomie a de nombreux effets sur l'organisme. Ainsi, les hormones sexuelles pourraient être impliqués de façon indirecte via des effets au niveau périphérique. Il existe d'importantes différences sexuelles dans l'homéostasie métabolique, le diabète et l'obésité (pour revue : Mauvais-Jarvis, 2015; Karastergiou et al., 2012) et les femelles sont moins sensibles que les mâles au développement de certains troubles métaboliques suite à la consommation d'un régime obésogène (voir chapitre I.A.4). Nos travaux ont notamment montré que les femelles HLSado ne développent pas de surpoids, contrairement aux mâles (elles présentent tout de même une accumulation de tissu adipeux et une hyperglycémie à jeun). Il apparaît que les hormones sexuelles, en particulier les œstrogènes, sont impliqués dans la résistance à l'obésité induite par le régime alimentaire chez les femelles (Coyoy-Salgado et al., 2020; Dakin et al., 2015; Gao et al., 2007; Heine et al., 2000; Riant et al., 2009). Par exemple, l'ovariectomie engendre l'apparition de désordres métaboliques, prévenus par une supplémentation en œstrogènes (Stubbins et al., 2012).

Toutefois, les altérations cognitives et mnésiques induites par les régimes HLS peuvent apparaître sans conséquences métaboliques de l'obésité puisque chez des rongeurs mâles ou femelles, une courte exposition à un régime HLS (entre 3 à 9 jours) suffit à altérer la mémoire sans induire de surpoids ou d'insulinorésistance (Khazen et al., 2023, 2019; Muscat et al., 2023; Reichelt et al., 2020; Spencer et al., 2017). Malgré cela, certaines altérations métaboliques associées à l'obésité sont des facteurs aggravants dans les effets délétères des régimes HLS sur la mémoire. Aux vues du rôle neuromodulateur de plusieurs hormones métaboliques comme l'insuline ou la leptine (Moult and Harvey, 2008), notamment au niveau hippocampique ou préfrontal, des différences mâle/femelles dans les niveaux de ces hormones en condition HLSado pourraient expliquer des différences neurobiologiques (structures cérébrales, types cellulaires, voies de signalisation) à l'origine des altérations mnésiques chez les deux sexes. Ainsi, ne pouvant pas exclure cela chez nos animaux mâles et femelles HLSado, il serait intéressant de prendre en compte ces paramètres métaboliques.

CONCLUSIONS/PERSPECTIVES

La quasi-totalité des études précliniques qui ont évalué les effets des régimes obésogène sur la cognition et la mémoire ont utilisé des rongeurs mâles. À défaut, très peu d'étude ont étudié ces effets chez des femelles, et encore moins ciblant la période de l'adolescence. Grâce à ces travaux de thèse, nous avons mis en évidence une moins forte vulnérabilité des souris femelles aux effets délétères de la consommation d'un régime obésogène à l'adolescence sur les fonctions mnésiques. Par ailleurs, nous révélons l'existence d'importantes différences sexuelles puisque ce régime alimentaire n'altère pas les mêmes structures cérébrales ni les mêmes types neuronaux chez les mâles et chez les femelles. D'autres études comparatives sont nécessaires pour mieux comprendre et évaluer l'influence du sexe dans les effets des régimes obésogènes sur les fonctions cognitives. De plus, nos travaux montrent la nécessité de caractériser et d'évaluer le degré d'implication des hormones sexuelles dans les effets des régimes obésogène sur la mémoire, en tant que véritables systèmes neuromodulateurs. Par ailleurs, ils mettent en lumière des dissensus scientifiques encore présents aujourd'hui concernant l'existence d'un cerveau féminin et masculin. Étant donné que l'obésité et le surpoids infantile touche autant les filles que les garçons, nos résultats démontrent la nécessité d'inclure les deux sexes dans les études et de ne pas seulement généraliser les résultats obtenus chez le sujet masculin.

Par ailleurs, les précédents travaux du laboratoire et de la littérature s'étant principalement focalisés sur l'hippocampe, ces nouveaux travaux permettent d'élargir l'investigation des effets des régimes obésogènes à d'autres systèmes cognitifs comme le cortex préfrontal. Ainsi, il nous paraît opportun d'élargir l'investigation des effets de l'obésité et des régimes obésogènes sur les fonctions cognitives dépendantes du cortex frontal (mémoire de travail, mémoire épisodique, prise de décision, inhibition comportementale, extinction ...) chez les mâles et les femelles, dont on sait qu'elles se mettent en place à l'adolescence (Spear, 2013). Ceci nous permettrait d'avoir une meilleure vue d'ensemble des effets des régimes obésogènes consommés pendant l'adolescence sur la cognition. Par ailleurs, ceci permettrait de mieux comprendre le rôle joué par l'environnement obésogène précoce dans l'apparition de certaines pathologies neuropsychiatriques au travers d'altération de maturation des régions frontales à l'adolescence.

Laboratoire d'accueil et collaborations

Cette thèse a été effectuée au laboratoire « Nutrition et Neurobiologie Intégrée » (NutriNeuroO, INRA UMR 1286 - Université de Bordeaux) dirigé par Lucile Capuron, dans l'équipe « Food Circus : Mécanismes de sensibilité des circuits neuronaux au statut nutritionnel » dirigée par le Dr. Guillaume Ferreira et le Dr. Pierre Trifilieff. Ce travail a été conduit sous l'encadrement du Dr. Guillaume Ferreira et du Dr. Pauline Lafenêtre.

université
de **BORDEAUX**



INRAE

Ces travaux ont été financés par une bourse de thèse en provenance de l'Observatoire B2V des Mémoires de octobre 2020 à octobre 2023. Cette thèse a également bénéficié du soutien financier de plusieurs ANRs (HIPPOBESE, OBETEEN, ORUPS, HA-CTION et NEONATOLF).



Enfin, les travaux portant sur le système endocannabinoïde ont été développés en étroite collaboration Giovanni Marsicano et Luigi Bellochio de l'équipe « Endocannabinoïdes et neuroadaptation » du Neurocentre Magendie.



Liste des publications

Principales publications de la thèse

N'Diaye M*, Ducourneau EG*, Bakogiannis I, Potier M, Lafenetre P, Ferreira G. Sex and obesogenic diet effects on contextual fear memory and associated hippocampal activity in mice. *À soumettre*. *co-premiers auteurs

N'Diaye M*, Ducourneau EG*, Potier M, Décarie-Spain L, Bakogiannis I, Fermigier A, Lafenetre P, Bellocchio L, Marsicano G[°] & Ferreira G[°]. Hippocampal and prefrontal CB1 receptors differentially mediate obesogenic diet-induced recognition memory deficits in males and females. *À soumettre*. *co-premiers auteurs; [°]co-derniers auteurs

Autres publications

Bakoyiannis I*, Ducourneau EG*, **N'Diaye M**, Fermigier A, Ducroix-Crepy C, Fauré L, Bosch-Bouju C, Coutureau E, Trifilieff P, Ferreira G. Chemogenetic silencing of hippocampal projections to nucleus accumbens and medial prefrontal cortex prevents diet-induced recognition and location memory deficits. *Soumis à eLife* *co-premiers auteurs

Ducourneau EG*, Janthakhin Y*, Oliveira da Cruz J, Artinian J, Bakoyiannis J, Busquets-Garcia A, **N'Diaye M**, Fermigier A, Helbling JC, Mathias I, Alfos S, Bosch-Bouju C, Trifilieff P, Marsicano G[°], Ferreira G[°]. Hippocampal endocannabinoid system mediates diet-induced memory consolidation deficits. *À soumettre* *co-premiers auteurs; [°]co-derniers

Posters

N'Diaye M, Ducourneau EG, Bakoyiannis I, Fermigier A, Potier M, Lafenetre P, Bellocchio L, Marsicano G, Ferreira G (24-25 novembre 2023, Bordeaux, France). Differential involvement of CB1 receptors in obesogenic diet-induced memory deficits in male and female mice. *Sociedad Espanola de Investigacion sobre Cannabinoids (SEIC)*.

N'Diaye M, Ducourneau EG, Bakoyiannis I, Fermigier A, Potier M, Lafenetre P, Bellocchio L, Marsicano G, Ferreira G (24-26 mai 2023, Lyon, France). Obesogenic diet induces memory deficits through CB1 receptors on hippocampal glutamatergic neurons in males but prefrontal GABAergic neurons in females. *NeuroFrance*.

N'Diaye M, Ducourneau EG, Bakoyiannis I, Fermigier A, Lafenetre P, Marsicano G., Ferreira G (17-19 novembre 2022, Toulouse, France). Nutrition, adolescence et mémoire : Rôle du

système endocannabinoïde et différences entre mâles et femelles. *Journées Francophones de Nutrition*.

Ferreira G, **N'Diaye M**, Ducourneau EG, Bakoyiannis I, Fermigier A, Lafenetre P, Marsicano G. (9-13 juillet, 2022, Paris, France). Comparing the role of the endocannabinoid system in the effects of obesogenic diet on memory in females and males. *Federation of European Neuroscience Societies (FENS) Forum*.

Fermigier A, Ducourneau E, Bakoyiannis I, **N'Diaye M**, Chevaleyre V, Piskorowski R, Ferreira G (9-13 juillet, 2022, Paris, France). Stress-induced social odor preference is disrupted by adolescent high-fat diet consumption: is hippocampal CA2 area involved? *Federation of European Neuroscience Societies (FENS) Forum*.

N'Diaye M, Ducourneau EG, Bakoyiannis I, Fermigier A, Lafenetre P, Marsicano G, Ferreira G (12-15 octobre 2021, Cahors, France). Role of the endocannabinoid system in the effects of obesogenic diet on memory: is there a gender difference? *Colloque du GDR Mémoire*.

Fermigier A, Ducourneau EG, Bakoyannis I, **N'Diaye M**, Marsicano G, Ferreira G (12-15 octobre 2021, Cahors, France). Obesogenic diet impairs social odor preference through hippocampal hyperexcitability and endocannabinoïd-CB1R system overactivity. *Colloque du GDR Mémoire*.

N'Diaye M, Ducourneau EG, Bakoyiannis I, Fermigier A, Lafenetre P, Marsicano G, Ferreira G (19-21 mai 2021, Strasbourg, France). Role of the endocannabinoid system in the effects of obesogenic diet on memory: is there a gender difference? *NeuroFrance*.

Fermigier A, Ducourneau EG, Bakoyannis I, **N'Diaye M**, Marsicano G, Ferreira G (19-21 mai 2021, Strasbourg, France). Obesogenic diet impairs social odor preference through hippocampal hyperexcitability and endocannabinoïd-CB1R system overactivity. *NeuroFrance*.

Communications orales

Nutrition, adolescence and memory: Role of the endocannabinoid system and sex differences. *NutriNeuro Day 2023*.

Nutrition, adolescence et mémoire : Rôle du système endocannabinoïde et différences entre les sexes (24 novembre 2022, Palaiseau, France). *Semaine de la mémoire et des aidants*.

Impact of adolescent obesogenic diet on contextual fear memory: Sex effect and hippocampal role. *NutriNeuro Day 2022*.

Nutrition, adolescence et mémoire : Rôle du système endocannabinoïde dans les différences entre mâles et femelles (27 octobre 2021, La Défense, Paris). *Présentation au conseil d'administration du Fonds de dotation de l'Observatoire B2V des mémoires*

Role of the endocannabinoid system in the effects of obesogenic diet on memory: Is there a gender difference? *NutriNeuro Day 2021*

Liste des abréviations

AEA, N-arachidonylethanolamide
AgRP, agouti-related protein
AMPc, adénosine mono-phosphate cyclique
ARNm, acide ribonucléique messenger
Ado, adolescence
AEA, anandamide
BDNF, facteur neurotrophique cérébral
BHE, barrière hémato-encéphalique
BLA, noyau basolatéral de l'amygdale
CA, corne d'Ammon de l'hippocampe
CB1R, récepteur endocannabinoïdes de type 1
CB2R, récepteur endocannabinoïdes de type 2
CPF, cortex préfrontal
CPFm, cortex préfrontal médian
CPFvm, cortex préfrontal ventro-médian
CPFdm, cortex préfrontal dorso-médian
CREB, *cAMP Response Element-Binding protein*
DG, gyrus denté (*dentate gyrus*)
eCB, endocannabinoïde
E2, 17- β estradiol
ER, estrogen receptor
FAAH, Fatty-acid amide hydrolase
GABA, acide gamma-aminobutyrique
GC, glucocorticoïdes
GR, récepteur des glucocorticoïdes
HLS, hyper-lipidique et sucré
HPA, axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien
HPC, hippocampe
IL, interleukine
IMC, indice de masse corporelle
kcal, kilocalories
DLT, dépression à long terme
PLT, potentialisation à long terme
MRO, mémoire de reconnaissance d'objet
MPC, mémoire de peur contextuelle
NMDA, acide N-méthyl-D-aspartique
OMS, organisation mondiale de la santé
SC, stimulus conditionné
SI, stimulus inconditionné
THC, delta-9-tetrahydrocannabinol
TNF, facteur de nécrose tumorale
2-AG, 2-arachidonolglycér

Liste des tableaux et figures

Figure 1 : Prévalence de l'obésité et du surpoids chez les enfants et les adolescents.....	13
Figure 2 : Les principaux facteurs de l'obésité.....	15
Figure 3 : Résumé du dimorphisme sexuel dans l'homéostasie métabolique, le diabète et l'obésité ...	17
Tableau : Composition des régimes C et HLS.....	21
Figure 4 : Schéma du contrôle des œstrogènes sur le métabolisme énergétique.....	22
Figure 5 : Structure moléculaire des récepteurs CB1 et CB2.....	25
Figure 6 : Schéma illustrant les voies de biosynthèse de l'anandamide.....	26
Figure 7 : Schéma illustrant les voies de biosynthèse du 2-arachidonoylglycérol (2-AG).....	27
Figure 8 : Effets de l'activation du récepteur CB1 sur la régulation de la prise alimentaire.	31
Figure 9 : Classification des systèmes de mémoires à long terme	34
Figure 10 : Représentation schématique de l'hippocampe.....	36
Figure 11 : Projections de l'hippocampe le long de l'axe dorso-ventral.	37
Figure 12 : Organisation du cortex préfrontal chez le rongeur.....	38
Figure 13 : Connexions anatomiques majeures du cortex préfrontal ventromédian	39
Figure 14 : Représentation schématique de l'organisation laminaire du cortex préfrontal	40
Figure 15 : Les configurations du test de mémoire de reconnaissance d'objet.....	42
Figure 16 : Schémas des différents types de conditionnement de peur Pavlovien.....	44
Figure 17 : Schéma des voies de signalisation du récepteur CB1	47
Figure 18 : Suppression de l'inhibition/l'excitation induite par la dépolarisation.	48
Figure 19 : Distribution cérébrale des CB1R chez la souris adulte.....	50
Figure 20 : La stéroïdogenèse.....	54
Figure 21 : Cycle ovarien chez les rongeurs et chez les femmes.	55
Figure 22 : Les mécanismes d'action des œstrogènes	56
Figure 23 : Les différentes périodes de la vie.....	61
Figure 24 : Maturation du volume de matière grise au niveau de la surface corticale.....	62
Figure 25 : Représentation schématique de la trajectoire des différents processus neurodéveloppementaux et des changements du volume de la matière blanche et grise.....	62
Figure 26 : Rôles du système eCB dans plusieurs mécanismes neurodéveloppementaux.	65
Figure 27 : Représentation schématique de la trajectoire des différents composants du système eCB..	66
Figure 28 : Effets de l'inactivation chémozogénétique de l'hippocampe dorsal sur les déficits de mémoire de reconnaissance d'objet chez les mâles HLSado.	81
Figure 29 : Rôle des CB1R dans les déficits de mémoire de reconnaissance d'objet et l'activation c-Fos de l'hippocampe chez les mâles HLSado.....	83
Tableau : Bilan récapitulatif des principaux résultats	143

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A.

- Abbott, K.N., Morris, M.J., Westbrook, R.F., Reichelt, A.C., 2016. Sex-specific effects of daily exposure to sucrose on spatial memory performance in male and female rats, and implications for estrous cycle stage. *Physiol. Behav.* 162, 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.01.036>
- Abel, T., Martin, K.C., Bartsch, D., Kandel, E.R., 1998. Memory suppressor genes: inhibitory constraints on the storage of long-term memory. *Science* 279, 338–341. <https://doi.org/10.1126/science.279.5349.338>
- Abi-Ghanem, C., Salinero, A.E., Kordit, D., Mansour, F.M., Kelly, R.D., Venkataganesh, H., Kyaw, N.-R., Gannon, O.J., Riccio, D., Fredman, G., Poitelon, Y., Belin, S., Kopec, A.M., Robison, L.S., Zuloaga, K.L., 2023. Sex differences in the effects of high fat diet on underlying neuropathology in a mouse model of VCID. *Biol Sex Differ* 14, 31. <https://doi.org/10.1186/s13293-023-00513-y>
- Abush, H., Akirav, I., 2012. Short- and long-term cognitive effects of chronic cannabinoids administration in late-adolescence rats. *PLoS One* 7, e31731. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031731>
- Abush, H., Akirav, I., 2010. Cannabinoids modulate hippocampal memory and plasticity. *Hippocampus* 20, 1126–1138. <https://doi.org/10.1002/hipo.20711>
- Adams, M.M., Fink, S.E., Shah, R.A., Janssen, W.G.M., Hayashi, S., Milner, T.A., McEwen, B.S., Morrison, J.H., 2002. Estrogen and Aging Affect the Subcellular Distribution of Estrogen Receptor- α in the Hippocampus of Female Rats. *J Neurosci* 22, 3608–3614. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-09-03608.2002>
- Adermark, L., Lovinger, D.M., 2009. Frequency-Dependent Inversion of Net Striatal Output by Endocannabinoid-Dependent Plasticity at Different Synaptic Inputs. *J Neurosci* 29, 1375–1380. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3842-08.2009>
- Agarwal, N., Pacher, P., Tegeder, I., Amaya, F., Constantin, C.E., Brenner, G.J., Rubino, T., Michalski, C.W., Marsicano, G., Monory, K., Mackie, K., Marian, C., Batkai, S., Parolaro, D., Fischer, M.J., Reeh, P., Kunos, G., Kress, M., Lutz, B., Woolf, C.J., Kuner, R., 2007. Cannabinoids mediate analgesia largely via peripheral type 1 cannabinoid receptors in nociceptors. *Nat Neurosci* 10, 870–879. <https://doi.org/10.1038/nn1916>
- Aggleton, J.P., O'Mara, S.M., Vann, S.D., Wright, N.F., Tsanov, M., Erichsen, J.T., 2010. Hippocampal-anterior thalamic pathways for memory: uncovering a network of direct and indirect actions. *Eur J Neurosci* 31, 2292–2307. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07251.x>
- Akirav, I., Maroun, M., 2006. Ventromedial prefrontal cortex is obligatory for consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Cereb Cortex* 16, 1759–1765. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhj114>
- Andersen, S.L., 2003. Trajectories of brain development: point of vulnerability or window of opportunity? *Neurosci Biobehav Rev* 27, 3–18. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(03\)00005-8](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(03)00005-8)
- Arain, M., Haque, M., Johal, L., Mathur, P., Nel, W., Rais, A., Sandhu, R., Sharma, S., 2013. Maturation of the adolescent brain. *Neuropsychiatr Dis Treat* 9, 449–461. <https://doi.org/10.2147/NDT.S39776>
- Arcones, A.C., Cruces-Sande, M., Ramos, P., Mayor, F., Murga, C., 2019. Sex Differences in High Fat Diet-Induced Metabolic Alterations Correlate with Changes in the Modulation of GRK2 Levels. *Cells* 8, E1464. <https://doi.org/10.3390/cells8111464>

- Arseneault, L., Cannon, M., Poulton, R., Murray, R., Caspi, A., Moffitt, T.E., 2002. Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: longitudinal prospective study. *BMJ* 325, 1212–1213. <https://doi.org/10.1136/bmj.325.7374.1212>
- Artmann, A., Petersen, G., Hellgren, L.I., Boberg, J., Skonberg, C., Nellemann, C., Hansen, S.H., Hansen, H.S., 2008. Influence of dietary fatty acids on endocannabinoid and N-acylethanolamine levels in rat brain, liver and small intestine. *Biochim Biophys Acta* 1781, 200–212. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2008.01.006>
- Attuquayefio, T., Stevenson, R.J., 2015. A systematic review of longer-term dietary interventions on human cognitive function: Emerging patterns and future directions. *Appetite* 95, 554–570. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.08.023>
- Ayabe, T., Fukuda, T., Ano, Y., 2020. Improving Effects of Hop-Derived Bitter Acids in Beer on Cognitive Functions: A New Strategy for Vagus Nerve Stimulation. *Biomolecules* 10, 131. <https://doi.org/10.3390/biom10010131>

B.

- Bachevalier, J., Mishkin, M., 1986. Visual recognition impairment follows ventromedial but not dorsolateral prefrontal lesions in monkeys. *Behav Brain Res* 20, 249–261. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(86\)90225-1](https://doi.org/10.1016/0166-4328(86)90225-1)
- Baddeley, A., 2003. Working memory: looking back and looking forward. *Nat Rev Neurosci* 4, 829–839. <https://doi.org/10.1038/nrn1201>
- Bakoyiannis, I., Ducourneau, E.-G., Parkes, S.L., Ferreira, G., 2023. Pathway specific interventions reveal the multiple roles of ventral hippocampus projections in cognitive functions. *Rev Neurosci*. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2023-0009>
- Bara, A., Manduca, A., Bernabeu, A., Borsoi, M., Serviado, M., Lassalle, O., Murphy, M., Wager-Miller, J., Mackie, K., Pelissier-Alicot, A.-L., Trezza, V., Manzoni, O.J., 2018. Sex-dependent effects of in utero cannabinoid exposure on cortical function. *Elife* 7, e36234. <https://doi.org/10.7554/eLife.36234>
- Barbas, H., 2015. General cortical and special prefrontal connections: principles from structure to function. *Annu Rev Neurosci* 38, 269–289. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071714-033936>
- Barbosa, F.F., Santos, J.R., Meurer, Y.S.R., Macêdo, P.T., Ferreira, L.M.S., Pontes, I.M.O., Ribeiro, A.M., Silva, R.H., 2013. Differential Cortical c-Fos and Zif-268 Expression after Object and Spatial Memory Processing in a Standard or Episodic-Like Object Recognition Task. *Front Behav Neurosci* 7, 112. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2013.00112>
- Barha, C.K., Galea, L.A.M., 2010. Influence of different estrogens on neuroplasticity and cognition in the hippocampus. *Biochim Biophys Acta* 1800, 1056–1067. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2010.01.006>
- Barker, G.R.I., Bird, F., Alexander, V., Warburton, E.C., 2007. Recognition memory for objects, place, and temporal order: a disconnection analysis of the role of the medial prefrontal cortex and perirhinal cortex. *J Neurosci* 27, 2948–2957. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5289-06.2007>
- Barker, G.R.I., Warburton, E.C., 2011. When is the hippocampus involved in recognition memory? *J Neurosci* 31, 10721–10731. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6413-10.2011>
- Barrero, F.J., Ampuero, I., Morales, B., Vives, F., de Dios Luna Del Castillo, J., Hoenicka, J., García Yébenes, J., 2005. Depression in Parkinson's disease is related to a genetic polymorphism of the cannabinoid receptor gene (CNR1). *Pharmacogenomics J* 5, 135–141. <https://doi.org/10.1038/sj.tpj.6500301>
- Barth, C., Steele, C.J., Mueller, K., Rekkas, V.P., Arélin, K., Pampel, A., Burmann, I., Kratzsch, J., Villringer, A., Sacher, J., 2016. In-vivo Dynamics of the Human Hippocampus across the Menstrual Cycle. *Sci Rep* 6, 32833. <https://doi.org/10.1038/srep32833>
- Basavarajappa, B.S., 2007. Neuropharmacology of the endocannabinoid signaling system-molecular mechanisms, biological actions and synaptic plasticity. *Curr Neuropharmacol* 5, 81–97. <https://doi.org/10.2174/157015907780866910>
- Bauer, C.C.C., Moreno, B., González-Santos, L., Concha, L., Barquera, S., Barrios, F.A., 2015. Child overweight and obesity are associated with reduced executive cognitive performance and brain

- alterations: a magnetic resonance imaging study in Mexican children. *Pediatr Obes* 10, 196–204. <https://doi.org/10.1111/ijpo.241>
- Beilharz, J.E., Kaakoush, N.O., Maniam, J., Morris, M.J., 2018. Cafeteria diet and probiotic therapy: cross talk among memory, neuroplasticity, serotonin receptors and gut microbiota in the rat. *Mol Psychiatry* 23, 351–361. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.38>
- Bellocchio, L., Lafenêtre, P., Cannich, A., Cota, D., Puente, N., Grandes, P., Chaouloff, F., Piazza, P.V., Marsicano, G., 2010. Bimodal control of stimulated food intake by the endocannabinoid system. *Nat Neurosci* 13, 281–283. <https://doi.org/10.1038/nn.2494>
- Bénard, G., Massa, F., Puente, N., Lourenço, J., Bellocchio, L., Soria-Gómez, E., Matias, I., Delamarre, A., Metna-Laurent, M., Cannich, A., Hebert-Chatelain, E., Mülle, C., Ortega-Gutiérrez, S., Martín-Fontecha, M., Klugmann, M., Guggenhuber, S., Lutz, B., Gertsch, J., Chaouloff, F., López-Rodríguez, M.L., Grandes, P., Rossignol, R., Marsicano, G., 2012. Mitochondrial CB₁ receptors regulate neuronal energy metabolism. *Nat Neurosci* 15, 558–564. <https://doi.org/10.1038/nn.3053>
- Benedict, C., Hallschmid, M., Hatke, A., Schultes, B., Fehm, H.L., Born, J., Kern, W., 2004. Intranasal insulin improves memory in humans. *Psychoneuroendocrinology* 29, 1326–1334. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2004.04.003>
- Berghuis, P., Rajnicek, A.M., Morozov, Y.M., Ross, R.A., Mulder, J., Urbán, G.M., Monory, K., Marsicano, G., Matteoli, M., Canty, A., Irving, A.J., Katona, I., Yanagawa, Y., Rakic, P., Lutz, B., Mackie, K., Harkany, T., 2007. Hardwiring the brain: endocannabinoids shape neuronal connectivity. *Science* 316, 1212–1216. <https://doi.org/10.1126/science.1137406>
- Bermudez-Silva, F.J., Cardinal, P., Cota, D., 2012. The role of the endocannabinoid system in the neuroendocrine regulation of energy balance. *J Psychopharmacol* 26, 114–124. <https://doi.org/10.1177/0269881111408458>
- Bernabeu, A., Bara, A., Murphy Green, M.N., Manduca, A., Wager-Miller, J., Borsoi, M., Lassalle, O., Pelissier-Alicot, A.-L., Chavis, P., Mackie, K., Manzoni, O.J.J., 2023. Sexually Dimorphic Adolescent Trajectories of Prefrontal Endocannabinoid Synaptic Plasticity Equalize in Adulthood, Reflected by Endocannabinoid System Gene Expression. *Cannabis Cannabinoid Res*. <https://doi.org/10.1089/can.2022.0308>
- Bi, R., Foy, M.R., Vouimba, R.M., Thompson, R.F., Baudry, M., 2001. Cyclic changes in estradiol regulate synaptic plasticity through the MAP kinase pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 13391–13395. <https://doi.org/10.1073/pnas.241507698>
- Bialuk, I., Winnicka, M.M., 2011. AM251, cannabinoid receptors ligand, improves recognition memory in rats. *Pharmacol Rep* 63, 670–679. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(11\)70578-3](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(11)70578-3)
- Bisogno, T., Berrendero, F., Ambrosino, G., Cebeira, M., Ramos, J.A., Fernandez-Ruiz, J.J., Di Marzo, V., 1999. Brain regional distribution of endocannabinoids: implications for their biosynthesis and biological function. *Biochem Biophys Res Commun* 256, 377–380. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.0254>
- Biyong, E.F., Alfos, S., Dumetz, F., Helbling, J.-C., Aubert, A., Brossaud, J., Foury, A., Moisan, M.-P., Layé, S., Richard, E., Patterson, E., Murphy, K., Rea, K., Stanton, C., Schellekens, H., Cryan, J.F., Capuron, L., Pallet, V., Ferreira, G., 2021. Dietary vitamin A supplementation prevents early obesogenic diet-induced microbiota, neuronal and cognitive alterations. *Int J Obes (Lond)* 45, 588–598. <https://doi.org/10.1038/s41366-020-00723-z>
- Blakemore, S.-J., Burnett, S., Dahl, R.E., 2010. The role of puberty in the developing adolescent brain. *Hum Brain Mapp* 31, 926–933. <https://doi.org/10.1002/hbm.21052>
- Blanchard, R.J., Blanchard, D.C., 1969. Crouching as an index of fear. *J Comp Physiol Psychol* 67, 370–375. <https://doi.org/10.1037/h0026779>
- Blaner, W.S., 2019. Vitamin A signaling and homeostasis in obesity, diabetes, and metabolic disorders. *Pharmacol Ther* 197, 153–178. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.01.006>
- Blankman, J.L., Simon, G.M., Cravatt, B.F., 2007. A comprehensive profile of brain enzymes that hydrolyze the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. *Chem Biol* 14, 1347–1356. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2007.11.006>
- Blouin, K., Veilleux, A., Luu-The, V., Tchernof, A., 2009. Androgen metabolism in adipose tissue: recent advances. *Mol Cell Endocrinol* 301, 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2008.10.035>

- Blüher, M., Engeli, S., Klöting, N., Berndt, J., Fasshauer, M., Bátkai, S., Pacher, P., Schön, M.R., Jordan, J., Stumvoll, M., 2006. Dysregulation of the peripheral and adipose tissue endocannabinoid system in human abdominal obesity. *Diabetes* 55, 3053–3060. <https://doi.org/10.2337/db06-0812>
- Bogin, B., 1994. Adolescence in evolutionary perspective. *Acta Paediatr Suppl* 406, 29–35; discussion 36. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.1994.tb13418.x>
- Boitard, C., Cavaroc, A., Sauvant, J., Aubert, A., Castanon, N., Layé, S., Ferreira, G., 2014. Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. *Brain Behav. Immun.* 40, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.03.005>
- Boitard, C., Etchamendy, N., Sauvant, J., Aubert, A., Tronel, S., Marighetto, A., Layé, S., Ferreira, G., 2012. Juvenile, but not adult exposure to high-fat diet impairs relational memory and hippocampal neurogenesis in mice. *Hippocampus* 22, 2095–2100. <https://doi.org/10.1002/hipo.22032>
- Boitard, C., Maroun, M., Tantot, F., Cavaroc, A., Sauvant, J., Marchand, A., Layé, S., Capuron, L., Darnaudery, M., Castanon, N., Coutureau, E., Vouimba, R.-M., Ferreira, G., 2015. Juvenile obesity enhances emotional memory and amygdala plasticity through glucocorticoids. *J Neurosci* 35, 4092–4103. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3122-14.2015>
- Bonadonna, R.C., Groop, L., Kraemer, N., Ferrannini, E., Del Prato, S., DeFronzo, R.A., 1990. Obesity and insulin resistance in humans: a dose-response study. *Metabolism* 39, 452–459. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(90\)90002-t](https://doi.org/10.1016/0026-0495(90)90002-t)
- Boron, W.F., Boulpaep, E.L., 2012. *Medical Physiology: A Cellular and Molecular Approach*. Saunders Elsevier.
- Borsoi, M., Manduca, A., Bara, A., Lassalle, O., Pelissier-Alicot, A.-L., Manzoni, O.J., 2019. Sex Differences in the Behavioral and Synaptic Consequences of a Single in vivo Exposure to the Synthetic Cannabimimetic WIN55,212-2 at Puberty and Adulthood. *Front Behav Neurosci* 13, 23. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00023>
- Bouaboula, M., Poinot-Chazel, C., Bourrié, B., Canat, X., Calandra, B., Rinaldi-Carmona, M., Le Fur, G., Casellas, P., 1995. Activation of mitogen-activated protein kinases by stimulation of the central cannabinoid receptor CB1. *Biochem J* 312, 637–641.
- Bourdy, R., Hertz, A., Filliol, D., Andry, V., Goumon, Y., Mendoza, J., Olmstead, M.C., Befort, K., 2021. The endocannabinoid system is modulated in reward and homeostatic brain regions following diet-induced obesity in rats: a cluster analysis approach. *Eur J Nutr* 60, 4621–4633. <https://doi.org/10.1007/s00394-021-02613-0>
- Bourgeois, J.P., Goldman-Rakic, P.S., Rakic, P., 1994. Synaptogenesis in the prefrontal cortex of rhesus monkeys. *Cereb Cortex* 4, 78–96. <https://doi.org/10.1093/cercor/4.1.78>
- Bowman, R.E., Beck, K.D., Luine, V.N., 2003. Chronic stress effects on memory: sex differences in performance and monoaminergic activity. *Horm Behav* 43, 48–59. [https://doi.org/10.1016/s0018-506x\(02\)00022-3](https://doi.org/10.1016/s0018-506x(02)00022-3)
- Braga, S.P., Delanogare, E., Machado, A.E., Prediger, R.D., Moreira, E.L.G., 2021. Switching from high-fat feeding (HFD) to regular diet improves metabolic and behavioral impairments in middle-aged female mice. *Behav Brain Res* 398, 112969. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112969>
- Brandt, N., Löffler, T., Fester, L., Rune, G.M., 2020. Sex-specific features of spine densities in the hippocampus. *Sci Rep* 10, 11405. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68371-x>
- Brann, D.W., Dhandapani, K., Wakade, C., Mahesh, V.B., Khan, M.M., 2007. Neurotrophic and Neuroprotective Actions of Estrogen: Basic Mechanisms and Clinical Implications. *Steroids* 72, 381–405. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2007.02.003>
- Brenowitz, S.D., Regehr, W.G., 2003. Calcium dependence of retrograde inhibition by endocannabinoids at synapses onto Purkinje cells. *J Neurosci* 23, 6373–6384. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-15-06373.2003>
- Broadbent, S., Rousseau, J.J., Thorp, R.M., Choate, S.L., Jackson, F.S., Rowlands, D.S., 2010. Vibration therapy reduces plasma IL6 and muscle soreness after downhill running. *Br J Sports Med* 44, 888–894. <https://doi.org/10.1136/bjism.2008.052100>

- Brooks, G.C., Blaha, M.J., Blumenthal, R.S., 2010. Relation of C-reactive protein to abdominal adiposity. *Am J Cardiol* 106, 56–61. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2010.02.017>
- Brown, M.W., Aggleton, J.P., 2001. Recognition memory: what are the roles of the perirhinal cortex and hippocampus? *Nat Rev Neurosci* 2, 51–61. <https://doi.org/10.1038/35049064>
- Broyd, S.J., van Hell, H.H., Beale, C., Yücel, M., Solowij, N., 2016. Acute and Chronic Effects of Cannabinoids on Human Cognition-A Systematic Review. *Biol Psychiatry* 79, 557–567. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.12.002>
- Bryzgalova, G., Gao, H., Ahren, B., Zierath, J.R., Galuska, D., Steiler, T.L., Dahlman-Wright, K., Nilsson, S., Gustafsson, J.-A., Efendic, S., Khan, A., 2006. Evidence that oestrogen receptor-alpha plays an important role in the regulation of glucose homeostasis in mice: insulin sensitivity in the liver. *Diabetologia* 49, 588–597. <https://doi.org/10.1007/s00125-005-0105-3>
- Buettner, R., Parhofer, K.G., Woenckhaus, M., Wrede, C.E., Kunz-Schughart, L.A., Schölmerich, J., Bollheimer, L.C., 2006. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *J Mol Endocrinol* 36, 485–501. <https://doi.org/10.1677/jme.1.01909>
- Bura, S.A., Castañé, A., Ledent, C., Valverde, O., Maldonado, R., 2007. Genetic and pharmacological approaches to evaluate the interaction between the cannabinoid and cholinergic systems in cognitive processes. *Br J Pharmacol* 150, 758–765. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707152>
- Busquets Garcia, A., Soria-Gomez, E., Bellocchio, L., Marsicano, G., 2016. Cannabinoid receptor type-1: breaking the dogmas. *F1000Res* 5, F1000 Faculty Rev-990. <https://doi.org/10.12688/f1000research.8245.1>
- Busquets-Garcia, A., Oliveira da Cruz, J.F., Terral, G., Pagano Zottola, A.C., Soria-Gómez, E., Contini, A., Martin, H., Redon, B., Varilh, M., Ioannidou, C., Drago, F., Massa, F., Fioramonti, X., Trifilieff, P., Ferreira, G., Marsicano, G., 2018. Hippocampal CB1 Receptors Control Incidental Associations. *Neuron* 99, 1247-1259.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.08.014>
- Busquets-Garcia, A., Puighermanal, E., Pastor, A., de la Torre, R., Maldonado, R., Ozaita, A., 2011. Differential role of anandamide and 2-arachidonoylglycerol in memory and anxiety-like responses. *Biol Psychiatry* 70, 479–486. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2011.04.022>
- Bussey, T.J., Muir, J.L., Aggleton, J.P., 1999. Functionally dissociating aspects of event memory: the effects of combined perirhinal and postrhinal cortex lesions on object and place memory in the rat. *J Neurosci* 19, 495–502. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-01-00495.1999>
- Butler, L., Gerritsen, G.C., 1970. A comparison of the modes of inheritance of diabetes in the Chinese hamster and the KK mouse. *Diabetologia* 6, 163–167. <https://doi.org/10.1007/BF01212224>

C.

- Cahill, L., 2006. Why sex matters for neuroscience. *Nat. Rev. Neurosci.* 7, 477–484. <https://doi.org/10.1038/nrn1909>
- Camer, D., Yu, Y., Szabo, A., Fernandez, F., Dinh, C.H.L., Huang, X.-F., 2015. Bardoxolone methyl prevents high-fat diet-induced alterations in prefrontal cortex signalling molecules involved in recognition memory. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 59, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.01.004>
- Cani, P.D., Delzenne, N.M., 2009. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. *Curr Pharm Des* 15, 1546–1558. <https://doi.org/10.2174/138161209788168164>
- Cannich, A., Wotjak, C.T., Kamprath, K., Hermann, H., Lutz, B., Marsicano, G., 2004. CB1 Cannabinoid Receptors Modulate Kinase and Phosphatase Activity During Extinction of Conditioned Fear in Mice. *Learn Mem* 11, 625–632. <https://doi.org/10.1101/lm.77904>
- Carlini, E.A., Karniol, I.G., Renault, P.F., Schuster, C.R., 1974. Effects of marijuana in laboratory animals and in man. *Br J Pharmacol* 50, 299–309. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1974.tb08576.x>
- Castelli, M.P., Fadda, P., Casu, A., Spano, M.S., Casti, A., Fratta, W., Fattore, L., 2014. Male and female rats differ in brain cannabinoid CB1 receptor density and function and in behavioural traits predisposing to drug addiction: effect of ovarian hormones. *Curr Pharm Des* 20, 2100–2113. <https://doi.org/10.2174/13816128113199990430>
- Caussey, C., 2021. Obésité et infection par la COVID-19 : une liaison dangereuse. *Médecine Des Maladies Métaboliques* 15, 288–293. <https://doi.org/10.1016/j.mmm.2021.02.014>

- Cha, Y.M., Jones, K.H., Kuhn, C.M., Wilson, W.A., Swartzwelder, H.S., 2007. Sex differences in the effects of delta9-tetrahydrocannabinol on spatial learning in adolescent and adult rats. *Behav Pharmacol* 18, 563–569. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e3282ee7b7e>
- Chabot, C., Massicotte, G., Milot, M., Trudeau, F., Gagné, J., 1997. Impaired modulation of AMPA receptors by calcium-dependent processes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Brain Res* 768, 249–256. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(97\)00648-3](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(97)00648-3)
- Chakrabarti, A., Onaivi, E.S., Chaudhuri, G., 1995. Cloning and sequencing of a cDNA encoding the mouse brain-type cannabinoid receptor protein. *DNA Seq* 5, 385–388. <https://doi.org/10.3109/10425179509020870>
- Chambliss, K.L., Shaul, P.W., 2002. Estrogen modulation of endothelial nitric oxide synthase. *Endocr Rev* 23, 665–686. <https://doi.org/10.1210/er.2001-0045>
- Chamizo, V.D., Artigas, A.A., Sansa, J., Banterla, F., 2011. Gender differences in landmark learning for virtual navigation: the role of distance to a goal. *Behav Processes* 88, 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2011.06.007>
- Chavarría-Siles, I., Contreras-Rojas, J., Hare, E., Walss-Bass, C., Quezada, P., Dassori, A., Contreras, S., Medina, R., Ramírez, M., Salazar, R., Raventos, H., Escamilla, M.A., 2008. Cannabinoid receptor 1 gene (CNRI) and susceptibility to a quantitative phenotype for hebephrenic schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 147, 279–284. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30592>
- Chavez-Gutiérrez, E., Fuentes-Venado, C.E., Rodríguez-Páez, L., Guerra-Araiza, C., Larqué, C., Martínez-Herrera, E., Ocharan-Hernández, M.E., Lomelí, J., Loza-Mejía, M.A., Salazar, J.R., Meneses-Ruiz, D.M., Gallardo, J.M., Pinto-Almazán, R., 2022. High Fructose and High Fat Diet Impair Different Types of Memory through Oxidative Stress in a Sex- and Hormone-Dependent Manner. *Metabolites* 12, 341. <https://doi.org/10.3390/metabo12040341>
- Cheke, L.G., Simons, J.S., Clayton, N.S., 2016. Higher body mass index is associated with episodic memory deficits in young adults. *Q J Exp Psychol (Hove)* 69, 2305–2316. <https://doi.org/10.1080/17470218.2015.1099163>
- Chevaleyre, V., Castillo, P.E., 2003. Heterosynaptic LTD of hippocampal GABAergic synapses: a novel role of endocannabinoids in regulating excitability. *Neuron* 38, 461–472. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00235-6](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00235-6)
- Chevaleyre, V., Takahashi, K.A., Castillo, P.E., 2006. Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in the CNS. *Annu Rev Neurosci* 29, 37–76. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.112834>
- Chhatwal, J.P., Myers, K.M., Ressler, K.J., Davis, M., 2005. Regulation of gephyrin and GABAA receptor binding within the amygdala after fear acquisition and extinction. *J Neurosci* 25, 502–506. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3301-04.2005>
- Cho, Y.H., Friedman, E., Silva, A.J., 1999. Ibotenate lesions of the hippocampus impair spatial learning but not contextual fear conditioning in mice. *Behav Brain Res* 98, 77–87. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(98\)00054-0](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(98)00054-0)
- Christensen, R., Kristensen, P.K., Bartels, E.M., Bliddal, H., Astrup, A., 2007. Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 370, 1706–1713. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61721-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61721-8)
- Cinar, R., Iyer, M.R., Kunos, G., 2020. The therapeutic potential of second and third generation CB1R antagonists. *Pharmacol Ther* 208, 107477. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107477>
- Clarke, J.R., Cammarota, M., Gruart, A., Izquierdo, I., Delgado-García, J.M., 2010. Plastic modifications induced by object recognition memory processing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 2652–2657. <https://doi.org/10.1073/pnas.0915059107>
- Clegg, D.J., Brown, L.M., Woods, S.C., Benoit, S.C., 2006. Gonadal hormones determine sensitivity to central leptin and insulin. *Diabetes* 55, 978–987. <https://doi.org/10.2337/diabetes.55.04.06.db05-1339>
- Cohen, S.J., Munchow, A.H., Rios, L.M., Zhang, G., Asgeirsdóttir, H.N., Stackman, R.W., 2013. The rodent hippocampus is essential for nonspatial object memory. *Curr Biol* 23, 1685–1690. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.07.002>

- Cohen, S.J., Stackman, R.W., 2015. Assessing rodent hippocampal involvement in the novel object recognition task. A review. *Behav Brain Res* 285, 105–117. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.08.002>
- Colley, P.A., Sheu, F.S., Routtenberg, A., 1990. Inhibition of protein kinase C blocks two components of LTP persistence, leaving initial potentiation intact. *J Neurosci* 10, 3353–3360. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.10-10-03353.1990>
- Colon, L., Odynocki, N., Santarelli, A., Poulos, A.M., 2018. Sexual differentiation of contextual fear responses. *Learn Mem* 25, 230–240. <https://doi.org/10.1101/lm.047159.117>
- Considine, R.V., Sinha, M.K., Heiman, M.L., Kriauciunas, A., Stephens, T.W., Nyce, M.R., Ohannesian, J.P., Marco, C.C., McKee, L.J., Bauer, T.L., 1996. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 334, 292–295. <https://doi.org/10.1056/NEJM199602013340503>
- Cooper, Z.D., Craft, R.M., 2018. Sex-Dependent Effects of Cannabis and Cannabinoids: A Translational Perspective. *Neuropsychopharmacology* 43, 34–51. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.140>
- Cope, E.C., LaMarca, E.A., Monari, P.K., Olson, L.B., Martinez, S., Zych, A.D., Katchur, N.J., Gould, E., 2018. Microglia Play an Active Role in Obesity-Associated Cognitive Decline. *J Neurosci* 38, 8889–8904. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0789-18.2018>
- Corcoran, K.A., Quirk, G.J., 2007. Activity in prelimbic cortex is necessary for the expression of learned, but not innate, fears. *J Neurosci* 27, 840–844. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5327-06.2007>
- Cordner, Z.A., Tamashiro, K.L.K., 2015. Effects of high-fat diet exposure on learning & memory. *Physiol Behav* 152, 363–371. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.06.008>
- Córdoba Montoya, D.A., Carrer, H.F., 1997. Estrogen facilitates induction of long term potentiation in the hippocampus of awake rats. *Brain Res* 778, 430–438. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(97\)01206-7](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(97)01206-7)
- Costello, E.J., Copeland, W., Angold, A., 2011. Trends in psychopathology across the adolescent years: what changes when children become adolescents, and when adolescents become adults? *J Child Psychol Psychiatry* 52, 1015–1025. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2011.02446.x>
- Cota, D., Marsicano, G., Lutz, B., Vicennati, V., Stalla, G.K., Pasquali, R., Pagotto, U., 2003. Endogenous cannabinoid system as a modulator of food intake. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27, 289–301. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802250>
- Côté, M., Matias, I., Lemieux, I., Petrosino, S., Alméras, N., Després, J.-P., Di Marzo, V., 2007. Circulating endocannabinoid levels, abdominal adiposity and related cardiometabolic risk factors in obese men. *Int J Obes (Lond)* 31, 692–699. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803539>
- Counotte, D.S., Li, K.W., Wortel, J., Gouwenberg, Y., Van Der Schors, R.C., Smit, A.B., Spijker, S., 2010. Changes in molecular composition of rat medial prefrontal cortex synapses during adolescent development. *Eur J Neurosci* 32, 1452–1460. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07404.x>
- Couturier, K., Batandier, C., Awada, M., Hininger-Favier, I., Canini, F., Anderson, R.A., Leverve, X., Roussel, A.M., 2010. Cinnamon improves insulin sensitivity and alters the body composition in an animal model of the metabolic syndrome. *Arch Biochem Biophys* 501, 158–161. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2010.05.032>
- Coyoy-Salgado, A., Segura-Urbe, J.J., Manuel Gallardo, J., Estrada-Cruz, N.A., Camacho-Arroyo, I., Guerra-Araiza, C., 2020. Tibolone regulates systemic metabolism and the expression of sex hormone receptors in the central nervous system of ovariectomised rats fed with high-fat and high-fructose diet. *Brain Res* 1748, 147096. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147096>
- Craft, R.M., Marusich, J.A., Wiley, J.L., 2013. Sex differences in cannabinoid pharmacology: a reflection of differences in the endocannabinoid system? *Life Sci* 92, 476–481. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2012.06.009>
- Cravatt, B.F., Giang, D.K., Mayfield, S.P., Boger, D.L., Lerner, R.A., Gilula, N.B., 1996. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. *Nature* 384, 83–87. <https://doi.org/10.1038/384083a0>
- Cressman, V.L., Balaban, J., Steinfeld, S., Shemyakin, A., Graham, P., Parisot, N., Moore, H., 2010. Prefrontal cortical inputs to the basal amygdala undergo pruning during late adolescence in the rat. *J Comp Neurol* 518, 2693–2709. <https://doi.org/10.1002/cne.22359>

- Crews, F., He, J., Hodge, C., 2007. Adolescent cortical development: a critical period of vulnerability for addiction. *Pharmacol Biochem Behav* 86, 189–199. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.12.001>
- Cruikshank, S.J., Ahmed, O.J., Stevens, T.R., Patrick, S.L., Gonzalez, A.N., Elmaleh, M., Connors, B.W., 2012. Thalamic control of layer 1 circuits in prefrontal cortex. *J Neurosci* 32, 17813–17823. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3231-12.2012>
- Cserjési, R., Molnár, D., Luminet, O., Lénárd, L., 2007. Is there any relationship between obesity and mental flexibility in children? *Appetite* 49, 675–678. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2007.04.001>

D.

- Dabbs, J.M., Chang, E.-L., Strong, R.A., Milun, R., 1998. Spatial Ability, Navigation Strategy, and Geographic Knowledge Among Men and Women. *Evolution and Human Behavior* 19, 89–98. [https://doi.org/10.1016/S1090-5138\(97\)00107-4](https://doi.org/10.1016/S1090-5138(97)00107-4)
- Dagenais, G.R., Yi, Q., Mann, J.F.E., Bosch, J., Pogue, J., Yusuf, S., 2005. Prognostic impact of body weight and abdominal obesity in women and men with cardiovascular disease. *Am Heart J* 149, 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2004.07.009>
- Dakin, R.S., Walker, B.R., Seckl, J.R., Hadoke, P.W.F., Drake, A.J., 2015. Estrogens protect male mice from obesity complications and influence glucocorticoid metabolism. *Int J Obes (Lond)* 39, 1539–1547. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.102>
- Dalley, J.W., Cardinal, R.N., Robbins, T.W., 2004. Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neurosci Biobehav Rev* 28, 771–784. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.006>
- Davis, M.I., Crittenden, J.R., Feng, A.Y., Kupferschmidt, D.A., Naydenov, A., Stella, N., Graybiel, A.M., Lovinger, D.M., 2018. The cannabinoid-1 receptor is abundantly expressed in striatal striosomes and striosome-dendron bouquets of the substantia nigra. *PLoS One* 13, e0191436. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191436>
- de Andrade, A.M., Fernandes, M. da C., de Fraga, L.S., Porawski, M., Giovenardi, M., Guedes, R.P., 2017. Omega-3 fatty acids revert high-fat diet-induced neuroinflammation but not recognition memory impairment in rats. *Metab Brain Dis* 32, 1871–1881. <https://doi.org/10.1007/s11011-017-0080-7>
- de Lima, M.N., Luft, T., Roesler, R., Schröder, N., 2006. Temporary inactivation reveals an essential role of the dorsal hippocampus in consolidation of object recognition memory. *Neurosci Lett* 405, 142–146. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.06.044>
- de Paiva, I.H.R., da Silva, R.S., Mendonça, I.P., Duarte-Silva, E., Botelho de Souza, J.R., Peixoto, C.A., 2023. Fructooligosaccharide (FOS) and Galactooligosaccharide (GOS) Improve Neuroinflammation and Cognition By Up-regulating IRS/PI3K/AKT Signaling Pathway in Diet-induced Obese Mice. *J Neuroimmune Pharmacol* 18, 427–447. <https://doi.org/10.1007/s11481-023-10069-8>
- de Quervain, D., Schwabe, L., Roozendaal, B., 2017. Stress, glucocorticoids and memory: implications for treating fear-related disorders. *Nat Rev Neurosci* 18, 7–19. <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.155>
- DeLacoste-Utamsing, C., Holloway, R.L., 1982. Sexual dimorphism in the human corpus callosum. *Science* 216, 1431–1432. <https://doi.org/10.1126/science.7089533>
- Delatour, B., Witter, M.P., 2002. Projections from the parahippocampal region to the prefrontal cortex in the rat: evidence of multiple pathways. *Eur J Neurosci* 15, 1400–1407. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.01973.x>
- DelParigi, A., Chen, K., Salbe, A.D., Hill, J.O., Wing, R.R., Reiman, E.M., Tataranni, P.A., 2004. Persistence of abnormal neural responses to a meal in postobese individuals. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28, 370–377. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802558>
- Denley, M.C.S., Gatford, N.J.F., Sellers, K.J., Srivastava, D.P., 2018. Estradiol and the Development of the Cerebral Cortex: An Unexpected Role? *Front Neurosci* 12, 245. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00245>

- Dere, E., Huston, J.P., De Souza Silva, M.A., 2005. Episodic-like memory in mice: simultaneous assessment of object, place and temporal order memory. *Brain Res Brain Res Protoc* 16, 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.brainresprot.2005.08.001>
- Desmedt, A., Marighetto, A., Garcia, R., Jaffard, R., 2003. The effects of ibotenic hippocampal lesions on discriminative fear conditioning to context in mice: impairment or facilitation depending on the associative value of a phasic explicit cue. *Eur J Neurosci* 17, 1953–1963. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02615.x>
- Després, J.-P., Golay, A., Sjöström, L., Rimonabant in Obesity-Lipids Study Group, 2005. Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *N. Engl. J. Med.* 353, 2121–2134. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa044537>
- Devane, W.A., Hanus, L., Breuer, A., Pertwee, R.G., Stevenson, L.A., Griffin, G., Gibson, D., Mandelbaum, A., Etinger, A., Mechoulam, R., 1992. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 258, 1946–1949. <https://doi.org/10.1126/science.1470919>
- Devore, E.E., Stampfer, M.J., Breteler, M.M.B., Rosner, B., Kang, J.H., Okereke, O., Hu, F.B., Grodstein, F., 2009. Dietary fat intake and cognitive decline in women with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 32, 635–640. <https://doi.org/10.2337/dc08-1741>
- Di Franco, N., Drutel, G., Roullot-Lacarrière, V., Julio-Kalajzic, F., Lalanne, V., Grel, A., Leste-Lasserre, T., Matias, I., Cannich, A., Gonzales, D., Simon, V., Cota, D., Marsicano, G., Piazza, P.V., Vallée, M., Revest, J.-M., 2022. Differential expression of the neuronal CB1 cannabinoid receptor in the hippocampus of male Ts65Dn Down syndrome mouse model. *Mol Cell Neurosci* 119, 103705. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2022.103705>
- Di Marzo, V., 2009. The endocannabinoid system: its general strategy of action, tools for its pharmacological manipulation and potential therapeutic exploitation. *Pharmacol Res* 60, 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2009.02.010>
- Di Marzo, V., Goparaju, S.K., Wang, L., Liu, J., Bátkai, S., Járαι, Z., Fezza, F., Miura, G.I., Palmiter, R.D., Sugiura, T., Kunos, G., 2001. Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature* 410, 822–825. <https://doi.org/10.1038/35071088>
- Di Marzo, V., Matias, I., 2005. Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nat Neurosci* 8, 585–589. <https://doi.org/10.1038/nn1457>
- Dingess, P.M., Harkness, J.H., Slaker, M., Zhang, Z., Wulff, S.S., Sorg, B.A., Brown, T.E., 2018. Consumption of a High-Fat Diet Alters Perineuronal Nets in the Prefrontal Cortex. *Neural Plast* 2018, 2108373. <https://doi.org/10.1155/2018/2108373>
- Dingess, P.M., Zhang, Z., Sorg, B.A., Ferrario, C.R., Brown, T.E., 2020. Sex and region-specific effects of high fat diet on PNNs in obesity susceptible rats. *Physiol Behav* 222, 112963. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.112963>
- DiPatrizio, N.V., 2016. Endocannabinoids in the Gut. *Cannabis Cannabinoid Res* 1, 67–77. <https://doi.org/10.1089/can.2016.0001>
- Dombret, C., Naulé, L., Trouillet, A.-C., Parmentier, C., Hardin-Pouzet, H., Mhaouty-Kodja, S., 2020. Effects of neural estrogen receptor beta deletion on social and mood-related behaviors and underlying mechanisms in male mice. *Sci Rep* 10, 6242. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63427-4>
- Dubal, D.B., Shughrue, P.J., Wilson, M.E., Merchenthaler, I., Wise, P.M., 1999. Estradiol modulates bcl-2 in cerebral ischemia: a potential role for estrogen receptors. *J Neurosci* 19, 6385–6393. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-15-06385.1999>
- Dubreucq, S., Matias, I., Cardinal, P., Häring, M., Lutz, B., Marsicano, G., Chaouloff, F., 2012. Genetic Dissection of the Role of Cannabinoid Type-1 Receptors in the Emotional Consequences of Repeated Social Stress in Mice. *Neuropsychopharmacology* 37, 1885–1900. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.36>
- Duclos, M., Gatta, B., Corcuff, J.B., Rashedi, M., Pehourcq, F., Roger, P., 2001. Fat distribution in obese women is associated with subtle alterations of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and sensitivity to glucocorticoids. *Clin Endocrinol (Oxf)* 55, 447–454. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2265.2001.01384.x>
- Dudai, Y., 2004. The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol* 55, 51–86. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.55.090902.142050>

Duff, S.J., Hampson, E., 2001. A sex difference on a novel spatial working memory task in humans. *Brain Cogn* 47, 470–493. <https://doi.org/10.1006/brcg.2001.1326>

E.

- Eacott, M.J., Norman, G., 2004. Integrated memory for object, place, and context in rats: a possible model of episodic-like memory? *J Neurosci* 24, 1948–1953. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2975-03.2004>
- Egertová, M., Elphick, M.R., 2000. Localisation of cannabinoid receptors in the rat brain using antibodies to the intracellular C-terminal tail of CB. *J Comp Neurol* 422, 159–171. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9861\(20000626\)422:2<159::aid-cne1>3.0.co;2-1](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(20000626)422:2<159::aid-cne1>3.0.co;2-1)
- Eggen, S.M., Lewis, D.A., 2007. Immunocytochemical distribution of the cannabinoid CB1 receptor in the primate neocortex: a regional and laminar analysis. *Cereb Cortex* 17, 175–191. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhj136>
- Eichenbaum, H., Mathews, P., Cohen, N.J., 1989. Further studies of hippocampal representation during odor discrimination learning. *Behav Neurosci* 103, 1207–1216. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.103.6.1207>
- Eichenbaum, H., Yonelinas, A.P., Ranganath, C., 2007. The medial temporal lobe and recognition memory. *Annu Rev Neurosci* 30, 123–152. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.30.051606.094328>
- Ellgren, M., Artmann, A., Tkalych, O., Gupta, A., Hansen, H.S., Hansen, S.H., Devi, L.A., Hurd, Y.L., 2008. Dynamic changes of the endogenous cannabinoid and opioid mesocorticolimbic systems during adolescence: THC effects. *Eur Neuropsychopharmacol* 18, 826–834. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2008.06.009>
- El-Talatini, M.R., Taylor, A.H., Konje, J.C., 2010. The relationship between plasma levels of the endocannabinoid, anandamide, sex steroids, and gonadotrophins during the menstrual cycle. *Fertil Steril* 93, 1989–1996. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.12.033>
- Engeli, S., 2008. Dysregulation of the endocannabinoid system in obesity. *J Neuroendocrinol* 20 Suppl 1, 110–115. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01683.x>
- Engeli, S., Böhnke, J., Feldpausch, M., Gorzelniak, K., Janke, J., Bátkai, S., Pacher, P., Harvey-White, J., Luft, F.C., Sharma, A.M., Jordan, J., 2005. Activation of the peripheral endocannabinoid system in human obesity. *Diabetes* 54, 2838–2843. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.10.2838>
- Engeli, S., Jordan, J., 2006. The endocannabinoid system: body weight and metabolic regulation. *Clin Cornerstone* 8 Suppl 4, S24-35. [https://doi.org/10.1016/s1098-3597\(06\)80041-4](https://doi.org/10.1016/s1098-3597(06)80041-4)
- Ennaceur, A., Delacour, J., 1988. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behav Brain Res* 31, 47–59. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(88\)90157-x](https://doi.org/10.1016/0166-4328(88)90157-x)
- Erion, J.R., Wosiski-Kuhn, M., Dey, A., Hao, S., Davis, C.L., Pollock, N.K., Stranahan, A.M., 2014. Obesity elicits interleukin 1-mediated deficits in hippocampal synaptic plasticity. *J Neurosci* 34, 2618–2631. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4200-13.2014>
- Espeland, M.A., Hogan, P.E., Fineberg, S.E., Howard, G., Schrott, H., Waclawiw, M.A., Bush, T.L., 1998. Effect of postmenopausal hormone therapy on glucose and insulin concentrations. PEPI Investigators. Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions. *Diabetes Care* 21, 1589–1595. <https://doi.org/10.2337/diacare.21.10.1589>
- Etchamendy, N., Desmedt, A., Cortes-Torrea, C., Marighetto, A., Jaffard, R., 2003. Hippocampal lesions and discrimination performance of mice in the radial maze: Sparing or impairment depending on the representational demands of the task. *Hippocampus* 13, 197–211. <https://doi.org/10.1002/hipo.10055>
- Euston, D.R., Gruber, A.J., McNaughton, B.L., 2012. The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making. *Neuron* 76, 1057–1070. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.002>
- Evans, H.M., Long, J.A., 1922. Characteristic Effects upon Growth, Oestrus and Ovulation Induced by the Intraperitoneal Administration of Fresh Anterior Hypophyseal Substance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 8, 38–39. <https://doi.org/10.1073/pnas.8.3.38>

F.

- Fanselow, M.S., 1980. Conditioned and unconditional components of post-shock freezing. *Pavlov J Biol Sci* 15, 177–182. <https://doi.org/10.1007/BF03001163>
- Fanselow, M.S., Dong, H.-W., 2010. Are The Dorsal and Ventral Hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.031>
- Farr, S.A., Yamada, K.A., Butterfield, D.A., Abdul, H.M., Xu, L., Miller, N.E., Banks, W.A., Morley, J.E., 2008. Obesity and hypertriglyceridemia produce cognitive impairment. *Endocrinology* 149, 2628–2636. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1722>
- Fernandez, S.M., Lewis, M.C., Pechenino, A.S., Harburger, L.L., Orr, P.T., Gresack, J.E., Schafe, G.E., Frick, K.M., 2008. Estradiol-Induced Enhancement of Object Memory Consolidation Involves Hippocampal Extracellular Signal-Regulated Kinase Activation and Membrane-Bound Estrogen Receptors. *J Neurosci* 28, 8660–8667. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1968-08.2008>
- Ferraro, A., Wig, P., Boscarino, J., Reich, C.G., 2020. Sex differences in endocannabinoid modulation of rat CA1 dendritic neurotransmission. *Neurobiol Stress* 13, 100283. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2020.100283>
- Flavell, S.W., Greenberg, M.E., 2008. Signaling mechanisms linking neuronal activity to gene expression and plasticity of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 31, 563–590. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.31.060407.125631>
- Fleischer, A.W., Frick, K.M., 2023. New perspectives on sex differences in learning and memory. *Trends Endocrinol Metab* 34, 526–538. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.06.003>
- Fontbonne, A., Currie, A., Tounian, P., Picot, M.-C., Foulatier, O., Nedelcu, M., Nocca, D., 2023. Prevalence of Overweight and Obesity in France: The 2020 Obepi-Roche Study by the “Ligue Contre l’Obésité.” *J Clin Med* 12, 925. <https://doi.org/10.3390/jcm12030925>
- Fortress, A.M., Fan, L., Orr, P.T., Zhao, Z., Frick, K.M., 2013. Estradiol-induced object recognition memory consolidation is dependent on activation of mTOR signaling in the dorsal hippocampus. *Learn Mem* 20, 147–155. <https://doi.org/10.1101/lm.026732.112>
- Forwood, S.E., Winters, B.D., Bussey, T.J., 2005. Hippocampal lesions that abolish spatial maze performance spare object recognition memory at delays of up to 48 hours. *Hippocampus* 15, 347–355. <https://doi.org/10.1002/hipo.20059>
- Francis, H., Stevenson, R., 2013. The longer-term impacts of Western diet on human cognition and the brain. *Appetite* 63, 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2012.12.018>
- Francis, H.M., Stevenson, R.J., 2011. Higher reported saturated fat and refined sugar intake is associated with reduced hippocampal-dependent memory and sensitivity to interoceptive signals. *Behav Neurosci* 125, 943–955. <https://doi.org/10.1037/a0025998>
- Frankland, P.W., Bontempi, B., 2005. The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci* 6, 119–130. <https://doi.org/10.1038/nrn1607>
- Frankland, P.W., Cestari, V., Filipkowski, R.K., McDonald, R.J., Silva, A.J., 1998. The dorsal hippocampus is essential for context discrimination but not for contextual conditioning. *Behav Neurosci* 112, 863–874. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.112.4.863>
- Freeman, L.R., Zhang, L., Nair, A., Dasuri, K., Francis, J., Fernandez-Kim, S.-O., Bruce-Keller, A.J., Keller, J.N., 2013. Obesity increases cerebrocortical reactive oxygen species and impairs brain function. *Free Radic Biol Med* 56, 226–233. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.08.577>
- Freund, T.F., Katona, I., Piomelli, D., 2003. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev* 83, 1017–1066. <https://doi.org/10.1152/physrev.00004.2003>
- Frick, K.M., Berger-Sweeney, J., 2001. Spatial reference memory and neocortical neurochemistry vary with the estrous cycle in C57BL/6 mice. *Behav Neurosci* 115, 229–237. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.115.1.229>
- Frick, K.M., Burlingame, L.A., Arters, J.A., Berger-Sweeney, J., 2000. Reference memory, anxiety and estrous cyclicity in C57BL/6NIA mice are affected by age and sex. *Neuroscience* 95, 293–307. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(99\)00418-2](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(99)00418-2)

- Frick, K.M., Kim, J., Tuscher, J.J., Fortress, A.M., 2015. Sex steroid hormones matter for learning and memory: estrogenic regulation of hippocampal function in male and female rodents. *Learn Mem* 22, 472–493. <https://doi.org/10.1101/lm.037267.114>
- Frick, K.M., Tuscher, J.J., Koss, W.A., Kim, J., Taxier, L.R., 2018. Estrogenic regulation of memory consolidation: A look beyond the hippocampus, ovaries, and females. *Physiol Behav* 187, 57–66. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.07.028>

G.

- Gabbott, P.L.A., Warner, T.A., Jays, P.R.L., Salway, P., Busby, S.J., 2005. Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *J Comp Neurol* 492, 145–177. <https://doi.org/10.1002/cne.20738>
- Gallou-Kabani, C., Vigé, A., Gross, M.-S., Boileau, C., Rabes, J.-P., Fruchart-Najib, J., Jais, J.-P., Junien, C., 2007. Resistance to high-fat diet in the female progeny of obese mice fed a control diet during the periconceptual, gestation, and lactation periods. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 292, E1095–1100. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00390.2006>
- Gambacciani, M., Ciaponi, M., Cappagli, B., De Simone, L., Orlandi, R., Genazzani, A.R., 2001. Prospective evaluation of body weight and body fat distribution in early postmenopausal women with and without hormonal replacement therapy. *Maturitas* 39, 125–132. [https://doi.org/10.1016/s0378-5122\(01\)00194-3](https://doi.org/10.1016/s0378-5122(01)00194-3)
- Ganon-Elazar, E., Akirav, I., 2009. Cannabinoid receptor activation in the basolateral amygdala blocks the effects of stress on the conditioning and extinction of inhibitory avoidance. *J Neurosci* 29, 11078–11088. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1223-09.2009>
- Gao, Q., Mezei, G., Nie, Y., Rao, Y., Choi, C.S., Bechmann, I., Leranth, C., Toran-Allerand, D., Priest, C.A., Roberts, J.L., Gao, X.-B., Mobbs, C., Shulman, G.I., Diano, S., Horvath, T.L., 2007. Anorectic estrogen mimics leptin's effect on the rewiring of melanocortin cells and Stat3 signaling in obese animals. *Nat Med* 13, 89–94. <https://doi.org/10.1038/nm1525>
- Garcia-Serrano, A.M., Mohr, A.A., Philippe, J., Skoug, C., Spéjel, P., Duarte, J.M.N., 2022. Cognitive Impairment and Metabolite Profile Alterations in the Hippocampus and Cortex of Male and Female Mice Exposed to a Fat and Sugar-Rich Diet are Normalized by Diet Reversal. *Aging Dis* 13, 267–283. <https://doi.org/10.14336/AD.2021.0720>
- Gazzerro, P., Caruso, M.G., Notarnicola, M., Misciagna, G., Guerra, V., Laezza, C., Bifulco, M., 2007. Association between cannabinoid type-1 receptor polymorphism and body mass index in a southern Italian population. *Int J Obes (Lond)* 31, 908–912. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803510>
- Gérard, C.M., Mollereau, C., Vassart, G., Parmentier, M., 1991. Molecular cloning of a human cannabinoid receptor which is also expressed in testis. *Biochem J* 279, 129–134.
- Gerdeman, G.L., Ronesi, J., Lovinger, D.M., 2002. Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. *Nat Neurosci* 5, 446–451. <https://doi.org/10.1038/nn832>
- Ghetti, S., Bunge, S.A., 2012. Neural changes underlying the development of episodic memory during middle childhood. *Dev Cogn Neurosci* 2, 381–395. <https://doi.org/10.1016/j.dcn.2012.05.002>
- Gibbs, R.B., 1999. Estrogen replacement enhances acquisition of a spatial memory task and reduces deficits associated with hippocampal muscarinic receptor inhibition. *Horm Behav* 36, 222–233. <https://doi.org/10.1006/hbeh.1999.1541>
- Gilgenkrantz, H., Lotersztajn, S., 2018. Antagonistes du récepteur CB1 des cannabinoïdes et obésité - Le tissu adipeux au coeur du débat! *Med Sci (Paris)* 34, 296–299. <https://doi.org/10.1051/medsci/20183404006>
- Ginder, D.E., Wright, H.R., McLaughlin, R.J., 2022. The stoned age: Sex differences in the effects of adolescent cannabinoid exposure on prefrontal cortex structure and function in animal models. *Int Rev Neurobiol* 161, 121–145. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2021.07.005>
- Glass, M., Dragunow, M., Faull, R.L., 1997. Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience* 77, 299–318. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(96\)00428-9](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(96)00428-9)

- Glushchak, K., Ficarro, A., Schoenfeld, T.J., 2021. High-fat diet and acute stress have different effects on object preference tests in rats during adolescence and adulthood. *Behav Brain Res* 399, 112993. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112993>
- Gómez del Pulgar, T., Velasco, G., Guzmán, M., 2000. The CB1 cannabinoid receptor is coupled to the activation of protein kinase B/Akt. *Biochem J* 347, 369–373.
- Gong, J.-P., Onaivi, E.S., Ishiguro, H., Liu, Q.-R., Tagliaferro, P.A., Brusco, A., Uhl, G.R., 2006. Cannabinoid CB2 receptors: immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Res* 1071, 10–23. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.11.035>
- González, S., Bisogno, T., Wenger, T., Manzanares, J., Milone, A., Berrendero, F., Di Marzo, V., Ramos, J.A., Fernández-Ruiz, J.J., 2000. Sex steroid influence on cannabinoid CB(1) receptor mRNA and endocannabinoid levels in the anterior pituitary gland. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 270, 260–266. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.2406>
- Gorzalka, B.B., Dang, S.S., 2012. Minireview: Endocannabinoids and gonadal hormones: bidirectional interactions in physiology and behavior. *Endocrinology* 153, 1016–1024. <https://doi.org/10.1210/en.2011-1643>
- Goto, Y., Yang, C.R., Otani, S., 2010. Functional and dysfunctional synaptic plasticity in prefrontal cortex: roles in psychiatric disorders. *Biol Psychiatry* 67, 199–207. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.08.026>
- Greenwood, C.E., Winocur, G., 2005. High-fat diets, insulin resistance and declining cognitive function. *Neurobiol Aging* 26 Suppl 1, 42–45. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2005.08.017>
- Gresack, J.E., Frick, K.M., 2006. Post-training estrogen enhances spatial and object memory consolidation in female mice. *Pharmacol Biochem Behav* 84, 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.04.013>
- Gruene, T.M., Flick, K., Stefano, A., Shea, S.D., Shansky, R.M., 2015. Sexually divergent expression of active and passive conditioned fear responses in rats. *Elife* 4, e11352. <https://doi.org/10.7554/eLife.11352>
- Guennoun, R., 2020. Progesterone in the Brain: Hormone, Neurosteroid and Neuroprotectant. *Int J Mol Sci* 21, 5271. <https://doi.org/10.3390/ijms21155271>
- Gulyas, A.I., Cravatt, B.F., Bracey, M.H., Dinh, T.P., Piomelli, D., Boscia, F., Freund, T.F., 2004. Segregation of two endocannabinoid-hydrolyzing enzymes into pre- and postsynaptic compartments in the rat hippocampus, cerebellum and amygdala. *Eur J Neurosci* 20, 441–458. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03428.x>
- Gunstad, J., Lhotsky, A., Wendell, C.R., Ferrucci, L., Zonderman, A.B., 2010. Longitudinal examination of obesity and cognitive function: results from the Baltimore longitudinal study of aging. *Neuroepidemiology* 34, 222–229. <https://doi.org/10.1159/000297742>
- Gunstad, J., Spitznagel, M.B., Paul, R.H., Cohen, R.A., Kohn, M., Luyster, F.S., Clark, R., Williams, L.M., Gordon, E., 2008. Body mass index and neuropsychological function in healthy children and adolescents. *Appetite* 50, 246–251. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2007.07.008>
- Gupta, R.R., Sen, S., Diepenhorst, L.L., Rudick, C.N., Maren, S., 2001. Estrogen modulates sexually dimorphic contextual fear conditioning and hippocampal long-term potentiation (LTP) in rats(1). *Brain Res* 888, 356–365. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(00\)03116-4](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(00)03116-4)
- Gutiérrez-Rodríguez, A., Bonilla-Del Río, I., Puente, N., Gómez-Urquijo, S.M., Fontaine, C.J., Egaña-Huguet, J., Elezgarai, I., Ruehle, S., Lutz, B., Robin, L.M., Soria-Gómez, E., Bellocchio, L., Padwal, J.D., van der Stelt, M., Mendizabal-Zubiaga, J., Reguero, L., Ramos, A., Gerrikagoitia, I., Marsicano, G., Grandes, P., 2018. Localization of the cannabinoid type-1 receptor in subcellular astrocyte compartments of mutant mouse hippocampus. *Glia* 66, 1417–1431. <https://doi.org/10.1002/glia.23314>

H.

- Habayeb, O.M.H., Bell, S.C., Konje, J.C., 2002. Endogenous cannabinoids: metabolism and their role in reproduction. *Life Sci* 70, 1963–1977. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(01\)01539-9](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(01)01539-9)
- Hampson, E., 1990a. Estrogen-related variations in human spatial and articulatory-motor skills. *Psychoneuroendocrinology* 15, 97–111. [https://doi.org/10.1016/0306-4530\(90\)90018-5](https://doi.org/10.1016/0306-4530(90)90018-5)
- Hampson, E., 1990b. Variations in sex-related cognitive abilities across the menstrual cycle. *Brain Cogn* 14, 26–43. [https://doi.org/10.1016/0278-2626\(90\)90058-v](https://doi.org/10.1016/0278-2626(90)90058-v)

- Hampson, R.E., Deadwyler, S.A., 2000. Cannabinoids Reveal the Necessity of Hippocampal Neural Encoding for Short-Term Memory in Rats. *J Neurosci* 20, 8932–8942. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-23-08932.2000>
- Han, J., Kesner, P., Metna-Laurent, M., Duan, T., Xu, L., Georges, F., Koehl, M., Abrous, D.N., Mendizabal-Zubiaga, J., Grandes, P., Liu, Q., Bai, G., Wang, W., Xiong, L., Ren, W., Marsicano, G., Zhang, X., 2012. Acute cannabinoids impair working memory through astroglial CB1 receptor modulation of hippocampal LTD. *Cell* 148, 1039–1050. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.037>
- Hansen, D., Dendale, P., Beelen, M., Jonkers, R.A.M., Mullens, A., Corluy, L., Meeusen, R., van Loon, L.J.C., 2010. Plasma adipokine and inflammatory marker concentrations are altered in obese, as opposed to non-obese, type 2 diabetes patients. *Eur J Appl Physiol* 109, 397–404. <https://doi.org/10.1007/s00421-010-1362-5>
- Hanus, L., Avraham, Y., Ben-Shushan, D., Zolotarev, O., Berry, E.M., Mechoulam, R., 2003. Short-term fasting and prolonged semistarvation have opposite effects on 2-AG levels in mouse brain. *Brain Res* 983, 144–151. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(03\)03046-4](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(03)03046-4)
- Harkany, T., Guzmán, M., Galve-Roperh, I., Berghuis, P., Devi, L.A., Mackie, K., 2007. The emerging functions of endocannabinoid signaling during CNS development. *Trends Pharmacol Sci* 28, 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2006.12.004>
- Harrold, J.A., Elliott, J.C., King, P.J., Widdowson, P.S., Williams, G., 2002. Down-regulation of cannabinoid-1 (CB-1) receptors in specific extrahypothalamic regions of rats with dietary obesity: a role for endogenous cannabinoids in driving appetite for palatable food? *Brain Res* 952, 232–238. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(02\)03245-6](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(02)03245-6)
- Harte, L.C., Dow-Edwards, D., 2010. Sexually dimorphic alterations in locomotion and reversal learning after adolescent tetrahydrocannabinol exposure in the rat. *Neurotoxicol Teratol* 32, 515–524. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2010.05.001>
- Hayashi, R., Kasahara, Y., Hidema, S., Fukumitsu, S., Nakagawa, K., Nishimori, K., 2020. Oxytocin Ameliorates Impaired Behaviors of High Fat Diet-Induced Obese Mice. *Front Endocrinol (Lausanne)* 11, 379. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00379>
- Hebert-Chatelain, E., Desprez, T., Serrat, R., Bellocchio, L., Soria-Gomez, E., Busquets-Garcia, A., Pagano Zottola, A.C., Delamarre, A., Cannich, A., Vincent, P., Varilh, M., Robin, L.M., Terral, G., García-Fernández, M.D., Colavita, M., Mazier, W., Drago, F., Puente, N., Reguero, L., Elezgarai, I., Dupuy, J.-W., Cota, D., Lopez-Rodriguez, M.-L., Barreda-Gómez, G., Massa, F., Grandes, P., Bénard, G., Marsicano, G., 2016. A cannabinoid link between mitochondria and memory. *Nature* 539, 555–559. <https://doi.org/10.1038/nature20127>
- Heidbreder, C.A., Groenewegen, H.J., 2003. The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neurosci Biobehav Rev* 27, 555–579. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.09.003>
- Heine, P.A., Taylor, J.A., Iwamoto, G.A., Lubahn, D.B., Cooke, P.S., 2000. Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor-alpha knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 12729–12734. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.23.12729>
- Heng, L., Beverley, J.A., Steiner, H., Tseng, K.Y., 2011. Differential developmental trajectories for CB1 cannabinoid receptor expression in limbic/associative and sensorimotor cortical areas. *Synapse* 65, 278–286. <https://doi.org/10.1002/syn.20844>
- Henke, K., 2010. A model for memory systems based on processing modes rather than consciousness. *Nat Rev Neurosci* 11, 523–532. <https://doi.org/10.1038/nrn2850>
- Herkenham, M., Lynn, A.B., Little, M.D., Johnson, M.R., Melvin, L.S., de Costa, B.R., Rice, K.C., 1990. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87, 1932–1936. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.5.1932>
- Higgs, H.N., Glomset, J.A., 1994. Identification of a phosphatidic acid-preferring phospholipase A1 from bovine brain and testis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91, 9574–9578. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.20.9574>
- Hill, M.N., Gorzalka, B.B., 2006. Increased sensitivity to restraint stress and novelty-induced emotionality following long-term, high dose cannabinoid exposure. *Psychoneuroendocrinology* 31, 526–536. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2005.11.010>

- Hodes, G.E., Shors, T.J., 2005. Distinctive stress effects on learning during puberty. *Horm Behav* 48, 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2005.02.008>
- Hohos, N.M., Cho, K.J., Swindle, D.C., Skaznik-Wikiel, M.E., 2018. High-fat diet exposure, regardless of induction of obesity, is associated with altered expression of genes critical to normal ovulatory function. *Mol Cell Endocrinol* 470, 199–207. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.10.016>
- Hojo, Y., Hattori, T.-A., Enami, T., Furukawa, A., Suzuki, K., Ishii, H.-T., Mukai, H., Morrison, J.H., Janssen, W.G.M., Kominami, S., Harada, N., Kimoto, T., Kawato, S., 2004. Adult male rat hippocampus synthesizes estradiol from pregnenolone by cytochromes P45017alpha and P450 aromatase localized in neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 865–870. <https://doi.org/10.1073/pnas.2630225100>
- Hojo, Y., Higo, S., Ishii, H., Ooishi, Y., Mukai, H., Murakami, G., Kominami, T., Kimoto, T., Honma, S., Poirier, D., Kawato, S., 2009. Comparison between hippocampus-synthesized and circulation-derived sex steroids in the hippocampus. *Endocrinology* 150, 5106–5112. <https://doi.org/10.1210/en.2009-0305>
- Hojo, Y., Murakami, G., Mukai, H., Higo, S., Hatanaka, Y., Ogiue-Ikeda, M., Ishii, H., Kimoto, T., Kawato, S., 2008. Estrogen synthesis in the brain—role in synaptic plasticity and memory. *Mol Cell Endocrinol* 290, 31–43. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2008.04.017>
- Holland, P.C., Bouton, M.E., 1999. Hippocampus and context in classical conditioning. *Curr Opin Neurobiol* 9, 195–202. [https://doi.org/10.1016/s0959-4388\(99\)80027-0](https://doi.org/10.1016/s0959-4388(99)80027-0)
- Holloway, C.J., Cochlin, L.E., Emmanuel, Y., Murray, A., Codreanu, I., Edwards, L.M., Szmigielski, C., Tyler, D.J., Knight, N.S., Saxby, B.K., Lambert, B., Thompson, C., Neubauer, S., Clarke, K., 2011. A high-fat diet impairs cardiac high-energy phosphate metabolism and cognitive function in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr* 93, 748–755. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.002758>
- Holmes, M.M., Wide, J.K., Galea, L.A.M., 2002. Low levels of estradiol facilitate, whereas high levels of estradiol impair, working memory performance on the radial arm maze. *Behav Neurosci* 116, 928–934. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.116.5.928>
- Hong, I., Coker-Bolt, P., Anderson, K.R., Lee, D., Velozo, C.A., 2016. Relationship Between Physical Activity and Overweight and Obesity in Children: Findings From the 2012 National Health and Nutrition Examination Survey National Youth Fitness Survey. *Am J Occup Ther* 70, 7005180060p1-7005180060p8. <https://doi.org/10.5014/ajot.2016.021212>
- Hsu, T.M., Konanur, V.R., Taing, L., Usui, R., Kayser, B.D., Goran, M.I., Kanoski, S.E., 2015. Effects of sucrose and high fructose corn syrup consumption on spatial memory function and hippocampal neuroinflammation in adolescent rats. *Hippocampus* 25, 227–239. <https://doi.org/10.1002/hipo.22368>
- Huang, Y.Y., Colley, P.A., Routtenberg, A., 1992. Postsynaptic then presynaptic protein kinase C activity may be necessary for long-term potentiation. *Neuroscience* 49, 819–827. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(92\)90359-a](https://doi.org/10.1016/0306-4522(92)90359-a)
- Hummel, K.P., Dickie, M.M., Coleman, D.L., 1966. Diabetes, a new mutation in the mouse. *Science* 153, 1127–1128. <https://doi.org/10.1126/science.153.3740.1127>
- Humphreys, G.I., Ziegler, Y.S., Nardulli, A.M., 2014. 17 β -Estradiol Modulates Gene Expression in the Female Mouse Cerebral Cortex. *PLoS One* 9, e111975. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111975>
- Huttenlocher, P.R., 1984. Synapse elimination and plasticity in developing human cerebral cortex. *Am J Ment Defic* 88, 488–496.
- Hwang, I.K., Yi, S.S., Kim, Y.N., Kim, I.Y., Lee, I.S., Yoon, Y.S., Seong, J.K., 2008. Reduced hippocampal cell differentiation in the subgranular zone of the dentate gyrus in a rat model of type II diabetes. *Neurochem Res* 33, 394–400. <https://doi.org/10.1007/s11064-007-9440-8>
- Hwang, L.-L., Wang, C.-H., Li, T.-L., Chang, S.-D., Lin, L.-C., Chen, C.-P., Chen, C.-T., Liang, K.-C., Ho, I.-K., Yang, W.-S., Chiou, L.-C., 2010. Sex differences in high-fat diet-induced obesity, metabolic alterations and learning, and synaptic plasticity deficits in mice. *Obesity (Silver Spring)* 18, 463–469. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.273>

I.

- Inagaki, T., Frankfurt, M., Luine, V., 2012. Estrogen-induced memory enhancements are blocked by acute bisphenol A in adult female rats: role of dendritic spines. *Endocrinology* 153, 3357–3367. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1121>
- Inagaki, T., Gautreaux, C., Luine, V., 2010. Acute estrogen treatment facilitates recognition memory consolidation and alters monoamine levels in memory-related brain areas. *Horm Behav* 58, 415–426. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2010.05.013>
- Insel, T.R., Miller, L.P., Gelhard, R.E., 1990. The ontogeny of excitatory amino acid receptors in rat forebrain--I. N-methyl-D-aspartate and quisqualate receptors. *Neuroscience* 35, 31–43. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(90\)90117-m](https://doi.org/10.1016/0306-4522(90)90117-m)
- Ishunina, T.A., Fischer, D.F., Swaab, D.F., 2007. Estrogen receptor alpha and its splice variants in the hippocampus in aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 28, 1670–1681. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2006.07.024>
- Isokawa, M., Alger, B.E., 2005. Retrograde endocannabinoid regulation of GABAergic inhibition in the rat dentate gyrus granule cell. *J Physiol* 567, 1001–1010. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.094219>

J.

- Jacka, F.N., Cherbuin, N., Anstey, K.J., Sachdev, P., Butterworth, P., 2015. Western diet is associated with a smaller hippocampus: a longitudinal investigation. *BMC Med* 13, 215. <https://doi.org/10.1186/s12916-015-0461-x>
- Jacob, W., Yassouridis, A., Marsicano, G., Monory, K., Lutz, B., Wotjak, C.T., 2009. Endocannabinoids render exploratory behaviour largely independent of the test aversiveness: role of glutamatergic transmission. *Genes Brain Behav* 8, 685–698. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2009.00512.x>
- Jagust, W., Harvey, D., Mungas, D., Haan, M., 2005. Central obesity and the aging brain. *Arch Neurol* 62, 1545–1548. <https://doi.org/10.1001/archneur.62.10.1545>
- Jamshidi, N., Taylor, D.A., 2001. Anandamide administration into the ventromedial hypothalamus stimulates appetite in rats. *Br J Pharmacol* 134, 1151–1154. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704379>
- Janthakhin, Y., Kingtong, S., Juntapremjit, S., 2022. Inhibition of glucocorticoid synthesis alleviates cognitive impairment in high-fat diet-induced obese mice. *Compr Psychoneuroendocrinol* 10, 100130. <https://doi.org/10.1016/j.cpne.2022.100130>
- Jaworowska, A., Blackham, T., Davies, I.G., Stevenson, L., 2013. Nutritional challenges and health implications of takeaway and fast food. *Nutr Rev* 71, 310–318. <https://doi.org/10.1111/nure.12031>
- Jennings, E.A., Vaughan, C.W., Roberts, L.A., Christie, M.J., 2003. The actions of anandamide on rat superficial medullary dorsal horn neurons in vitro. *J Physiol* 548, 121–129. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.035063>
- Jeon, B.T., Jeong, E.A., Shin, H.J., Lee, Y., Lee, D.H., Kim, H.J., Kang, S.S., Cho, G.J., Choi, W.S., Roh, G.S., 2012. Resveratrol attenuates obesity-associated peripheral and central inflammation and improves memory deficit in mice fed a high-fat diet. *Diabetes* 61, 1444–1454. <https://doi.org/10.2337/db11-1498>
- Jeong, M.-Y., Jang, H.-M., Kim, D.-H., 2019. High-fat diet causes psychiatric disorders in mice by increasing Proteobacteria population. *Neurosci Lett* 698, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.01.006>
- Jessop, D.S., Dallman, M.F., Fleming, D., Lightman, S.L., 2001. Resistance to glucocorticoid feedback in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 86, 4109–4114. <https://doi.org/10.1210/jcem.86.9.7826>
- Joel, D., Berman, Z., Tavor, I., Wexler, N., Gaber, O., Stein, Y., Shefi, N., Pool, J., Urchs, S., Margulies, D.S., Liem, F., Hänggi, J., Jäncke, L., Assaf, Y., 2015. Sex beyond the genitalia: The human brain mosaic. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112, 15468–15473. <https://doi.org/10.1073/pnas.1509654112>

- Jonasson, Z., 2005. Meta-analysis of sex differences in rodent models of learning and memory: a review of behavioral and biological data. *Neurosci Biobehav Rev* 28, 811–825. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.10.006>
- Juraska, J.M., Markham, J.A., 2004. The cellular basis for volume changes in the rat cortex during puberty: white and gray matter. *Ann N Y Acad Sci* 1021, 431–435. <https://doi.org/10.1196/annals.1308.058>

K.

- Kaisari, P., Yannakoulia, M., Panagiotakos, D.B., 2013. Eating frequency and overweight and obesity in children and adolescents: a meta-analysis. *Pediatrics* 131, 958–967. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-3241>
- Kamprath, K., Plendl, W., Marsicano, G., Deussing, J.M., Wurst, W., Lutz, B., Wotjak, C.T., 2009. Endocannabinoids mediate acute fear adaptation via glutamatergic neurons independently of corticotropin-releasing hormone signaling. *Genes Brain Behav* 8, 203–211. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2008.00463.x>
- Kanit, L., Taskiran, D., Yilmaz, O.A., Balkan, B., Demirgören, S., Furedy, J.J., Pöğün, S., 2000. Sexually dimorphic cognitive style in rats emerges after puberty. *Brain Res Bull* 52, 243–248. [https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(00\)00232-x](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(00)00232-x)
- Kano, M., Ohno-Shosaku, T., Hashimoto-dani, Y., Uchigashima, M., Watanabe, M., 2009. Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. *Physiol Rev* 89, 309–380. <https://doi.org/10.1152/physrev.00019.2008>
- Kanoski, S.E., Davidson, T.L., 2011. Western diet consumption and cognitive impairment: links to hippocampal dysfunction and obesity. *Physiol Behav* 103, 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.12.003>
- Kanoski, S.E., Meisel, R.L., Mullins, A.J., Davidson, T.L., 2007. The effects of energy-rich diets on discrimination reversal learning and on BDNF in the hippocampus and prefrontal cortex of the rat. *Behav Brain Res* 182, 57–66. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.05.004>
- Kanoski, S.E., Zhang, Y., Zheng, W., Davidson, T.L., 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, 207. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-091414>
- Kansra, A.R., Lakkunarajah, S., Jay, M.S., 2020. Childhood and Adolescent Obesity: A Review. *Front Pediatr* 8, 581461. <https://doi.org/10.3389/fped.2020.581461>
- Katona, I., Freund, T.F., 2012. Multiple functions of endocannabinoid signaling in the brain. *Annu Rev Neurosci* 35, 529–558. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062111-150420>
- Katona, I., Sperlágh, B., Sík, A., Káfalvi, A., Vizi, E.S., Mackie, K., Freund, T.F., 1999. Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *J Neurosci* 19, 4544–4558.
- Katona, I., Urbán, G.M., Wallace, M., Ledent, C., Jung, K.-M., Piomelli, D., Mackie, K., Freund, T.F., 2006. Molecular composition of the endocannabinoid system at glutamatergic synapses. *J Neurosci* 26, 5628–5637. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0309-06.2006>
- Kawaguchi, Y., Kondo, S., 2002. Parvalbumin, somatostatin and cholecystokinin as chemical markers for specific GABAergic interneuron types in the rat frontal cortex. *J Neurocytol* 31, 277–287. <https://doi.org/10.1023/a:1024126110356>
- Kawamura, Y., Fukaya, M., Maejima, T., Yoshida, T., Miura, E., Watanabe, M., Ohno-Shosaku, T., Kano, M., 2006. The CB1 cannabinoid receptor is the major cannabinoid receptor at excitatory presynaptic sites in the hippocampus and cerebellum. *J Neurosci* 26, 2991–3001. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4872-05.2006>
- Kelly, D.M., Jones, T.H., 2015. Testosterone and obesity. *Obes Rev* 16, 581–606. <https://doi.org/10.1111/obr.12282>
- Kendig, M.D., Westbrook, R.F., Morris, M.J., 2019. Pattern of access to cafeteria-style diet determines fat mass and degree of spatial memory impairments in rats. *Sci Rep* 9, 13516. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50113-3>
- Kerns, K.A., Berenbaum, S.A., 1991. Sex differences in spatial ability in children. *Behav Genet* 21, 383–396. <https://doi.org/10.1007/BF01065974>

- Kesner, 2013. Volume 8: pp. 29-59 | *Comparative Cognition & Behavior Reviews*. URL https://comparative-cognition-and-behavior-reviews.org/vol8_kesner/ (accessed 10.14.23).
- Khan, L., 2019. Puberty: Onset and Progression. *Pediatr Ann* 48, e141–e145. <https://doi.org/10.3928/19382359-20190322-01>
- Khan, N.A., Baym, C.L., Monti, J.M., Raine, L.B., Drollette, E.S., Scudder, M.R., Moore, R.D., Kramer, A.F., Hillman, C.H., Cohen, N.J., 2015. Central Adiposity is Negatively Associated with Hippocampal-Dependent Relational Memory among Overweight and Obese Children. *J Pediatr* 166, 302-308.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2014.10.008>
- Khazen, T., Hatoum, O.A., Ferreira, G., Maroun, M., 2019. Acute exposure to a high-fat diet in juvenile male rats disrupts hippocampal-dependent memory and plasticity through glucocorticoids. *Scientific Reports* 9, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48800-2>
- Khazen, T., Narattil, N.R., Ferreira, G., Maroun, M., 2023. Hippocampal oxytocin is involved in spatial memory and synaptic plasticity deficits following acute high-fat diet intake in juvenile rats. *Cereb Cortex* 33, 3934–3943. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhac317>
- Kim, J.J., Fanselow, M.S., 1992. Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science* 256, 675–677. <https://doi.org/10.1126/science.1585183>
- Kim, W., Kwon, H.J., Jung, H.Y., Lim, S.-S., Kang, B.-G., Jo, Y.-B., Yu, D.-S., Choi, S.Y., Hwang, I.K., Kim, D.W., 2021. Extracts from the Leaves of *Cissus verticillata* Ameliorate High-Fat Diet-Induced Memory Deficits in Mice. *Plants (Basel)* 10, 1814. <https://doi.org/10.3390/plants10091814>
- Kimura, D., 2002. Sex hormones influence human cognitive pattern. *Neuro Endocrinol Lett* 23 Suppl 4, 67–77.
- Kiplinger, G.F., Manno, J.E., Rodda, B.E., Forney, R.B., 1971. Dose-response analysis of the effects of tetrahydrocannabinol in man. *Clin Pharmacol Ther* 12, 650–657. <https://doi.org/10.1002/cpt1971124650>
- Kirkham, T.C., Williams, C.M., Fezza, F., Di Marzo, V., 2002. Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *Br J Pharmacol* 136, 550–557. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704767>
- Klein, C., Jonas, W., Iggena, D., Empl, L., Rivalan, M., Wiedmer, P., Spranger, J., Hellweg, R., Winter, Y., Steiner, B., 2016. Exercise prevents high-fat diet-induced impairment of flexible memory expression in the water maze and modulates adult hippocampal neurogenesis in mice. *Neurobiol Learn Mem* 131, 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2016.03.002>
- Kleinridders, A., Ferris, H.A., Cai, W., Kahn, C.R., 2014. Insulin action in brain regulates systemic metabolism and brain function. *Diabetes* 63, 2232–2243. <https://doi.org/10.2337/db14-0568>
- Knopman, D., Boland, L.L., Mosley, T., Howard, G., Liao, D., Szklo, M., McGovern, P., Folsom, A.R., Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators, 2001. Cardiovascular risk factors and cognitive decline in middle-aged adults. *Neurology* 56, 42–48. <https://doi.org/10.1212/wnl.56.1.42>
- Kolb, B., Buhrmann, K., McDonald, R., Sutherland, R.J., 1994. Dissociation of the medial prefrontal, posterior parietal, and posterior temporal cortex for spatial navigation and recognition memory in the rat. *Cereb Cortex* 4, 664–680. <https://doi.org/10.1093/cercor/4.6.664>
- Kosari, S., Badoer, E., Nguyen, J.C.D., Killcross, A.S., Jenkins, T.A., 2012. Effect of western and high fat diets on memory and cholinergic measures in the rat. *Behav Brain Res* 235, 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.07.017>
- Koss, W.A., Frick, K.M., 2017. Sex differences in hippocampal function. *J Neurosci Res* 95, 539–562. <https://doi.org/10.1002/jnr.23864>
- Koszałka, A., Lustyk, K., Pytka, K., 2023. Sex-dependent differences in animal cognition. *Neurosci Biobehav Rev* 153, 105374. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105374>
- Krasnoff, A., Weston, L.M., 1976. Puberal status and sex differences: activity and maze behavior in rats. *Dev Psychobiol* 9, 261–269. <https://doi.org/10.1002/dev.420090310>
- Krebs, M.-O., Demars, F., Frajerman, A., Kebir, O., Jay, T., 2020. Cannabis et neurodéveloppement. *Bull Acad Natl Med* 204, 561–569. <https://doi.org/10.1016/j.banm.2020.04.002>

- Kreitzer, A.C., Regehr, W.G., 2001. Retrograde inhibition of presynaptic calcium influx by endogenous cannabinoids at excitatory synapses onto Purkinje cells. *Neuron* 29, 717–727. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00246-x](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00246-x)
- Kuehner, C., 2003. Gender differences in unipolar depression: an update of epidemiological findings and possible explanations. *Acta Psychiatr Scand* 108, 163–174. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0447.2003.00204.x>

L.

- Labouesse, M.A., Lassalle, O., Richetto, J., Iafrati, J., Weber-Stadlbauer, U., Notter, T., Gschwind, T., Pujadas, L., Soriano, E., Reichelt, A.C., Labouesse, C., Langhans, W., Chavis, P., Meyer, U., 2017. Hypervulnerability of the adolescent prefrontal cortex to nutritional stress via reelin deficiency. *Mol Psychiatry* 22, 961–971. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.193>
- Lafenêtre, P., Chaouloff, F., Marsicano, G., 2009. Bidirectional regulation of novelty-induced behavioral inhibition by the endocannabinoid system. *Neuropharmacology* 57, 715–721. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.07.014>
- Lafourcade, M., Elezgarai, I., Mato, S., Bakiri, Y., Grandes, P., Manzoni, O.J., 2007. Molecular components and functions of the endocannabinoid system in mouse prefrontal cortex. *PLoS One* 2, e709. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000709>
- Lai, H., Jia, X., Yu, Q., Zhang, C., Qiao, J., Guan, Y., Kang, J., 2014. High-fat diet induces significant metabolic disorders in a mouse model of polycystic ovary syndrome. *Biol Reprod* 91, 127. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.120063>
- Lampont, D.J., Lawton, C.L., Mansfield, M.W., Moulin, C.A.J., Dye, L., 2014. Type 2 diabetes and impaired glucose tolerance are associated with word memory source monitoring recollection deficits but not simple recognition familiarity deficits following water, low glycaemic load, and high glycaemic load breakfasts. *Physiol Behav* 124, 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.10.033>
- Lane, M.A., Bailey, S.J., 2005. Role of retinoid signalling in the adult brain. *Prog Neurobiol* 75, 275–293. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2005.03.002>
- Lang, C., Barco, A., Zablow, L., Kandel, E.R., Siegelbaum, S.A., Zakharenko, S.S., 2004. Transient expansion of synaptically connected dendritic spines upon induction of hippocampal long-term potentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 16665–16670. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407581101>
- Laurent, J.S., Watts, R., Adise, S., Allgaier, N., Chararani, B., Garavan, H., Potter, A., Mackey, S., 2020. Associations Among Body Mass Index, Cortical Thickness, and Executive Function in Children. *JAMA Pediatr* 174, 170–177. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2019.4708>
- Lawton, C.A., 1994. Gender differences in way-finding strategies: Relationship to spatial ability and spatial anxiety. *Sex Roles* 30, 765–779. <https://doi.org/10.1007/BF01544230>
- Le Foll, B., Gorelick, D.A., Goldberg, S.R., 2009. The future of endocannabinoid-oriented clinical research after CB1 antagonists. *Psychopharmacology (Berl)* 205, 171–174. <https://doi.org/10.1007/s00213-009-1506-7>
- LeDoux, J.E., 2000. Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci* 23, 155–184. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.23.1.155>
- Legendre, A., Harris, R.B.S., 2006. Exaggerated response to mild stress in rats fed high-fat diet. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 291, R1288–1294. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00234.2006>
- Leigh, S.-J., Morris, M.J., 2020. Diet, inflammation and the gut microbiome: Mechanisms for obesity-associated cognitive impairment. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 1866, 165767. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165767>
- Lenroot, R.K., Giedd, J.N., 2006. Brain development in children and adolescents: insights from anatomical magnetic resonance imaging. *Neurosci Biobehav Rev* 30, 718–729. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.06.001>
- Levin, E.R., 2005. Integration of the extranuclear and nuclear actions of estrogen. *Mol Endocrinol* 19, 1951–1959. <https://doi.org/10.1210/me.2004-0390>

- Li, X.-L., Aou, S., Oomura, Y., Hori, N., Fukunaga, K., Hori, T., 2002. Impairment of long-term potentiation and spatial memory in leptin receptor-deficient rodents. *Neuroscience* 113, 607–615. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(02\)00162-8](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(02)00162-8)
- Li, Y., Dai, Q., Jackson, J.C., Zhang, J., 2008. Overweight is associated with decreased cognitive functioning among school-age children and adolescents. *Obesity (Silver Spring)* 16, 1809–1815. <https://doi.org/10.1038/oby.2008.296>
- Lindqvist, A., Mohapel, P., Bouter, B., Frielingsdorf, H., Pizzo, D., Brundin, P., Erlanson-Albertsson, C., 2006. High-fat diet impairs hippocampal neurogenesis in male rats. *Eur J Neurol* 13, 1385–1388. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2006.01500.x>
- Little, J.P., Carter, A.G., 2012. Subcellular synaptic connectivity of layer 2 pyramidal neurons in the medial prefrontal cortex. *J Neurosci* 32, 12808–12819. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1616-12.2012>
- Liu, X., Li, X., Zhao, G., Wang, F., Wang, L., 2020. Sexual dimorphic distribution of cannabinoid 1 receptor mRNA in adult C57BL/6J mice. *J Comp Neurol* 528, 1986–1999. <https://doi.org/10.1002/cne.24868>
- Liu, X.-B., Murray, K.D., Jones, E.G., 2004. Switching of NMDA receptor 2A and 2B subunits at thalamic and cortical synapses during early postnatal development. *J Neurosci* 24, 8885–8895. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2476-04.2004>
- Liu, Y., Fu, X., Lan, N., Li, S., Zhang, J., Wang, S., Li, C., Shang, Y., Huang, T., Zhang, L., 2014. Luteolin protects against high fat diet-induced cognitive deficits in obesity mice. *Behav Brain Res* 267, 178–188. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.02.040>
- Liu, Y.L., Connoley, I.P., Wilson, C.A., Stock, M.J., 2005. Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 on oxygen consumption and soleus muscle glucose uptake in Lep(ob)/Lep(ob) mice. *Int J Obes (Lond)* 29, 183–187. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802847>
- Lizarbe, B., Soares, A.F., Larsson, S., Duarte, J.M.N., 2019. Neurochemical Modifications in the Hippocampus, Cortex and Hypothalamus of Mice Exposed to Long-Term High-Fat Diet. *Front Neurosci* 12, 985. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00985>
- Llano, I., Marty, A., Armstrong, C.M., Konnerth, A., 1991. Synaptic- and agonist-induced excitatory currents of Purkinje cells in rat cerebellar slices. *J Physiol* 434, 183–213.
- Llorente-Berzal, A., Assis, M.A., Rubino, T., Zamberletti, E., Marco, E.M., Parolaro, D., Ambrosio, E., Viveros, M.-P., 2013. Sex-dependent changes in brain CB1R expression and functionality and immune CB2R expression as a consequence of maternal deprivation and adolescent cocaine exposure. *Pharmacol Res* 74, 23–33. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2013.05.001>
- Lokken, K.L., Boeka, A.G., Austin, H.M., Gunstad, J., Harmon, C.M., 2009. Evidence of executive dysfunction in extremely obese adolescents: a pilot study. *Surg Obes Relat Dis* 5, 547–552. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2009.05.008>
- Long, L.E., Lind, J., Webster, M., Weickert, C.S., 2012. Developmental trajectory of the endocannabinoid system in human dorsolateral prefrontal cortex. *BMC Neurosci* 13, 87. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-13-87>
- Long, X., Yang, Q., Qian, J., Yao, H., Yan, R., Cheng, X., Zhang, Q., Gu, C., Gao, F., Wang, H., Zhang, L., Guo, F., 2021. Obesity modulates cell-cell interactions during ovarian folliculogenesis. *iScience* 25, 103627. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.103627>
- Loprinzi, P.D., Frith, E., 2018. Obesity and episodic memory function. *J Physiol Sci* 68, 321–331. <https://doi.org/10.1007/s12576-018-0612-x>
- Lovre, D., Lindsey, S.H., Mauvais-Jarvis, F., 2016. Effect of menopausal hormone therapy on components of the metabolic syndrome. *Ther Adv Cardiovasc Dis* 11, 33–43. <https://doi.org/10.1177/1753944716649358>
- Lu, H.-C., Mackie, K., 2016. An Introduction to the Endogenous Cannabinoid System. *Biol Psychiatry* 79, 516–525. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.07.028>
- Lu, J., Wu, D., Zheng, Y., Hu, B., Cheng, W., Zhang, Z., Shan, Q., 2011. Ursolic acid improves high fat diet-induced cognitive impairments by blocking endoplasmic reticulum stress and I κ B kinase β /nuclear factor- κ B-mediated inflammatory pathways in mice. *Brain Behav Immun* 25, 1658–1667. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.06.009>

- Lu, Y., Sareddy, G.R., Wang, J., Wang, R., Li, Y., Dong, Y., Zhang, Q., Liu, J., O'Connor, J.C., Xu, J., Vadlamudi, R.K., Brann, D.W., 2019. Neuron-Derived Estrogen Regulates Synaptic Plasticity and Memory. *J Neurosci* 39, 2792–2809. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1970-18.2019>
- Lubman, D.I., Cheetham, A., Yücel, M., 2015. Cannabis and adolescent brain development. *Pharmacol Ther* 148, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.11.009>

M.

- Maccarrone, M., Bari, M., Di Rienzo, M., Finazzi-Agrò, A., Rossi, A., 2003. Progesterone activates fatty acid amide hydrolase (FAAH) promoter in human T lymphocytes through the transcription factor Ikaros. Evidence for a synergistic effect of leptin. *J Biol Chem* 278, 32726–32732. <https://doi.org/10.1074/jbc.M302123200>
- MacCarrone, M., De Felici, M., Bari, M., Klinger, F., Siracusa, G., Finazzi-Agrò, A., 2000. Down-regulation of anandamide hydrolase in mouse uterus by sex hormones. *Eur J Biochem* 267, 2991–2997. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2000.01316.x>
- Maccarrone, M., Guzmán, M., Mackie, K., Doherty, P., Harkany, T., 2014. Programming of neural cells by (endo)cannabinoids: from physiological rules to emerging therapies. *Nat Rev Neurosci* 15, 786–801. <https://doi.org/10.1038/nrn3846>
- Maejima, T., Hashimoto, K., Yoshida, T., Aiba, A., Kano, M., 2001. Presynaptic inhibition caused by retrograde signal from metabotropic glutamate to cannabinoid receptors. *Neuron* 31, 463–475. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00375-0](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00375-0)
- Mailleux, P., Parmentier, M., Vanderhaeghen, J.J., 1992. Distribution of cannabinoid receptor messenger RNA in the human brain: an in situ hybridization histochemistry with oligonucleotides. *Neurosci Lett* 143, 200–204. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(92\)90265-9](https://doi.org/10.1016/0304-3940(92)90265-9)
- Malcher-Lopes, R., Di, S., Marcheselli, V.S., Weng, F.-J., Stuart, C.T., Bazan, N.G., Tasker, J.G., 2006. Opposing crosstalk between leptin and glucocorticoids rapidly modulates synaptic excitation via endocannabinoid release. *J Neurosci* 26, 6643–6650. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5126-05.2006>
- Malenka, R.C., Nicoll, R.A., 1999. Long-term potentiation--a decade of progress? *Science* 285, 1870–1874. <https://doi.org/10.1126/science.285.5435.1870>
- Mantor, D., Pratchayasakul, W., Minta, W., Sutham, W., Palee, S., Srietchwande, J., Kerdphoo, S., Jaiwongkum, T., Sriwichaiin, S., Krintratun, W., Chattipakorn, N., Chattipakorn, S.C., 2018. Both oophorectomy and obesity impaired solely hippocampal-dependent memory via increased hippocampal dysfunction. *Exp Gerontol* 108, 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2018.04.010>
- Maren, S., Aharonov, G., Fanselow, M.S., 1997. Neurotoxic lesions of the dorsal hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats. *Behav Brain Res* 88, 261–274. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(97\)00088-0](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(97)00088-0)
- Maren, S., De Oca, B., Fanselow, M.S., 1994. Sex differences in hippocampal long-term potentiation (LTP) and Pavlovian fear conditioning in rats: positive correlation between LTP and contextual learning. *Brain Res* 661, 25–34. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91176-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91176-2)
- Maren, S., Quirk, G.J., 2004. Neuronal signalling of fear memory. *Nat Rev Neurosci* 5, 844–852. <https://doi.org/10.1038/nrn1535>
- Margolis, K.L., Bonds, D.E., Rodabough, R.J., Tinker, L., Phillips, L.S., Allen, C., Bassford, T., Burke, G., Torrens, J., Howard, B.V., Women's Health Initiative Investigators, 2004. Effect of oestrogen plus progestin on the incidence of diabetes in postmenopausal women: results from the Women's Health Initiative Hormone Trial. *Diabetologia* 47, 1175–1187. <https://doi.org/10.1007/s00125-004-1448-x>
- Maric, I., Krieger, J.-P., van der Velden, P., Borchers, S., Asker, M., Vujicic, M., Wernstedt Asterholm, I., Skibicka, K.P., 2022. Sex and Species Differences in the Development of Diet-Induced Obesity and Metabolic Disturbances in Rodents. *Front Nutr* 9, 828522. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.828522>
- Markham, J.A., Morris, J.R., Juraska, J.M., 2007. Neuron number decreases in the rat ventral, but not dorsal, medial prefrontal cortex between adolescence and adulthood. *Neuroscience* 144, 961–968. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.10.015>

- Markham, J.A., Mullins, S.E., Koenig, J.I., 2013. Peri-adolescent Maturation of the Prefrontal Cortex is Sex-Specific and Disrupted by Prenatal Stress. *J Comp Neurol* 521, 1828–1843. <https://doi.org/10.1002/cne.23262>
- Markram, H., Toledo-Rodriguez, M., Wang, Y., Gupta, A., Silberberg, G., Wu, C., 2004. Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat Rev Neurosci* 5, 793–807. <https://doi.org/10.1038/nrn1519>
- Maroun, M., Akirav, I., 2008. Arousal and stress effects on consolidation and reconsolidation of recognition memory. *Neuropsychopharmacology* 33, 394–405. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301401>
- Marrocco, J., McEwen, B.S., 2016. Sex in the brain: hormones and sex differences. *Dialogues Clin Neurosci* 18, 373–383.
- Marsicano, G., Goodenough, S., Monory, K., Hermann, H., Eder, M., Cannich, A., Azad, S.C., Cascio, M.G., Gutiérrez, S.O., van der Stelt, M., López-Rodríguez, M.L., Casanova, E., Schütz, G., Zieglgänsberger, W., Di Marzo, V., Behl, C., Lutz, B., 2003. CB1 cannabinoid receptors and on-demand defense against excitotoxicity. *Science* 302, 84–88. <https://doi.org/10.1126/science.1088208>
- Marsicano, G., Kuner, R., 2008. Anatomical Distribution of Receptors, Ligands and Enzymes in the Brain and in the Spinal Cord: Circuitries and Neurochemistry, in: Köfalvi, A. (Ed.), *Cannabinoids and the Brain*. Springer US, Boston, MA, pp. 161–201. https://doi.org/10.1007/978-0-387-74349-3_10
- Marsicano, G., Lutz, B., 1999. Expression of the cannabinoid receptor CB1 in distinct neuronal subpopulations in the adult mouse forebrain. *Eur. J. Neurosci.* 11, 4213–4225. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1999.00847.x>
- Marsicano, G., Wotjak, C.T., Azad, S.C., Bisogno, T., Rammes, G., Cascio, M.G., Hermann, H., Tang, J., Hofmann, C., Zieglgänsberger, W., Di Marzo, V., Lutz, B., 2002. The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories. *Nature* 418, 530–534. <https://doi.org/10.1038/nature00839>
- Martin, B., Pearson, M., Kebejian, L., Golden, E., Keselman, A., Bender, M., Carlson, O., Egan, J., Ladenheim, B., Cadet, J.-L., Becker, K.G., Wood, W., Duffy, K., Vinayakumar, P., Maudsley, S., Mattson, M.P., 2007. Sex-dependent metabolic, neuroendocrine, and cognitive responses to dietary energy restriction and excess. *Endocrinology* 148, 4318–4333. <https://doi.org/10.1210/en.2007-0161>
- Martin, K., Musaus, M., Navabpour, S., Gustin, A., Ray, W.K., Helm, R.F., Jarome, T.J., 2021. Females, but not males, require protein degradation in the hippocampus for contextual fear memory formation. *Learn Mem* 28, 248–253. <https://doi.org/10.1101/lm.053429.121>
- Martínez-Orozco, H., Reyes-Castro, L.A., Lomas-Soria, C., Sandoval-Salazar, C., Ramírez-Emiliano, J., Díaz-Cintra, S., Solís-Ortiz, S., 2022. High-fat and combined high-fat-high-fructose diets impair episodic-like memory and decrease glutamate and glutamine in the hippocampus of adult mice. *Nutr Neurosci* 25, 2479–2489. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2021.1977452>
- Martínez-Torres, S., Bergadà-Martínez, A., Ortega, J.E., Galera-López, L., Hervera, A., de Los Reyes-Ramírez, L., Ortega-Álvaro, A., Remmers, F., Muñoz-Moreno, E., Soria, G., Del Río, J.A., Lutz, B., Ruíz-Ortega, J.Á., Meana, J.J., Maldonado, R., Ozaita, A., 2023. Peripheral CB1 receptor blockade acts as a memory enhancer through a noradrenergic mechanism. *Neuropsychopharmacology* 48, 341–350. <https://doi.org/10.1038/s41386-022-01436-9>
- Massa, F., Mancini, G., Schmidt, H., Steindel, F., Mackie, K., Angioni, C., Oliet, S.H.R., Geisslinger, G., Lutz, B., 2010. Alterations in the hippocampal endocannabinoid system in diet-induced obese mice. *J. Neurosci.* 30, 6273–6281. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2648-09.2010>
- Mateos, B., Borcel, E., Loriga, R., Luesu, W., Bini, V., Llorente, R., Castelli, M.P., Viveros, M.-P., 2011. Adolescent exposure to nicotine and/or the cannabinoid agonist CP 55,940 induces gender-dependent long-lasting memory impairments and changes in brain nicotinic and CB(1) cannabinoid receptors. *J. Psychopharmacol. (Oxford)* 25, 1676–1690. <https://doi.org/10.1177/0269881110370503>
- Matias, I., Gonthier, M.-P., Orlando, P., Martiadis, V., De Petrocellis, L., Cervino, C., Petrosino, S., Hoareau, L., Festy, F., Pasquali, R., Roche, R., Maj, M., Pagotto, U., Monteleone, P., Di Marzo, V., 2006. Regulation, function, and dysregulation of endocannabinoids in models of adipose

- and beta-pancreatic cells and in obesity and hyperglycemia. *J Clin Endocrinol Metab* 91, 3171–3180. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-2679>
- Mato, S., Del Olmo, E., Pazos, A., 2003. Ontogenetic development of cannabinoid receptor expression and signal transduction functionality in the human brain. *Eur J Neurosci* 17, 1747–1754. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02599.x>
- Matsuda, L.A., Lolait, S.J., Brownstein, M.J., Young, A.C., Bonner, T.I., 1990. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 346, 561–564. <https://doi.org/10.1038/346561a0>
- Matsuzawa, Y., Nakamura, T., Shimomura, I., Kotani, K., 1995. Visceral fat accumulation and cardiovascular disease. *Obes Res* 3 Suppl 5, 645S-647S. <https://doi.org/10.1002/j.1550-8528.1995.tb00481.x>
- Mátyás, F., Urbán, G.M., Watanabe, M., Mackie, K., Zimmer, A., Freund, T.F., Katona, I., 2008. Identification of the sites of 2-arachidonoylglycerol synthesis and action imply retrograde endocannabinoid signaling at both GABAergic and glutamatergic synapses in the ventral tegmental area. *Neuropharmacology* 54, 95–107. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.05.028>
- Mauvais-Jarvis, F., 2015. Sex differences in metabolic homeostasis, diabetes, and obesity. *Biol Sex Differ* 6, 14. <https://doi.org/10.1186/s13293-015-0033-y>
- McCormick, C.M., Mathews, I.Z., 2007. HPA function in adolescence: role of sex hormones in its regulation and the enduring consequences of exposure to stressors. *Pharmacol Biochem Behav* 86, 220–233. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.07.012>
- McGaugh, J.L., 2004. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annu Rev Neurosci* 27, 1–28. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.27.070203.144157>
- Mechoulam, R., Ben-Shabat, S., Hanus, L., Ligumsky, M., Kaminski, N.E., Schatz, A.R., Gopher, A., Almog, S., Martin, B.R., Compton, D.R., 1995. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 50, 83–90. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(95\)00109-d](https://doi.org/10.1016/0006-2952(95)00109-d)
- Mechoulam, R., Gaoni, Y., 1965. Hashish. IV. The isolation and structure of cannabinolic cannabidiolic and cannabigerolic acids. *Tetrahedron* 21, 1223–1229. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(65\)80064-3](https://doi.org/10.1016/0040-4020(65)80064-3)
- Meitzen, J., Mermelstein, P.G., 2011. Estrogen receptors stimulate brain region specific metabotropic glutamate receptors to rapidly initiate signal transduction pathways. *J Chem Neuroanat* 42, 236–241. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2011.02.002>
- Mestre, Z., Grethe, A.-B., Wierenga, C.E., Jernigan, T., Eichen, D.M., Chang, L., Ernst, T., Boutelle, K.N., 2020. Associations between body weight, hippocampal volume or tissue signal intensity in 12 to 18-year olds. *Obesity (Silver Spring)* 28, 1325–1331. <https://doi.org/10.1002/oby.22841>
- Mestre, Z.L., Bischoff-Grethe, A., Eichen, D.M., Wierenga, C.E., Strong, D., Boutelle, K.N., 2017. Hippocampal atrophy and altered brain responses to pleasant tastes among obese compared to healthy weight children. *Int J Obes (Lond)* 41, 1496–1502. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.130>
- Metna-Laurent, M., Soria-Gómez, E., Verrier, D., Conforzi, M., Jégo, P., Lafenêtre, P., Marsicano, G., 2012. Bimodal control of fear-coping strategies by CB₁ cannabinoid receptors. *J Neurosci* 32, 7109–7118. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1054-12.2012>
- Meunier, M., Bachevalier, J., Mishkin, M., 1997. Effects of orbital frontal and anterior cingulate lesions on object and spatial memory in rhesus monkeys. *Neuropsychologia* 35, 999–1015. [https://doi.org/10.1016/s0028-3932\(97\)00027-4](https://doi.org/10.1016/s0028-3932(97)00027-4)
- Meyer, H.C., Lee, F.S., Gee, D.G., 2018. The Role of the Endocannabinoid System and Genetic Variation in Adolescent Brain Development. *Neuropsychopharmacology* 43, 21–33. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.143>
- Milanski, M., Degasperis, G., Coope, A., Morari, J., Denis, R., Cintra, D.E., Tsukumo, D.M.L., Anhe, G., Amaral, M.E., Takahashi, H.K., Curi, R., Oliveira, H.C., Carnevali, J.B.C., Bordin, S., Saad, M.J., Velloso, L.A., 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, 359–370. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2760-08.2009>

- Miller, A.M., Stella, N., 2008. CB2 receptor-mediated migration of immune cells: it can go either way. *Br J Pharmacol* 153, 299–308. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707523>
- Miller, E.K., Cohen, J.D., 2001. An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu Rev Neurosci* 24, 167–202. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.167>
- Miller, E.K., Erickson, C.A., Desimone, R., 1996. Neural mechanisms of visual working memory in prefrontal cortex of the macaque. *J Neurosci* 16, 5154–5167. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-16-05154.1996>
- Mitchell, J.R., Trettel, S.G., Li, A.J., Wasielewski, S., Huckleberry, K.A., Fanikos, M., Golden, E., Laine, M.A., Shansky, R.M., 2022. Darting across space and time: parametric modulators of sex-biased conditioned fear responses. *Learn Mem* 29, 171–180. <https://doi.org/10.1101/lm.053587.122>
- Mitra, S.W., Hoskin, E., Yudkovitz, J., Pear, L., Wilkinson, H.A., Hayashi, S., Pfaff, D.W., Ogawa, S., Rohrer, S.P., Schaeffer, J.M., McEwen, B.S., Alves, S.E., 2003. Immunolocalization of estrogen receptor beta in the mouse brain: comparison with estrogen receptor alpha. *Endocrinology* 144, 2055–2067. <https://doi.org/10.1210/en.2002-221069>
- Mize, A.L., Alper, R.H., 2000. Acute and long-term effects of 17beta-estradiol on G(i/o) coupled neurotransmitter receptor function in the female rat brain as assessed by agonist-stimulated [35S]GTPgammaS binding. *Brain Res* 859, 326–333. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(00\)01998-3](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(00)01998-3)
- Moisan, M.-P., 2021. Sexual Dimorphism in Glucocorticoid Stress Response. *Int J Mol Sci* 22, 3139. <https://doi.org/10.3390/ijms22063139>
- Molteni, R., Barnard, R.J., Ying, Z., Roberts, C.K., Gómez-Pinilla, F., 2002. A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. *Neuroscience* 112, 803–814. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(02\)00123-9](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(02)00123-9)
- Monfort, P., Gomez-Gimenez, B., Llansola, M., Felipo, V., 2015. Gender differences in spatial learning, synaptic activity, and long-term potentiation in the hippocampus in rats: molecular mechanisms. *ACS Chem Neurosci* 6, 1420–1427. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.5b00096>
- Monory, K., Massa, F., Egertová, M., Eder, M., Blaudzun, H., Westenbroek, R., Kelsch, W., Jacob, W., Marsch, R., Ekker, M., Long, J., Rubenstein, J.L., Goebbels, S., Nave, K.-A., Düring, M., Klugmann, M., Wölfel, B., Dodt, H.-U., Zieglgänsberger, W., Wotjak, C.T., Mackie, K., Elphick, M.R., Marsicano, G., Lutz, B., 2006. The endocannabinoid system controls key epileptogenic circuits in the hippocampus. *Neuron* 51, 455–466. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.07.006>
- Monteleone, P., Matias, I., Martiadis, V., De Petrocellis, L., Maj, M., Di Marzo, V., 2005. Blood levels of the endocannabinoid anandamide are increased in anorexia nervosa and in binge-eating disorder, but not in bulimia nervosa. *Neuropsychopharmacology* 30, 1216–1221. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300695>
- Morris, R.G., Garrud, P., Rawlins, J.N., O’Keefe, J., 1982. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 297, 681–683. <https://doi.org/10.1038/297681a0>
- Morselli, E., Frank, A.P., Palmer, B.F., Rodriguez-Navas, C., Criollo, A., Clegg, D.J., 2016. A sexually dimorphic hypothalamic response to chronic high-fat diet consumption. *Int J Obes (Lond)* 40, 206–209. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.114>
- Moser, E., Moser, M.B., Andersen, P., 1993. Spatial learning impairment parallels the magnitude of dorsal hippocampal lesions, but is hardly present following ventral lesions. *J Neurosci* 13, 3916–3925. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.13-09-03916.1993>
- Moser, M.B., Moser, E.I., Forrest, E., Andersen, P., Morris, R.G., 1995. Spatial learning with a minislab in the dorsal hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92, 9697. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.21.9697>
- Moult, P.R., Harvey, J., 2008. Hormonal regulation of hippocampal dendritic morphology and synaptic plasticity. *Cell Adh Migr* 2, 269–275. <https://doi.org/10.4161/cam.2.4.6354>
- Mulder, J., Aguado, T., Keimpema, E., Barabás, K., Ballester Rosado, C.J., Nguyen, L., Monory, K., Marsicano, G., Di Marzo, V., Hurd, Y.L., Guillemot, F., Mackie, K., Lutz, B., Guzmán, M., Lu, H.-C., Galve-Roperh, I., Harkany, T., 2008. Endocannabinoid signaling controls pyramidal cell specification and long-range axon patterning. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105, 8760–8765. <https://doi.org/10.1073/pnas.0803545105>

- Mumby, D.G., Pinel, J.P., 1994. Rhinal cortex lesions and object recognition in rats. *Behav Neurosci* 108, 11–18. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.108.1.11>
- Munro, S., Thomas, K.L., Abu-Shaar, M., 1993. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 365, 61–65. <https://doi.org/10.1038/365061a0>
- Murtaj, V., Penati, S., Belloli, S., Foti, M., Coliva, A., Papagna, A., Gotti, C., Toninelli, E., Chiaffarelli, R., Mantero, S., Pucci, S., Matteoli, M., Malosio, M.L., Moresco, R.M., 2022. Brain sex-dependent alterations after prolonged high fat diet exposure in mice. *Commun Biol* 5, 1–17. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-04214-x>
- Muscat, S.M., Butler, M.J., Mackey-Alfonso, S.E., Barrientos, R.M., 2023. Young adult and aged female rats are vulnerable to amygdala-dependent, but not hippocampus-dependent, memory impairment following short-term high-fat diet. *Brain Research Bulletin* 195, 145–156. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2023.03.001>

N.

- Nakata, M., Yada, T., 2008. Cannabinoids inhibit insulin secretion and cytosolic Ca²⁺ oscillation in islet beta-cells via CB1 receptors. *Regul Pept* 145, 49–53. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2007.08.009>
- Naneix, F., Bakoyiannis, I., Santoyo-Zedillo, M., Bosch-Bouju, C., Pacheco-Lopez, G., Coutureau, E., Ferreira, G., OBETEEN Consortium, 2021. Chemogenetic silencing of hippocampus and amygdala reveals a double dissociation in periadolescent obesogenic diet-induced memory alterations. *Neurobiol Learn Mem* 178, 107354. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2020.107354>
- Navarrete, M., Araque, A., 2008. Endocannabinoids mediate neuron-astrocyte communication. *Neuron* 57, 883–893. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.01.029>
- Navarro-Romero, A., Vázquez-Oliver, A., Gomis-González, M., Garzón-Montesinos, C., Falcón-Moya, R., Pastor, A., Martín-García, E., Pizarro, N., Busquets-García, A., Revest, J.-M., Piazza, P.-V., Bosch, F., Dierssen, M., de la Torre, R., Rodríguez-Moreno, A., Maldonado, R., Ozaita, A., 2019. Cannabinoid type-1 receptor blockade restores neurological phenotypes in two models for Down syndrome. *Neurobiol Dis* 125, 92–106. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.01.014>
- Nestor, C.C., Kelly, M.J., Rønnekleiv, O.K., 2014. Cross-talk between reproduction and energy homeostasis: central impact of estrogens, leptin and kisspeptin signaling. *Horm Mol Biol Clin Invest* 17, 109–128. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2013-0050>
- Neufang, S., Specht, K., Hausmann, M., Güntürkün, O., Herpertz-Dahlmann, B., Fink, G.R., Konrad, K., 2009. Sex differences and the impact of steroid hormones on the developing human brain. *Cereb Cortex* 19, 464–473. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhn100>
- Nilsson, C., Raun, K., Yan, F., Larsen, M.O., Tang-Christensen, M., 2012. Laboratory animals as surrogate models of human obesity. *Acta Pharmacol Sin* 33, 173–181. <https://doi.org/10.1038/aps.2011.203>
- Noble, E.E., Kanoski, S.E., 2016. Early life exposure to obesogenic diets and learning and memory dysfunction. *Curr Opin Behav Sci* 9, 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2015.11.014>
- Nohara, K., Zhang, Y., Waraich, R.S., Laque, A., Tiano, J.P., Tong, J., Münzberg, H., Mauvais-Jarvis, F., 2011. Early-life exposure to testosterone programs the hypothalamic melanocortin system. *Endocrinology* 152, 1661–1669. <https://doi.org/10.1210/en.2010-1288>
- Nyaradi, A., Foster, J.K., Hickling, S., Li, J., Ambrosini, G.L., Jacques, A., Oddy, W.H., 2014. Prospective associations between dietary patterns and cognitive performance during adolescence. *J Child Psychol Psychiatry* 55, 1017–1024. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12209>

O.

- Ohno-Shosaku, T., Maejima, T., Kano, M., 2001. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signals from depolarized postsynaptic neurons to presynaptic terminals. *Neuron* 29, 729–738. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00247-1](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00247-1)
- O’Keefe, J., Nadel, L., 1978. *The Hippocampus as a Cognitive Map*, Oxford University Press: Oxford, UK. (1978). Oxford University Press, Oxford, UK.

- Okuda, S., Roozendaal, B., McGaugh, J.L., 2004. Glucocorticoid effects on object recognition memory require training-associated emotional arousal. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 853–858. <https://doi.org/10.1073/pnas.0307803100>
- Oliveira da Cruz, J.F., Busquets-Garcia, A., Zhao, Z., Varilh, M., Lavanco, G., Bellocchio, L., Robin, L., Cannich, A., Julio-Kalajzić, F., Lesté-Lasserre, T., Maître, M., Drago, F., Marsicano, G., Soria-Gómez, E., 2020. Specific Hippocampal Interneurons Shape Consolidation of Recognition Memory. *Cell Rep* 32, 108046. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108046>
- Olszanecka-Glinianowicz, M., Zahorska-Markiewicz, B., Kocełak, P., Janowska, J., Semik-Grabarczyk, E., 2008. The effect of weight loss on inflammation in obese women with polycystic ovary syndrome. *Endokrynol Pol* 59, 13–17.
- Oppert, J.-M., Charreire, H., 2012. The importance of the food and physical activity environments. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser* 73, 113–121. <https://doi.org/10.1159/000341306>
- Ordóñez, C., Navarro, A., Pérez, C., Martínez, E., del Valle, E., Tolivia, J., 2012. Gender differences in apolipoprotein D expression during aging and in Alzheimer disease. *Neurobiol Aging* 33, 433.e11–20. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.01.010>
- Orsini, C.A., Kim, J.H., Knapska, E., Maren, S., 2011. Hippocampal and prefrontal projections to the basal amygdala mediate contextual regulation of fear after extinction. *J Neurosci* 31, 17269–17277. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4095-11.2011>
- Osei-Hyiaman, D., DePettillo, M., Pacher, P., Liu, J., Radaeva, S., Bátkai, S., Harvey-White, J., Mackie, K., Offertáler, L., Wang, L., Kunos, G., 2005. Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J Clin Invest* 115, 1298–1305. <https://doi.org/10.1172/JCI200523057>
- Overby, N.C., Lüdemann, E., Høigaard, R., 2013. Self-reported learning difficulties and dietary intake in Norwegian adolescents. *Scand J Public Health* 41, 754–760. <https://doi.org/10.1177/1403494813487449>

P.

- Packard, M.G., Teather, L.A., 1997. Intra-hippocampal estradiol infusion enhances memory in ovariectomized rats. *Neuroreport* 8, 3009–3013. <https://doi.org/10.1097/00001756-199709290-00004>
- Palmer, B.F., Clegg, D.J., 2015. The sexual dimorphism of obesity. *Mol Cell Endocrinol* 402, 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.11.029>
- Pamplona, F.A., Takahashi, R.N., 2006. WIN 55212-2 impairs contextual fear conditioning through the activation of CB1 cannabinoid receptors. *Neurosci Lett* 397, 88–92. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.12.026>
- Pan, B., Wang, W., Zhong, P., Blankman, J.L., Cravatt, B.F., Liu, Q., 2011. Alterations of Endocannabinoid Signaling, Synaptic Plasticity, Learning, and Memory in Monoacylglycerol Lipase Knock-out Mice. *J Neurosci* 31, 13420–13430. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2075-11.2011>
- Paré, D., Quirk, G.J., Ledoux, J.E., 2004. New vistas on amygdala networks in conditioned fear. *J Neurophysiol* 92, 1–9. <https://doi.org/10.1152/jn.00153.2004>
- Park, H.R., Park, M., Choi, J., Park, K.-Y., Chung, H.Y., Lee, J., 2010. A high-fat diet impairs neurogenesis: involvement of lipid peroxidation and brain-derived neurotrophic factor. *Neurosci Lett* 482, 235–239. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.07.046>
- Pasquali, R., Vicennati, V., Cacciari, M., Pagotto, U., 2006. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in obesity and the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 1083, 111–128. <https://doi.org/10.1196/annals.1367.009>
- Pathan, A.R., Gaikwad, A.B., Viswanad, B., Ramarao, P., 2008. Rosiglitazone attenuates the cognitive deficits induced by high fat diet feeding in rats. *Eur J Pharmacol* 589, 176–179. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.06.016>
- Pattwell, S.S., Duhoux, S., Hartley, C.A., Johnson, D.C., Jing, D., Elliott, M.D., Ruberry, E.J., Powers, A., Mehta, N., Yang, R.R., Soliman, F., Glatt, C.E., Casey, B.J., Ninan, I., Lee, F.S., 2012. Altered fear learning across development in both mouse and human. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109, 16318–16323. <https://doi.org/10.1073/pnas.1206834109>

- Pavlov, I.P., 1927. Conditioned reflexes: an investigation of the physiological activity of the cerebral cortex. Conditioned reflexes: an investigation of the physiological activity of the cerebral cortex. Oxford Univ. Press, Oxford, England.
- Peng, C., Xu, X., Li, Y., Li, X., Yang, X., Chen, H., Zhu, Y., Lu, N., He, C., 2020. Sex-specific association between the gut microbiome and high-fat diet-induced metabolic disorders in mice. *Biol Sex Differ* 11, 5. <https://doi.org/10.1186/s13293-020-0281-3>
- Pertwee, R.G., Howlett, A.C., Abood, M.E., Alexander, S.P.H., Di Marzo, V., Elphick, M.R., Greasley, P.J., Hansen, H.S., Kunos, G., Mackie, K., Mechoulam, R., Ross, R.A., 2010. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB₁ and CB₂. *Pharmacol Rev* 62, 588–631. <https://doi.org/10.1124/pr.110.003004>
- Perwitz, N., Wenzel, J., Wagner, I., Büning, J., Drenckhan, M., Zarse, K., Ristow, M., Lilienthal, W., Lehnert, H., Klein, J., 2010. Cannabinoid type 1 receptor blockade induces transdifferentiation towards a brown fat phenotype in white adipocytes. *Diabetes Obes Metab* 12, 158–166. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2009.01133.x>
- Phan, A., Gabor, C.S., Favaro, K.J., Kaschack, S., Armstrong, J.N., MacLusky, N.J., Choleris, E., 2012. Low Doses of 17 β -Estradiol Rapidly Improve Learning and Increase Hippocampal Dendritic Spines. *Neuropsychopharmacology* 37, 2299–2309. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.82>
- Phan, A., Lancaster, K.E., Armstrong, J.N., MacLusky, N.J., Choleris, E., 2011. Rapid effects of estrogen receptor α and β selective agonists on learning and dendritic spines in female mice. *Endocrinology* 152, 1492–1502. <https://doi.org/10.1210/en.2010-1273>
- Phan, A., Suschkov, S., Molinaro, L., Reynolds, K., Lymer, J.M., Bailey, C.D.C., Kow, L.-M., MacLusky, N.J., Pfaff, D.W., Choleris, E., 2015. Rapid increases in immature synapses parallel estrogen-induced hippocampal learning enhancements. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112, 16018–16023. <https://doi.org/10.1073/pnas.1522150112>
- Phillips, R.G., LeDoux, J.E., 1992. Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behav Neurosci* 106, 274–285. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.106.2.274>
- Piomelli, D., 2003. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat Rev Neurosci* 4, 873–884. <https://doi.org/10.1038/nrn1247>
- Pistell, P.J., Morrison, C.D., Gupta, S., Knight, A.G., Keller, J.N., Ingram, D.K., Bruce-Keller, A.J., 2010. Cognitive impairment following high fat diet consumption is associated with brain inflammation. *J Neuroimmunol* 219, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.11.010>
- Pi-Sunyer, F.X., Aronne, L.J., Heshmati, H.M., Devin, J., Rosenstock, J., RIO-North America Study Group, 2006. Effect of rimonabant, a cannabinoid-1 receptor blocker, on weight and cardiometabolic risk factors in overweight or obese patients: RIO-North America: a randomized controlled trial. *JAMA* 295, 761–775. <https://doi.org/10.1001/jama.295.7.761>
- Pitler, T.A., Alger, B.E., 1992. Postsynaptic spike firing reduces synaptic GABAA responses in hippocampal pyramidal cells. *J Neurosci* 12, 4122–4132. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-10-04122.1992>
- Pizzorusso, T., Medini, P., Berardi, N., Chierzi, S., Fawcett, J.W., Maffei, L., 2002. Reactivation of ocular dominance plasticity in the adult visual cortex. *Science* 298, 1248–1251. <https://doi.org/10.1126/science.1072699>
- Pratchayasakul, W., Kerdphoo, S., Petsophonakul, 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 Sci* 88, 619–627. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2011.02.003>
- Preet, A., Ganju, R.K., Groopman, J.E., 2008. Delta9-Tetrahydrocannabinol inhibits epithelial growth factor-induced lung cancer cell migration in vitro as well as its growth and metastasis in vivo. *Oncogene* 27, 339–346. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210641>
- Privitera, G.J., Zavala, A.R., Sanabria, F., Sotak, K.L., 2011. High fat diet intake during pre and periadolescence impairs learning of a conditioned place preference in adulthood. *Behav Brain Funct* 7, 21. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-7-21>
- Proto, M.C., Gazzo, P., Di Croce, L., Santoro, A., Malfitano, A.M., Pisanti, S., Laezza, C., Bifulco, M., 2012. Interaction of endocannabinoid system and steroid hormones in the control of colon cancer cell growth. *J Cell Physiol* 227, 250–258. <https://doi.org/10.1002/jcp.22727>

- Puente, N., Cui, Y., Lassalle, O., Lafourcade, M., Georges, F., Venance, L., Grandes, P., Manzoni, O.J., 2011. Polymodal activation of the endocannabinoid system in the extended amygdala. *Nat Neurosci* 14, 1542–1547. <https://doi.org/10.1038/nn.2974>
- Puighermanal, E., Marsicano, G., Busquets-Garcia, A., Lutz, B., Maldonado, R., Ozaita, A., 2009. Cannabinoid modulation of hippocampal long-term memory is mediated by mTOR signaling. *Nat Neurosci* 12, 1152–1158. <https://doi.org/10.1038/nn.2369>

Q.

- Quirk, G.J., Mueller, D., 2008. Neural mechanisms of extinction learning and retrieval. *Neuropsychopharmacology* 33, 56–72. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301555>

R.

- Rabinowitz, A., Cohen, S.J., Finn, D.A., Stackman, R.W., 2014. The neurosteroid allopregnanolone impairs object memory and contextual fear memory in male C57BL/6J mice. *Horm Behav* 66, 238–246. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2014.05.005>
- Rahigude, A., Bhutada, P., Kaulaskar, S., Aswar, M., Otari, K., 2012. Participation of antioxidant and cholinergic system in protective effect of naringenin against type-2 diabetes-induced memory dysfunction in rats. *Neuroscience* 226, 62–72. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.09.026>
- Rajesh, M., Mukhopadhyay, P., Haskó, G., Huffman, J.W., Mackie, K., Pacher, P., 2008. CB2 cannabinoid receptor agonists attenuate TNF-alpha-induced human vascular smooth muscle cell proliferation and migration. *Br J Pharmacol* 153, 347–357. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707569>
- Raji, C.A., Ho, A.J., Parikshak, N.N., Becker, J.T., Lopez, O.L., Kuller, L.H., Hua, X., Leow, A.D., Toga, A.W., Thompson, P.M., 2010. Brain structure and obesity. *Hum Brain Mapp* 31, 353–364. <https://doi.org/10.1002/hbm.20870>
- Ramirez, M.E., McMurry, M.P., Wiebke, G.A., Felten, K.J., Ren, K., Meikle, A.W., Iverius, P.H., 1997. Evidence for sex steroid inhibition of lipoprotein lipase in men: comparison of abdominal and femoral adipose tissue. *Metabolism* 46, 179–185. [https://doi.org/10.1016/s0026-0495\(97\)90299-7](https://doi.org/10.1016/s0026-0495(97)90299-7)
- Ramirez, S., Haddad-Tóvulli, R., Radosevic, M., Toledo, M., Pané, A., Alcolea, D., Ribas, V., Milà-Guasch, M., Pozo, M., Obri, A., Eyre, E., Gómez-Valadés, A.G., Chivite, I., Van Eeckhout, T., Zalachoras, I., Altirriba, J., Bauder, C., Imbernón, M., Garrabou, G., Garcia-Ruiz, C., Nogueiras, R., Soto, D., Gasull, X., Sandi, C., Brüning, J.C., Fortea, J., Jiménez, A., Fernández-Checa, J.C., Claret, M., 2022. Hypothalamic pregnenolone mediates recognition memory in the context of metabolic disorders. *Cell Metab* 34, 269–284.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.12.023>
- Rassart, E., Bedirian, A., Do Carmo, S., Guinard, O., Sirois, J., Terrisse, L., Milne, R., 2000. Apolipoprotein D. *Biochim Biophys Acta* 1482, 185–198. [https://doi.org/10.1016/s0167-4838\(00\)00162-x](https://doi.org/10.1016/s0167-4838(00)00162-x)
- Ravinet Trillou, C., Delgorge, C., Menet, C., Arnone, M., Soubrié, P., 2004. CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28, 640–648. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802583>
- Reich, C.G., Taylor, M.E., McCarthy, M.M., 2009a. Differential effects of chronic unpredictable stress on hippocampal CB1 receptors in male and female rats. *Behav Brain Res* 203, 264–269. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.05.013>
- Reich, C.G., Taylor, M.E., McCarthy, M.M., 2009b. Differential effects of chronic unpredictable stress on hippocampal CB1 receptors in male and female rats. *Behav Brain Res* 203, 264–269. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.05.013>
- Reichelt, A. L., A. B., M. R., Kn, A., J. D., Tth, V., Rj, M., 2020. An intermittent hypercaloric diet alters gut microbiota, prefrontal cortical gene expression and social behaviours in rats. *Nutritional neuroscience* 23. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2018.1537169>

- Reichelt, A.C., Gibson, G.D., Abbott, K.N., Hare, D.J., 2019a. A high-fat high-sugar diet in adolescent rats impairs social memory and alters chemical markers characteristic of atypical neuroplasticity and parvalbumin interneuron depletion in the medial prefrontal cortex. *Food Funct* 10, 1985–1998. <https://doi.org/10.1039/c8fo02118j>
- Reichelt, A.C., Hare, D.J., Bussey, T.J., Saksida, L.M., 2019b. Perineuronal Nets: Plasticity, Protection, and Therapeutic Potential. *Trends Neurosci* 42, 458–470. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2019.04.003>
- Reichelt, A.C., Killcross, S., Hambly, L.D., Morris, M.J., Westbrook, R.F., 2015a. Impact of adolescent sucrose access on cognitive control, recognition memory, and parvalbumin immunoreactivity. *Learn Mem* 22, 215–224. <https://doi.org/10.1101/lm.038000.114>
- Reichelt, A.C., Lemieux, C.A., Princz-Lebel, O., Singh, A., Bussey, T.J., Saksida, L.M., 2021. Age-dependent and region-specific alteration of parvalbumin neurons, perineuronal nets and microglia in the mouse prefrontal cortex and hippocampus following obesogenic diet consumption. *Sci Rep* 11, 5593. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85092-x>
- Reichelt, A.C., Maniam, J., Westbrook, R.F., Morris, M.J., 2015b. Dietary-induced obesity disrupts trace fear conditioning and decreases hippocampal reelin expression. *Brain Behav Immun* 43, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.07.005>
- Reinert, K.R.S., Po'e, E.K., Barkin, S.L., 2013. The relationship between executive function and obesity in children and adolescents: a systematic literature review. *J Obes* 2013, 820956. <https://doi.org/10.1155/2013/820956>
- Rentz, D.M., Weiss, B.K., Jacobs, E.G., Cherkerzian, S., Klibanski, A., Remington, A., Aizley, H., Goldstein, J.M., 2017. Sex differences in episodic memory in early midlife: Impact of reproductive aging. *Menopause* 24, 400–408. <https://doi.org/10.1097/GME.0000000000000771>
- Riant, E., Waget, A., Cogo, H., Arnal, J.-F., Burcelin, R., Gourdy, P., 2009. Estrogens protect against high-fat diet-induced insulin resistance and glucose intolerance in mice. *Endocrinology* 150, 2109–2117. <https://doi.org/10.1210/en.2008-0971>
- Ribeiro, R., Silva, E.G., Moreira, F.C., Gomes, G.F., Cussat, G.R., Silva, B.S.R., da Silva, M.C.M., de Barros Fernandes, H., de Sena Oliveira, C., de Oliveira Guarnieri, L., Lopes, V., Ferreira, C.N., de Faria, A.M.C., Maioli, T.U., Ribeiro, F.M., de Miranda, A.S., Moraes, G.S.P., de Oliveira, A.C.P., Vieira, L.B., 2023. Chronic hyperpalatable diet induces impairment of hippocampal-dependent memories and alters glutamatergic and fractalkine axis signaling. *Sci Rep* 13, 16358. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42955-9>
- Riecher-Rössler, A., 2017. Sex and gender differences in mental disorders. *Lancet Psychiatry* 4, 8–9. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)30348-0](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)30348-0)
- Rivera, P., Luque-Rojas, M.J., Pastor, A., Blanco, E., Pavón, F.J., Serrano, A., Crespillo, A., Vida, M., Grondona, J.M., Cifuentes, M., Bermúdez-Silva, F.J., de la Torre, R., de Fonseca, F.R., Suárez, J., 2013. Diet-dependent modulation of hippocampal expression of endocannabinoid signaling-related proteins in cannabinoid antagonist-treated obese rats. *Eur. J. Neurosci.* 37, 105–117. <https://doi.org/10.1111/ejn.12012>
- Robbe, D., Kopf, M., Remaury, A., Bockaert, J., Manzoni, O.J., 2002. Endogenous cannabinoids mediate long-term synaptic depression in the nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 8384–8388. <https://doi.org/10.1073/pnas.122149199>
- Robin, L.M., Oliveira da Cruz, J.F., Langlais, V.C., Martin-Fernandez, M., Metna-Laurent, M., Busquets-Garcia, A., Bellocchio, L., Soria-Gomez, E., Papouin, T., Varilh, M., Sherwood, M.W., Belluomo, I., Balcells, G., Matias, I., Bosier, B., Drago, F., Van Eeckhaut, A., Smolders, I., Georges, F., Araque, A., Panatier, A., Oliet, S.H.R., Marsicano, G., 2018. Astroglial CB1 Receptors Determine Synaptic D-Serine Availability to Enable Recognition Memory. *Neuron* 98, 935–944.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.04.034>
- Rodriguez de Fonseca, F., Cebeira, M., Ramos, J.A., Martín, M., Fernández-Ruiz, J.J., 1994. Cannabinoid receptors in rat brain areas: sexual differences, fluctuations during estrous cycle and changes after gonadectomy and sex steroid replacement. *Life Sci* 54, 159–170. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(94\)00585-0](https://doi.org/10.1016/0024-3205(94)00585-0)

- Rojo, M.L., Söderström, I., Olsson, T., Fowler, C.J., 2013. Changes in cannabinoid CB(1) receptor functionality in the female rat prefrontal cortex following a high fat diet. *Life Sci* 92, 757–762. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.02.002>
- Rossato, J.I., Bevilaqua, L.R.M., Myskiw, J.C., Medina, J.H., Izquierdo, I., Cammarota, M., 2007. On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Learn Mem* 14, 36–46. <https://doi.org/10.1101/lm.422607>
- Rubino, T., Parolaro, D., 2011. Sexually dimorphic effects of cannabinoid compounds on emotion and cognition. *Front Behav Neurosci* 5, 64. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2011.00064>
- Rubino, T., Viganò, D., Realini, N., Guidali, C., Braidà, D., Capurro, V., Castiglioni, C., Cherubino, F., Romualdi, P., Candeletti, S., Sala, M., Parolaro, D., 2008. Chronic delta 9-tetrahydrocannabinol during adolescence provokes sex-dependent changes in the emotional profile in adult rats: behavioral and biochemical correlates. *Neuropsychopharmacology* 33, 2760–2771. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301664>
- Rueda, D., Galve-Roperh, I., Haro, A., Guzmán, M., 2000. The CB(1) cannabinoid receptor is coupled to the activation of c-Jun N-terminal kinase. *Mol Pharmacol* 58, 814–820. <https://doi.org/10.1124/mol.58.4.814>
- Russo, P., Strazzullo, P., Cappuccio, F.P., Tregouet, D.A., Lauria, F., Loguercio, M., Barba, G., Versiero, M., Siani, A., 2007. Genetic variations at the endocannabinoid type 1 receptor gene (CNR1) are associated with obesity phenotypes in men. *J Clin Endocrinol Metab* 92, 2382–2386. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-2523>

S.

- Sabia, S., Kivimaki, M., Shipley, M.J., Marmot, M.G., Singh-Manoux, A., 2009. Body mass index over the adult life course and cognition in late midlife: the Whitehall II Cohort Study. *Am J Clin Nutr* 89, 601–607. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26482>
- Salinero, A.E., Anderson, B.M., Zuloaga, K.L., 2018. Sex differences in the metabolic effects of diet-induced obesity vary by age of onset. *Int J Obes (Lond)* 42, 1088–1091. <https://doi.org/10.1038/s41366-018-0023-3>
- Salpeter, S.R., Walsh, J.M.E., Ormiston, T.M., Greyber, E., Buckley, N.S., Salpeter, E.E., 2006. Meta-analysis: effect of hormone-replacement therapy on components of the metabolic syndrome in postmenopausal women. *Diabetes Obes Metab* 8, 538–554. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2005.00545.x>
- Sandoval-Salazar, C., Ramírez-Emiliano, J., Trejo-Bahena, A., Oviedo-Solís, C.I., Solís-Ortiz, M.S., 2016. A high-fat diet decreases GABA concentration in the frontal cortex and hippocampus of rats. *Biol Res* 49, 15. <https://doi.org/10.1186/s40659-016-0075-6>
- Sase, A.S., Lombroso, S.I., Santhumayor, B.A., Wood, R.R., Lim, C.J., Neve, R.L., Heller, E.A., 2019. Sex-Specific Regulation of Fear Memory by Targeted Epigenetic Editing of Cdk5. *Biol Psychiatry* 85, 623–634. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.11.022>
- Scharfman, H.E., Hintz, T.M., Gomez, J., Stormes, K.A., Barouk, S., Malthankar-Phatak, G.H., McCloskey, D.P., Luine, V.N., Maclusky, N.J., 2007. Changes in hippocampal function of ovariectomized rats after sequential low doses of estradiol to simulate the preovulatory estrogen surge. *Eur J Neurosci* 26, 2595–2612. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05848.x>
- Scheen, A.J., Finer, N., Hollander, P., Jensen, M.D., Van Gaal, L.F., RIO-Diabetes Study Group, 2006. Efficacy and tolerability of rimonabant in overweight or obese patients with type 2 diabetes: a randomised controlled study. *Lancet* 368, 1660–1672. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69571-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69571-8)
- Schemmel, R., Mickelsen, O., Motawi, K., 1972. Conversion of Dietary to Body Energy in Rats as Affected by Strain, Sex and Ration. *The Journal of Nutrition* 102, 1187–1197. <https://doi.org/10.1093/jn/102.9.1187>
- Schepis, T.S., Desai, R.A., Cavallo, D.A., Smith, A.E., McFetridge, A., Liss, T.B., Potenza, M.N., Krishnan-Sarin, S., 2011. Gender differences in adolescent marijuana use and associated psychosocial characteristics. *J Addict Med* 5, 65–73. <https://doi.org/10.1097/ADM.0b013e3181d8dc62>

- Schneider, M., 2013. Adolescence as a vulnerable period to alter rodent behavior. *Cell Tissue Res* 354, 99–106. <https://doi.org/10.1007/s00441-013-1581-2>
- Schneider, M., Schömig, E., Leweke, F.M., 2008. Acute and chronic cannabinoid treatment differentially affects recognition memory and social behavior in pubertal and adult rats. *Addict Biol* 13, 345–357. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2008.00117.x>
- Scorticati, C., Fernández-Solari, J., De Laurentiis, A., Mohn, C., Prestifilippo, J.P., Lasaga, M., Seilicovich, A., Billi, S., Franchi, A., McCann, S.M., Rettori, V., 2004. The inhibitory effect of anandamide on luteinizing hormone-releasing hormone secretion is reversed by estrogen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 11891–11896. <https://doi.org/10.1073/pnas.0404366101>
- Scoville, W.B., Milner, B., 1957. LOSS OF RECENT MEMORY AFTER BILATERAL HIPPOCAMPAL LESIONS. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 20, 11. <https://doi.org/10.1136/jnnp.20.1.11>
- Seabrook, L.T., Naef, L., Baimel, C., Judge, A.K., Kenney, T., Ellis, M., Tayyab, T., Armstrong, M., Qiao, M., Floresco, S.B., Borgland, S.L., 2023. Disinhibition of the orbitofrontal cortex biases decision-making in obesity. *Nat Neurosci* 26, 92–106. <https://doi.org/10.1038/s41593-022-01210-6>
- Seamans, J.K., Yang, C.R., 2004. The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Prog Neurobiol* 74, 1–58. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2004.05.006>
- Segal, M., 2005. Dendritic spines and long-term plasticity. *Nat Rev Neurosci* 6, 277–284. <https://doi.org/10.1038/nrn1649>
- Semple, B.D., Blomgren, K., Gimlin, K., Ferriero, D.M., Noble-Haeusslein, L.J., 2013. Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. *Prog Neurobiol* 106–107, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.04.001>
- Shang, Y., Hu, X., DiRenzo, J., Lazar, M.A., Brown, M., 2000. Cofactor dynamics and sufficiency in estrogen receptor-regulated transcription. *Cell* 103, 843–852. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)00188-4](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)00188-4)
- Sharma, S., Fulton, S., 2013. Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. *Int J Obes (Lond)* 37, 382–389. <https://doi.org/10.1038/ijo.2012.48>
- Shi, H., Seeley, R.J., Clegg, D.J., 2009. Sexual differences in the control of energy homeostasis. *Front Neuroendocrinol* 30, 396–404. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2009.03.004>
- Sierra-Mercado, D., Padilla-Coreano, N., Quirk, G.J., 2011. Dissociable roles of prelimbic and infralimbic cortices, ventral hippocampus, and basolateral amygdala in the expression and extinction of conditioned fear. *Neuropsychopharmacology* 36, 529–538. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.184>
- Sigmundi, R.A., Bouton, M.E., Bolles, R.C., 1980. Conditioned freezing in the rat as a function of shock intensity and CS modality. *Bull. Psychon. Soc.* 15, 254–256. <https://doi.org/10.3758/BF03334524>
- Silverman, I., Choi, J., 2006. Non-Euclidean navigational strategies of women: Compensatory response or evolved dimorphism? *Evolutionary Psychology* 4, 75–84. <https://doi.org/10.1177/147470490600400105>
- Silvestri, C., Di Marzo, V., 2013. The endocannabinoid system in energy homeostasis and the etiopathology of metabolic disorders. *Cell Metab* 17, 475–490. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.03.001>
- Simmonds, M., Llewellyn, A., Owen, C.G., Woolacott, N., 2016. Predicting adult obesity from childhood obesity: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev* 17, 95–107. <https://doi.org/10.1111/obr.12334>
- Sjöström, P.J., Turrigiano, G.G., Nelson, S.B., 2003. Neocortical LTD via coincident activation of presynaptic NMDA and cannabinoid receptors. *Neuron* 39, 641–654. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00476-8](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00476-8)
- Skaper, S.D., Buriani, A., Dal Toso, R., Petrelli, L., Romanello, S., Facci, L., Leon, A., 1996. The ALIAmide palmitoylethanolamide and cannabinoids, but not anandamide, are protective in a

- delayed postglutamate paradigm of excitotoxic death in cerebellar granule neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 3984–3989. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.9.3984>
- Skupio, U., Welte, J., Serrat, R., Eraso-Pichot, A., Julio-Kalajzić, F., Gisquet, D., Cannich, A., Delcasso, S., Matias, I., Fundazuri, U.B., Pouvreau, S., Pagano Zottola, A.C., Lavanco, G., Drago, F., Ruiz de Azua, I., Lutz, B., Bellocchio, L., Busquets-Garcia, A., Chaouloff, F., Marsicano, G., 2023. Mitochondrial cannabinoid receptors gate corticosterone impact on novel object recognition. *Neuron* S0896-6273(23)00263–5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2023.04.001>
- Smith, D.R., Stanley, C.M., Foss, T., Boles, R.G., McKernan, K., 2017. Rare genetic variants in the endocannabinoid system genes CNR1 and DAGLA are associated with neurological phenotypes in humans. *PLoS One* 12, e0187926. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187926>
- Snook, L., Plewes, C., Beaulieu, C., 2007. Voxel based versus region of interest analysis in diffusion tensor imaging of neurodevelopment. *Neuroimage* 34, 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.07.021>
- Sobesky, J.L., Barrientos, R.M., De May, H.S., Thompson, B.M., Weber, M.D., Watkins, L.R., Maier, S.F., 2014. High-fat diet consumption disrupts memory and primes elevations in hippocampal IL-1 β , an effect that can be prevented with dietary reversal or IL-1 receptor antagonism. *Brain Behav Immun* 42, 22–32. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.06.017>
- Son NT Le, D., Pannacciulli, N., Chen, K., Salbe, A.D., Hill, J.O., Wing, R.R., Reiman, E.M., Krakoff, J., 2007. Less activation in the left dorsolateral prefrontal cortex in the reanalysis of the response to a meal in obese than in lean women and its association with successful weight loss. *Am J Clin Nutr* 86, 573–579.
- Sotres-Bayon, F., Quirk, G.J., 2010. Prefrontal control of fear: more than just extinction. *Curr Opin Neurobiol* 20, 231–235. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2010.02.005>
- Sotres-Bayon, F., Sierra-Mercado, D., Pardilla-Delgado, E., Quirk, G.J., 2012. Gating of fear in prelimbic cortex by hippocampal and amygdala inputs. *Neuron* 76, 804–812. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.09.028>
- South, T., Huang, X.-F., 2008. Temporal and site-specific brain alterations in CB1 receptor binding in high fat diet-induced obesity in C57Bl/6 mice. *J Neuroendocrinol* 20, 1288–1294. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01785.x>
- Sowell, E.R., Thompson, P.M., Holmes, C.J., Jernigan, T.L., Toga, A.W., 1999. In vivo evidence for post-adolescent brain maturation in frontal and striatal regions. *Nat Neurosci* 2, 859–861. <https://doi.org/10.1038/13154>
- Spear, L.P., 2013. Adolescent neurodevelopment. *J Adolesc Health* 52, S7-13. <https://doi.org/10.1016/j.jadohealth.2012.05.006>
- Spear, L.P., 2000. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Rev* 24, 417–463. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(00\)00014-2](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(00)00014-2)
- Spencer, S.J., D'Angelo, H., Soch, A., Watkins, L.R., Maier, S.F., Barrientos, R.M., 2017. High-fat diet and aging interact to produce neuroinflammation and impair hippocampal- and amygdalar-dependent memory. *Neurobiol Aging* 58, 88–101. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.06.014>
- Squire, L.R., 1992. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev* 99, 195–231. <https://doi.org/10.1037/0033-295x.99.2.195>
- Srivastava, D.P., Penzes, P., 2011. Rapid estradiol modulation of neuronal connectivity and its implications for disease. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2, 77. <https://doi.org/10.3389/fendo.2011.00077>
- Srivastava, D.P., Woolfrey, K.M., Penzes, P., 2013. Insights into Rapid Modulation of Neuroplasticity by Brain Estrogens. *Pharmacol Rev* 65, 1318–1350. <https://doi.org/10.1124/pr.111.005272>
- Steinberg, L., 2010. A dual systems model of adolescent risk-taking. *Dev Psychobiol* 52, 216–224. <https://doi.org/10.1002/dev.20445>
- Steindel, F., Lerner, R., Häring, M., Ruehle, S., Marsicano, G., Lutz, B., Monory, K., 2013. Neuron-type specific cannabinoid-mediated G protein signalling in mouse hippocampus. *J Neurochem* 124, 795–807. <https://doi.org/10.1111/jnc.12137>
- Steiner, M.A., Marsicano, G., Nestler, E.J., Holsboer, F., Lutz, B., Wotjak, C.T., 2008. Antidepressant-like behavioral effects of impaired cannabinoid receptor type 1 signaling coincide with

- exaggerated corticosterone secretion in mice. *Psychoneuroendocrinology* 33, 54–67. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2007.09.008>
- Stella, N., 2010. Cannabinoid and cannabinoid-like receptors in microglia, astrocytes, and astrocytomas. *Glia* 58, 1017–1030. <https://doi.org/10.1002/glia.20983>
- Stinson, F.S., Ruan, W.J., Pickering, R., Grant, B.F., 2006. Cannabis use disorders in the USA: prevalence, correlates and co-morbidity. *Psychol Med* 36, 1447–1460. <https://doi.org/10.1017/S0033291706008361>
- Stranahan, A.M., Arumugam, T.V., Cutler, R.G., Lee, K., Egan, J.M., Mattson, M.P., 2008a. Diabetes impairs hippocampal function through glucocorticoid-mediated effects on new and mature neurons. *Nat Neurosci* 11, 309–317. <https://doi.org/10.1038/nn2055>
- Stranahan, A.M., Cutler, R.G., Button, C., Telljohann, R., Mattson, M.P., 2011. Diet-induced elevations in serum cholesterol are associated with alterations in hippocampal lipid metabolism and increased oxidative stress. *J Neurochem* 118, 611–615. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07351.x>
- Stranahan, A.M., Norman, E.D., Lee, K., Cutler, R.G., Telljohann, R.S., Egan, J.M., Mattson, M.P., 2008b. Diet-induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle-aged rats. *Hippocampus* 18, 1085–1088. <https://doi.org/10.1002/hipo.20470>
- Stubbins, R.E., Holcomb, V.B., Hong, J., Núñez, N.P., 2012. Estrogen modulates abdominal adiposity and protects female mice from obesity and impaired glucose tolerance. *Eur J Nutr* 51, 861–870. <https://doi.org/10.1007/s00394-011-0266-4>
- Suarez, A.N., Hsu, T.M., Liu, C.M., Noble, E.E., Cortella, A.M., Nakamoto, E.M., Hahn, J.D., de Lartigue, G., Kanoski, S.E., 2018. Gut vagal sensory signaling regulates hippocampus function through multi-order pathways. *Nat Commun* 9, 2181. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04639-1>
- Sugiura, T., Kishimoto, S., Oka, S., Gokoh, M., 2006. Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. *Prog Lipid Res* 45, 405–446. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2006.03.003>
- Surwit, R.S., Feinglos, M.N., Rodin, J., Sutherland, A., Petro, A.E., Opara, E.C., Kuhn, C.M., Rebuffé-Scrive, M., 1995. Differential effects of fat and sucrose on the development of obesity and diabetes in C57BL/6J and A/J mice. *Metabolism* 44, 645–651. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(95\)90123-x](https://doi.org/10.1016/0026-0495(95)90123-x)
- Suzuki, A., Josselyn, S.A., Frankland, P.W., Masushige, S., Silva, A.J., Kida, S., 2004. Memory reconsolidation and extinction have distinct temporal and biochemical signatures. *J Neurosci* 24, 4787–4795. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5491-03.2004>
- Suzuki, S., Brown, C.M., Dela Cruz, C.D., Yang, E., Bridwell, D.A., Wise, P.M., 2007. Timing of estrogen therapy after ovariectomy dictates the efficacy of its neuroprotective and antiinflammatory actions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 6013–6018. <https://doi.org/10.1073/pnas.0610394104>

T.

- Taki, Y., Kinomura, S., Sato, K., Inoue, K., Goto, R., Okada, K., Uchida, S., Kawashima, R., Fukuda, H., 2008. Relationship between body mass index and gray matter volume in 1,428 healthy individuals. *Obesity (Silver Spring)* 16, 119–124. <https://doi.org/10.1038/oby.2007.4>
- Tam, J., Vemuri, V.K., Liu, J., Bátkai, S., Mukhopadhyay, B., Godlewski, G., Osei-Hyiaman, D., Ohnuma, S., Ambudkar, S.V., Pickel, J., Makriyannis, A., Kunos, G., 2010. Peripheral CB1 cannabinoid receptor blockade improves cardiometabolic risk in mouse models of obesity. *J Clin Invest* 120, 2953–2966. <https://doi.org/10.1172/JCI42551>
- Tan, B.L., Norhaizan, M.E., 2019. Effect of High-Fat Diets on Oxidative Stress, Cellular Inflammatory Response and Cognitive Function. *Nutrients* 11, 2579. <https://doi.org/10.3390/nu11112579>
- Tannenholz, L., Jimenez, J.C., Kheirbek, M.A., 2014. Local and regional heterogeneity underlying hippocampal modulation of cognition and mood. *Front Behav Neurosci* 8, 147. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00147>

- Tessier, S., Riesco, É., Lacaille, M., Pérusse, F., Weisnagel, J., Doré, J., Mauriège, P., 2010. Impact of Walking on Adipose Tissue Lipoprotein Lipase Activity and Expression in Pre- and Postmenopausal Women. *Obes Facts* 3, 191–199. <https://doi.org/10.1159/000314611>
- Thewissen, M.M., Damoiseaux, J.G., Duijvestijn, A.M., van Greevenbroek, M.M., van der Kallen, C.J., Feskens, E.J., Blaak, E.E., Schalkwijk, C.G., Stehouwer, C.D., Cohen Tervaert, J.W., Ferreira, I., 2011. Abdominal fat mass is associated with adaptive immune activation: the CODAM Study. *Obesity (Silver Spring)* 19, 1690–1698. <https://doi.org/10.1038/oby.2010.337>
- Thompson, J.L., Drysdale, M., Baimel, C., Kaur, M., MacGowan, T., Pitman, K.A., Borgland, S.L., 2017. Obesity-Induced Structural and Neuronal Plasticity in the Lateral Orbitofrontal Cortex. *Neuropsychopharmacology* 42, 1480–1490. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.284>
- Tilg, H., Moschen, A.R., 2006. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 6, 772–783. <https://doi.org/10.1038/nri1937>
- Tirelli, E., Laviola, G., Adriani, W., 2003. Ontogenesis of behavioral sensitization and conditioned place preference induced by psychostimulants in laboratory rodents. *Neurosci Biobehav Rev* 27, 163–178. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(03\)00018-6](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(03)00018-6)
- Torromino, G., Loffredo, V., Cavezza, D., Sonsini, G., Esposito, F., Crevenna, A.H., Gioffrè, M., De Risi, M., Treves, A., Griguoli, M., De Leonibus, E., 2022. Thalamo-hippocampal pathway regulates incidental memory capacity in mice. *Nat Commun* 13, 4194. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31781-8>
- Torromino, G., Maggi, A., De Leonibus, E., 2021. Estrogen-dependent hippocampal wiring as a risk factor for age-related dementia in women. *Prog Neurobiol* 197, 101895. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2020.101895>
- Tortoriello, G., Morris, C.V., Alpar, A., Fuzik, J., Shirran, S.L., Calvigioni, D., Keimpema, E., Botting, C.H., Reinecke, K., Herdegen, T., Courtney, M., Hurd, Y.L., Harkany, T., 2014. Miswiring the brain: Δ^9 -tetrahydrocannabinol disrupts cortical development by inducing an SCG10/stathmin-2 degradation pathway. *EMBO J* 33, 668–685. <https://doi.org/10.1002/emboj.201386035>
- Trasino, S.E., Gudas, L.J., 2015. Vitamin A: a missing link in diabetes? *Diabetes Manag (Lond)* 5, 359–367. <https://doi.org/10.2217/dmt.15.30>
- Trettel, J., Levine, E.S., 2003. Endocannabinoids mediate rapid retrograde signaling at interneuron right-arrow pyramidal neuron synapses of the neocortex. *J Neurophysiol* 89, 2334–2338. <https://doi.org/10.1152/jn.01037.2002>
- Trifilieff, P., Herry, C., Vanhoutte, P., Caboche, J., Desmedt, A., Riedel, G., Mons, N., Micheau, J., 2006. Foreground contextual fear memory consolidation requires two independent phases of hippocampal ERK/CREB activation. *Learn Mem* 13, 349–358. <https://doi.org/10.1101/lm.80206>
- Tronson, N.C., Keiser, A.A., 2019. A Dynamic Memory Systems Framework for Sex Differences in Fear Memory. *Trends Neurosci* 42, 680–692. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2019.07.009>
- Tsan, L., Décarie-Spain, L., Noble, E.E., Kanoski, S.E., 2021. Western Diet Consumption During Development: Setting the Stage for Neurocognitive Dysfunction. *Front Neurosci* 15, 632312. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.632312>
- Tsou, K., Brown, S., Sañudo-Peña, M.C., Mackie, K., Walker, J.M., 1998. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience* 83, 393–411. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(97\)00436-3](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(97)00436-3)
- Tucker, K.R., Godbey, S.J., Thiebaud, N., Fadool, D.A., 2012. Olfactory ability and object memory in three mouse models of varying body weight, metabolic hormones, and adiposity. *Physiol Behav* 107, 424–432. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.09.007>
- Tuscher, J.J., Luine, V., Frankfurt, M., Frick, K.M., 2016. Estradiol-Mediated Spine Changes in the Dorsal Hippocampus and Medial Prefrontal Cortex of Ovariectomized Female Mice Depend on ERK and mTOR Activation in the Dorsal Hippocampus. *J. Neurosci.* 36, 1483–1489. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3135-15.2016>

U.

- Uematsu, A., Matsui, M., Tanaka, C., Takahashi, T., Noguchi, K., Suzuki, M., Nishijo, H., 2012. Developmental trajectories of amygdala and hippocampus from infancy to early adulthood in healthy individuals. *PLoS One* 7, e46970. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046970>
- Ueta, Y., Hirai, Y., Otsuka, T., Kawaguchi, Y., 2013. Direction- and distance-dependent interareal connectivity of pyramidal cell subpopulations in the rat frontal cortex. *Front Neural Circuits* 7, 164. <https://doi.org/10.3389/fncir.2013.00164>
- Ujike, H., Morita, Y., 2004. New perspectives in the studies on endocannabinoid and cannabis: cannabinoid receptors and schizophrenia. *J Pharmacol Sci* 96, 376–381. <https://doi.org/10.1254/jphs.fmj04003x4>
- Underwood, E.A., Rochon, P.A., Moineddin, R., Lee, P.E., Wu, W., Pritchard, K.I., Tierney, M.C., 2018. Cognitive sequelae of endocrine therapy in women treated for breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 168, 299–310. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4627-4>
- Underwood, E.L., Thompson, L.T., 2016a. A High-Fat Diet Causes Impairment in Hippocampal Memory and Sex-Dependent Alterations in Peripheral Metabolism. *Neural Plast* 2016, 7385314. <https://doi.org/10.1155/2016/7385314>
- Underwood, E.L., Thompson, L.T., 2016b. High-fat diet impairs spatial memory and hippocampal intrinsic excitability and sex-dependently alters circulating insulin and hippocampal insulin sensitivity. *Biol Sex Differ* 7. <https://doi.org/10.1186/s13293-016-0060-3>

V.

- Valenzuela, P.L., Carrera-Bastos, P., Castillo-García, A., Lieberman, D.E., Santos-Lozano, A., Lucia, A., 2023. Obesity and the risk of cardiometabolic diseases. *Nat Rev Cardiol* 1–20. <https://doi.org/10.1038/s41569-023-00847-5>
- Valjent, E., Pagès, C., Rogard, M., Besson, M.J., Maldonado, R., Caboche, J., 2001. Delta 9-tetrahydrocannabinol-induced MAPK/ERK and Elk-1 activation in vivo depends on dopaminergic transmission. *Eur J Neurosci* 14, 342–352. <https://doi.org/10.1046/j.0953-816x.2001.01652.x>
- Valladolid-Acebes, I., Fole, A., Martín, M., Morales, L., Cano, M.V., Ruiz-Gayo, M., Del Olmo, N., 2013. Spatial memory impairment and changes in hippocampal morphology are triggered by high-fat diets in adolescent mice. Is there a role of leptin? *Neurobiol Learn Mem* 106, 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2013.06.012>
- Vallée, M., Vitiello, S., Bellocchio, L., Hébert-Chatelain, E., Monlezun, S., Martin-Garcia, E., Kasanetz, F., Baillie, G.L., Panin, F., Cathala, A., Roullot-Lacarrière, V., Fabre, S., Hurst, D.P., Lynch, D.L., Shore, D.M., Deroche-Gamonet, V., Spampinato, U., Revest, J.-M., Maldonado, R., Reggio, P.H., Ross, R.A., Marsicano, G., Piazza, P.V., 2014. Pregnenolone can protect the brain from cannabis intoxication. *Science* 343, 94–98. <https://doi.org/10.1126/science.1243985>
- van Aerde, K.I., Feldmeyer, D., 2015. Morphological and physiological characterization of pyramidal neuron subtypes in rat medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex* 25, 788–805. <https://doi.org/10.1093/cercor/bht278>
- Van Gaal, L.F., Rissanen, A.M., Scheen, A.J., Ziegler, O., Rössner, S., RIO-Europe Study Group, 2005. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet* 365, 1389–1397. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66374-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66374-X)
- Van Sickle, M.D., Duncan, M., Kingsley, P.J., Mouihate, A., Urbani, P., Mackie, K., Stella, N., Makriyannis, A., Piomelli, D., Davison, J.S., Marnett, L.J., Di Marzo, V., Pittman, Q.J., Patel, K.D., Sharkey, K.A., 2005. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science* 310, 329–332. <https://doi.org/10.1126/science.1115740>
- Vandevorde, S., Lambert, D.M., 2007. The multiple pathways of endocannabinoid metabolism: a zoom out. *Chem Biodivers* 4, 1858–1881. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200790156>

- Veen, N.D., Selten, J.-P., van der Tweel, I., Feller, W.G., Hoek, H.W., Kahn, R.S., 2004. Cannabis use and age at onset of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 161, 501–506. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.161.3.501>
- Venance, L., Maldonado, R., Manzoni, O., 2004. [Endocannabinoids in the central nervous system]. *Med Sci (Paris)* 20, 45–53. <https://doi.org/10.1051/medsci/200420145>
- Vendruscolo, L.F., Gueye, A.B., Darnaudéry, M., Ahmed, S.H., Cador, M., 2010. Sugar Overconsumption during Adolescence Selectively Alters Motivation and Reward Function in Adult Rats. *PLoS One* 5, e9296. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009296>
- Vertes, R.P., 2004. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse* 51, 32–58. <https://doi.org/10.1002/syn.10279>
- Visser, M., Bouter, L.M., McQuillan, G.M., Wener, M.H., Harris, T.B., 1999. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 282, 2131–2135. <https://doi.org/10.1001/jama.282.22.2131>
- Voyer, D., Voyer, S., Bryden, M.P., 1995. Magnitude of sex differences in spatial abilities: a meta-analysis and consideration of critical variables. *Psychol Bull* 117, 250–270. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.117.2.250>

W.

- Wade, G.N., 1972. Gonadal hormones and behavioral regulation of body weight. *Physiol Behav* 8, 523–534. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(72\)90340-x](https://doi.org/10.1016/0031-9384(72)90340-x)
- Waleh, N.S., Cravatt, B.F., Apte-Deshpande, A., Terao, A., Kilduff, T.S., 2002. Transcriptional regulation of the mouse fatty acid amide hydrolase gene. *Gene* 291, 203–210. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(02\)00598-x](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(02)00598-x)
- Wang, Q., Yuan, J., Yu, Z., Lin, L., Jiang, Y., Cao, Z., Zhuang, P., Whalen, M.J., Song, B., Wang, X.-J., Li, X., Lo, E.H., Xu, Y., Wang, X., 2018. FGF21 Attenuates High-Fat Diet-Induced Cognitive Impairment via Metabolic Regulation and Anti-inflammation of Obese Mice. *Mol Neurobiol* 55, 4702–4717. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0663-7>
- Wang, Y., Lim, H., 2012. The global childhood obesity epidemic and the association between socio-economic status and childhood obesity. *Int Rev Psychiatry* 24, 176–188. <https://doi.org/10.3109/09540261.2012.688195>
- Wang, Z., Fan, J., Wang, J., Li, Y., Xiao, L., Duan, D., Wang, Q., 2016. Protective effect of lycopene on high-fat diet-induced cognitive impairment in rats. *Neurosci Lett* 627, 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.05.014>
- Wang, Z., Ge, Q., Wu, Y., Zhang, J., Gu, Q., Han, J., 2020. Impairment of Long-term Memory by a Short-term High-fat Diet via Hippocampal Oxidative Stress and Alterations in Synaptic Plasticity. *Neuroscience* 424, 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.10.050>
- Warren, S.G., Humphreys, A.G., Juraska, J.M., Greenough, W.T., 1995. LTP varies across the estrous cycle: enhanced synaptic plasticity in proestrus rats. *Brain Res* 703, 26–30. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)01059-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)01059-9)
- Watanabe, S., Doshi, M., Hamazaki, T., 2003. n-3 Polyunsaturated fatty acid (PUFA) deficiency elevates and n-3 PUFA enrichment reduces brain 2-arachidonoylglycerol level in mice. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 69, 51–59. [https://doi.org/10.1016/s0952-3278\(03\)00056-5](https://doi.org/10.1016/s0952-3278(03)00056-5)
- Westlake, T.M., Howlett, A.C., Bonner, T.I., Matsuda, L.A., Herkenham, M., 1994. Cannabinoid receptor binding and messenger RNA expression in human brain: an in vitro receptor autoradiography and in situ hybridization histochemistry study of normal aged and Alzheimer's brains. *Neuroscience* 63, 637–652. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)90511-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)90511-8)
- Whitmer, W., Dr, G., E, B.-C., Mn, H., Ep, G., K, Y., 2008. Central obesity and increased risk of dementia more than three decades later. *Neurology* 71. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000306313.89165.ef>
- Wide, J.K., Hanratty, K., Ting, J., Galea, L.A.M., 2004. High level estradiol impairs and low level estradiol facilitates non-spatial working memory. *Behav Brain Res* 155, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.04.001>

- Williams, C.M., Kirkham, T.C., 1999. Anandamide induces overeating: mediation by central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 143, 315–317. <https://doi.org/10.1007/s002130050953>
- Willing, J., Juraska, J.M., 2015. The timing of neuronal loss across adolescence in the medial prefrontal cortex of male and female rats. *Neuroscience* 301, 268–275. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.05.073>
- Wilson, R.I., Nicoll, R.A., 2001. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature* 410, 588–592. <https://doi.org/10.1038/35069076>
- Winters, B.D., Forwood, S.E., Cowell, R.A., Saksida, L.M., Bussey, T.J., 2004. Double dissociation between the effects of peri-postrhinal cortex and hippocampal lesions on tests of object recognition and spatial memory: heterogeneity of function within the temporal lobe. *J Neurosci* 24, 5901–5908. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1346-04.2004>
- Wise, L.E., Iredale, P.A., Stokes, R.J., Lichtman, A.H., 2007. Combination of rimonabant and donepezil prolongs spatial memory duration. *Neuropsychopharmacology* 32, 1805–1812. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301297>
- Wise, P.M., Dubal, D.B., Wilson, M.E., Rau, S.W., Böttner, M., 2001. Minireview: neuroprotective effects of estrogen—new insights into mechanisms of action. *Endocrinology* 142, 969–973. <https://doi.org/10.1210/endo.142.3.8033>
- Wittert, G., Bracken, K., Robledo, K.P., Grossmann, M., Yeap, B.B., Handelsman, D.J., Stuckey, B., Conway, A., Inder, W., McLachlan, R., Allan, C., Jesudason, D., Fui, M.N.T., Hague, W., Jenkins, A., Daniel, M., GebSKI, V., Keech, A., 2021. Testosterone treatment to prevent or revert type 2 diabetes in men enrolled in a lifestyle programme (T4DM): a randomised, double-blind, placebo-controlled, 2-year, phase 3b trial. *Lancet Diabetes Endocrinol* 9, 32–45. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30367-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30367-3)
- Wolfer, D.P., Lipp, H.P., 1995. Evidence for physiological growth of hippocampal mossy fiber collaterals in the guinea pig during puberty and adulthood. *Hippocampus* 5, 329–340. <https://doi.org/10.1002/hipo.450050406>
- Woolley, C.S., McEwen, B.S., 1993. Roles of estradiol and progesterone in regulation of hippocampal dendritic spine density during the estrous cycle in the rat. *J Comp Neurol* 336, 293–306. <https://doi.org/10.1002/cne.903360210>
- Wosiski-Kuhn, M., Erion, J.R., Gomez-Sanchez, E.P., Gomez-Sanchez, C.E., Stranahan, A.M., 2014. Glucocorticoid receptor activation impairs hippocampal plasticity by suppressing BDNF expression in obese mice. *Psychoneuroendocrinology* 42, 165–177. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.01.020>
- Wu, H., Zhang, W., Huang, M., Lin, X., Chiou, J., 2023. Prolonged High-Fat Diet Consumption throughout Adulthood in Mice Induced Neurobehavioral Deterioration via Gut-Brain Axis. *Nutrients* 15, 392. <https://doi.org/10.3390/nu15020392>

X.

- Xia, S.-F., Xie, Z.-X., Qiao, Y., Li, L.-R., Cheng, X.-R., Tang, X., Shi, Y.-H., Le, G.-W., 2015. Differential effects of quercetin on hippocampus-dependent learning and memory in mice fed with different diets related with oxidative stress. *Physiol Behav* 138, 325–331. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.09.008>
- Xiang, J.-Z., Brown, M.W., 2004. Neuronal responses related to long-term recognition memory processes in prefrontal cortex. *Neuron* 42, 817–829. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.05.013>
- Xing, Y., He, J., Hou, J., Lin, F., Tian, J., Kurihara, H., 2013. Gender differences in CMS and the effects of antidepressant venlafaxine in rats. *Neurochem Int* 63, 570–575. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.09.019>
- Xu, T.J., Reichelt, A.C., 2018. Sucrose or sucrose and caffeine differentially impact memory and anxiety-like behaviours, and alter hippocampal parvalbumin and doublecortin. *Neuropharmacology* 137, 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.04.012>

Y.

- Yagi, S., Chow, C., Lieblich, S.E., Galea, L.A.M., 2016. Sex and strategy use matters for pattern separation, adult neurogenesis, and immediate early gene expression in the hippocampus. *Hippocampus* 26, 87–101. <https://doi.org/10.1002/hipo.22493>
- Yagi, S., Drewczynski, D., Wainwright, S.R., Barha, C.K., Hershorn, O., Galea, L.A.M., 2017. Sex and estrous cycle differences in immediate early gene activation in the hippocampus and the dorsal striatum after the cue competition task. *Horm Behav* 87, 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2016.10.019>
- Yagi, S., Galea, L.A.M., 2019. Sex differences in hippocampal cognition and neurogenesis. *Neuropsychopharmacol* 44, 200–213. <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0208-4>
- Yague, J.G., Wang, A.C.-J., Janssen, W.G.M., Hof, P.R., Garcia-Segura, L.M., Azcoitia, I., Morrison, J.H., 2008. Aromatase distribution in the monkey temporal neocortex and hippocampus. *Brain Res* 1209, 115–127. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.02.061>
- Yamada-Goto, N., Katsuura, G., Ochi, Y., Ebihara, K., Kusakabe, T., Hosoda, K., Nakao, K., 2012. Impairment of fear-conditioning responses and changes of brain neurotrophic factors in diet-induced obese mice. *J Neuroendocrinol* 24, 1120–1125. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2012.02327.x>
- Yamamoto, M., Guo, D.-H., Hernandez, C.M., Stranahan, A.M., 2019. Endothelial Adora2a Activation Promotes Blood-Brain Barrier Breakdown and Cognitive Impairment in Mice with Diet-Induced Insulin Resistance. *J Neurosci* 39, 4179–4192. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2506-18.2019>
- Yan, T., Nian, T., Wu, B., Xiao, F., He, B., Bi, K., Jia, Y., 2020. Okra polysaccharides can reverse the metabolic disorder induced by high-fat diet and cognitive function injury in A β 1-42 mice. *Exp Gerontol* 130, 110802. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2019.110802>
- Yang, D., Xu, L., Guo, F., Sun, X., Zhang, D., Wang, M., 2018. Orexin-A and endocannabinoid signaling regulate glucose-responsive arcuate nucleus neurons and feeding behavior in obese rats. *Neuropeptides* 69, 26–38. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2018.04.001>
- Yang, W., Kelly, T., He, J., 2007. Genetic epidemiology of obesity. *Epidemiol Rev* 29, 49–61. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxm004>
- Yang, Y., Zhong, Z., Wang, B., Xia, X., Yao, W., Huang, L., Wang, Y., Ding, W., 2019. Early-life high-fat diet-induced obesity programs hippocampal development and cognitive functions via regulation of gut commensal *Akkermansia muciniphila*. *Neuropsychopharmacology* 44, 2054–2064. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0437-1>
- Yilmaz, C., Karali, K., Fodelianaki, G., Gravanis, A., Chavakis, T., Charalampopoulos, I., Alexaki, V.I., 2019. Neurosteroids as regulators of neuroinflammation. *Front Neuroendocrinol* 55, 100788. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2019.100788>
- Yonelinas, A.P., Otten, L.J., Shaw, K.N., Rugg, M.D., 2005. Separating the brain regions involved in recollection and familiarity in recognition memory. *J Neurosci* 25, 3002–3008. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5295-04.2005>
- Yoon, G., Cho, K.A., Song, J., Kim, Y.-K., 2019. Transcriptomic Analysis of High Fat Diet Fed Mouse Brain Cortex. *Front Genet* 10, 83. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00083>
- Yusuf, S., Joseph, P., Rangarajan, S., Islam, S., Mente, A., Hystad, P., Brauer, M., Kutty, V.R., Gupta, R., Wielgosz, A., AlHabib, K.F., Dans, A., Lopez-Jaramillo, P., Avezum, A., Lanas, F., Oguz, A., Kruger, I.M., Diaz, R., Yusoff, K., Mony, P., Chifamba, J., Yeates, K., Kelishadi, R., Yusufali, A., Khatib, R., Rahman, O., Zatonska, K., Iqbal, R., Wei, L., Bo, H., Rosengren, A., Kaur, M., Mohan, V., Lear, S.A., Teo, K.K., Leong, D., O'Donnell, M., McKee, M., Dagenais, G., 2020. Modifiable risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 155 722 individuals from 21 high-income, middle-income, and low-income countries (PURE): a prospective cohort study. *Lancet* 395, 795–808. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32008-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32008-2)

Z.

- Zameer, S., Vohora, D., 2017. Effect of aromatase inhibitors on learning and memory and modulation of hippocampal dickkopf-1 and sclerostin in female mice. *Pharmacol Rep* 69, 1300–1307. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2017.06.002>
- Zhao, W.-Q., Chen, H., Quon, M.J., Alkon, D.L., 2004. Insulin and the insulin receptor in experimental models of learning and memory. *Eur J Pharmacol* 490, 71–81. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.02.045>
- Zhu, H.-J., Wang, J.-S., Markowitz, J.S., Donovan, J.L., Gibson, B.B., Gefroh, H.A., Devane, C.L., 2006. Characterization of P-glycoprotein inhibition by major cannabinoids from marijuana. *J Pharmacol Exp Ther* 317, 850–857. <https://doi.org/10.1124/jpet.105.098541>
- Zuloaga, K.L., Johnson, L.A., Roese, N.E., Marzulla, T., Zhang, W., Nie, X., Alkayed, F.N., Hong, C., Grafe, M.R., Pike, M.M., Raber, J., Alkayed, N.J., 2016. High fat diet-induced diabetes in mice exacerbates cognitive deficit due to chronic hypoperfusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 36, 1257–1270. <https://doi.org/10.1177/0271678X15616400>
- Zuo, Y., Lin, A., Chang, P., Gan, W.-B., 2005. Development of long-term dendritic spine stability in diverse regions of cerebral cortex. *Neuron* 46, 181–189. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.04.001>