UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

LA NEUROINFLAMMATION D'ORIGINE NON OBÉSOGÈNE COMBINÉE À UNE DIÈTE OBÉSOGÈNE POTENTIALISE LE DÉVELOPPEMENT DE L'OBÉSITÉ ET DE SES CONSÉQUENCES

MÉMOIRE PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE DE LA

MAÎTRISE EN BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE

PAR
SAVANAH DESCÔTEAUX

AOÛT 2026

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire, de cette thèse ou de cet essai a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire, de sa thèse ou de son essai.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire, cette thèse ou cet essai. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire, de cette thèse et de son essai requiert son autorisation.

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

MAÎTRISE EN BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE

Direction de recherche :

Alexandre Fisette	
Prénom et nom	Directeur de recherche

Jury d'évaluation

Alexandre Fisette	
Prénom et nom	Directeur de recherche

Geneviève Pépin	
Prénom et nom	Évaluatrice interne

Alexandre Caron	
Prénom et nom	Évaluateur externe

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire et m'ont accompagnée tout au long de cette importante étape.

Je souhaite tout d'abord remercier sincèrement mon directeur de recherche, **Alexandre Fisette**, pour son accompagnement, sa disponibilité et la confiance qu'il m'a accordée tout au long de ce projet. Ses conseils, ses encouragements et son expertise ont été essentiels à l'avancement de ce travail et ont grandement enrichi mon parcours de recherche.

Je tiens également à remercier chaleureusement mes stagiaires, **Thomas Geraud**, **Dali Léveillé** et **Virginie Goulet**, avec qui j'ai eu la chance de collaborer au cours de cette aventure. Leur implication, leur enthousiasme et les échanges que nous avons partagés ont contribué à rendre cette expérience aussi enrichissante qu'agréable.

Un grand merci à l'ensemble des membres du laboratoire pour leur bienveillance et la belle atmosphère de travail qu'ils ont su créer. Je souhaite adresser une reconnaissance toute particulière à **Alyssa Breton Morin** et **Ambica Bora**, dont le soutien, la disponibilité et l'aide précieuse au quotidien ont largement contribué à rendre ces années plus agréables.

Enfin, je souhaite remercier du fond du cœur mon amoureux, **Alexandre Dupuis**, pour sa présence constante, son écoute et sa patience infinie. Merci d'avoir été à mes côtés dans les moments de doute comme dans les moments de réussite, et de m'avoir soutenue avec autant de douceur tout au long de cette étape importante. Ton soutien a été une source précieuse de réconfort et de motivation.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS **1**

RÉSUMÉ **4**

LISTE DES TABLEAUX **5**

LISTE DES FIGURES **6**

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES **7**

1. INTRODUCTION **9**

1.1. PROBLÉMATIQUE ET QUESTION DE RECHERCHE 9
1.2. L'OBÉSITÉ ET LA RÉGULATION MÉTABOLIQUE 10
1.2.1. Définition de l'obésité 10
1.2.2. Étiologie de l'obésité 11
1.2.3. Régions cérébrales impliquées dans le contrôle de la prise alimentaire 14
1.2.4. Signaux périphériques impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique 20
1.2.5. Dimorphisme sexuel dans le développement de l'obésité 21
1.2.6. Approches thérapeutiques actuelles 22
1.3. LA NEUROINFLAMMATION 24
1.3.1. Les composants cellulaires et moléculaires 24
1.3.2. Neuroinflammation d'origine non obésogène 25
1.3.3. Métainflammation et neuroinflammation induite par l'obésité 27

2. HYPOTHÈSE DE RECHERCHE ET JUSTIFICATION DES MODÈLES UTILISÉS **32**

2.1. HYPOTHÈSE DE RECHERCHE ET OBJECTIFS 32
2.1.1. Hypothèse 32
2.1.2. Objectif général 32
2.1.3. Objectifs spécifiques 32
2.2. JUSTIFICATION DES MODÈLES EXPÉRIMENTAUX 33
2.2.1. Modèle in vivo 33
2.2.4. Modèle in vitro 34

3. MÉTHODOLOGIE **36**

MODÈLE IN VIVO 36
3.1. Animaux 36
3.2. Traitements 37
3.3. Description des groupes expérimentaux 38
3.4. Analyse biochimique 43
3.5. Tests comportementaux 46
3.6. Tests de tolérance au glucose (GTT) 52
MODÈLE IN VITRO 53
3.7. Modèle expérimental in vitro 53
3.8. Sérum LPS 53
3.9. Analyses statistiques 54

4. RÉSULTATS **55**

4.1. VALIDATION DU MODÈLE D'ÉTUDE DE NEUROINFLAMMATION INDUITE PAR UNE INJECTION I.P. DE LPS 5 MG/KG 55
4.2. EFFETS MÉTABOLIQUES DE LA NEUROINFLAMMATION INDUITE PAR LE LPS COMBINÉE À UN RÉGIME OBÉSOGÈNE DE 9 SEMAINES 57
4.3. EFFETS SUR LES TROUBLES COGNITIFS ET LES TROUBLES DE L'HUMEUR DE LA NEUROINFLAMMATION INDUITE PAR LE LPS COMBINÉE À UN RÉGIME OBÉSOGÈNE DE 9 SEMAINES .. 60

4.4. Effets inflammatoires et neuroinflammatoires de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à un régime obésogène de 3 semaines 63
4.5. Effets métaboliques de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à un régime obésogène de 3 semaines 65
4.6. Effets sur les troubles de l'humeur de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à un régime obésogène de 3 semaines 67

5. DISCUSSION 69

5.1. Validation du modèle de neuroinflammation 70
5.2. Effets synergiques de la neuroinflammation non obèse combinée à un régime obésogène de 9 semaines sur le métabolisme et les troubles cognitifs 72
5.3. Effets synergiques de la neuroinflammation non obèse combinée à un régime obésogène de 3 semaines sur le métabolisme et les troubles cognitifs 75
5.4. Contribution biologique de la microglie 79

6. CONCLUSION ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE 81

Conclusion générale 81
Perspectives de recherche 81
Perspectives in vitro 81
Perspectives in vivo 81
Perspectives thérapeutiques 82
Conclusion finale 83

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 84

RÉSUMÉ

La neuroinflammation chronique est un phénomène biologique aux sources multiples, qui peut à son tour provoquer ou aggraver de nombreuses pathologies, telles que le déclin cognitif ou les troubles neurodégénératifs. Une caractéristique importante de la neuroinflammation est sa persistance ; alors que l'inflammation périphérique peut se résorber rapidement après une infection virale ou bactérienne, par exemple, la neuroinflammation peut devenir chronique et durer des années, voire devenir permanente. Le vieillissement de la population occidentale, les polluants environnementaux et la pandémie de SRAS-COV2 forment ensemble un cocktail délétère qui conduira probablement à une prévalence accrue de la neuroinflammation persistante dans la population.

Alors que les troubles métaboliques, tels que l'obésité, sont connus pour générer eux-mêmes une neuroinflammation, on ne sait guère si, à l'inverse, une neuroinflammation chronique chez un individu de poids normal peut sensibiliser à la prise de poids. Ce projet vise à comprendre si la présence d'une neuroinflammation peut moduler les réseaux limbiques et hypothalamiques pour faciliter le développement de troubles métaboliques. En utilisant un modèle murin de neuroinflammation induite par le LPS, nous avons observé des changements dans le métabolisme énergétique lors de l'exposition à un régime riche en graisses. Nous avons également examiné les circuits pertinents et vérifié si les comportements cognitifs et anxio-dépressifs étaient affectés.

Mots clés : Obésité, Neuroinflammation, Hypothalamus, Microglies, LPS, Cognition

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 3.1. Composition des diètes et énergie métabolisable. 37

Tableau 3.2. Les séquences des amorces pour le RT-qPCR. 44

Tableau 3.3. Liste des anticorps utilisés pour la technique d'immunofluorescence. 46

Tableau 3.4. Les indices visuels. 52

Tableau 3.5. Les différents points de départ pour chaque essai pour une période d'acquisition de 2 jours. 52

Tableau 3.6. Composition des milieux de culture pour les cellules microgliales N9. 53

LISTE DES FIGURES

Figure 3.1. Groupes expérimentaux pour le protocole de 9 semaines de diètes. 39

Figure 3.2 Conception expérimentale de la chronologie du protocole de 9 semaines de diètes. 40

Figure 3.3. Groupes expérimentaux pour le protocole de 3 semaines de diètes. 41

Figure 3.4. Conception expérimentale de la chronologie du protocole de 3 semaines de diètes. 41

Figure 3.5. Conception expérimentale de la chronologie du protocole de 3 semaines de diètes avec un délai pour la reprise de poids. 41

Figure 3.6. Le système de phénotypage métabolique et comportemental Promethion Core de Sable Systems International. 42

Figure 3.7. Open Field Test. 48

Figure 3.8. Elevated Plus Maze. 49

Figure 3.9. Forced Swim Test. 50

Figure 4.1. Validation du modèle de neuroinflammation induite par une injection i.p. de LPS 5 mg/kg. 56

Figure 4.2 Effets métaboliques de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à un régime obésogène de 9 semaines des souris femelles et mâles. 59

Figure 4.3 Effets sur la cognition, le comportement anxieux et le désespoir comportemental évalués par des tests comportementaux à la 6e et 7e semaines suivant le changement de diète chez les souris femelles et mâles. 62

Figure 4.4 Effets inflammatoires et neuroinflammatoires de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à un régime obésogène de 3 semaines des souris mâles. 64

Figure 4.5 Effets métaboliques de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à un régime obésogène de 3 semaines des souris mâles. 66

Figure 4.6. Effets de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à une diète obésogène sur les comportements anxiodépressifs évalués par des tests comportementaux à la 2e semaine suivant le changement de diète chez les souris mâles. 68

Figure 5.1. Activation de la neuroinflammation induite par le LPS et de la neuroinflammation induite par un régime obésogène. Adapté de Thaler et al. 2012 70

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

ADNc	Acide désoxyribonucléique complémentaire
Agrp	Agouti-related peptide
ARC	Noyau arqué de l'hypothalamus
ARNm	Acide ribonucléique messager
BAT	Tissu adipeux brun
Cart	Cocaine- and amphetamine-regulated transcript
CD68	Cluster of Differentiation 68 (marqueur de microglie)
CHOW	Diète standard pour rongeurs
Ccl2	Chemokine (C-C motif) ligand 2
Cox2	Cyclooxygenase-2
Ct	Cycle threshold (seuil de détection qPCR)
DIO	Diet-Induced Obesity (obésité induite par la diète)
EPM	Elevated Plus Maze (labyrinthe en croix surélevé)
EDTA	Acide éthylènediaminetétraacétique
FST	Forced Swim Test (test de nage forcée)
GFAP	Glial Fibrillary Acidic Protein
Ghsr	Growth hormone secretagogue receptor
GON	Tissu adipeux gonadique (graisse viscérale entourant les gonades)
GTT	Glucose Tolerance Test
HFD	High-Fat Diet
HFHS	High-Fat High-Sugar Diet
HIPP	Hippocampe
HPT	Hypothalamus
IF	Immunofluorescence
IL-1β	Interleukine-1β
IL-6	Interleukine-6
ING	Graisse inguinale (tissu adipeux sous-cutané)
IP	Intrapéritonéale
Iba-1	Ionized calcium-binding adapter molecule 1
Kiss1	Gène codant la kisspeptine
LepR	Leptin receptor
LIV	Foie
LPS	Lipopolysaccharide
Mc4R	Melanocortin 4 receptor
MCH	Melanin-concentrating hormone

MWM	Morris Water Maze
NF-κB	Nuclear factor kappa B
NFkBIA	Inhibitor alpha de NF-κB
NOR	Novel Object Recognition
NPY	Neuropeptide Y
OFT	Open Field Test
PBS	Phosphate-buffered saline
POMC	Pro-opiomélanocortine
Saa3	Serum Amyloid A3
SNC	Système nerveux central
Tbx3	T-box transcription factor 3
Th	Tyrosine hydroxylase
TNFα	Tumor Necrosis Factor alpha

1. Introduction

1.1. Problématique et question de recherche

L'obésité est une problématique sociosanitaire majeure en figurant parmi les troubles chroniques les plus prévalents et les plus coûteux au monde[1]. Malgré d'importants efforts déployés à l'échelle mondiale au cours des dernières décennies, aucun pays n'a réussi à diminuer durablement sa prévalence[2]. Selon les projections du *World Obesity Atlas*, plus de 4 milliards d'individus pourraient présenter un surpoids ou une obésité d'ici 2035, soit près de 50 % de la population mondiale[3]. Au Canada, plus de 7 millions d'adultes en souffraient en 2022[4]. Cette progression constante s'accompagne d'un fardeau économique considérable, les coûts directs et indirects, estimés à 7,1 milliards de dollars en 2006, sont évalués à plus de 27 milliards de dollars annuellement en raison du coût global lié aux complications non traitées[4].

L'obésité représente un facteur de risque majeur pour de nombreuses maladies chroniques, notamment les pathologies cardiovasculaires, le diabète de type 2 et certains cancers[5]. Elle accroît significativement l'incidence de troubles neuropsychiatriques tels que l'anxiété et la dépression, notamment par l'entremise de la neuroinflammation et de la dysrégulation des circuits de la récompense et du stress[6,7]. L'ensemble de ces complications entraîne une hausse marquée du recours aux soins de santé et contribue à une surmortalité importante à l'échelle globale.

En dépit de plusieurs décennies de recherche, aucune réponse satisfaisante ne permet encore d'expliquer l'extrême prévalence d'obésité et de troubles métaboliques à l'échelle planétaire[8]. Bien que les facteurs génétiques, les habitudes alimentaires et la sédentarité jouent un rôle déterminant, les mécanismes biologiques responsables du développement et de la progression de l'obésité demeurent encore incomplètement compris.

Un angle négligé de cette lutte est la présence importante de neuroinflammation dans la population, liée entre autres au vieillissement, aux polluants environnementaux, et aux infections répétées telles que la pandémie soutenue de SARS-CoV-2[9,10]. Alors que les désordres métaboliques sont reconnus pour engendrer eux-mêmes la

neuroinflammation[10,11], peu de connaissances sont toutefois disponibles à savoir si, à l'inverse, la neuroinflammation chronique dans une situation de poids corporel sain peut reprogrammer le cerveau face à une diète riche en graisses et en sucres, favorisant ainsi le gain de poids[10-12].

Ainsi, il demeure largement méconnu si une neuroinflammation préexistante, développée dans un contexte de poids corporel sain, constitue un facteur de susceptibilité capable de modifier la réponse du cerveau lors d'une exposition ultérieure à un environnement obésogène et de favoriser le développement des altérations métaboliques associées à l'obésité. Une meilleure compréhension de cette interaction permettrait d'approfondir les connaissances sur les mécanismes précoces impliqués dans le développement de l'obésité et pourrait ouvrir la voie à de nouvelles stratégies visant à prévenir l'apparition des désordres métaboliques chez les individus présentant un état neuroinflammatoire préexistant.

La question de recherche de ce projet est donc la suivante : Une neuroinflammation d'origine non obésogène peut-elle, lorsqu'elle est combinée à un régime obésogène, contribuer au développement de l'obésité et ainsi créer un cercle vicieux de neuroinflammation et de dysrégulation métabolique prédisposant aux conséquences de l'obésité ?

1.2. L'obésité et la régulation métabolique

1.2.1. Définition de l'obésité

L'obésité est une maladie chronique caractérisée par la présence d'un tissu adipeux excessif et/ou dysfonctionnel qui nuit à la santé et au bien-être. Dans les études épidémiologiques, l'obésité est souvent évaluée à l'aide de l'indice de masse corporelle (IMC, kg/m²), une mesure évaluant le rapport entre le poids corporel et la taille de l'individu. L'obésité est définie par un IMC supérieur ou égal à 30 kg/m² et se divise en plusieurs sous-catégories : classe I (IMC de 30,0 à 34,9 kg/m²), classe II (IMC de 35,0 à 39,9 kg/m²) et classe III (IMC ≥ 40,0 kg/m²). Le terme « obésité sévère » est utilisé pour désigner les personnes ayant un IMC ≥ 35,0 kg/m²[4]. Les études actuelles fixent la limite d'un IMC normal pour un adulte

entre 18,5 et 24,9 kg/m^2, un IMC entre 25,0 et 29,9 kg/m^2 indique une situation de surpoids. Chez les enfants, l'IMC nécessite un ajustement en fonction de l'âge et du sexe[1].

Bien que l'IMC ne mesure pas directement la masse adipeuse et ne distingue pas la masse musculaire de la masse graisseuse, il demeure l'indicateur le plus étudié et le plus accessible pour évaluer la santé associée à un poids insuffisant et à un excès de poids. Les Lignes directrices canadiennes pour la classification du poids chez les adultes recommandent l'utilisation de l'IMC et du tour de taille en tant qu'indicateurs de risque pour la santé. À l'échelle individuelle, ce système de classification du poids n'est qu'un des éléments d'une évaluation globale de la santé visant à préciser le risque pour la santé. Celui-ci ne doit pas être utilisé chez les personnes de moins de 18 ans, les femmes enceintes et les femmes qui allaitent[13].

1.2.2. Étiologie de l'obésité

L'obésité est une maladie chronique multifactorielle résultant de l'interaction complexe entre des facteurs génétiques, métaboliques, comportementaux, environnementaux et socioéconomiques.

L'augmentation rapide de sa prévalence au cours des dernières décennies est largement attribuée aux modifications de l'environnement et du mode de vie, ayant favorisé l'émergence d'un environnement obésogène. Celui-ci se caractérise notamment par une alimentation ultra-transformée riche en lipides et en sucres, une augmentation des comportements sédentaires ainsi que par une exposition croissante à divers facteurs environnementaux, tels que les polluants comme le bisphénol A (BPA) et les phtalates, les perturbateurs endocriniens, le stress chronique et certains agents pathogènes[14,15]. Ces différents facteurs contribuent au développement de l'obésité par divers mécanismes, notamment en favorisant une inflammation chronique de bas grade, une altération du microbiote intestinal (dysbiose) et des perturbations des mécanismes impliqués dans le maintien de l'homéostasie énergétique[14,16,17].

Les travaux réalisés au cours des dernières décennies ont démontré que ces processus sont étroitement orchestrés par le système nerveux central (SNC), qui agit comme le principal centre intégrateur des signaux métaboliques, hormonaux et nerveux provenant de

l'organisme[1,18]. Le développement de l'obésité ne résulte donc pas uniquement d'un déséquilibre entre les apports et les dépenses énergétiques, mais également d'une altération progressive des mécanismes neurobiologiques centraux responsables du maintien de l'homéostasie énergétique.

L'homéostasie énergétique fait référence à l'équilibre dynamique entre les apports énergétiques et les dépenses énergétiques de l'organisme, incluant le métabolisme basal, la thermogénèse et l'activité physique. Ce système régulateur permet à l'organisme d'adapter finement son métabolisme face aux fluctuations de la disponibilité des nutriments et aux exigences environnementales, garantissant ainsi le maintien des réserves corporelles et la survie de l'espèce[19]. Elle repose sur une communication bidirectionnelle entre le SNC et plusieurs organes périphériques. Ceux-ci transmettent continuellement au cerveau des informations sur l'état énergétique de l'organisme, incluant les réserves énergétiques, la quantité d'aliments ingérés, la vitesse de vidange gastrique, l'absorption des nutriments et la disponibilité des substrats énergétiques via des signaux hormonaux, nerveux, métaboliques et sensoriels[19,20]. Ces axes de communication comprennent, entre autres, l'axe tissu adipeux-cerveau, l'axe intestin-cerveau, l'axe gonadal, l'axe sensoriel ainsi que les voies sensorielles et la détection des métabolites circulants. Les principaux composants périphériques sont le système gustatif et le tractus gastro-intestinal, ainsi que le pancréas, le foie, les muscles et le tissu adipeux. Les principales structures cérébrales impliquées sont l'hypothalamus, le tronc cérébral et certaines régions corticales et limbiques[21].

Plusieurs modèles conceptuels ont été proposés afin d'expliquer les mécanismes responsables de la régulation du poids corporel. Les deux principaux modèles sont le modèle du bilan énergétique (EBM – *Energy Balance Model*) et le modèle glucides-insuline (CIM – *Carbohydrate-Insulin Model*). Ces deux approches ne sont pas nécessairement mutuellement exclusives, mais mettent en lumière différents mécanismes de régulation du poids corporel. Des données appuyant les deux modèles sont retrouvées sous différentes formes d'obésité et dans des conditions expérimentales différentes.

- Le modèle du bilan énergétique (EBM) repose sur le principe du poids corporel déterminé par un équilibre entre les calories consommées et les calories dépensées.

L'état d'équilibre, soit une balance énergétique stable, fait référence à un niveau égal d'énergie consommée et dépensée par un individu. Une balance positive favorise le gain de poids et le développement de l'obésité. Elle survient lorsque l'apport énergétique est supérieur à la dépense énergétique, l'excès d'énergie est alors stocké. À l'inverse, une balance négative se produit lorsque l'apport énergétique est inférieur à la dépense, ce qui entraîne une perte de poids puisque l'organisme utilise ses réserves d'énergie pour compenser le déficit. L'EBM propose que le cerveau soit le principal organe responsable de la régulation du poids corporel, par le biais de signaux endocriniens, métaboliques et nerveux complexes, répondant à la fois aux besoins énergétiques dynamiques de l'organisme et aux influences de l'environnement[22,23].

- Plutôt que de mettre l'accent sur le nombre total de calories consommées, le modèle glucides-insuline (CIM) met l'accent sur la qualité des macronutriments consommés et leur influence sur la réponse hormonale. Le CIM propose que la qualité des macronutriments, notamment les glucides, influence la régulation hormonale de l'insuline qui joue un rôle central dans l'entreposage des graisses. L'insuline est une hormone sécrétée par les cellules β des îlots Langerhans du pancréas lors d'une augmentation de la glycémie afin de la réduire. Elle favorise l'absorption de glucose par les cellules, favorise la synthèse de glycogène et la lipogenèse et inhibe la lipolyse. Les régimes riches en glucides raffinés provoqueraient la sécrétion d'insuline, favorisant le stockage des graisses et l'absorption de glucose, diminuant ainsi la disponibilité énergétique pour les autres tissus. Le cerveau percevrait alors un déficit énergétique et stimulerait donc l'appétit en plus de ralentir la dépense énergétique[22].

Bien que ces deux modèles proposent des mécanismes distincts, ils reconnaissent tous deux le rôle fondamental du système nerveux central dans le contrôle de l'homéostasie énergétique. Les données expérimentales et cliniques actuelles soutiennent toutefois davantage le modèle du bilan énergétique comme cadre conceptuel expliquant la physiopathologie de l'obésité[23]. Ce modèle constitue également le fondement théorique du présent mémoire. Les mécanismes neurobiologiques qui sous-tendent cette régulation seront décrits dans la section suivante.

1.2.3. Régions cérébrales impliquées dans le contrôle de la prise alimentaire

La prise alimentaire implique l'interaction de plusieurs régions cérébrales spécialisées et l'intégration de nombreux signaux périphériques renseignant le cerveau sur l'état énergétique de l'organisme ainsi que de facteurs cognitifs, émotionnels et environnementaux[21]. Son rôle premier est d'assurer un apport énergétique suffisant afin de maintenir l'homéostasie énergétique de l'organisme[24]. Toutefois, chez l'humain, la prise alimentaire n'est pas uniquement déterminée par les besoins métaboliques. Elle est également influencée par les propriétés sensorielles des aliments, les expériences passées, les émotions ainsi que les mécanismes de récompense[25,26]. Ainsi, le contrôle du comportement alimentaire repose sur l'interaction de deux grands réseaux fonctionnels : le système homéostatique et le système hédonique[27,28].

Le système homéostatique assure le maintien de l'équilibre énergétique en adaptant la prise alimentaire et la dépense énergétique aux besoins de l'organisme. Il repose principalement sur l'hypothalamus et le tronc cérébral, qui reçoivent et intègrent les signaux périphériques pour ajuster la prise alimentaire.

Le tronc cérébral, plus particulièrement le complexe dorso-vagal (DVC), comprenant l'area postrema (AP), le noyau du tractus solitaire (NTS) et le noyau moteur dorsal du vague (DMV), reçoit et intègre les informations provenant du tractus gastro-intestinal[27]. Il traite notamment la distension gastrique transmise par les afférences vagales ainsi que les hormones de satiété sécrétées par l'intestin, telles que le *glucagon-like peptide-1* (GLP-1), le peptide YY (PYY) et la cholécystokinine (CCK), auxquelles l'AP est directement exposée en raison de sa perméabilité vasculaire[29,30]. Ce réseau participe principalement au contrôle de la satiété à court terme[27]. L'hypothalamus constitue quant à lui le principal centre intégrateur de l'homéostasie énergétique à long terme[24]. Il reçoit les informations hormonales et métaboliques reflétant les réserves énergétiques (telles que la leptine, l'insuline, la ghréline et les nutriments circulants), puis coordonne les réponses neuroendocriniennes, autonomes et comportementales adaptées[29,31].

En parallèle, le système hédonique module le comportement alimentaire en fonction des propriétés gratifiantes des aliments plutôt qu'en réponse aux seuls besoins énergétiques[26].

Les propriétés sensorielles des aliments, notamment leur odeur, leur goût et leur texture, constituent les premiers stimuli activant ces circuits de récompense[25]. Le système hédonique implique principalement les structures du système corticolimbique, notamment l'aire tegmentale ventrale (VTA), le noyau accumbens (NAc), l'amygdale, l'hippocampe et le cortex préfrontal[32]. Ces régions interviennent dans la motivation, la récompense, les émotions, la mémoire et la prise de décision, influençant ainsi le désir de consommer certains aliments, parfois indépendamment de l'état énergétique de l'organisme[26].

Bien que ces deux systèmes remplissent des fonctions distinctes, ils sont fortement interconnectés et interagissent continuellement[28]. Les signaux reflétant l'état énergétique de l'organisme modulent l'activité des circuits de récompense, tandis que les mécanismes hédoniques influencent en retour les circuits homéostatiques, permettant une régulation intégrée du comportement alimentaire[33]. Compte tenu du rôle central de l'hypothalamus dans la régulation de l'homéostasie énergétique et de son implication directe dans les mécanismes étudiés dans le présent projet, l'organisation anatomique et fonctionnelle de cette structure sera détaillée dans les sections suivantes.

1.2.3.1. L'hypothalamus

L'hypothalamus est une structure du diencéphale, située sous le thalamus, au-dessus du tronc cérébral et parcourue par le 3e ventricule. Il constitue l'une des régions les plus complexes du cerveau en raison de la diversité des populations cellulaires qu'il renferme et de ses nombreuses connexions afférentes et efférentes avec d'autres structures du SNC, notamment le cortex cérébral, l'amygdale, l'hippocampe, le tronc cérébral et l'hypophyse[19]. L'hypothalamus joue un rôle essentiel dans le maintien de nombreuses fonctions homéostatiques indispensables à la survie. Il participe notamment à la thermorégulation, au contrôle des rythmes circadiens, à l'équilibre hydrique, à la réponse au stress, aux fonctions reproductrices, aux réponses neuroendocriniennes ainsi qu'à la régulation de l'homéostasie énergétique. Cette diversité fonctionnelle repose sur une organisation en plusieurs noyaux anatomiquement et fonctionnellement spécialisés abritant des populations neuronales hétérogènes. En raison de son rôle central dans le maintien de l'homéostasie, un dysfonctionnement de l'hypothalamus est associé au développement de

nombreuses pathologies, notamment des troubles métaboliques, endocriniens et neuropsychiatriques, tels que l'obésité, le diabète, l'anorexie, la dépression et les troubles anxieux[34-37].

Au cours du XXe siècle, les expériences de lésions et de stimulations électriques de différentes régions de l'hypothalamus ont conduit aux concepts de « centre de la faim » et de « centre de la satiété ». Les avancées en neuroanatomie et en neurobiologie moléculaire ont toutefois démontré que le contrôle de la prise alimentaire ne repose pas sur deux centres distincts, mais sur un réseau complexe de noyaux hypothalamiques renfermant des populations neuronales spécialisées qui intègrent les signaux métaboliques, hormonaux et neuronaux reflétant l'état énergétique de l'organisme[38].

Les principaux noyaux hypothalamiques impliqués dans la régulation de l'équilibre énergétique sont le noyau arqué (ARC), le noyau paraventriculaire (PVN), le noyau ventromédian (VMH), le noyau dorsomédial (DMH) et l'hypothalamus latéral (LH)[39]. Ces noyaux communiquent étroitement afin d'intégrer les signaux périphériques et centraux contrôlant la prise alimentaire et la dépense énergétique. Parmi ces noyaux, le noyau arqué constitue le principal site d'intégration des signaux métaboliques périphériques et représente la région d'intérêt du présent projet.

Le noyau arqué hypothalamique (ARC)

Situé dans l'hypothalamus médiobasal (MBH), à la base du troisième ventricule et à proximité de l'éminence médiane (ME), l'ARC est idéalement positionné pour détecter les variations de l'état énergétique de l'organisme. L'éminence médiane est un organe circumventriculaire caractérisé par une barrière hémato-encéphalique (BHE) spécialisée, permettant une exposition accrue de l'ARC aux signaux périphériques circulants, notamment aux hormones métaboliques telles que la leptine, l'insuline et la ghréline, mais également à certains nutriments et cytokines. Cette organisation anatomique confère à l'ARC un rôle de premier relais entre les organes périphériques et le système nerveux central, lui permettant d'intégrer les informations reflétant l'état énergétique de l'organisme avant de les transmettre aux autres noyaux hypothalamiques[20,40].

Le noyau arqué est une structure particulièrement hétérogène qui renferme de nombreuses populations neuronales exprimant des neurotransmetteurs, des neuropeptides et des récepteurs distincts. Ces populations participent à diverses fonctions physiologiques, notamment la régulation de l'homéostasie énergétique, la reproduction, le métabolisme glucidique, la croissance et les réponses neuroendocriniennes. Parmi elles, les neurones exprimant la *pro-opiomélanocortine* (POMC) et le *Cocaine and Amphetamine-Regulated Transcript* (CART), ainsi que les neurones coexprimant l'Agouti-related peptide (AgRP) et le neuropeptide Y (NPY), représentent les deux populations les mieux caractérisées dans le contrôle de la balance énergétique. Ensemble, elles constituent le système de la mélanocortine, principal circuit neuronal de la régulation homéostatique de l'équilibre énergétique[35,36].

Le système de la mélanocortine repose sur deux populations neuronales exerçant des effets antagonistes sur la prise alimentaire et la dépense énergétique. Les neurones anorexigènes POMC/CART favorisent la satiété et augmentent la dépense énergétique, alors que les neurones orexigènes AgRP/NPY stimulent la prise alimentaire et limitent la dépense énergétique. Cette organisation antagoniste permet d'intégrer les signaux métaboliques provenant de la périphérie afin d'adapter en permanence le comportement alimentaire à l'état énergétique de l'organisme[35,36].

D'un point de vue adaptatif, le système de la mélanocortine a évolué afin de préserver les réserves énergétiques de l'organisme en période de restriction alimentaire plutôt que de prévenir l'obésité. Ainsi, les mécanismes favorisant la prise alimentaire sont généralement plus robustes que ceux induisant la satiété, ce qui représentait un avantage dans un contexte de disponibilité alimentaire limitée[41,42].

Les neurones POMC synthétisent la POMC, précurseur de plusieurs peptides biologiquement actifs, dont l'α-melanocyte-stimulating hormone (α-MSH), principal peptide mélanocortinergique impliqué dans le contrôle de la balance énergétique chez les rongeurs. L'α-MSH exerce ses effets en activant principalement les récepteurs mélanocortinergiques MC3R et MC4R exprimés dans plusieurs noyaux hypothalamiques, notamment le noyau paraventriculaire. La majorité des neurones POMC coexpriment

également le peptide CART, qui contribue à leurs effets anorexigènes. Chez l'humain, les mutations entraînant une perte de fonction de POMC sont associées à une obésité sévère, soulignant l'importance de cette voie dans le maintien de l'homéostasie énergétique.

Dans les neurones AgRP/NPY, l'AgRP agit comme un antagoniste endogène des récepteurs MC3R et MC4R, limitant ainsi l'action de l'α-MSH. Les neurones AgRP/NPY et POMC entretiennent par ailleurs des interactions réciproques qui contribuent à la régulation fine des circuits hypothalamiques impliqués dans l'homéostasie énergétique.

Les neurones POMC/CART et AgRP/NPY répondent de façon différentielle aux variations de l'état énergétique de l'organisme. Les hormones anorexigènes, telles que la leptine et l'insuline, activent les neurones POMC tout en inhibant les neurones AgRP/NPY, favorisant ainsi la satiété et la dépense énergétique[43]. À l'inverse, la ghréline, dont les concentrations augmentent durant le jeûne, active préférentiellement les neurones AgRP/NPY afin de stimuler la prise alimentaire. Ces populations neuronales sont également sensibles aux variations des concentrations circulantes de glucose, d'acides gras et d'acides aminés, leur permettant d'intégrer en permanence les informations reflétant le statut énergétique de l'organisme[24].

Outre les neurones POMC/CART et AgRP/NPY, le noyau arqué abrite plusieurs autres populations neuronales jouant un rôle dans l'homéostasie et la balance énergétique[44].

Les neurones exprimant la tyrosine hydroxylase (TH) sont des neurones dopaminergiques qui exercent une action orexigène dans l'ARC. Ces neurones auraient également une activité inhibitrice sur les neurones du PVH par la libération de dopamine et de GABA[45]. Les neurones dopaminergiques tubéro-infondibulaires (TiDA) sont une population spécifique de neurones dopaminergiques de l'ARC jouant un rôle neuroendocrinien. La libération de dopamine est connue pour jouer un rôle dans le système de la récompense, la motivation et les mouvements. Cette sous-population de neurones TH/GABA est susceptible de cibler les neurones POMC et NPY/AgRP exprimant les récepteurs de la dopamine. Les neurones NPY/AgRP expriment principalement le récepteur excitateur de la dopamine de type 1 (D1R) alors que les neurones POMC expriment le récepteur inhibiteur de la dopamine de type 2 (D2R)[46].

Un autre type de neurones GABAergiques a récemment été identifié dans l'ARC, les neurones exprimant la prépronociceptine (PNOC), comme médiateurs de l'hyperphagie et de la prise de poids induites par un régime riche en graisses chez la souris. Ces neurones $PNOC^{ARC}$ sont une population distincte mais moléculairement hétérogène de cellules qui inhibent directement les neurones POMC. Il est important de noter que les neurones PNOC sont régulés par le glucose, et il a également été démontré qu'une partie des neurones est inhibée par la leptine[47].

Les neurones à kisspeptine (Kiss1) sont des acteurs clés dans la fonction reproductive, principalement connus pour leur action sur l'hormone lutéinisante, impliquée dans la régulation de la fertilité[44]. La physiologie de la reproduction étant étroitement liée aux signaux métaboliques, l'état métabolique exerce une influence significative sur la puberté et la fertilité[48]. Une disponibilité énergétique adéquate est nécessaire à la maturation sexuelle et à la fertilité, tandis que la fonction de reproduction influence, en retour, le métabolisme systémique et la sécrétion hormonale[49]. Des données récentes désignent la signalisation par la kisspeptine comme un déterminant clé de l'homéostasie énergétique centrale[49]. Une population de neurones à kisspeptine est également localisée dans l'ARC et pourrait jouer un rôle dans le métabolisme énergétique. Les neurones Kiss1 de l'ARC possèdent notamment des récepteurs à la leptine, à l'insuline et à l'adiponectine[50,51].

Bien que la régulation de l'homéostasie énergétique ait longtemps été considérée comme une fonction essentiellement neuronale, des données récentes démontrent que les cellules gliales participent activement au contrôle des circuits hypothalamiques impliqués dans le métabolisme énergétique[52,53]. Les astrocytes contribuent au maintien de l'homéostasie en assurant le soutien métabolique des neurones, en participant à la régulation du flux sanguin local ainsi qu'au maintien des propriétés de la barrière hémato-encéphalique (BHE)[52]. La microglie, principale cellule immunitaire résidente du SNC, joue quant à elle un rôle essentiel dans la surveillance immunitaire, le remodelage des circuits neuronaux et le maintien de l'homéostasie tissulaire[53,54].

Lors d'une exposition à un régime riche en lipides et en sucres, les astrocytes et la microglie deviennent rapidement activés et produisent divers médiateurs inflammatoires susceptibles

d'altérer durablement le fonctionnement des circuits hypothalamiques impliqués dans la régulation de l'équilibre énergétique[10,55]. Cette réponse gliale est aujourd'hui reconnue comme un élément central de la neuroinflammation hypothalamique associée à l'obésité[53,54]. Ce processus sera abordé plus en détail dans la section consacrée à la neuroinflammation induite par l'obésité.

L'hypothalamus est également une structure hautement plastique dont l'organisation fonctionnelle et synaptique peut être remodelée en réponse aux variations de l'état énergétique et de l'environnement nutritionnel[19,20]. Cette plasticité repose sur les interactions dynamiques entre les neurones et les cellules gliales, qui permettent une adaptation continue des circuits impliqués dans la régulation du métabolisme énergétique. Toutefois, lorsque ces mécanismes adaptatifs sont sollicités de façon prolongée, notamment lors d'une exposition chronique à un régime riche en lipides et en sucres, ils peuvent devenir délétères et contribuer à l'établissement d'une neuroinflammation persistante, à un remodelage synaptique défavorable ainsi qu'à une altération durable des circuits hypothalamiques[10].

1.2.4. Signaux périphériques impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique

Le maintien de l'homéostasie énergétique repose sur une communication bidirectionnelle continue entre les organes périphériques et le SNC, principalement au niveau de l'hypothalamus et du tronc cérébral[18,29]. Ces signaux hormonaux, nutritionnels et nerveux renseignent le cerveau sur le statut énergétique de l'organisme afin d'ajuster la prise alimentaire et la dépense énergétique[24].

Ces signaux peuvent être divisés en deux grandes catégories. Les signaux à court terme, principalement issus de l'axe intestin-cerveau, renseignent le cerveau sur la prise alimentaire récente[30]. Lors d'un repas, la distension gastrique ainsi que la sécrétion du GLP-1, du PYY et de la CCK favorisent la satiété, notamment par l'intermédiaire des afférences du nerf vague[1,27]. À l'inverse, durant le jeûne, l'estomac sécrète la ghréline, principale hormone orexigène périphérique, qui stimule les neurones AgRP/NPY et favorise l'initiation du repas[56]. Les signaux d'adiposité à long terme reflètent quant à eux l'état des

réserves énergétiques globales[29]. La leptine, sécrétée par le tissu adipeux blanc proportionnellement à la masse grasse, et l'insuline, produite par les cellules β du pancréas, exercent des effets anorexigènes centraux en activant les neurones anorexigènes POMC/CART tout en inhibant les neurones orexigènes AgRP/NPY[24,39,56-58]. L'adiponectine contribue principalement au maintien de l'homéostasie métabolique en améliorant la sensibilité à l'insuline et en exerçant des effets anti-inflammatoires, bien que son rôle dans le contrôle direct de la prise alimentaire demeure moins marqué que celui de la leptine[39,59].

Dans un contexte d'obésité, cette communication entre les organes périphériques et le cerveau devient progressivement altérée. Malgré des concentrations circulantes élevées de leptine et d'insuline, le cerveau répond moins efficacement à ces signaux en raison du développement d'une résistance centrale à leur signalisation[19,31]. Cette perte de sensibilité perturbe le fonctionnement des circuits hypothalamiques et favorise le maintien d'un bilan énergétique positif[10]. Les données actuelles indiquent que la neuroinflammation hypothalamique contribue de manière importante à cette altération de la signalisation neuroendocrinienne, en perturbant progressivement le fonctionnement des circuits neuronaux impliqués dans le contrôle de l'homéostasie énergétique.

1.2.5. Dimorphisme sexuel dans le développement de l'obésité

Il est maintenant bien établi que le sexe constitue un déterminant biologique important dans le développement de l'obésité et de ses complications métaboliques[60]. Les différences observées entre les mâles et les femelles résultent d'une interaction complexe entre les hormones sexuelles, les facteurs génétiques et les mécanismes impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique[61,62]. Malgré ces connaissances, de nombreuses études précliniques continuent d'être réalisées exclusivement chez les mâles, limitant la compréhension des mécanismes propres aux deux sexes.

Chez l'humain, les hommes et les femmes présentent des différences importantes dans la distribution et les fonctions du tissu adipeux[60]. Avant la ménopause, les femmes accumulent préférentiellement la graisse sous-cutanée, alors que les hommes présentent davantage de tissu adipeux viscéral, lequel est étroitement associé à la résistance à

l'insuline, au syndrome métabolique et aux maladies cardiovasculaires[60]. Cette protection relative observée chez les femmes diminue toutefois après la ménopause, en raison de la baisse des concentrations circulantes d'œstrogènes, qui favorise une redistribution du tissu adipeux vers le compartiment viscéral ainsi qu'une augmentation du risque cardiométabolique[60].

Les modèles murins reproduisent également ce dimorphisme sexuel[61,62]. Comparativement aux mâles, les souris femelles développent généralement plus lentement l'obésité induite par une diète riche en lipides et en sucres, présentent une meilleure sensibilité à l'insuline ainsi qu'une meilleure tolérance au glucose[61,62]. Cette protection est largement attribuée aux œstrogènes, qui contribuent au maintien de l'homéostasie énergétique en augmentant la dépense énergétique et en limitant la prise alimentaire. Le 17β-estradiol (E2) exerce des effets tant centraux que périphériques, principalement via le récepteur des œstrogènes alpha (ERα)[60,62]. Au niveau du SNC, l'activation des récepteurs ERα hypothalamiques favorise un bilan énergétique négatif en stimulant la dépense énergétique et la thermogenèse du tissu adipeux brun tout en réprimant la prise alimentaire[60]. L'E2 renforce la sensibilité centrale aux signaux d'adiposité et de satiété, incluant la leptine et la CCK, stimule la voie anorexigène des mélanocortines (POMC/CART) et atténue la réponse aux signaux orexigènes tels que le NPY, l'AgRP et la ghréline[60,61]. L'importance de ces mécanismes est appuyée par des études montrant que la protection observée chez les femelles disparaît après ovariectomie et est restaurée par une supplémentation en estradiol[61,62].

1.2.6. Approches thérapeutiques actuelles

À ce jour, la prise en charge de l'obésité repose principalement sur trois grandes approches thérapeutiques : les interventions comportementales, les traitements pharmacologiques et la chirurgie bariatrique.

Les interventions comportementales et psychologiques pour la gestion se concentrent sur les changements de mode de vie durables qui améliorent la santé, la fonction et la qualité de vie globale en plus de promouvoir la perte de poids. Les approches les plus efficaces comprennent la thérapie cognitivo-comportementale (TCC), la thérapie nutritionnelle

médicale ainsi que l'activité physique. L'amélioration du régime alimentaire et l'incorporation d'activité physique régulière sont des interventions efficaces et permettent d'obtenir des pertes de poids satisfaisantes. Toutefois, leur efficacité à long terme demeure limitée, puisqu'environ 80 % des individus ayant perdu 5 % de leur poids corporel reprennent ce poids dans les cinq années suivant cette perte[8,15,63].

Au Canada, plusieurs médicaments sont indiqués pour la prise en charge à long terme de l'obésité, notamment les agonistes du récepteur du GLP-1, en complément de modifications des habitudes de vie[64]. Bien qu'ils permettent d'obtenir une perte de poids significative et des bienfaits importants pour la santé, leur utilisation peut être limitée par leur coût, leurs effets indésirables et la nécessité d'un traitement prolongé[64]. Les essais cliniques portant sur la pharmacothérapie de l'obésité montrent systématiquement une reprise de poids et une régression des améliorations de l'état de santé à l'arrêt du traitement[64-66].

Chez les personnes atteintes d'obésité sévère répondant aux critères d'admissibilité, la chirurgie bariatrique représente l'intervention la plus efficace pour obtenir une perte pondérale importante et durable. Malgré son efficacité, cette intervention demeure associée à des risques chirurgicaux, à des complications potentielles et à une variabilité des résultats à long terme, certains patients présentant une reprise pondérale[67]. Son accessibilité est également limitée en raison de critères d'admissibilité rigoureux, de nombreuses contre-indications et de longs délais d'attente. En 2014, plus de 6 500 chirurgies bariatriques ont été réalisées au Canada, alors qu'environ 5,3 millions d'adultes vivaient avec l'obésité. Ainsi, moins de 0,2 % des personnes atteintes d'obésité auraient eu accès à la chirurgie, illustrant l'écart majeur entre le nombre de patients susceptibles d'en bénéficier et l'accès réel à ce traitement[67].

Malgré les différentes approches thérapeutiques actuellement disponibles, leurs limites en matière d'efficacité à long terme, d'accessibilité et d'effets indésirables mettent en évidence la nécessité de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques impliqués dans le développement de l'obésité afin d'améliorer la prise en charge de cette maladie chronique.

1.3. La neuroinflammation

La neuroinflammation correspond à la réponse inflammatoire du système nerveux central (SNC), qui comprend le cerveau et la moelle épinière. Bien qu'elle constitue un mécanisme essentiel de défense visant à protéger le tissu nerveux contre les agressions, sa persistance ou sa dérégulation contribue au développement et à la progression de nombreuses maladies neurologiques et systémiques. La neuroinflammation peut être déclenchée par une grande diversité de stimuli, incluant les infections bactériennes et virales, les traumatismes, les maladies neurodégénératives, les maladies auto-immunes, le vieillissement ainsi que les déséquilibres métaboliques associés à l'obésité[9,12,68]. Elle représente aujourd'hui un mécanisme physiopathologique commun à plusieurs maladies cérébrales aiguës et chroniques[69,70].

Lorsque le stimulus déclencheur est rapidement éliminé, cette réponse inflammatoire est généralement transitoire et favorise le maintien de l'homéostasie du SNC ainsi que la réparation tissulaire. À l'inverse, lorsque les mécanismes de résolution sont insuffisants ou que le stimulus persiste, la neuroinflammation devient chronique et contribue à des altérations de la fonction neuronale, à une perte de synapses, à une diminution de la plasticité cérébrale ainsi qu'au développement de déficits cognitifs et de troubles neuropsychiatriques.

1.3.1. Les composants cellulaires et moléculaires

La neuroinflammation est principalement caractérisée par une gliose réactive, c'est-à-dire l'activation des cellules gliales résidentes du SNC, principalement les microglies et les astrocytes. Cette réponse inflammatoire s'accompagne d'une augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE), du recrutement de cellules immunitaires périphériques ainsi que d'altérations de la signalisation neuronale et de la plasticité synaptique. Elle est orchestrée par la production de nombreux médiateurs inflammatoires, notamment les cytokines pro-inflammatoires telles que le facteur de nécrose tumorale α (TNF-α), l'interleukine-1β (IL-1β) et l'interleukine-6 (IL-6), les chimiokines comme la chimiokine ligand 2 (CCL2), ainsi que d'autres médiateurs tels que les prostaglandines et les espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les cellules endothéliales

de la BHE et les macrophages périvasculaires participent également à cette réponse inflammatoire en modulant les échanges entre la circulation périphérique et le cerveau[71,72].

Les microglies constituent les principales cellules immunitaires résidentes du SNC et assurent sa surveillance immunitaire. Ces macrophages résidents du SNC représentent 10 % de sa population cellulaire et sont présentes à la fois dans la matière blanche et la matière grise de l'encéphale et de la moelle épinière. Dans un cerveau sain, elles présentent une morphologie ramifiée, caractérisée par un petit corps cellulaire et de fins prolongements, leur permettant d'explorer continuellement leur environnement afin de maintenir l'homéostasie cérébrale. En réponse à un stimulus inflammatoire, elles adoptent un phénotype activé caractérisé par une rétraction de leurs prolongements, une hypertrophie du corps cellulaire ainsi qu'une augmentation de la production de cytokines, de chimiokines et d'autres médiateurs pro-inflammatoires[73]. Cette activation microgliale favorise également le recrutement d'autres cellules immunitaires et contribue à l'amplification de la réponse inflammatoire[74].

Les astrocytes sont les cellules gliales les plus abondantes du SNC et remplissent de nombreuses fonctions essentielles au maintien de l'homéostasie cérébrale, notamment le soutien métabolique des neurones, le maintien de l'intégrité de la BHE, la régulation du microenvironnement extracellulaire ainsi que la réparation tissulaire. Lors de leur activation, ils participent activement à la réponse neuroinflammatoire en produisant des cytokines et des chimiokines, en recrutant d'autres cellules immunitaires et en sécrétant des facteurs neurotrophiques impliqués dans les mécanismes de réparation[74]. Bien que ces réponses soient initialement protectrices, leur activation prolongée peut contribuer au maintien d'un état inflammatoire chronique et favoriser les lésions neuronales observées dans plusieurs maladies du SNC[75].

1.3.2. Neuroinflammation d'origine non obésogène

La neuroinflammation peut être déclenchée par de nombreux stimuli indépendants de l'obésité, notamment les infections bactériennes et virales, les traumatismes, les maladies neurodégénératives, les maladies auto-immunes ainsi que l'exposition à certaines

toxines[9,10]. Ces différents stimuli sont reconnus par les cellules immunitaires du SNC grâce à la détection de motifs moléculaires associés aux pathogènes (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs) ou de motifs moléculaires associés aux dommages cellulaires (*damage-associated molecular patterns*, DAMPs). La reconnaissance de ces signaux active les cellules gliales résidentes et initie une cascade inflammatoire caractérisée par la production de cytokines, de chimiokines et d'autres médiateurs pro-inflammatoires, contribuant à l'amplification de la réponse immunitaire au sein du SNC[72,74].

Bien que le SNC soit protégé par la barrière hémato-encéphalique (BHE), une inflammation périphérique est néanmoins capable d'induire une réponse neuroinflammatoire. Les médiateurs inflammatoires circulants peuvent agir directement sur les cellules endothéliales cérébrales, traverser certaines régions plus perméables du cerveau, notamment les organes circumventriculaires, ou encore activer les afférences du nerf vague, permettant ainsi la transmission des signaux inflammatoires vers le cerveau. En réponse à ces signaux, les cellules de la BHE produisent elles-mêmes des médiateurs inflammatoires, augmentent leur perméabilité et favorisent le recrutement de cellules immunitaires périphériques dans le parenchyme cérébral. Cette communication bidirectionnelle entre la périphérie et le cerveau contribue à l'activation des cellules gliales, à l'altération de la plasticité synaptique et, lorsque la réponse inflammatoire persiste, au développement de lésions neuronales[71,72,74].

Le lipopolysaccharide (LPS), un constituant de la membrane externe des bactéries Gram négatif, est largement utilisé comme modèle expérimental afin d'étudier les mécanismes de la neuroinflammation. Après son administration périphérique, le LPS est reconnu principalement par le récepteur Toll-like 4 (TLR4), ce qui entraîne l'activation de voies de signalisation pro-inflammatoires et la production de cytokines telles que le TNF-α, l'IL-1β et l'IL-6. Bien que le LPS traverse très peu la BHE, les cytokines produites en périphérie ainsi que l'activation des cellules endothéliales et des voies nerveuses afférentes suffisent à induire une réponse neuroinflammatoire au sein du cerveau. Ce modèle reproduit plusieurs caractéristiques de la réponse inflammatoire observée lors d'infections bactériennes systémiques et constitue un outil largement utilisé pour étudier les conséquences d'une neuroinflammation aiguë sur le fonctionnement cérébral[76,77].

L'évolution de la neuroinflammation dépend de la nature, de l'intensité et de la durée du stimulus inflammatoire, ainsi que de la capacité des mécanismes de résolution à rétablir l'homéostasie. Lorsque la réponse inflammatoire est efficacement contrôlée, elle demeure transitoire et contribue à la protection du SNC. En revanche, un stimulus particulièrement intense ou une exposition persistante peuvent compromettre les mécanismes de résolution, entraînant une activation prolongée des cellules gliales et le maintien d'un environnement pro-inflammatoire associé au développement de nombreuses pathologies neurologiques et métaboliques[71,78].

1.3.3. Métainflammation et neuroinflammation induite par l'obésité

Les dernières décennies de recherche ont révélé une relation étroite entre l'excès de nutriments et les dérèglements des médiateurs cellulaires et moléculaires de l'immunité et de l'inflammation. C'est dans ce contexte qu'a émergé le concept de « métainflammation » (ou inflammation métabolique) pour décrire la réponse inflammatoire chronique de bas grade associée à l'obésité[17]. Distincte des réponses inflammatoires classiques, la métainflammation est initiée par des signaux métaboliques et se caractérise par une activation modérée mais persistante du système immunitaire inné. Elle entraîne un dysfonctionnement progressif de plusieurs tissus métaboliques, notamment le tissu adipeux, le foie, les muscles squelettiques et le système nerveux central (SNC), favorisant le développement d'une résistance à l'insuline et à la leptine[5,12,17].

Cette réponse inflammatoire cible les cellules spécialisées dans le métabolisme, incluant les adipocytes, les hépatocytes, les cellules β du pancréas, les myocytes et les neurones impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique. La production de médiateurs pro-inflammatoires favorise le recrutement et la polarisation des cellules immunitaires, instaurant un cercle vicieux où l'inflammation et le dysfonctionnement métabolique s'auto-entretiennent[57].

1.3.3.1. Métainflammation et atteintes périphériques

L'installation de cet état inflammatoire résulte de l'action concertée de plusieurs organes métaboliques. L'ingestion chronique d'un régime riche en graisses altère la composition du microbiote intestinal (dysbiose) et augmente la perméabilité de l'épithélium digestif en compromettant l'intégrité de ses jonctions serrées[16]. Cette augmentation de la perméabilité favorise le passage des endotoxines bactériennes telles que les lipopolysaccharides (LPS), constituant de la membrane externe des bactéries Gram-négatives, vers les circulations sanguines portale et systémique[16].

Les endotoxines (LPS) et les acides gras saturés activent les récepteurs de l'immunité innée, principalement le TLR4[17,57]. Cette activation stimule plusieurs voies de signalisation intracellulaires pro-inflammatoires, dont JNK (c-jun N-terminal kinase), IKK (inhibitor of κ kinase) et PKR (protein kinase R)[5]. Il en résulte une production soutenue de cytokines pro-inflammatoires (TNF-α, IL-1β, IL-6). À long terme, ce climat pro-inflammatoire favorise le recrutement et l'infiltration de cellules immunitaires dans les tissus métaboliques, entretenant un déséquilibre de l'homéostasie métabolique[5,12,57].

Inflammation du tissu adipeux. Le tissu adipeux blanc est un organe endocrinien majeur qui sécrète un large éventail d'adipokines. Lors de l'exposition à un régime obésogène, l'hypertrophie des adipocytes favorise un état pro-inflammatoire caractérisé par l'activation des macrophages résidents d'un phénotype M2 (anti-inflammatoire) à un phénotype M1 (pro-inflammatoire), ainsi que par le recrutement de monocytes circulants. Ce remodelage inflammatoire s'accompagne d'une augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF-α, IL-6 et IL-1β), d'une diminution de l'adiponectine, d'une augmentation de la leptine et de la libération d'acides gras libres, contribuant à la résistance à l'insuline et à la lipotoxicité[5,17,57].

Inflammation dans le foie. Le foie occupe une position centrale dans l'axe intestin-foie-cerveau puisqu'il reçoit directement, par la circulation porte, les nutriments ainsi que les endotoxines d'origine intestinale. L'accumulation de triglycérides dans les hépatocytes, caractéristique de la stéatose hépatique, altère leurs fonctions métaboliques et favorise un état pro-inflammatoire[57]. Les cellules de Kupffer sont les macrophages résidents du foie.

Elles expriment des niveaux élevés de TLR4, qui reconnaît les endotoxines (LPS) ainsi que les acides gras saturés circulants. Leur activation favorise une polarisation vers un phénotype pro-inflammatoire (M1) et la sécrétion de cytokines et de pyrogènes, telles que l'IL-1β, le TNF-α et l'IL-6[5,57].

Les médiateurs inflammatoires produits par ces différents tissus communiquent avec le système nerveux central par des voies humorales et nerveuses. Les cytokines, les adipokines, les acides gras libres et les endotoxines circulantes peuvent agir au niveau de la BHE ou des organes circumventriculaires, tandis que les afférences vagales transmettent les signaux inflammatoires provenant notamment du tissu adipeux et du foie vers les structures cérébrales impliquées dans la régulation énergétique[12]. Cette communication entre la périphérie et le cerveau favorise l'installation de la neuroinflammation, particulièrement au niveau de l'hypothalamus[10-12,18,79].

En résumé, la dysbiose intestinale, l'endotoxémie métabolique ainsi que l'inflammation du foie et du tissu adipeux contribuent à l'établissement d'un état inflammatoire systémique de faible intensité. Les cytokines, les endotoxines et les autres médiateurs inflammatoires circulants relaient ces signaux au système nerveux central par des voies humorales et nerveuses, favorisant le développement de la neuroinflammation, notamment au niveau de l'hypothalamus[5,12,68].

1.3.3.2. Neuroinflammation induite par l'obésité

La neuroinflammation induite par l'obésité est aujourd'hui reconnue comme un élément central de la physiopathologie des désordres métaboliques. Bien que la neuroinflammation puisse s'étendre à l'ensemble du SNC, l'hypothalamus constitue la structure la plus précocement et intensément touchée en raison de son rôle fondamental dans la régulation de l'homéostasie énergétique[10,20,37,80].

Cette susceptibilité particulière est principalement attribuable à l'organisation anatomique et fonctionnelle de l'hypothalamus médiobasal (MBH), qui comprend le noyau arqué (ARC) et l'éminence médiane. Cette région abrite des organes circumventriculaires caractérisés par des capillaires fenestrés, facilitant la détection des médiateurs circulants

(acides gras libres, LPS d'origine intestinale, adipokines et cytokines) par les neurones et les cellules gliales[11,12]. Les tanycytes, cellules gliales spécialisées bordant le troisième ventricule, participent également à la régulation des échanges entre la circulation périphérique et le noyau arqué. Leur dysfonctionnement contribue à l'installation précoce d'une résistance centrale à la leptine[37].

Au niveau du MBH, l'exposition aux nutriments en excès et aux médiateurs pro-inflammatoires induit une gliose réactive caractérisée par l'activation des microglies et des astrocytes[10]. Ces cellules produisent localement diverses cytokines et chimiokines (IL-1β, TNF-α, IL-6, CCL2)[10,20,81]. L'hyperleptinémie contribue au maintien de cette activation gliale. Les médiateurs inflammatoires produits localement perturbent progressivement le fonctionnement des circuits hypothalamiques impliqués dans le contrôle de l'homéostasie énergétique. Il a été démontré que la réponse neuroinflammatoire hypothalamique n'est pas un phénomène statique, mais adopte une cinétique biphasique[10,53].

Une première phase aiguë survient dès les premières 24 à 72 heures suivant l'exposition à un régime obésogène et culmine au cours de la première semaine. Principalement portée par l'activation des microglies et des astrocytes résidents du MBH, cette réponse transitoire participe initialement à des mécanismes de plasticité neuroprotectrice avant de s'atténuer après quelques semaines[68]. En revanche, lors d'une exposition prolongée de plusieurs mois au régime obésogène, une seconde phase s'installe. Elle se caractérise par une gliose persistante, le recrutement de monocytes circulants issus de la moelle osseuse, qui s'infiltrent dans le parenchyme hypothalamique et amplifient la réaction inflammatoire. Cette inflammation chronique s'étend progressivement et favorise des altérations durables des circuits hypothalamiques ainsi que le développement d'une résistance centrale à l'insuline et à la leptine[53,82].

Au-delà de l'hypothalamus, la réponse neuroinflammatoire induite par l'obésité s'étend progressivement à d'autres structures du SNC, notamment l'hippocampe, le cortex, l'amygdale et le tronc cérébral[11]. Le degré et l'intensité de cette atteinte varient toutefois selon la région cérébrale, la durée et la composition du régime obésogène, ainsi que l'âge et le sexe du sujet[12]. En perturbant la plasticité synaptique, la neurogenèse et l'intégrité

neuronale, cette neuroinflammation compromet le fonctionnement de plusieurs réseaux cérébraux impliqués dans la cognition, les comportements émotionnels et les circuits de la récompense[11,12]. Elle est ainsi directement associée à l'apparition de troubles de la mémoire, de l'apprentissage et des fonctions exécutives, tout en favorisant le développement de comportements anxiodépressifs, établissant un lien étroit entre le déséquilibre métabolique périphérique et les atteintes neuropsychiatriques associées à l'obésité[11,12,83,37].

2. HYPOTHÈSE DE RECHERCHE ET JUSTIFICATION DES MODÈLES UTILISÉS

2.1. Hypothèse de recherche et objectifs

2.1.1. Hypothèse

La neuroinflammation non obèse prédispose au développement de l'obésité induite par la diète obésogène via une interaction entre la microglie et les neurones impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique.

2.1.2. Objectif général

L'objectif général de mon projet est d'étudier les liens bidirectionnels entre la neuroinflammation provenant de sources non obèses, les capacités cognitives et les conséquences métaboliques d'un régime obésogène. Ce projet vise également à déterminer si ces interactions diffèrent selon le sexe et à préciser le rôle de la microglie dans les phénotypes observés.

2.1.3. Objectifs spécifiques

1) Valider le modèle d'étude de neuroinflammation

2) Déterminer si la neuroinflammation induite par le LPS (non obèse) peut faire synergie avec un régime obésogène afin d'exacerber les effets délétères sur le métabolisme, les troubles cognitifs et les troubles de l'humeur.

3) Déterminer si les effets de cette interaction diffèrent entre les mâles et les femelles afin de caractériser le dimorphisme sexuel des réponses neuroinflammatoires et métaboliques.

4) Investiguer la contribution biologique de la microglie dans les phénotypes observés par les effets synergiques de la neuroinflammation non obèse combinée à un régime obésogène.

2.2. Justification des modèles expérimentaux

2.2.1. Modèle *in vivo*

Le modèle murin

Les déclins cognitifs et la situation d'obésité ne peuvent être reproduits autrement qu'in vivo. Il est impossible de reproduire les interactions entre les fonctions cognitives et l'inflammation in vitro. Nous avons choisi le modèle de neuroinflammation chez la souris injectée avec du LPS. De plus, ce modèle a été validé et les effets sont maintenus plus de 10 mois après traitement[76]. Nous avons également validé ce modèle dans un projet pilote à l'UQTR, dont certains résultats seront présentés dans ce mémoire. La souris C57BL/6J est un modèle particulièrement fidèle du syndrome métabolique humain car elle développe une obésité, une hyperinsulinémie, une hyperglycémie et une hypertension lorsqu'elle a accès ad libitum à un régime obésogène (HFD)[84,85]. Le protocole débutait lorsque les souris étaient âgées de 8 semaines pour représenter un modèle de jeune adulte puisqu'on ne désirait pas voir d'effets développementaux.

2.2.2. Modèle de neuroinflammation par le LPS

Afin d'étudier les conséquences d'une neuroinflammation d'origine non obésogène, nous avons utilisé un modèle validé de neuroinflammation induite par le LPS. Dans ce modèle, une injection intrapéritonéale unique de LPS (5 mg/kg) provoque rapidement une réponse inflammatoire systémique caractérisée par une production importante de cytokines pro-inflammatoires. Bien que cette inflammation périphérique soit transitoire, elle entraîne une neuroinflammation persistante, maintenue pendant plus de dix mois, principalement par une signalisation dépendante du TNF-α[76,86].

L'activation de TLR4 par le LPS déclenche principalement la voie de signalisation MyD88/NF-κB, induisant la production de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF-α, l'IL-1β et l'IL-6, responsables de la réponse inflammatoire systémique. Il a été démontré que cette signalisation dépendante du TNF-α est essentielle à la propagation de l'inflammation vers le cerveau, où elle entraîne une activation persistante de la microglie

ainsi qu'une augmentation de l'expression de plusieurs médiateurs inflammatoires cérébraux, notamment TNF-α, IL-1β, CCL2 et NF-κB p65[76]. Le TLR-4 est exprimé par la microglie dans le SNC. Lors de son activation, la microglie produit des cytokines pro-inflammatoires qui sont des médiateurs clés dans la neuroinflammation.

L'administration systémique de LPS induit également des altérations cognitives et comportementales, notamment une augmentation des comportements anxieux et dépressifs, qui reproduisent plusieurs manifestations observées dans les maladies neurodégénératives chez l'humain[86].Ce modèle constitue ainsi un outil expérimental pertinent pour étudier les conséquences à long terme d'une neuroinflammation préexistante ainsi que son interaction avec un régime obésogène.

2.2.3. Modèle d'obésité induite via l'alimentation

Les modèles génétiques ont joué un rôle essentiel dans la découverte des mécanismes impliqués dans l'obésité tels que les souris ob/ob et db/db. Les souris ob/ob présentent une mutation récessive de la leptine (Lep^{ob}). Une carence en leptine provoque une hyperphagie et une obésité. Les souris (db/db) présentent une mutation du gène (db) codant pour le récepteur à la leptine. Elles ont un taux normal de leptine mais ont une résistance à ces effets, présentant un phénotype similaire aux souris ob/ob. Les modèles génétiques présentent des avantages comme la reproductibilité et la possibilité d'étudier des mutations précises liées à l'obésité. Cependant, les déficiences génétiques de la leptine ou de son récepteur sont plutôt rares chez les individus et ne sont donc pas les causes importantes de l'obésité chez l'humain.

Les modèles d'obésité induite par la diète (DIO) sont plus représentatifs de l'obésité humaine commune et sont particulièrement pertinents pour investiguer l'impact d'une diète obésogène sur l'inflammation cérébrale[6,12,32].

2.2.4. Modèle *in vitro*

Les études *in vivo* sont complétées par des études *in vitro*. Le modèle de culture de cellules microgliales N9 permet d'isoler leur contribution biologique. Cette lignée murine immortalisée exprime les marqueurs de surface typiques de la microglie *in vivo*. Elles se

divisent rapidement et acquièrent immédiatement un phénotype microglial à la suite de leur mise en culture[87]. Ce modèle permet d'étudier directement la réponse inflammatoire de la microglie en l'absence de l'influence des autres types cellulaires du SNC et de valider les mécanismes observés dans les études in vivo.

3. MÉTHODOLOGIE

MODÈLE IN VIVO

3.1. Animaux

Toutes les procédures impliquant l'utilisation d'animaux ont été approuvées par le Comité de bons soins aux animaux (CBSA) de l'Université du Québec à Trois-Rivières conformément aux directives du Conseil canadien de protection des animaux (CCPA). Des souris C57BL/6J mâles et femelles, âgées de sept semaines, provenant du Jackson Laboratory, ont été hébergées dans des chambres à environnement contrôlé (22-24°C), avec un cycle inversé de lumière 12 h/ 12 h et un accès *ad libitum* à l'eau et à la nourriture. Par la suite, les souris provenaient des colonies de souris de l'animalerie de l'UQTR. Les souris ont été nourries avec un régime standard ou un régime riche en lipides et en sucres (HFHS) (D12331; Research Diets, New Brunswick, NJ. 58 % kcal provenant des lipides, 25,5 % kcal des glucides et 16,4 % kcal des protéines), selon les groupes expérimentaux (**Tableau 3.1)**. Cette diète riche en lipides et en sucres permet de mimer la diète occidentale, plus communément la diète nord-américaine axée sur la consommation de grandes quantités d'aliments ultra-transformés riches en gras saturés et en sucres raffinés. Les souris ont été logées par groupe de 3 ou 4 par cage. Toutes les souris d'une cage recevaient les mêmes traitements. Les souris de même cohorte avaient le même environnement et étaient exposées à la même batterie de manipulations au même moment chaque jour d'expérimentation.

En raison de la taille des cohortes et afin de respecter le principe de réduction de l'expérimentation animale en évitant un surdimensionnement de l'échantillonnage, le cycle œstral des souris femelles n'a pas été suivi ni synchronisé au cours du protocole. Les femelles ont donc été évaluées et prélevées indépendamment de leur stade hormonal, reflétant ainsi la variabilité physiologique naturelle d'une population femelle hétérogène[88].

Tableau 3.1. Composition des diètes et énergie métabolisable.

Diètes	Protéines (%)	Gras (%)	Glucides (%)	Densité calorique (kcal/g)
Standard (CHOW)	19,1	6,5	Aucun sucre ajouté	3,1
Riche en gras et en sucre (HFHS)	16,4	58	25,5	5,56

3.2. Traitements

Le lipopolysaccharide (LPS, souche O111:B4) a été acheté chez Millipore/Sigma (Massachusetts, États-Unis). Le bien-être des animaux a été surveillé toutes les 2 heures pendant 8 heures après l'administration de LPS, puis quotidiennement pendant 7 jours jusqu'au retour à un état normal. Les souris âgées de huit semaines ont reçu une injection intrapéritonéale (i.p.) unique de LPS (5 mg/kg) ou du véhicule (*phosphate-buffered saline* (PBS)).

Un projet pilote a été réalisé afin de valider le modèle d'étude de neuroinflammation et de déterminer quelle dose de LPS injectée i.p. est la plus optimale pour induire une neuroinflammation chronique tout en considérant le bien-être des souris et le niveau d'inflammation nécessaire pour les futures études. 24 souris mâles C57BL/6J ont été réparties en 3 groupes afin de faire la comparaison entre deux doses de LPS. Le premier groupe correspond au groupe contrôle recevant de la solution saline, le second groupe 2,5 mg/kg de LPS et le dernier groupe 5 mg/kg (n=8 souris / groupe)[76]. Afin d'évaluer le bien-être des souris à la suite des injections, un suivi de l'état des souris selon une grille d'évaluation quantitative des points limites associés au protocole a été effectué toutes les deux heures pendant 8 heures le jour de l'injection puis chaque jour pendant une semaine ou jusqu'à ce que l'état soit de retour à la normale (**Tableau 3.2**). Le point limite est défini comme le moment où la souffrance et/ou la détresse d'un animal d'expérimentation doit être diminuée, minimisée ou arrêtée en prenant des mesures comme celles de mettre fin à une procédure qui le fait souffrir, de le traiter afin de soulager sa souffrance et/ou sa détresse ou d'euthanasier de façon humanitaire l'animal. Les résultats de ce projet ont démontré qu'il n'y avait pas de différences majeures dans l'expression des cytokines pro-inflammatoires dans le cortex, l'hypothalamus et l'hippocampe et que les signes de douleur et d'inconfort étaient similaires entre les souris 2,5 mg/kg LPS et 5 mg/kg LPS (données

non présentées). Puisque la dose de 5 mg/kg est davantage répertoriée dans la littérature, celle-ci fut favorisée pour la suite[76].

Tableau 3.2. Grille d'évaluation quantitative des points limites à la suite des injections de LPS permettant de quantifier l'état de santé des souris selon différentes caractéristiques reflétant le bien-être de l'animal (état amorphe, démarche anormale, déshydratation, dos courbé, yeux fermés).

Grille d'évaluation quantitative des points limites – injection LPS

Code utilisé*	Description du point limite observé	Action(s) à prendre
Apparence générale et comportement		
0	Aucun signe d'inconfort Animal alerte et actif Poils lisses	Suivi aux 2h le jour de l'injection (4x), quotidien pour 3 jours par la suite même si absence de symptômes
1	Animal alerte et actif Poils sont un peu hérissés Certains signes d'inconfort (ex. : dos légèrement courbé, incoordination, etc.)	Suivi aux 2h le jour de l'injection (4x), quotidien pour 3 jours par la suite même si disparition des symptômes
2	Animal alerte mais moins actif Dos courbé Poils hérissés Incoordination, faiblesse Durée de l'état <4h	Suivi aux 2h le jour de l'injection (4x), quotidien pour 3 jours par la suite même si disparition des symptômes
3	Animal déshydraté et/ou maigre Poils très hérissés Se déplace peu et avec difficulté Yeux ternes ou fermés Durée de l'état <8h	Suivi aux 2h le jour de l'injection (4x), quotidien pour 3 jours par la suite même si disparition des symptômes, euthanasie à prévoir.
4	Animal inactif Incapable de se déplacer Poils très hérissés Dos courbé Possibilité de décubitus latéral et de difficulté respiratoire Durée de l'état >8h	Euthanasie immédiate de l'animal

3.3. Description des groupes expérimentaux

Nos travaux incluent des protocoles de trois et neuf semaines de diètes HFHS pour investiguer si la neuroinflammation d'origine non obésogène peut faire synergie avec un régime obésogène pour exacerber les effets délétères sur le métabolisme et les troubles cognitifs.

3.3.1. Protocole pour 9 semaines de diètes

La durée complète du protocole est de 10 semaines. À la semaine 1, les souris âgées de huit semaines (n=78) ont reçu une injection i.p. de LPS (5 mg/kg) ou de solution saline de PBS. Les souris ont commencé le régime alimentaire une semaine post-injection pour une période de 9 semaines (**Fig. 3.1.**). Chaque cohorte comprenait quatre groupes : (i) un groupe CTRL traité à la solution saline de PBS avec un régime standard, (ii) un groupe LPS traité au LPS avec un régime standard, (iii) un groupe HFHS traité à la solution saline de PBS avec un régime HFHS et (iv) un groupe LPS+HFHS traité au LPS avec un régime HFHS. Chaque groupe comprenait 9 à 10 souris mâles et femelles exposées aux mêmes conditions expérimentales (**Fig. 3.1.**). Les données ont été analysées en fonction du sexe. Le poids corporel et la consommation alimentaire ont été mesurés chaque semaine.

Les souris ont été soumises à une série d'évaluations comportementales aux semaines 6-7 après le changement de diètes. Les cinq tests comportementaux ont été effectués dans l'ordre suivant : OFT, EPM, NOR, FST et MWM. Le MWM a seulement été réalisé pour la cohorte 2. Au cours de la 8^{e} semaine du changement de diète, un test de tolérance au glucose (GTT) a été réalisé (**Fig. 3.2.**).

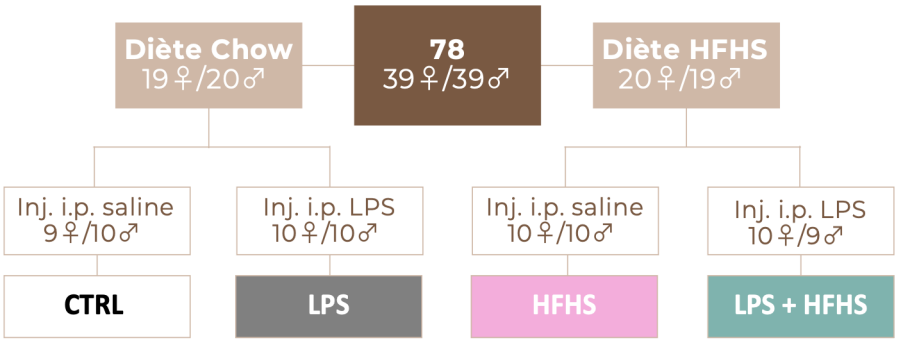


Figure 3.1. Groupes expérimentaux pour le protocole de 9 semaines de diètes.

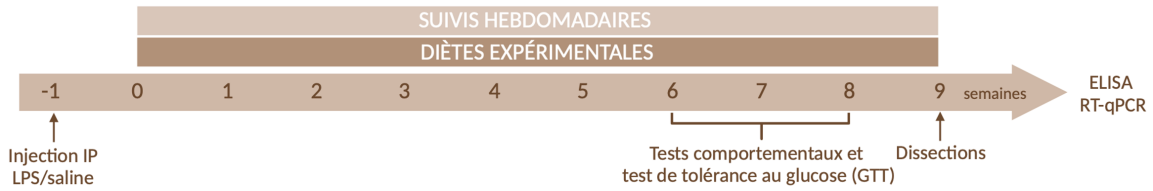


Figure 3.2 Conception expérimentale de la chronologie du protocole de 9 semaines de diètes.

Les animaux ont été sacrifiés par décapitation sous isoflurane neuf semaines après le changement des diètes. Plusieurs tissus ont été récupérés dont le tissu adipeux brun (BAT), le tissu adipeux blanc sous-cutané (ING), le tissu adipeux blanc viscéral (GON), le quadriceps droit et un lobe du foie. Tous les échantillons sanguins ont été prélevés dans du EDTA à 2 %, séparés par centrifugation à 5 000 g pendant 5 minutes, puis conservés à -80 °C. Il y avait par la suite extraction des cerveaux de la boîte crânienne pour en disséquer rapidement l'hypothalamus (HPT). Tous les tissus étaient placés dans un tube sur la glace sèche puis conservés à -80°C jusqu'à leur utilisation.

3.3.2. Protocole pour 3 semaines de diètes

La durée complète du protocole est de 4 à 6 semaines (**Fig. 3.4.-3.5.**). La première cohorte comprenait deux groupes de souris mâles : (i) un groupe HFHS traité à la solution saline de PBS avec un régime HFHS et (ii) un groupe LPS+HFHS traité au LPS avec un régime HFHS. Chaque groupe comprenait 11 à 12 souris. La deuxième cohorte comprenait quatre groupes de souris mâles : (i) un groupe CTRL traité à la solution saline de PBS avec un régime standard, (ii) un groupe LPS traité au LPS avec un régime standard, (iii) un groupe HFHS traité à la solution saline de PBS avec un régime HFHS et (iv) un groupe LPS+HFHS traité au LPS avec un régime HFHS. Les groupes CTRL et LPS comprenaient 6 souris chacun et les groupes HFHS et LPS+HFHS comprenaient 11 à 12 souris. Le récapitulatif du nombre total d'animaux par groupe pour l'ensemble des deux cohortes est illustré à la figure 3.3. À la semaine 1, les souris âgées de huit semaines ont reçu une injection i.p. de LPS (5 mg/kg) ou de solution saline de PBS. Les souris ont débuté le régime alimentaire une à trois semaines post-injection pour une période de 3 semaines. Le poids corporel et la consommation alimentaire ont été mesuré bi hebdomadairement.

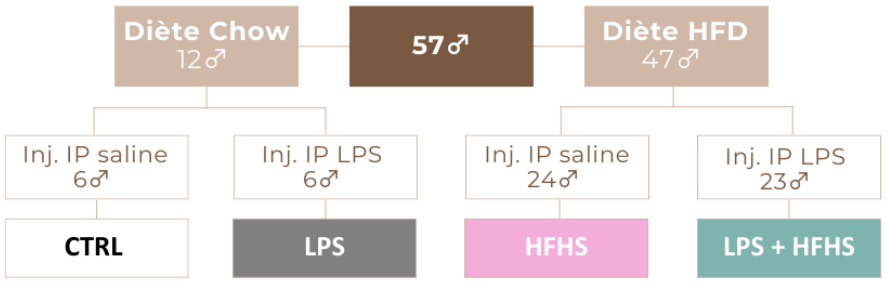


Figure 3.3. Groupes expérimentaux pour le protocole de 3 semaines de diètes.

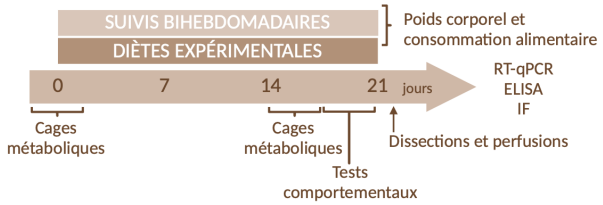


Figure 3.4. Conception expérimentale de la chronologie du protocole de 3 semaines de diètes.

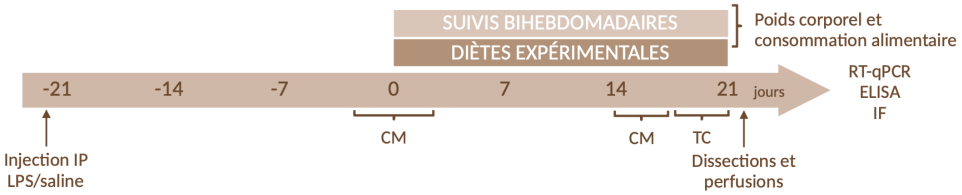


Figure 3.5. Conception expérimentale de la chronologie du protocole de 3 semaines de diètes avec un délai pour la reprise de poids.

Les cages métaboliques sont des outils précieux pour l'étude du métabolisme puisqu'elles permettent une analyse détaillée de nombreux processus biologiques dans un environnement contrôlé pour mesurer une panoplie de paramètres métaboliques tels que la prise alimentaire, l'activité physique, la dépense énergétique, le poids corporel et les types de substrats oxydés. La prise alimentaire, la dépense énergétique et le ratio d'échange respiratoire (RER) ont été mesurés à l'aide de cages métaboliques de Sable System International (Promethion Bz1, États-Unis) (**Fig. 3.6.**). Le RER est un calcul effectué par le logiciel en fonction des gaz respirés et expirés qui permet de déterminer quel type de substrats est oxydé par la souris. Lorsque cette valeur se rapproche de 1, la souris oxyde du sucre alors que lorsque la valeur se rapproche de 0,7, la souris oxyde du gras.

Pour les groupes HFD et LPS+HFD seulement de la cohorte 4, 8 souris par groupe ont été hébergées dans les cages métaboliques pour le changement des diètes et après les trois semaines de diète. Les animaux ont passé 4 à 6 jours dans les cages métaboliques et les données de la période d'accoutumance (premières 48 heures) ont été écartées. Pour le changement de diète, les deux derniers jours de la diète standard ont été évalués en plus des deux premiers jours sur la diète obésogène afin de voir précisément les premières heures de diètes. De plus, 48 h séparaient la sortie des cages métaboliques des tests comportementaux. La consommation d'O_2, la production de CO_2, l'activité locomotrice et la prise alimentaire ont été mesurées toutes les 10 minutes. Les valeurs de la dépense énergétique (kcal sur 72 h) ont été corrélées au poids corporel enregistré des animaux à la fin de la mesure en utilisant l'analyse de covariance (ANCOVA).

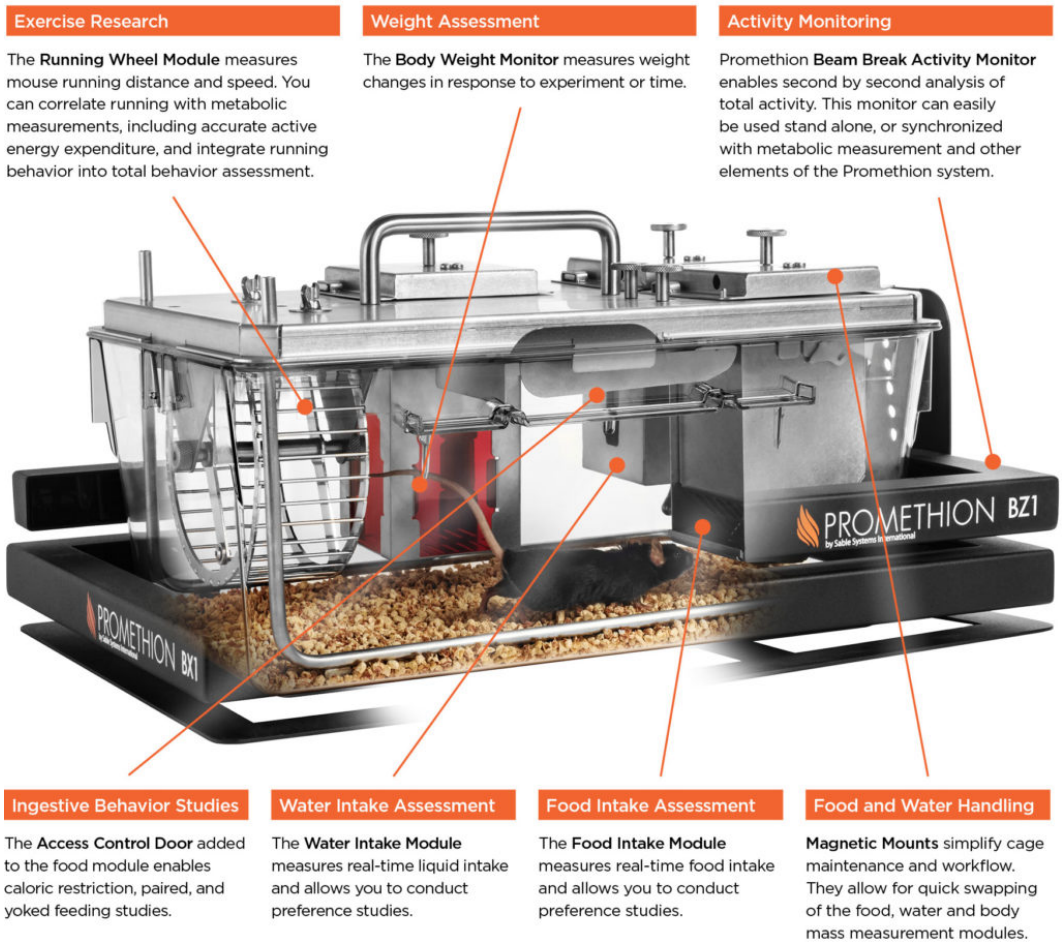


Figure 3.6. Le système de phénotypage métabolique et comportemental Promethion Core de Sable Systems International.

Les souris ont été soumises à une série d'évaluations comportementales après plus de deux semaines de diètes. Les trois tests comportementaux ont été effectués dans l'ordre suivant : OFT, EPM et FST. Comme trois semaines de HFHS ne sont pas suffisantes pour développer une tolérance au glucose, le GTT n'a pas été fait. Certains animaux ont été sacrifiés par décapitation sous isoflurane trois semaines après le changement des diètes. Plusieurs tissus ont également été récupérés selon les mêmes protocoles que les deux autres cohortes. Les tissus récupérés sont le BAT, l'ING, le GON, un lobe du LIV, le sang, le HPT et le cerveau complet puis ont été conservés à -80°C jusqu'à leur utilisation. Les souris utilisées pour l'immunofluorescence (IF) ont été perfusées par voie transcardiaque.

3.4. Analyse biochimique

Pour le protocole de 9 semaines de diètes, les animaux ont été sacrifiés par décapitation sous isoflurane neuf semaines après le changement des diètes. Pour le protocole de 3 semaines de diètes, les animaux ont été sacrifiés par décapitation sous isoflurane ou perfusés par voie transcardiaque 3 semaines après le début des diètes.

3.4.1. RT-qPCR

Les animaux ont été sacrifiés par décapitation sous isoflurane. Les organes ont été prélevés et congelés. Les tissus ont été homogénéisés et l'ARN a été extrait à l'aide du mini kit Aurum™ Total RNA (Biorad) en suivant les instructions du fabricant. L'ADNc a été synthétisé à l'aide du kit iScript™ cDNA Synthesis (Biorad) en suivant les instructions du fabricant. La RT-qPCR a été réalisée avec la méthode ΔΔCt en utilisant le SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix (Biorad), toujours en suivant les instructions du fabricant. Les amorces utilisées et les gènes d'intérêt sont énumérés dans le tableau 3.3. Plusieurs paires d'amorces ont parfois été utilisées pour un même gène d'intérêt lorsque la première paire semblait amplifier de manière significative l'ADN génomique. Les données ont été extrapolées à partir de courbes standard et normalisées par rapport au gène de référence hprt. Les valeurs moyennes ± erreur standard des valeurs moyennes par groupe sont exprimées en changements de pli par rapport au groupe de contrôle normalisé à 1,0.

Tableau 3.2. Les séquences des amorces pour le RT-qPCR.

Gènes	Séquences
Hypoxanthine phosphoribosyltransferase (HPRT)	Forward: 5'-TCAGTCAACGGGGGACATAAA-3' Reverse: 3'-GGGGCTGTACTGCTTAACCAG-5'
Agouti-related protein (AgRP)	Forward: 5'-AGGGCATCAGAAGGCCTGACCAGG-3' Reverse: 3'-TTGAAGAAGCGGCAGTAGCACGT-5'
Neuropeptide Y (NPY) #1	Forward: 5'-ATGCTAGGTAACAAGCGAATGG-3' Reverse: 3'-TGTCGCAGAGCGGAGTAGTAT-5'
Neuropeptide Y (NPY) #2	Forward: 5'-TGGCCAGATACTACTCCGCT-3' Reverse: 3'-AGGGTCTTCAAGCCTTGTTCT-5'
Cocaine and amphetamine regulated transcript (CART)	Forward: 5'-CCCGAGCCCTGGACATCTA-3' Reverse: 3'-GCTTCGATCTGCAACATAGCG-5'
Pro-opiomelanocortin (POMC)	Forward: 5'-ATGCCGAGATTCTGCTACAGT-3' Reverse: 3'-TCCAGCGAGAGGTCGAGTTT-5'
Kisspeptine 1 (Kiss1)	Forward: 5'-CTCTGTGTCGCCACCTATGG-3' Reverse: 3'-TTCCCAGGCATTAACGAGTTC-5'
Melanin-concentrating hormone (MCH)	Forward: 5'-GTCTGGCTGTAAAACCTTACCTC-3' Reverse: 3'-CCTGAGCATGTCAAAATCTCTCC-5'
Tyrosine hydroxylase (TH) #1	Forward: 5'-CCAAGGTTCATTGGACGGC-3' Reverse: 3'-CTCTCCTCGAATACCACAGCC-5'
Tyrosine hydroxylase (TH) #2	Forward: 5'-AGGGCCTCTATGCTACCCAT-3' Reverse: 3'-GGAAGCCAGTCCGTTCCTT-5'
Leptin Receptor (LepR) #1	Forward: 5'-TGGTCCCAGCAGCTATGGT-3' Reverse: 3'-ACCCAGAGAAGTTAGCACTGT-5'
Leptin Receptor (LepR) #2	Forward: 5'-CAGAATGACGCAGGGCTGTA-3' Reverse: 3'-AAGAGTGTCCGTTCTCTTTTGGA-5'
T-Box Transcription Factor 3 (Tbx3)	Forward: 5'-GTTCCACATCGTCAGAGCCA-3' Reverse: 3'-GCTGGAGGACTCATCCGAAG-5'
Growth hormone secretagogue receptor (Ghsr)	Forward: 5'-TGGAGATCGCGCAGATCAG-3' Reverse: 3'-CCGGGAACTCTCATCCTTCAG-5'
Melanocortin 4 receptor (Mc4R)	Forward: 5'-CCCGGACGGAGGATGCTAT-3' Reverse: 3'-TCGCCACGATCACTAGAATGT-5'
Interleukin-6 (IL-6)	Forward: 5'-GAGGATACCACTCCCAACAGACC-3' Reverse: 3'-AAGTGCATCATCGTTGTTCATACA-5'
Glial fibrillary acidic protein (GFAP) #2	Forward: 5'-AGAAAGGTTGAATCGCTGGA-3' Reverse: 3'-CGGCGATAGTCGTTAGCTTC-5'
Ionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba-1)	Forward: 5'-GGATCAACAAGCAATTCCTCGA-3' Reverse: 3'-CTGAGAAAGTCAGAGTAGCTGA-5'
Serum Amyloid A3 (SAA3)	Forward: 5'-GGGTCTAGAGACATGTGGCG-3' Reverse: 3'-TCTGGCATCGCTGATGACTT-5'
Tumor necrosis factor α (TNFα) #3	Forward: 5'-CCACGCTCTTCTGTCTACTGAACTT-3' Reverse: 3'-GATGAGAGGGAGGCCATTTG-5'
Cyclooxygénase-2 (COX-2)	Forward: 5'-GTTCATCCCTGACCCCCAAG-3' Reverse: 3'-ACTCTGTTGTGCTCCCGAAG-5'

C-C Motif Chemokine Ligand 2 (CCL2)	Forward: 5'-ATTGGGATCATCTTGCTGGT-3' Reverse: 3'-CCTGCTGTTCACAGTTGCC-5'
Glial fibrillary acidic protein (GFAP) #1	Forward: 5'-AACGACTATCGCCGCCAACTG-3' Reverse: 3'-CTCTTCCTGTTCGCGCATTTG-5'
Interleukin 1β (IL-1β)	Forward: 5'-CTTGTGCAAGTGTCTGAAG-3' Reverse: 3'-GAACAGGTCATTCTCATCAC-5'
Tumor necrosis factor α (TNFα) #1	Forward: 5'-CATCTTCTCAAAATTCGAGTGACAA-3' Reverse: 3'-TGGGAGTAGACAAGGTACAACCC-5'
Tumor necrosis factor α (TNFα) #2	Forward: 5'-ACCCTCACACTCACAAACCA-3' Reverse: 3'-ACAAGGTACAACCCATCGGC-5'
Nuclear factor κβ p65 (NFκβ p65)	Forward: 5'-GGCGGCACGTTTTACTCTTT-3' Reverse: 3'-CCGTCTCCAGGAGGTTAATGC-5'
NFκβ Inhibitor Alpha (NFκβIA)	Forward: 5'-TGCCTGGCCAGTGTAGCAGTCTT-3' Reverse: 3'-CAAAGTCACCAAGTGCTCCACGAT-5'
Cluster of Differentiation 68 (CD68)	Forward: 5'-ACTGGTGTAGCCTAGCTGGT-3' Reverse: 3'-CCTTGGGCTATAAGCGGTCC-5'

3.4.2. Microscopie confocale (immunofluorescence)

Les souris ont été perfusées par voie transcardiaque avec une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) suivie de 4 % de paraformaldéhyde neutre tamponné (PFA). Après dissection, les cerveaux ont été post-fixés pendant 24 heures avec 4 % de PFA, équilibrés dans 30 % de sucrose pendant 24 heures et sectionnés sur un cryostat (Leica Biosystems) à 30 μm. Les coupes de cerveau ont été incubées avec les anticorps primaires suivants : anti-Iba1 de chèvre (Biotechne, NB-100-1028) à une concentration 1 :100 et anti-GFAP de souris (New England Biolabs, 3670S) à une concentration 1 :800. Les coupes de cerveau ont été incubées avec les anticorps primaires pendant une nuit à 4°C dans du TBS 0,1M contenant de la gélatine (0,25 %) et du Triton X100 (0,5 %), en utilisant les anticorps secondaires suivants (1 :1000) : anti-chèvre d'âne (Alexa 555) (Invitrogen Thermo, A-21432) et anti-souris de chèvre (Alexa 488) (Fisher Scientific Co. Ltd, A11029). Les coupes ont été lavées avec du TBS 0,1 M et incubées avec les anticorps secondaires pendant 1 h à température ambiante avec du TBS 0,1 M contenant de la gélatine (0,25 %) et du Triton X100 (0,5 %). Les images ont été obtenues à l'aide d'un microscope confocal Leica TCS SP8 (Leica Microsystems) et l'analyse a été effectuée à l'aide de Fiji 2.14.0 (ImageJ). Les informations des anticorps utilisés sont inscrites dans le tableau 3.4.

Tableau 3.3. Liste des anticorps utilisés pour la technique d'immunofluorescence.

Anticorps	Source	Identification	Dilution
GFAP (GA5) Mouse mAb #3670	New England Biolabs	#3670S; #lot 9	1 :800
Goat anti-Iba1	Biotechne	#NB100-1028; # lot S7C7G2P45	1 :100
Goat anti-Mouse IgG (H+L) Secondary Antibody Alexa Fluor 488	Fisher Scientific Co. Ltd	#A11029; #lot 2486523	1 :1000
Donkey anti-Goat IgG (H+L) Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor™ 555	Invitrogen Thermo	#A-21432; #lot 2701069	1 :1000

3.4.3. ELISA

Les niveaux sériques de TNFα et d'IL-1β ont été déterminés à l'aide des kits ELISA MAX™ Deluxe Set Mouse TNFα ou ELISA MAX™ Deluxe Set Mouse IL-1β en suivant les instructions du fabricant (BioLegend).

3.5. Tests comportementaux

Les souris ont été soumises à une série d'évaluations comportementales. Une étape primordiale de l'évaluation des manifestations comportementales anxiodépressives et cognitives consistait tout d'abord à développer et optimiser la plateforme de phénotypage comportemental chez la souris à l'Université du Québec à Trois-Rivières. Ceci incluait la préparation des lieux et du matériel, l'installation et la mise au point des tests comportementaux ainsi que l'apprentissage de l'utilisation du logiciel d'analyse utilisé Ethovision XT-17.

Tous les tests ont eu lieu pendant la phase lumineuse et ont été réalisés à un jour d'intervalle, selon la séquence décrite ci-dessous. Une heure avant le début de chaque test, les animaux ont été placés dans la salle expérimentale pour acclimatation. Entre chaque souris, les arènes ont été désinfectées avec de l'éthanol à 70 %. L'appareil était dans la même position dans la pièce pour toutes les souris d'une même expérimentation. De plus, les souris étaient toujours déposées au même endroit dans l'arène, sauf indications contraires.

L'habituation des animaux à la manipulation par l'expérimentateur permet de minimiser le stress lors des manipulations expérimentales. Celle-ci est réalisée par les suivis du poids et

de la consommation alimentaire. La plupart des protocoles standardisés utilisent un éclairage de 100 lux dans la salle de test et l'éclairage doit être le plus homogène possible dans l'ensemble de l'arène. Une caméra est fixée au-dessus de l'arène à l'aide d'un support à caméra. La caméra doit avoir une bonne vue de la région entière de l'arène. Lors du test, les mouvements et les bruits inutiles sont évités. La présence humaine peut influencer le comportement de l'animal donc durant le test, l'expérimentateur doit se retirer derrière un rideau. Il n'est pas nécessaire de quitter complètement la pièce. L'important est que l'animal ne voit pas la personne. Pour le *Morris Water Maze*, il est important que l'expérimentateur se place toujours au même endroit après avoir déposé la souris dans le bassin puisqu'il devient lui aussi un repère visuel. Il est important de ne pas modifier l'emplacement de tous les objets de la pièce puisque ceux-ci peuvent aussi être des repères et si leur position est modifiée, cela peut affecter les résultats.

Pour mesurer les troubles de l'humeur chez la souris, il est d'abord pertinent de comprendre la logique derrière les tests comportementaux, en particulier ceux pour le comportement anxiodépressif. Les souris sont des proies. L'exploration permet de trouver de la nourriture afin de favoriser leur survie, mais les expose également au danger de se faire attaquer par un prédateur, ce qui nuit à leur survie. Essentiellement, elles doivent toujours prendre une décision entre la protection et l'exploration. Une souris anxieuse aura tendance à favoriser la protection alors qu'une souris qui n'est pas anxieuse aura un comportement plus exploratoire. Il y a donc des tests qui ont été développés et validés reposant sur cette logique naturelle des souris afin de mesurer cette tendance à explorer et à se cacher.

3.5.1. Open Field Test (OFT)

Les animaux étaient placés dans un coin d'une arène carrée (40 × 40 × 40 cm) et laissés libres d'explorer pendant 5 minutes, conformément aux protocoles précédemment décrits[32,89,90]. Les souris qui ne présentent pas d'anxiété explorent partout en s'aventurant davantage dans la zone du centre, alors qu'une souris plus anxieuse se promène en périphérie en longeant les murs pour éviter de s'exposer dans la zone du centre.

Les mesures suivantes ont été utilisées comme indicateurs du comportement anxieux : la proportion de temps passé dans la région centrale de l'arène par rapport aux zones périphériques et murales et le nombre d'entrées dans la zone centrale. La distance totale parcourue a également été mesurée afin de détecter d'éventuels déficits locomoteurs.

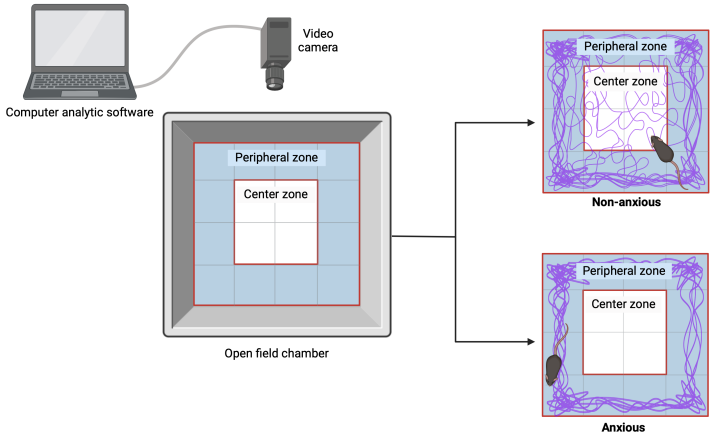


Figure 3.7. Open Field Test.

3.5.2. Elevated Plus Maze (EPM)

Les souris étaient placées au centre du labyrinthe surélevé face au bras ouvert opposé à l'expérimentateur et laissées libres d'explorer pendant 5 minutes, conformément aux protocoles précédemment décrits[6,89-91]. Les souris présentant un faible niveau d'anxiété explorent davantage l'ensemble des zones du dispositif, incluant les bras ouverts et les bras fermés, tandis que les souris plus anxieuses tendent à privilégier les bras fermés, considérés comme des zones plus sécuritaires, et limitent leur exposition aux bras ouverts.

Les mesures suivantes ont été utilisées comme indicateurs du comportement anxieux : la proportion de temps passé dans les bras ouverts par rapport aux bras fermés et à la zone centrale et le nombre d'entrées dans les bras ouverts.

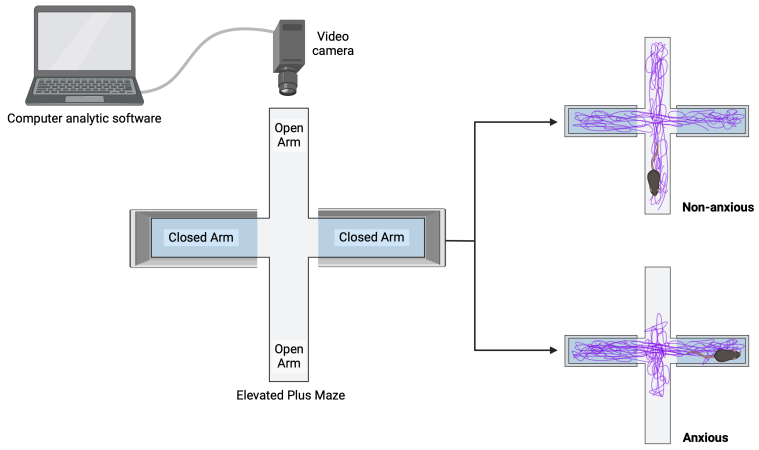


Figure 3.8. Elevated Plus Maze.

3.5.3. Novel Object Recognition (NOR)

Le Novel Object Recognition (NOR) est un test comportemental couramment utilisé pour évaluer la mémoire de reconnaissance chez les rongeurs. Il repose sur leur tendance naturelle à explorer davantage un objet nouveau qu'un objet familier. Après une phase d'habituation et d'exposition initiale à un objet familier, un second objet nouveau est présenté lors de la phase de test. Un animal présentant une capacité de mémoire de reconnaissance intacte devrait préférentiellement explorer le nouvel objet, indiquant qu'il se souvient de l'objet précédemment rencontré. À l'inverse, une absence de préférence pour l'objet nouveau peut être associée à une altération de la mémoire de reconnaissance[89].

Les souris étaient placées dans la même arène que pour l'OFT, où deux objets identiques étaient présentés pendant 5 minutes. Elles étaient ensuite replacées dans leur cage d'origine pendant 1 heure, avant d'être remises dans l'arène où l'un des deux objets était remplacé par un nouvel objet. Différents groupes d'objets ont été utilisés afin d'éviter toute préférence pour une forme ou une couleur spécifique. La proportion de temps passée à explorer le nouvel objet par rapport à l'ancien a été utilisée comme indicateur de la mémoire de reconnaissance. Les souris devaient atteindre un critère de 10 secondes d'exploration par essai pour être incluses dans l'analyse[89].

3.5.4. Forced Swim Test (FST)

Les animaux étaient placés dans un récipient rempli d'eau (environ 1600 ml d'eau à 23 ± 2°C) pendant 6 minutes, conformément aux protocoles précédemment décrits[6,89]. Initialement, elles adoptent des comportements actifs d'échappement, tels que la nage et les tentatives d'escalade. Après des efforts infructueux, elles alternent entre des épisodes d'immobilité et des périodes de nage. Une augmentation du temps d'immobilité est interprétée comme un comportement de type dépressif et constitue le principal paramètre mesuré dans ce modèle. Ce test est largement utilisé pour évaluer l'activité de composés à potentiel antidépresseur, lesquels réduisent généralement le temps d'immobilité chez les animaux traités[6,89].

Les mesures suivantes ont été utilisées comme indicateurs du désespoir comportemental : le temps d'immobilité au cours des 4 dernières minutes du test (corrélé à un état d'impuissance et de désespoir). La vélocité pendant les 2 premières minutes a également été mesurée afin de détecter d'éventuels déficits locomoteurs. L'eau était changée entre chaque animal.

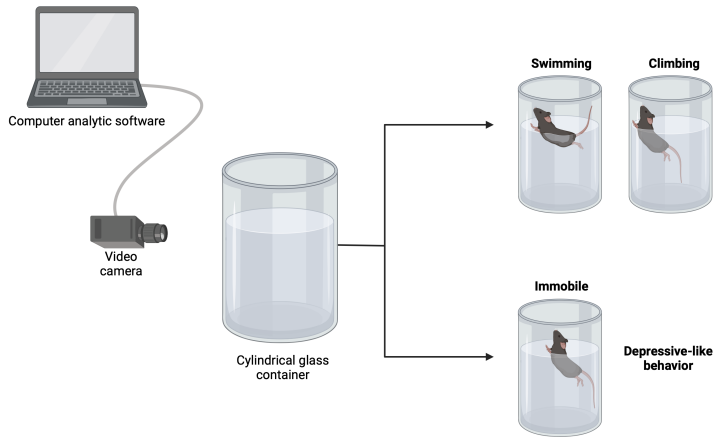


Figure 3.9. Forced Swim Test.

3.5.5. Morris Water Maze (MWM)

Le Morris Water Maze (MWM) est une méthode couramment acceptée pour évaluer l'apprentissage et la mémoire spatiale[92]. L'animal est placé dans un bassin d'eau dans lequel se trouve une plateforme. Il doit apprendre à utiliser des indices spatiaux situés dans la pièce pour naviguer jusqu'à la plateforme (**Tableau 3.4**). Lors des premiers essais d'acquisition, la souris nage de manière aléatoire dans le bassin afin de localiser la plateforme immergée. Au fil des essais, elle apprend à utiliser les repères visuels présents dans l'environnement pour mémoriser la position de la plateforme et réduit progressivement le temps nécessaire pour l'atteindre. Lors de l'essai de test, différentes mesures comportementales peuvent être utilisées afin d'évaluer les capacités mnésiques spatiales de l'animal. Un temps de latence prolongé pour atteindre la plateforme, une trajectoire de nage aléatoire ou une recherche persistante dans une zone éloignée de l'emplacement de la plateforme peuvent indiquer une altération de l'apprentissage spatial ou de la mémoire.

Une piscine circulaire (hauteur : 35 cm, diamètre : 120 cm) a été remplie d'eau rendue opaque avec de la peinture non toxique blanche et maintenue à une température de 23 ± 2 °C. Une plate-forme d'échappement (hauteur : 14 cm, diamètre : 4-5 cm) a été immergée à 1-1,5 cm sous la surface de l'eau dans une position spécifique.

Pendant les essais d'entraînement, les souris ont été placées dans l'eau dans un quadrant aléatoire et ont pu localiser la plate-forme cachée pendant 60 secondes. Ensuite, les souris ont été autorisées à rester sur la plate-forme ou ont été placées sur la plate-forme pendant 15 secondes à la fin de chaque essai.

Les souris ont été entraînées à raison de quatre essais par jour pendant 2 jours consécutifs. Le temps de repos entre les quatre essais est de 15 minutes. La 3^{e} journée, un seul essai de 120 secondes est réalisé afin d'évaluer la mémoire du lien entre les repères visuels et la plateforme. Le temps de latence à trouver la plateforme, la distance parcourue et le temps passé dans chaque quadrant par chaque souris ont été mesurés. Le tableau 3.6 présente les

différents points de départ pour chaque essai à chacun des jours d'acquisition et lors du test d'investigation.

Tableau 3.4. Les indices visuels.

Points cardinaux	Indices visuels
Nord	△ vert
Sud	○ jaune
Est	☆ orange
Ouest	⬡ bleu

Tableau 3.5. Les différents points de départ pour chaque essai pour une période d'acquisition de 2 jours.

Position de départ (plateforme Sud/Ouest)					
	Jour	**Essai 1**	**Essai 2**	**Essai 3**	**Essai 4**
Acquisition	1	Nord	Est	Sud/Est	Nord/Ouest
	2	Sud/Est	Nord	Nord/Ouest	Est
Test investigation	3	Nord/Est	-		

3.5.6. Analyse des données

Les essais de tous les tests ont été enregistrés sur vidéo et analysés avec le logiciel Ethovision XT 17.

3.6. Tests de tolérance au glucose (GTT)

Le test de tolérance au glucose (GTT) a été réalisé après un jeûne de 4 h. Le GTT est un test qui consiste à déterminer la capacité d'un individu à normaliser un épisode d'hyperglycémie à la suite de l'administration d'un bolus de glucose par la voie intraveineuse, orale ou intrapéritonéale. Une injection intrapéritonéale de glucose (2 mg/g de poids corporel) a été administrée, et des échantillons de sang ont été prélevés à partir de la veine caudale aux temps 0, 15, 30, 60 et 90 minutes. La concentration de glucose a été mesurée à l'aide d'un glucomètre avec des bandelettes.

MODÈLE IN VITRO

3.7. Modèle expérimental in vitro

Les cellules microgliales N9 sont un modèle bien connu pour étudier l'inflammation dans les cellules neuronales. Elles sont dérivées du cerveau de souris et partagent de nombreuses caractéristiques phénotypiques avec la microglie primaire de souris[93]. La lignée cellulaire microgliale murine N9 a été cultivée en routine dans le milieu de Dulbecco Modified Eagles Medium/Nutrient Mixture F-12 Ham medium (DMEM-F12) complété par 10 % de sérum de cheval inactivé à la chaleur (HI-HS) et 1 de solution d'antibiotiques streptomycine/pénicilline 100x, maintenues dans un environnement humidifié à 37 °C avec 5 % de CO_2. Pour les présentes expériences, les N9 ont été utilisées de 80 à 90 % de confluence et ensemencées à 2 x 10^5 cellules par puits dans des plaques de 12 puits.

Le milieu *starvation* DMEM-F12 est complété avec seulement 1 % de la solution d'antibiotiques afin de restreindre l'apport en nutriments aux cellules avant les traitements. Le milieu de traitement DMEM-F12 contient 1 % de HI-HS et 1 % de la solution d'antibiotiques. La composition des trois milieux de culture est résumée dans le tableau 3.6.

Tableau 3.6. Composition des milieux de culture pour les cellules microgliales N9.

Milieux de culture cellules N9		
Milieux DMEM-F12	Sérum de cheval inactivé à la chaleur (HI-HS)	Solution d'antibiotiques streptomycine/pénicilline 100x
Routine	10 %	1 %
Traitement	1 %	1 %
Starvation	-	1 %

3.8. Sérum LPS

3.8.1. Prélèvement du sérum LPS chez la souris (Ponction intracardiaque)

Le sang est prélevé par ponction intracardiaque sur des souris sous isoflurane nasale. Le sérum CTRL a été prélevé sur des souris mâles (n=14) et le sérum LPS a été prélevé sur

des souris mâles (n=15) 1 h après avoir reçu une injection i.p. de LPS (5 mg/kg). Le sang a été collecté dans un microtube qui a été fermé sans bouger pendant environ 1 h à température ambiante afin que le sang puisse coaguler. Une centrifugation a ensuite été faite afin de récupérer seulement le surnageant. Les échantillons de chaque groupe ont été récupérés dans un même tube puis aliquotés. Les aliquots ont été conservés à -80°C jusqu'à leur utilisation. Les taux protéiques de TNFα sont mesurés par ELISA.

3.8.2. Média conditionné avec sérum LPS 2 %

Les cellules N9 sont d'abord ensemencées à 5 x 10^6 cellules dans une flask T175 pendant 15 h dans le milieu de routine DMEM-F12. Les cellules sont lavées avec du PBS puis le milieu *starvation* est ajouté pour 2 h. Les cellules sont ensuite stimulées pendant 24 h avec 2 % de sérum LPS ou de sérum CTRL dans le milieu de traitement. Le milieu de traitement est par la suite retiré, les cellules sont lavées avec du PBS puis le milieu de routine est ajouté pendant 24 h. Le surnageant est recueilli, puis aliquoté et conservé à -80°C jusqu'à son utilisation pour le traitement de différentes cultures neuronales primaires hypothalamiques. Les taux protéiques de TNFα du média conditionné sont également mesurés par ELISA.

3.9. Analyses statistiques

Les données ont été analysées avec GraphPad Prism 9 et sont présentées sous forme de moyenne ± erreur standard de la moyenne (SEM). Le test-t a été utilisé pour comparer deux groupes, alors que pour comparer trois groupes ou plus, une ANOVA à une voie avec le test post-hoc de Bonferroni a été utilisée. Dans toutes les comparaisons, le critère de signification a été fixé à $p < 0,05$.

4. RÉSULTATS

4.1. Validation du modèle d'étude de neuroinflammation induite par une injection i.p. de LPS 5 mg/kg

L'objectif de cette validation est de confirmer qu'une injection intrapéritonéale unique de LPS (5 mg/kg) induit une inflammation systémique aiguë, suivie de la persistance à long terme d'une neuroinflammation. Pour évaluer la réaction systémique, les taux protéiques de TNF-α ont été mesurés par ELISA dans le sérum des souris une heure après l'injection. Les souris ayant reçu le LPS présentaient des concentrations sériques de TNF-α d'environ 1487 pg/mL, alors que cette cytokine était indétectable chez les souris ayant reçu une injection saline **(Fig. 4.1A)**.

Un projet pilote a été réalisé afin de déterminer la dose de LPS optimale permettant d'induire une neuroinflammation chronique tout en préservant le bien-être des souris. Huit semaines après l'injection, l'expression des gènes pro-inflammatoires (*Nfkb p65, Il-1β, Tnfα)* a été évaluée par RT-qPCR dans le cortex, l'hypothalamus et l'hippocampe de souris mâles. L'expression de ces marqueurs tend à être plus élevée dans les trois régions cérébrales chez les souris ayant reçu le LPS comparativement aux témoins. Cette augmentation est particulièrement marquée dans l'hypothalamus, où l'expression de *Tnfα* est significativement plus élevée (p= 0,0369). L'expression de *Nfkb p65* (p = 0,08) et d'*Il-1β* (p = 0,07) tend à être plus élevée, sans toutefois atteindre le seuil de signification statistique **(Fig. 4.1B-D)**.

Afin de valider la persistance de cette réponse neuroinflammatoire pour le protocole de 9 semaines de diète (10 semaines post-injection), l'expression relative des gènes pro-inflammatoires (*Iba-1, Gfap, Saa3, Il-6*) a été évaluée dans l'hypothalamus des souris mâles et femelles. Les résultats initialement obtenus pour plusieurs autres marqueurs inflammatoires (*Tnfα, Nfkb p65, Il-1β, Nfkbia* et *Cd68*) n'ont toutefois pas été retenus en raison d'une contamination par l'ADN génomique.

Chez les femelles, l'injection de LPS est associée à une augmentation de l'expression de *Iba-1, Gfap* et *Saa3*. L'expression de *Iba-1* est significativement plus élevée chez les souris recevant une diète standard (p= 0.0179) et celles consommant une diète HFHS (p= 0.0460). Une augmentation significative de *Gfap* (p= 0.0444) et de *Saa3* (p= 0.0006) est également observée pour les souris recevant une diète standard. Aucune différence significative n'est observée pour *Il-6* entre les groupes expérimentaux **(Fig. 4.1E)**.

Chez les mâles, aucune différence significative n'est observée pour *Iba-1, Gfap* et *Saa3*. En revanche, une augmentation significative de l'expression d'*Il-6* est observée pour les souris consommant uniquement la diète HFHS comparativement à celles qui ont reçu du LPS (p=0.0389) **(Fig. 4.1F)**.

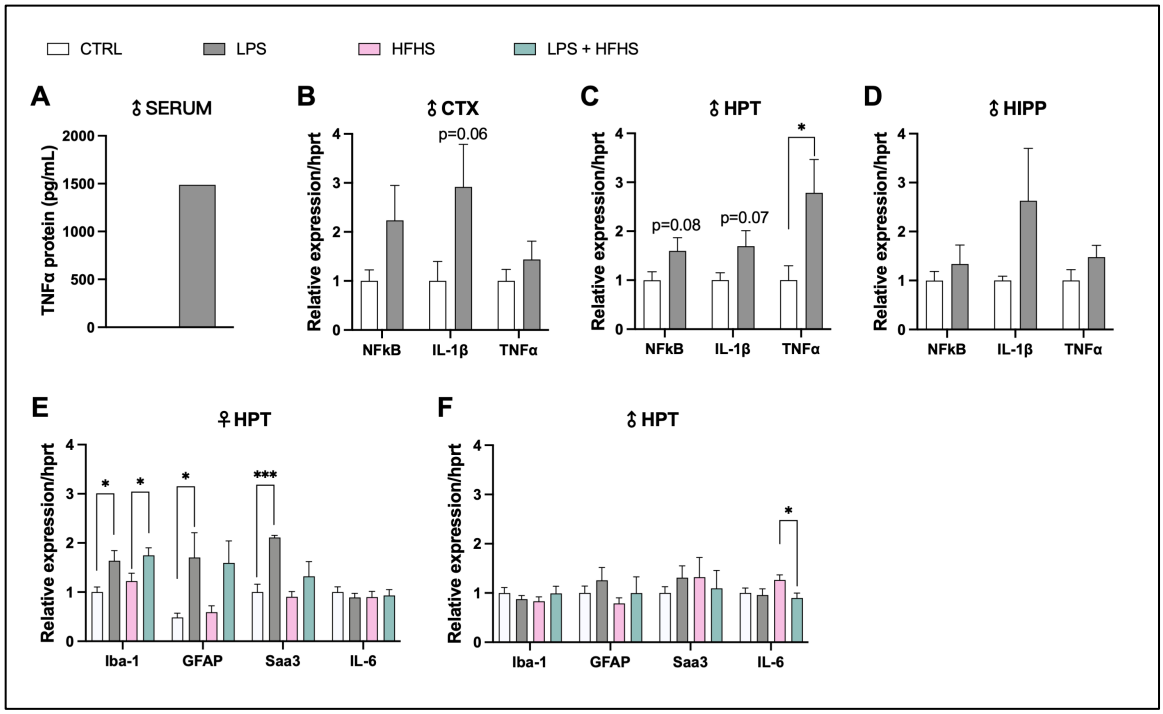


Figure 4.1. Validation du modèle de neuroinflammation induite par une injection i.p. de LPS 5 mg/kg.

(A) Les niveaux protéiques TNFα mesurés par ELISA dans le sérum de souris récolté par ponction intracardiaque 1 h post-injection (n=14-15/groupe). (B-D) Expression relative des gènes inflammatoires (*NF-κB p65, Il-1β, Tnfα)* évaluée par RT-qPCR dans trois régions du cerveau, le cortex (CTX), l'hypothalamus (HPT) et l'hippocampe (HIPP), de souris mâles 8 semaines post-injection (n=6-8/groupe). (E-F) Expression relative des gènes inflammatoires (*Iba-1, Gfap, Saa3, Il-6*) évaluée par RT-qPCR dans l'hypothalamus (HPT) de souris femelles et mâles 10 semaines post-injection (n=4-6/groupe). Unpaired t-test ; *p <0,05, ** p <0,01, ***p <0,001.

4.2. Effets métaboliques de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à un régime obésogène de 9 semaines

Le second objectif consiste à déterminer si la neuroinflammation induite par le LPS (non obèse) peut faire synergie avec un régime obésogène afin d'exacerber les effets délétères sur le métabolisme, les troubles cognitifs et les troubles de l'humeur. Seuls les résultats de l'aspect métabolique du protocole de 9 semaines de HFHS sont présentés dans cette section. Les analyses ont été réalisées séparément chez les souris femelles et mâles afin d'évaluer un éventuel dimorphisme sexuel. Les résultats présentés résultent de la combinaison de deux cohortes indépendantes.

Après neuf semaines de diète, les souris nourries avec le régime HFHS présentaient un gain de poids supérieur à celui des souris recevant une diète CHOW, autant chez les femelles que chez les mâles (**Fig. 4.2A-H**). Cette augmentation était toutefois plus marquée chez les mâles.

Chez les femelles, le traitement au LPS n'a pas modifié le gain de poids observé, tant pour le régime standard que le régime obésogène **(Fig. 4.2A-B, E-F)**. L'analyse du gain de poids par intervalles de trois semaines montre que la majorité du gain de poids associé à la diète HFHS survient au cours de la période de 6 à 9 semaines **(Fig. 4.2F)**.

Chez les mâles, les souris recevant le traitement combiné LPS + HFHS présentaient un gain de poids plus rapide au cours des trois premières semaines de diète comparativement au groupe HFHS **(Fig. 4.2D et H)**. Cette différence était ensuite maintenue jusqu'à la fin du protocole. La différence de gain de poids entre ces deux groupes ne se serait donc pas créée au cours des 9 semaines de diètes mais bien lors des 3 premières semaines de diète pour demeurer jusqu'à la fin**.** Une tendance similaire est également observée chez les souris nourries avec une diète CHOW, bien que moins prononcée **(Fig. 4.2H)**.

Ces résultats ont mis en évidence l'importance de la période correspondant aux trois premières semaines de diète chez les souris mâles, laquelle méritait d'être investiguée plus en détail. Nous avons émis l'hypothèse qu'une neuroinflammation aiguë pourrait favoriser un gain de poids précoce, dont les effets s'atténueraient à plus long terme. Dans un contexte d'alimentation riche en lipides et en sucres, la présence d'une neuroinflammation pourrait ainsi accélérer la prise de poids initiale, contribuant ensuite à l'établissement d'un

phénotype plus difficile à renverser. Afin de vérifier cette hypothèse, de nouvelles cohortes de souris mâles soumises à une diète HFHS de trois semaines ont été réalisées.

Afin d'évaluer l'effet du traitement au LPS et de la diète HFHS sur la tolérance au glucose, un test de tolérance au glucose (GTT) a été réalisé après huit semaines de diète.

Chez les femelles, aucune différence significative n'a été observée entre les groupes expérimentaux, tant pour la cinétique du glucose que pour l'aire incrémentielle sous la courbe (AUC) **(Figure 4.2I-J)**.

Chez les mâles, les souris nourries avec une diète HFHS présentent une élimination du glucose circulant plus lente que les souris témoins. Une glycémie à jeun légèrement plus élevée était également observée chez les souris recevant la diète HFHS avant l'administration du glucose (temps 0). Toutefois, aucune différence significative n'a été observée pour l'aire sous la courbe entre les groupes expérimentaux **(Fig. 4.2K-L)**.

L'expression de gènes impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique, du métabolisme et de la signalisation dopaminergique (*Agrp, Npy, Pomc, Cart, Kiss1, Mch, Th, Tbx3* et *LepR*) a été évaluée par RT-qPCR dans l'hypothalamus. Les résultats obtenus pour les gènes *Ghsr* et *Mc4R* n'ont pas été retenus en raison d'une contamination des échantillons par de l'ADN génomique.

Chez les femelles, une diminution de l'expression d'*Agrp* et de *Npy* est observée chez les souris recevant la diète HFHS. Le traitement au LPS tend également à augmenter l'expression de *Kiss1, Th* et *Tbx3*. Parmi ces gènes, seule l'expression de *Tbx3* est significativement plus élevée dans le groupe LPS + HFHS comparativement au groupe HFHS (p=0,0384) **(Fig. 4.2M)**.

Chez les mâles, aucun effet significatif du traitement au LPS ou de la diète HFHS n'a été observé sur l'expression des gènes analysés **(Fig. 4.2N)**.

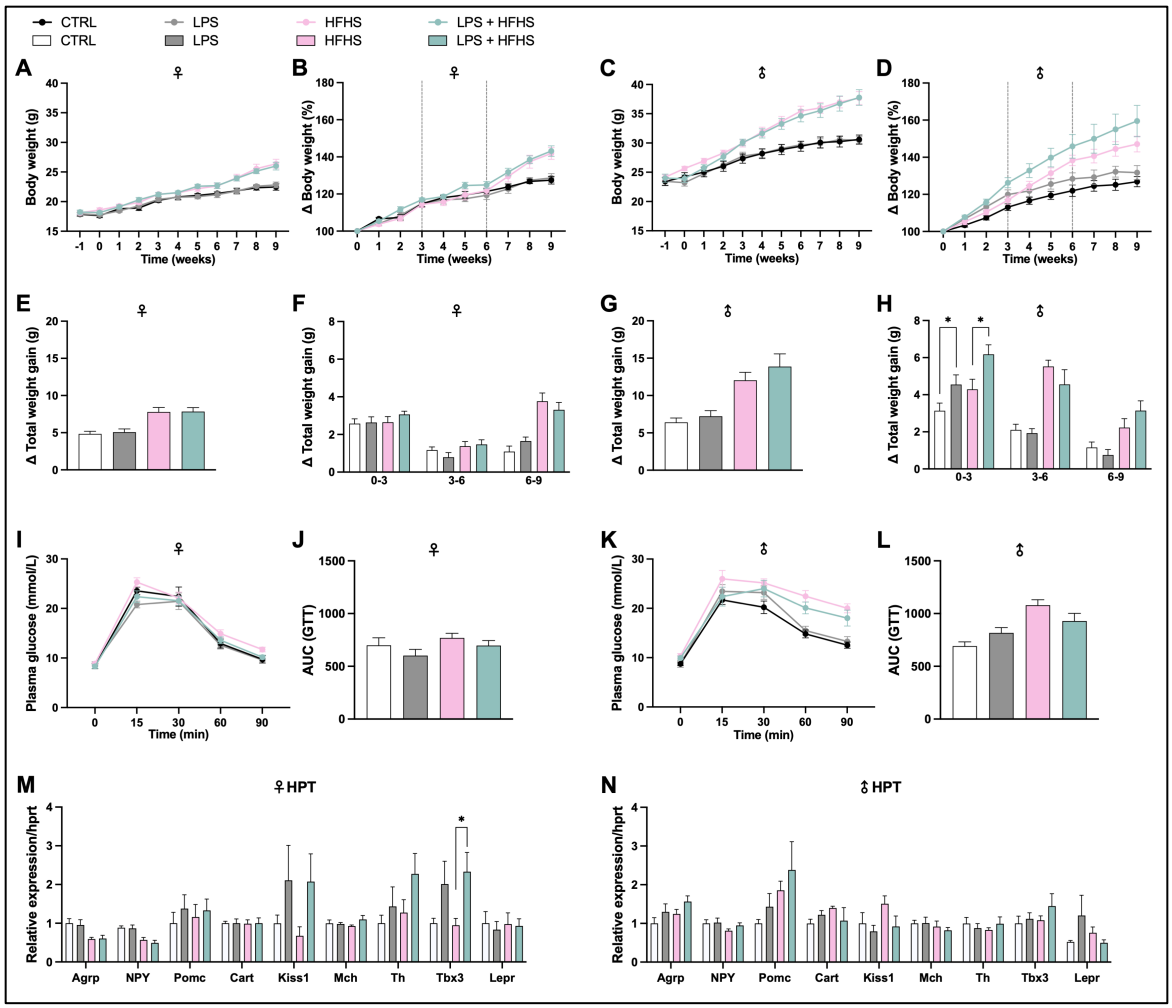


Figure 4.2 Effets métaboliques de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à un régime obésogène de 9 semaines des souris femelles et mâles.

(A et C) Suivi du poids corporel hebdomadaire à partir de la journée de l'injection. (B et D) Suivi du gain de poids à partir du changement de diètes. (E et G) Gain de poids total à partir du changement de diètes. (F et H) Gain de poids à partir du changement de diètes, divisé en trois périodes de 3 semaines. (K-L) Taux de glucose plasmatique (mmol/L) et surface incrémentale sous la courbe (AUC) pour le test de tolérance au glucose (GTT) (injection i.p. de 2 g/kg) après 8 semaines de diète obésogène Unpaired t-test (n = 9-10/groupe); *p <0,05, ** p <0,01. (M-N) Expression des gènes de régulation (*Agrp, Npy, Pomc, Cart, Kiss1, Mch, Th, Tbx3, LepR*) évaluée par RT-qPCR dans l'hypothalamus (HPT). Unpaired t-test and One-way ANOVA, Bonferroni post-hoc (n=4-6/groupe) ; *p <0,05, ** p <0,01.

4.3. Effets sur les troubles cognitifs et les troubles de l'humeur de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à un régime obésogène de 9 semaines

Le second aspect de l'objectif 2 est l'évaluation des effets de la neuroinflammation induite par le LPS (non obèse) combinée à un régime obésogène de 9 semaines sur les comportements associés à l'anxiété, au désespoir comportemental ainsi qu'aux fonctions cognitives chez les souris femelles et mâles.

Les souris ont donc été soumises à une batterie de tests comportementaux entre la 6^{e} et la 7^{e} semaines suivant le changement de diètes **(Fig. 3.2)**. Globalement, peu de différences significatives ont été observées entre les groupes expérimentaux, tant chez les femelles que chez les mâles.

Au niveau de l'*Open Field Test* (OFT), aucune différence significative n'a été observée entre les groupes expérimentaux pour les paramètres évalués chez les femelles et les mâles (**Fig. 4.3A-D**).

Dans l'*Elevated Plus Maze* (EPM), aucune différence significative n'a été observée chez les femelles (**Fig. 4.3E-F**). Chez les mâles, le temps passé dans les bras ouverts est significativement diminué dans le groupe LPS comparativement au groupe CTRL ($p < 0,05$) (**Fig. 4.3H**). Cette différence n'est toutefois pas observée dans le groupe LPS + HFHS comparativement au groupe HFHS. La distance parcourue dans l'EPM est demeurée comparable entre les groupes chez les deux sexes (**Fig. 4.3E-H**).

Pour le *Forced Swim Test* (FST), aucune différence significative n'a été observée entre les groupes pour la vitesse de nage ou le temps d'immobilité, tant chez les femelles que chez les mâles (**Fig. 4.3I-L**).

Aucune différence significative n'a également été observée entre les groupes dans le *Novel Object Recognition* (NOR) pour la préférence envers le nouvel objet, autant chez les femelles que chez les mâles (**Fig. 4.3M-N**).

Enfin, dans le *Morris Water Maze* (MWM), aucune différence significative n'a été observée entre les groupes pour les paramètres évalués chez les femelles et les mâles (**Fig. 4.3O-R**). Une tendance à une diminution du temps passé dans le quadrant cible est toutefois observée chez les souris mâles ayant reçu le LPS, indépendamment de la diète (**Fig. 4.3R**).

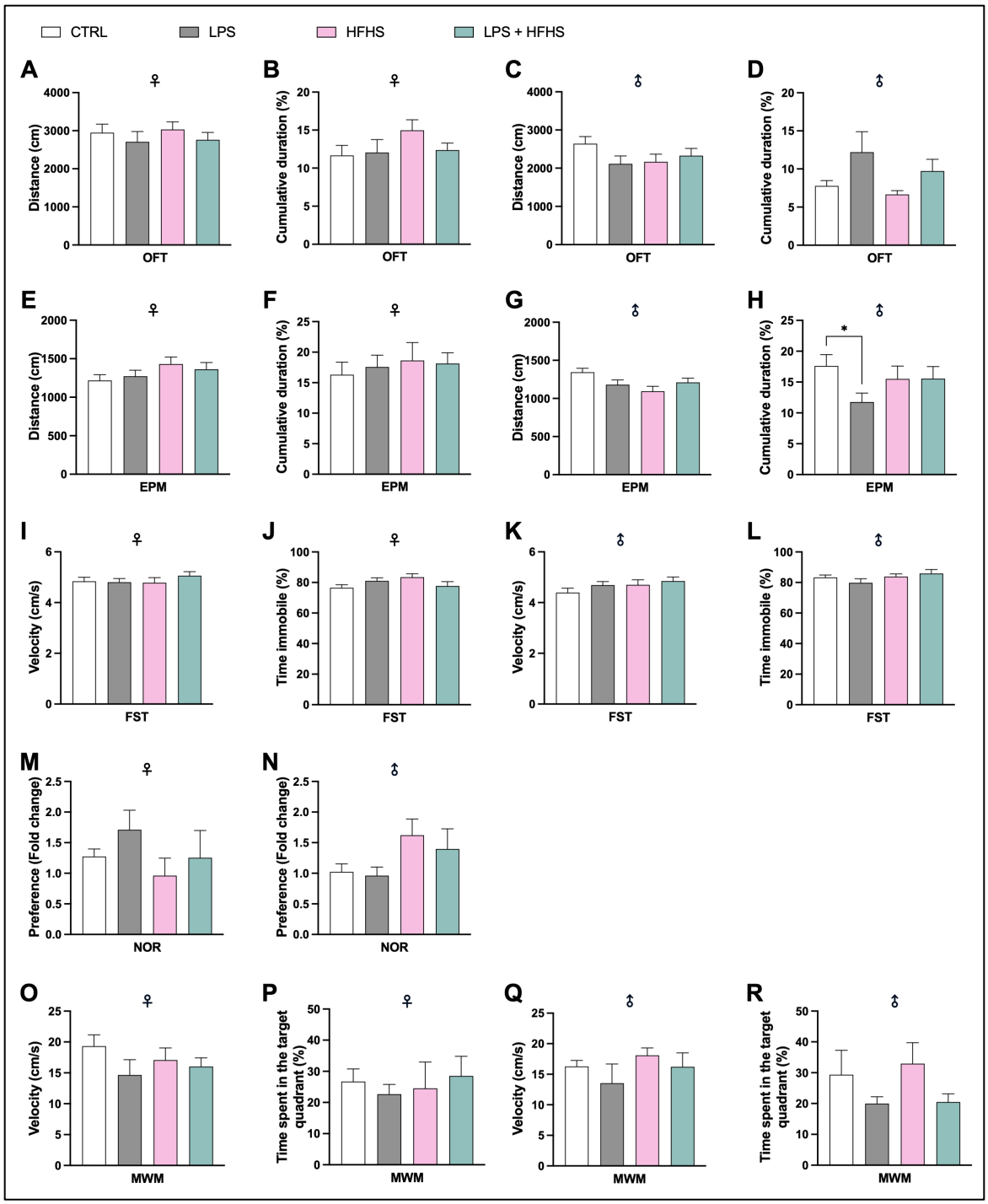


Figure 4.3 Effets sur la cognition, le comportement anxieux et le désespoir comportemental évalués par des tests comportementaux à la 6e et 7e semaines suivant le changement de diète chez les souris femelles et mâles.

(A-D) *Open Field test*, (E-H) *Elevated Plus Maze*, (I-L) *Forced Swim Test*, (M-N) *Novel Object Recognition* et (O-R) *Morris Water Maze*. Unpaired t-test (n=4-10/groupe) ; *p <0,05, ** p <0,01.

4.4. Effets inflammatoires et neuroinflammatoires de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à un régime obésogène de 3 semaines

Les résultats obtenus après neuf semaines de diète ont montré que les différences de gain de poids observées chez les souris mâles apparaissaient principalement au cours des trois premières semaines de diète. Afin d'examiner plus spécifiquement cette période, deux nouvelles cohortes indépendantes de souris mâles ont été soumises à une diète riche en lipides et en sucres (HFHS) pendant trois semaines. Les résultats obtenus avec ces cohortes sont présentés dans les sections 4.4 à 4.6.

Les concentrations plasmatiques d'IL-1β et de TNFα ont été mesurées dans le plasma à la fin du protocole, soit quatre semaines après l'injection de LPS, afin de vérifier la persistance de la réponse inflammatoire périphérique chez les souris consommant une diète HFHS. Les concentrations d'IL-1β et de TNFα sont demeurées indétectables chez les souris HFHS et LPS+HFHS, demeurant sous le seuil de détection du test ELISA **(Fig. 4.4A-B)**.

Après trois semaines de diètes (4 semaines post-infection), l'expression génique de marqueurs microgliaux, astrocytaires et pro-inflammatoires (*Iba-1, Gfap, Cox2, Tnfα, Ccl2 et Saa3*) a été évaluée par RT-qPCR dans l'hypothalamus des souris consommant une diète HFHS. Comparativement au groupe HFHS, les souris LPS + HFHS présentaient une expression plus élevée de plusieurs gènes associés à la réponse inflammatoire. Une augmentation significative de l'expression est observée pour *Iba-1* ($p = 0,0045$), *Tnfα* ($p = 0,0042$), *Ccl2* ($p = 0,0022$) et *Saa3* ($p = 0,0197$). L'expression de *Gfap* tend également à être plus élevée, sans toutefois atteindre le seuil de signification statistique ($p = 0,0809$) **(Fig. 4.4C-H)**.

L'expression des protéines Iba-1 et GFAP a ensuite été évaluée par immunofluorescence (IF) dans la région de l'ARC de l'hypothalamus. Les images d'immunofluorescence illustrent une intensité de marquage plus importante pour Iba-1 et GFAP chez les souris LPS + HFHS comparativement aux souris HFHS **(Fig. 4.4J-K)**. Cette observation est confirmée par l'analyse quantitative, qui révèle une augmentation significative de l'intensité du marquage d'Iba-1 ($p = 0,0142$) et de GFAP ($p = 0,0077$) **(Fig. 4.4L-M)**.

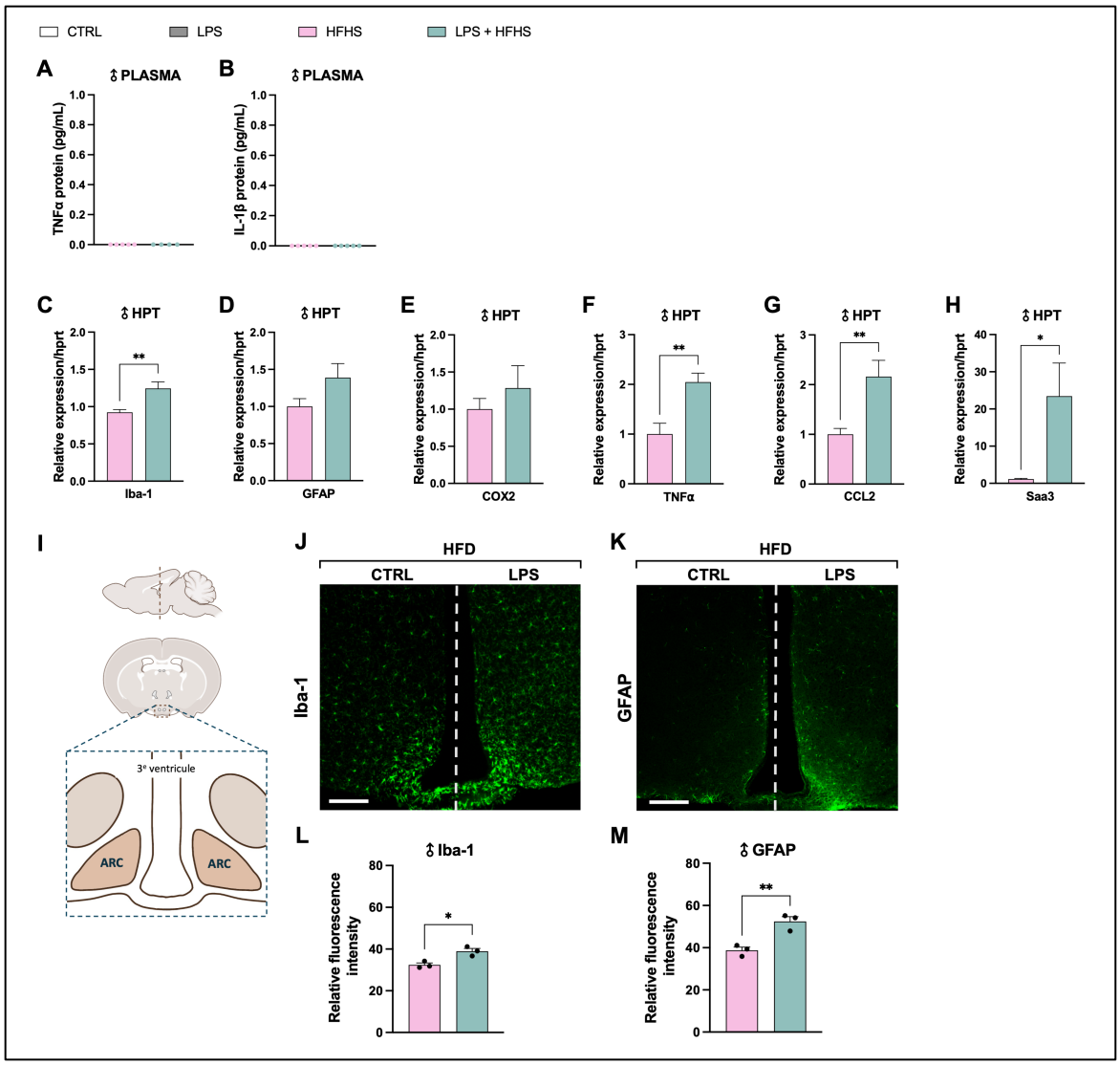


Figure 4.4 Effets inflammatoires et neuroinflammatoires de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à un régime obésogène de 3 semaines des souris mâles.

(A-B) Les niveaux protéiques TNFα et IL-1β mesurés par ELISA dans le plasma de souris récolté 4 semaines post-injection i.p. LPS 5 mg/kg (n=5/groupe). (C-H) Expression relative des gènes inflammatoires (*Iba-1, Gfap, Cox2, Tnfα, Ccl2, Saa3*) évaluée par RT-qPCR dans l'hypothalamus (HPT) 4 semaines post-injection i.p. LPS 5 mg/kg (n=6-8/groupe). (I) Schéma représentatif d'une coupe coronale du cerveau montrant principalement le noyau ARC de l'hypothalamus dans un modèle murin. (J-K) Micrographies confocales représentatives illustrant l'immunofluorescence de Iba-1 (vert) et de GFAP (vert) dans l'ARC de souris HFD et LPS+HFD. Barres d'échelle : 200 μm. (L-M) Quantification de l'intensité relative de l'activation microgliale (Iba-1) et astrocytaire (GFAP) chez les souris HFD et LPS+HFD. Unpaired t-test (n=3 souris par groupe ; 2 sections / souris) : *p <0,05, ** p <0,01.

4.5. Effets métaboliques de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à un régime obésogène de 3 semaines

Les effets métaboliques de la combinaison d'une neuroinflammation induite par le LPS (non obèse) et d'une diète obésogène de trois semaines ont été évalués chez deux cohortes indépendantes de souris mâles.

Après trois semaines de diète, les souris LPS+HFHS présentent un pourcentage de gain de poids significativement plus élevé que les souris HFHS **(Fig. 4.5A)**. Une tendance à une augmentation du gain de poids total est également observée chez les souris LPS+HFHS comparativement aux souris HFHS ($p = 0,0526$) **(Fig. 4.5B).**

La nourriture consommée a été évaluée deux fois par semaine lors des 3 semaines de diètes. Les souris recevant une diète HFHS présentent une augmentation progressive de leur consommation énergétique. Toutefois, les souris LPS+HFHS présentent une consommation alimentaire cumulative légèrement inférieure à celle du groupe HFHS, avec une différence significative observée au jour 20 **(Fig. 4.5C)**. Le ratio d'efficacité alimentaire, correspondant au rapport entre le gain de poids et la consommation alimentaire totale, a également été calculé. Ce ratio est significativement plus élevé chez les souris LPS+HFHS comparativement aux souris HFHS ($p = 0,0070$) **(Fig. 4.5D)**.

Le ratio d'échange respiratoire (RER), la dépense énergétique et l'activité locomotrice ont été évalués pendant 48 heures au moment du changement de diète ainsi qu'après deux semaines de diète HFHS. Le passage d'une diète standard à une diète HFHS s'accompagne d'une diminution globale du ratio d'échange respiratoire (RER), caractérisée par une diminution des pics, qui passent d'environ 0,95 sous la diète standard à environ 0,80–0,85 sous la diète HFHS (**Fig. 4.5E-F et I-J**). Après deux semaines de diète HFHS, aucune différence significative du RER n'est observée entre les groupes au cours des phases de lumière et d'obscurité. Toutefois, le RER moyen calculé sur les 48 heures est légèrement, mais significativement, plus élevé chez les souris LPS+HFHS comparativement aux souris HFHS (**Fig. 4.5I-J**). Aucune différence significative n'est observée concernant la dépense énergétique ou l'activité locomotrice entre les deux groupes (**Fig. 4.5G-L**).

L'expression de gènes hypothalamiques impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique, du métabolisme et des voies dopaminergiques (*Agrp, Npy, Pomc, Cart, Kiss1, Th* et *Lepr*) a également été évaluée par RT-qPCR. À l'exception de *Kiss1*, aucun des gènes analysés ne présente de différence significative entre les groupes. L'expression de *Kiss1* est significativement diminuée chez les souris LPS+HFHS comparativement aux souris HFHS (**Fig. 4.5M**).

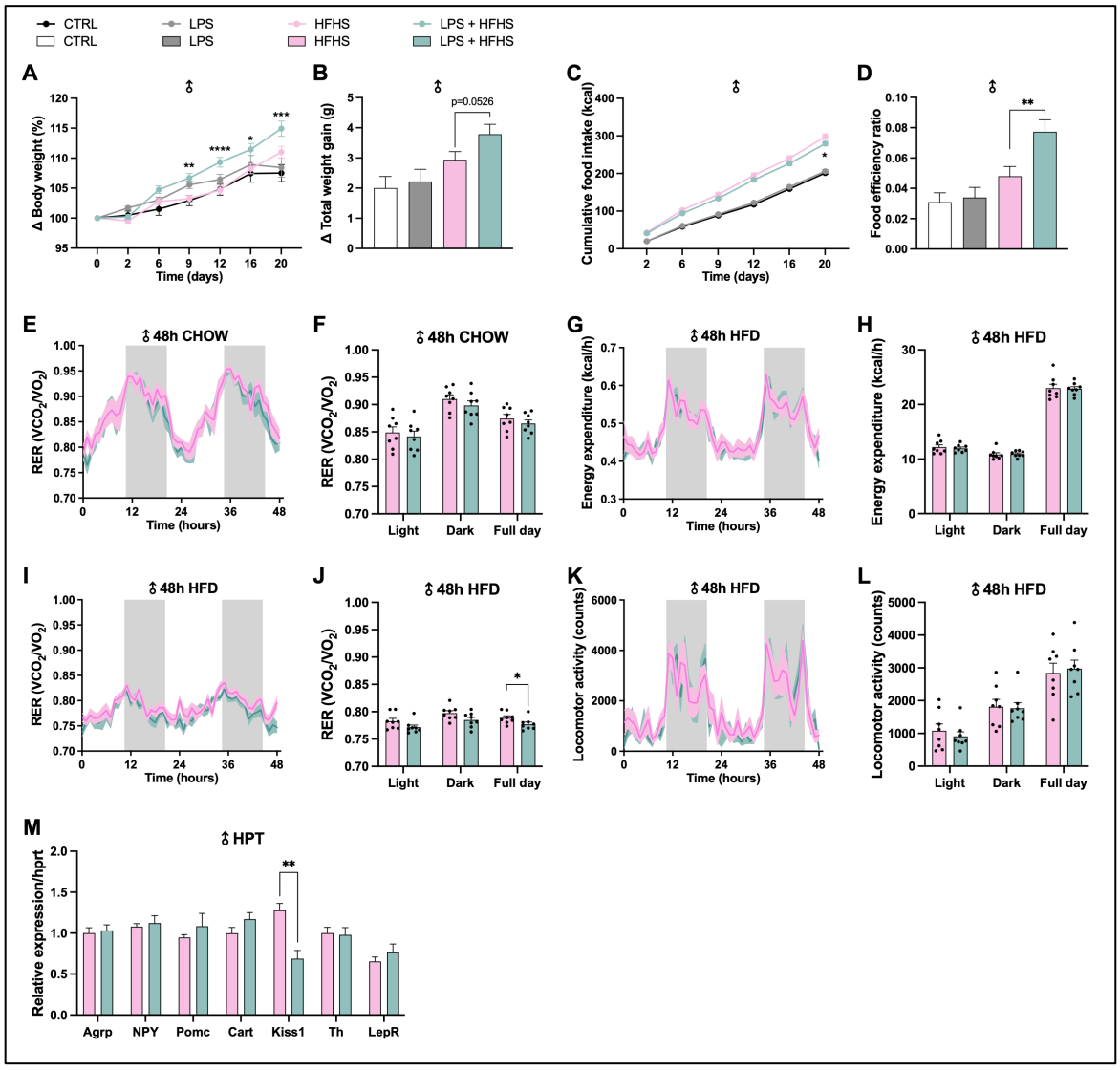


Figure 4.5 Effets métaboliques de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à un régime obésogène de 3 semaines des souris mâles.

(A) Suivi du gain de poids. (B) Gain de poids total. (C) Consommation cumulative bihebdomadaire de nourriture. D) Ratio d'efficacité alimentaire (food efficiency). Unpaired t-test (n = 6-12/groupe) ; *p <0,05, **p <0,01, ***p <0,001, ****p <0,0001. Analyse des paramètres métaboliques pendant les phases de lumière et d'obscurité pendant 48 h. (E-F) Ratio des échanges respiratoires (Respiratory exchange ratio) (RER) avec le régime standard avant le changement de

diètes, (G-H) Dépense énergétique après 2 semaines diètes obésogène, (I-J) RER après 2 semaines diètes obésogène et (K-L) Activité locomotrice dépendante du temps et totale après 2 semaines diètes obésogène. Expression des gènes de régulation (*Agrp, Npy, Pomc, Cart, Kiss1, Th, LepR*) évaluée par RT-qPCR dans l'hypothalamus (HPT). Unpaired t-test and One-way ANOVA, Bonferroni post-hoc (n=7-8/groupe) ; *p <0,05, ** p <0,01.

4.6. Effets sur les troubles de l'humeur de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à un régime obésogène de 3 semaines

Les comportements anxiodépressifs ont été évalués au cours de la deuxième semaine suivant le changement de diète à l'aide de l'Open Field Test (OFT), de l'Elevated Plus Maze (EPM) et du Forced Swim Test (FST).

Dans l'*Open Field Test*, aucune différence n'est observée concernant la distance totale parcourue **(Fig. 4.6A)**. Les souris LPS+HFHS présentent une fréquence d'entrées dans la zone centrale significativement plus faible que les souris HFHS (p=0,0282) **(Fig. 4.6B)**, alors qu'aucune différence n'est observée pour le temps cumulé passé dans cette zone **(Fig. 4.6C)**.

Dans l'*Elevated Plus Maze*, aucune différence significative n'est observée entre les groupes pour la distance parcoure, la fréquence d'entrées dans les bras ouverts ou le temps cumulé passé dans ceux-ci **(Fig. 4.6D-F)**.

Dans le *Forced Swim* Test, les souris LPS+HFHS présentent un temps d'immobilité significativement plus élevé que les souris HFHS (p=0,0252) **(Fig. 4.6H)**, tandis que leur vitesse moyenne demeure comparable entre les groupes (**Fig. 4.6G**).

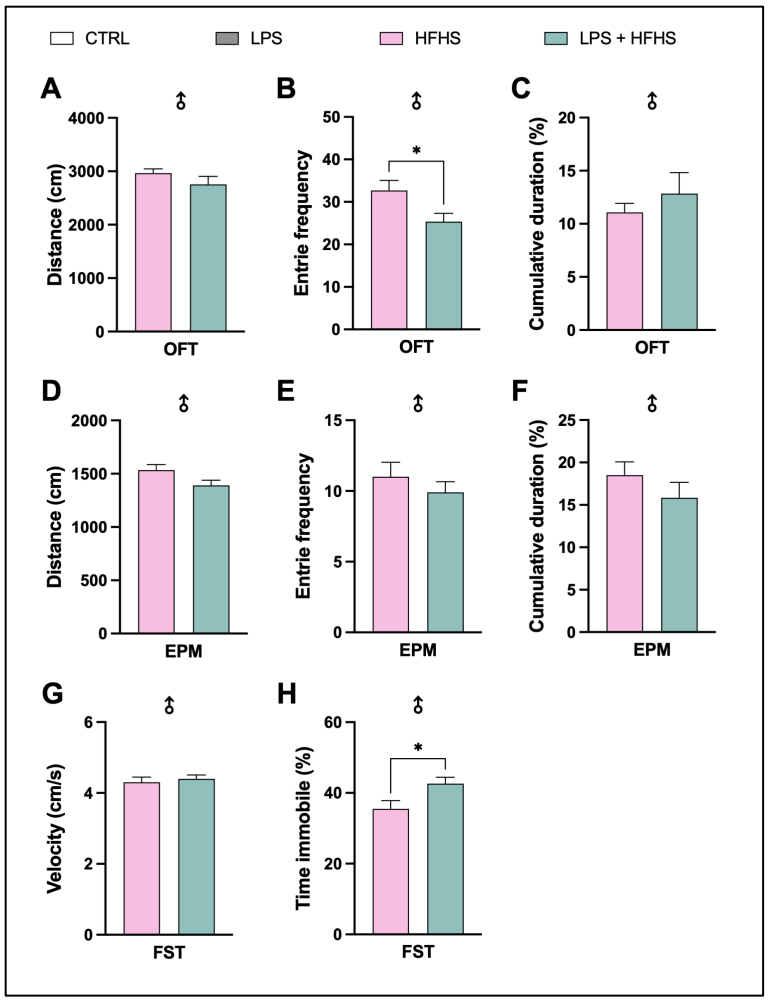


Figure 4.6. Effets de la neuroinflammation induite par le LPS combinée à une diète obésogène sur les comportements anxiodépressifs évalués par des tests comportementaux à la 2e semaine suivant le changement de diète chez les souris mâles.

(A-C) Open Field test, (D-F) Elevated Plus Maze et (G-H) Forced Swim Test. Unpaired t-test (n = 11-12/groupe) ; *p <0,05, **p <0,01.

5. DISCUSSION

L'objectif général de cette étude est d'étudier les liens bidirectionnels entre la neuroinflammation provenant de sources non obèses, les capacités cognitives et les altérations métaboliques dans un contexte d'obésité expérimentale. Pour ce faire, deux protocoles expérimentaux complémentaires ont été réalisés. Un premier protocole de neuf semaines de diètes a permis d'évaluer les effets d'une diète obésogène chez les souris mâles et femelles, notamment afin de caractériser le dimorphisme sexuel des réponses observées. En complément, un second protocole de trois semaines a été réalisé chez les souris mâles afin d'étudier plus spécifiquement les conséquences d'une exposition précoce au régime obésogène.

L'interprétation de l'ensemble de ces données repose sur une distinction fondamentale entre les deux modèles de neuroinflammation employés. Alors que la neuroinflammation induite par l'injection unique de LPS demeure relativement stable à long terme, celle générée par le régime obésogène constitue un phénomène biphasique[68,76,82]. Cette différence de dynamique suggère que les interactions entre ces deux processus inflammatoires pourraient également varier au cours du temps. Nous avons ainsi émis l'hypothèse que les conséquences de leur interaction seraient particulièrement importantes lorsque la neuroinflammation induite par la diète est à un stade précoce de son développement, période durant laquelle les deux réponses inflammatoires se superposent, puis qu'elles diminueraient à mesure que cette réponse inflammatoire évolue **(Figure 5.1)**.

Les résultats obtenus sont compatibles avec cette hypothèse. En effet, la combinaison d'une neuroinflammation induite par le LPS et d'un régime obésogène pendant trois semaines est associée à une exacerbation de la neuroinflammation hypothalamique, des altérations métaboliques et des troubles de l'humeur. En revanche, ces effets synergiques sont beaucoup plus modestes, voire absents, après neuf semaines de diète. Dans leur ensemble, ces résultats suggèrent l'existence d'une fenêtre de vulnérabilité au début de l'exposition au régime obésogène, période durant laquelle la superposition des deux processus inflammatoires est associée à une exacerbation des réponses neuroinflammatoires ainsi que des altérations métaboliques et comportementales.

La discussion abordera d'abord la validation du modèle expérimental ainsi que le dimorphisme sexuel observé. Les résultats obtenus après neuf et trois semaines de diète seront ensuite discutés afin de mieux comprendre les interactions entre une neuroinflammation préexistante et celle induite par un régime obésogène. Enfin, le rôle potentiel de la microglie dans les effets observés sera abordé.

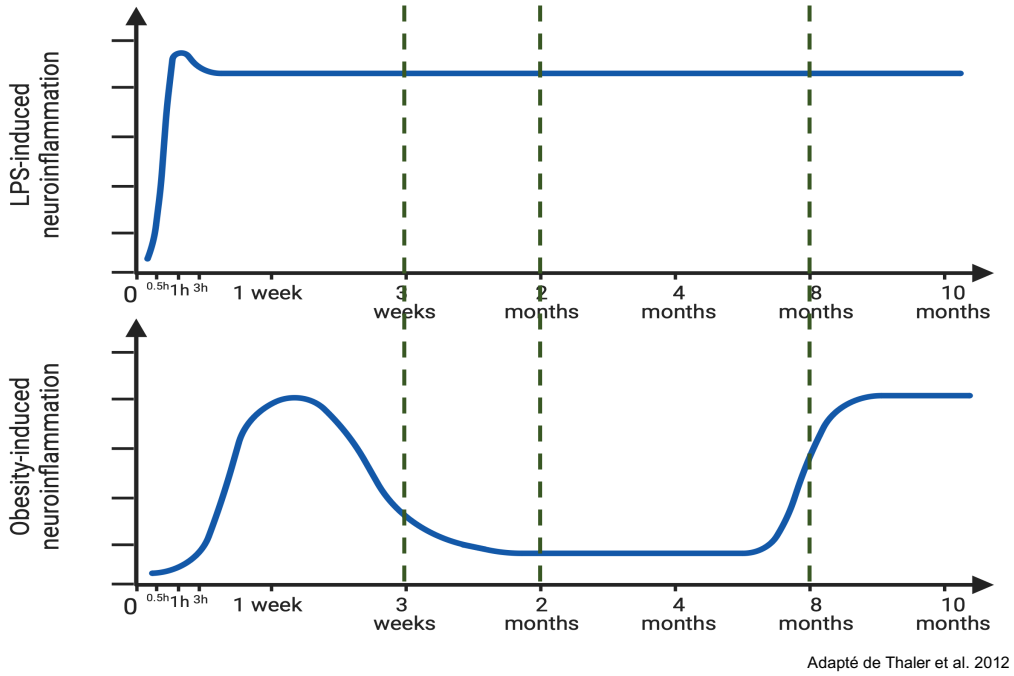


Figure 5.1. Représentation schématique illustrant la dynamique temporelle de la neuroinflammation induite par le LPS et par un régime obésogène.

5.1. Validation du modèle de neuroinflammation

La première étape de cette étude consistait à valider qu'une injection intrapéritonéale unique de LPS (5 mg/kg) induisait une inflammation systémique aiguë suivie de l'établissement d'une neuroinflammation centrale persistante, conformément au modèle décrit dans la littérature.

Dans ce modèle, l'injection périphérique de LPS provoque une libération rapide de TNFα dans la circulation et le foie, suivie d'une production locale de cytokines pro-inflammatoires et d'une activation gliale au sein du SNC[76]. Cette réponse neuroinflammatoire persiste bien après le retour à la normale des paramètres

inflammatoires périphériques. En effet, les concentrations sériques de TNFα mesurées une heure après l'injection étaient fortement augmentées chez les souris traitées au LPS (1,487 ng/mL), alors qu'elles demeuraient indétectables chez les souris ayant reçu une injection saline, confirmant ainsi l'induction d'une réponse inflammatoire périphérique aiguë.

Bien que cette concentration soit inférieure à celle rapportée dans l'étude de *Qin et al.* (6,452 ng/mL), cet écart pourrait s'expliquer par la cinétique extrêmement rapide du pic sérique de TNFα, où un léger décalage de quelques minutes lors du prélèvement peut entraîner des différences importantes de concentration[76].

L'établissement d'une neuroinflammation centrale persistante est appuyé par les observations du projet pilote, dont l'objectif était d'identifier la dose optimale de LPS permettant d'induire une neuroinflammation chronique tout en préservant le bien-être des souris. Huit semaines après l'injection de LPS, une hausse de l'expression de plusieurs gènes pro-inflammatoires (*Nfkb p65, Il-1β et Tnfα*) était observable dans le cortex, l'hippocampe et l'hypothalamus, cette dernière région présentant la réponse la plus marquée. Ces observations sont cohérentes avec le mécanisme d'action du LPS. Après sa liaison au récepteur TLR4, le LPS active la voie de signalisation dépendante de MyD88, conduisant à l'activation du facteur de transcription NF-κB et à l'induction de cytokines pro-inflammatoires[86]. Les tendances observées pour *Nfkb p65* et *Il-1β*, ainsi que l'augmentation significative de *Tnfα* dans l'hypothalamus, sont compatibles avec l'activation persistante de cette voie de signalisation plusieurs semaines après l'injection.

Le projet pilote valide le modèle de neuroinflammation après huit semaines d'injection en démontrant la tendance à la hausse de l'expression de trois gènes inflammatoires importants dans les trois régions du cerveau, particulièrement au niveau de l'hypothalamus.

Ainsi, les résultats obtenus soutiennent la validité du modèle expérimental utilisé et confirment que les effets observés dans les protocoles subséquents sont étudiés dans un contexte de neuroinflammation persistante plutôt que d'une inflammation systémique résiduelle.

5.2. Effets synergiques de la neuroinflammation non obèse combinée à un régime obésogène de 9 semaines sur le métabolisme et les troubles cognitifs

L'une des principales observations du protocole de neuf semaines de diète est la présence d'un dimorphisme sexuel marqué dans la réponse au régime obésogène. Alors que les souris mâles présentent un gain de poids important, exacerbé par le traitement au LPS, les femelles montrent un développement plus tardif de l'obésité, indépendamment du traitement au LPS. Ces observations sont cohérentes avec la littérature, qui rapporte une susceptibilité plus faible des femelles au développement de l'obésité induite par une diète riche en lipides et en sucres[60]. Cette protection est généralement attribuée aux effets des hormones sexuelles femelles, notamment le 17β-œstradiol via les récepteurs ERα hypothalamiques, sur la régulation de l'homéostasie énergétique, de la sensibilité à l'insuline et de la réponse inflammatoire[61,62].

Le dimorphisme sexuel observé pour le gain de poids se retrouve également lors de l'évaluation de la tolérance au glucose. Chez les femelles, aucune altération n'a été observée à la suite de la diète HFHS ou du traitement au LPS. À l'inverse, les mâles présentaient une élimination du glucose circulant plus lente ainsi qu'une tendance vers une glycémie à jeun plus élevée après huit semaines de diète. Bien que ces différences ne se traduisent pas par une augmentation significative de l'aire sous la courbe du GTT, elles mettent en évidence l'installation progressive d'une dysrégulation métabolique chez les mâles. L'interprétation des résultats du GTT doit toutefois être nuancée. La dose de glucose administrée a été calculée à partir du poids corporel total, conformément aux protocoles standards. Dans un contexte d'alimentation obésogène, cette approche pourrait conduire les souris présentant une augmentation importante de la masse grasse à recevoir une charge glucidique proportionnellement plus élevée que leur capacité réelle de métabolisation, ce qui pourrait influencer la réponse glycémique observée. Une estimation de la composition corporelle, à l'aide d'un appareil DEXA ou EchoMRI, aurait permis d'ajuster plus précisément cette dose en fonction de la masse maigre, tout en tenant compte dans une moindre mesure de la masse grasse, ce qui représenterait une méthode plus physiologiquement appropriée dans

un modèle d'obésité[94]. Un tel équipement n'était pas disponible dans le cadre de ce projet, ce qui n'a pas permis d'appliquer cette correction.

Il est également important de souligner une limite méthodologique concernant la mesure de la prise alimentaire pour ce protocole. Le suivi cumulatif de la consommation alimentaire n'a pas pu être réalisé de manière fiable, car les souris émiettaient et dispersaient les granules de nourriture au fond de leur cage, où elles se mélangeaient au milieu d'hébergement. Afin de remédier à cette limitation, le protocole expérimental a été adapté pour les études subséquentes par l'installation de mangeoires suspendues, permettant de limiter les pertes et de quantifier plus précisément la consommation alimentaire hebdomadaire.

Les différences métaboliques observées entre les sexes se reflètent également au niveau de l'expression génique hypothalamique. Chez les femelles soumises à la diète HFHS, le traitement au LPS a induit une augmentation significative de l'expression de *Tbx3*. Ce facteur de transcription joue un rôle critique dans le maintien de l'identité fonctionnelle et de la plasticité des neurones du système mélanocortique et sa perte de fonction est directement associée au développement de l'obésité chez l'humain et le rongeur[95]. Bien que son implication directe dans la neuroinflammation hypothalamique demeure encore peu documentée, son induction chez les femelles pourrait représenter un mécanisme adaptatif contribuant à la préservation de l'homéostasie énergétique. De plus, l'exposition à la diète HFHS tend à induire une diminution des transcrits orexigènes *Agrp* et *Npy*. Cette réponse pourrait être attribuée à l'action centrale protectrice des œstrogènes qui, via les récepteurs ERα, renforcent la sensibilité aux signaux de satiété et répriment la voie orexigène[60]. D'autre part, le traitement au LPS induit une hausse de l'expression de *Kiss1* et de la *Th*, reflétant une modulation spécifique des réseaux neuroendocriniens et dopaminergiques en réponse à l'inflammation aiguë. Le fait que ces variations n'atteignent pas toutes le seuil de signification statistique s'explique vraisemblablement par la variabilité interindividuelle liée à l'absence de synchronisation du cycle œstral des femelles au moment des prélèvements. À l'inverse, ni la diète HFHS ni le traitement au LPS n'ont modifié de façon significative l'expression de ces gènes chez les mâles, suggérant que les femelles mettent en place une réponse adaptative hypothalamique distincte.

En réponse au LPS, seules les femelles ont présenté une augmentation de l'expression des marqueurs gliaux et inflammatoires *Iba1*, *Gfap* et *Saa3*. Bien que ces résultats suggèrent une réactivité gliale sexuellement dimorphique, plusieurs contraintes méthodologiques doivent être prises en compte. D'une part, en raison d'une contamination par de l'ADN génomique, seuls les gènes analysés avec des amorces ne l'amplifiant pas (*Iba1*, *Gfap*, *Saa3* et *Il6*) ont pu être conservés. D'autre part, plusieurs transcrits (*Saa3*, *Il6*, *Kiss1* et *LepR*) présentaient des niveaux d'expression très faibles proches de la limite de détection (Ct > 35), ce qui représente une contrainte pour la quantification précise de ces marqueurs par RT-qPCR. Enfin, l'expression des ARNm ne traduisant pas systématiquement l'abondance protéique, nous avons donc tenté de mesurer directement les concentrations protéiques des cytokines (TNFα, IL-1β et IL-6) dans des homogénats d'hypothalamus par ELISA. Aucune cytokine n'a pu être détectée. Les courbes d'étalonnage étant valides, cette absence de signal suggère davantage une limite de sensibilité de la méthode qu'un problème technique. Le recours à des approches plus sensibles, telles que l'électrochimiluminescence (Meso Scale Discovery), pourrait pour caractériser plus finement le profil neuroinflammatoire.

Très peu d'altérations comportementales ont été mises en évidence après neuf semaines de diète. À l'exception d'une diminution du temps passé dans les bras ouverts de *l'Elevated Plus Maze* chez les mâles traités au LPS comparativement groupe CTRL, aucun effet significatif n'a été observé dans les tests évaluant les comportements anxieux, le désespoir comportemental ou les fonctions cognitives. L'absence d'altérations comportementales marquées est cohérente avec la littérature, qui montre que l'apparition des comportements anxieux, dépressifs et des déficits cognitifs induits par un régime obésogène dépend fortement de la durée d'exposition[12,32]. Bien que le protocole expérimental se soit déroulé sur neuf semaines, les évaluations comportementales ont été réalisées après seulement six à sept semaines de diète, une période qui pourrait être insuffisante pour permettre l'émergence de déficits comportementaux importants. Cette interprétation est appuyée par les études montrant que ces altérations apparaissent généralement après 8 à 12 semaines d'exposition au régime obésogène[32]. De façon concordante, aucune altération significative n'a été observée dans les tests évaluant la mémoire de reconnaissance (NOR), résultat cohérent avec les travaux rapportant des performances comparables aux témoins après cinq

semaines de diète, alors qu'un déficit marqué apparaît après une exposition prolongée d'environ 21 semaines[12,96]. Aucune altération significative de la mémoire spatiale n'a également été observée dans le Morris Water Maze, bien qu'une légère tendance à une diminution du temps passé dans le quadrant cible ait été notée chez les mâles traités au LPS. Ces résultats suggèrent qu'après neuf semaines de protocole, la combinaison d'une neuroinflammation induite par le LPS et d'un régime obésogène n'est pas suffisante pour entraîner des déficits cognitifs ou comportementaux majeurs.

L'analyse détaillée de la cinétique du gain pondéral révèle que la différence observée entre les groupes HFHS et LPS + HFHS chez les mâles apparaît principalement au cours des trois premières semaines suivant l'introduction du régime, puis demeure relativement stable jusqu'à la fin du protocole. À l'inverse, chez les femelles, l'augmentation pondérale sous régime obésogène devient principalement apparente entre les semaines 6 et 9, confirmant une cinétique plus tardive du développement de l'obésité. Ces observations nous ont amenés à émettre l'hypothèse que les interactions entre une neuroinflammation induite par le LPS et la neuroinflammation associée au régime obésogène sont particulièrement importantes lorsque les deux processus inflammatoires coïncident temporellement, soit au début de l'exposition à la diète. C'est sur cette base qu'un second protocole expérimental de trois semaines, réalisé chez de nouvelles cohortes de souris mâles, a été conçu afin de caractériser plus précisément les altérations neuroinflammatoires, métaboliques et comportementales associées à cette période précoce.

5.3. Effets synergiques de la neuroinflammation non obèse combinée à un régime obésogène de 3 semaines sur le métabolisme et les troubles cognitifs

Les résultats obtenus après trois semaines de diète soutiennent l'hypothèse selon laquelle les interactions entre une neuroinflammation induite par le LPS et celle induite par le régime obésogène sont particulièrement importantes au début de l'exposition à la diète, période durant laquelle les deux réponses inflammatoires se chevauchent. Contrairement aux observations réalisées après neuf semaines, la combinaison du LPS et du régime HFHS entraîne ici une exacerbation marquée de la réponse neuroinflammatoire hypothalamique, accompagnée d'altérations métaboliques et comportementales. Ces résultats appuient

l'existence d'une période de vulnérabilité durant laquelle les deux processus inflammatoires interagissent pour amplifier leurs effets.

La première observation importante est que les effets observés surviennent en l'absence d'une inflammation systémique aiguë persistante. Les concentrations plasmatiques d'IL-1β et de TNFα demeurent indétectables quatre semaines après l'administration du LPS, indiquant que la réponse inflammatoire périphérique aiguë induite par l'endotoxine est vraisemblablement résolue à ce stade. Bien qu'un régime obésogène soit reconnu pour induire une métainflammation systémique de faible intensité, les concentrations circulantes de cytokines au début de l'exposition au régime pourraient demeurer sous le seuil de détection des dosages ELISA conventionnels[16,57]. L'absence de signal détectable par ELISA pourrait s'expliquer par les limites de sensibilité de cette méthode plutôt que par une absence complète d'inflammation systémique. Ainsi, l'absence de cytokines détectables ne remet pas en question la validité du modèle, mais suggère plutôt que les altérations observées au niveau hypothalamique surviennent en l'absence d'une inflammation systémique aiguë persistante.

La neuroinflammation hypothalamique constitue l'une des principales observations du protocole de trois semaines. Les souris LPS+HFHS présentent une augmentation de l'expression de plusieurs gènes associés à la réponse inflammatoire, notamment *Iba-1*, *Tnfα*, *Ccl2* et *Saa3*. Cette signature neuroinflammatoire est corroborée par l'augmentation du marquage immunofluorescent d'Iba-1 et de GFAP dans le noyau arqué de l'hypothalamus, appuyant l'implication de la microglie et des astrocytes dans cette réponse inflammatoire. Ensemble, ces observations indiquent qu'une neuroinflammation induite par le LPS amplifie la réponse inflammatoire hypothalamique déclenchée par le régime obésogène au cours des premières semaines d'exposition[10,54]. Cette réponse contraste avec celle observée après neuf semaines de diète, où aucune augmentation comparable des marqueurs neuroinflammatoires n'était détectée chez les mâles, bien qu'une diminution de l'expression d'*Il-6* ait été observée chez les souris LPS+HFHS. Ces observations sont cohérentes avec l'hypothèse d'une période de vulnérabilité au début de l'exposition au régime, durant laquelle les neuroinflammations induites par le LPS et par la diète se chevauchent temporellement.

L'interprétation du gain pondéral observé doit toutefois tenir compte d'une limite méthodologique. Au moment de l'introduction du régime HFHS, les souris ayant reçu le LPS présentaient encore un poids corporel légèrement inférieur à celui des témoins, bien que les signes cliniques associés à la réponse inflammatoire aiguë aient disparu. L'analyse de la cinétique pondérale montre que les souris retrouvaient leur poids pré-injection environ 7 à 10 jours après le début de la diète, soit 14 à 17 jours après l'administration du LPS. Il demeure donc possible qu'une partie du gain pondéral observé chez les souris LPS+HFHS reflète un phénomène de rattrapage pondéral consécutif à la perte de poids induite par le LPS, en plus des interactions entre la neuroinflammation induite par le LPS et le régime obésogène. Afin de limiter ce biais potentiel, le protocole expérimental a été ajusté dans une cohorte subséquente en allongeant le délai entre l'injection de LPS et l'introduction du régime HFHS, de manière à permettre un retour au poids initial avant le début de la diète. Cette modification méthodologique permettra d'évaluer plus spécifiquement l'impact de la neuroinflammation sur le développement des altérations métaboliques induites par le régime obésogène.

Cette exacerbation de la réponse neuroinflammatoire hypothalamique s'accompagne également d'un phénotype métabolique distinct chez les souris LPS+HFHS. Après trois semaines de diète, ces souris présentent un gain de poids plus important que les souris HFHS. Cette différence ne semble toutefois pas résulter d'une augmentation de l'apport énergétique puisque, malgré leur gain pondéral supérieur, les souris LPS+HFHS présentent plutôt une consommation alimentaire cumulative légèrement inférieure. Cette dissociation entre la quantité d'énergie consommée et le gain de poids est associée à une augmentation significative du ratio d'efficacité alimentaire chez les souris LPS+HFHS, suggérant une modification de l'utilisation ou du stockage de l'énergie. Les analyses réalisées en cages métaboliques ne permettent toutefois pas d'identifier clairement le mécanisme à l'origine de cette différence. Aucune différence significative de la dépense énergétique ou de l'activité locomotrice n'est observée entre les groupes. En revanche, le RER moyen sur l'ensemble de la période d'acquisition est légèrement plus faible chez les souris LPS+HFHS. Bien que modeste, cette diminution suggère une plus grande utilisation des lipides comme substrat énergétique. Ces résultats soulèvent l'hypothèse qu'une neuroinflammation hypothalamique induite par le LPS puisse modifier la façon dont

l'énergie est utilisée ou stockée, favorisant une plus grande efficacité de conversion de l'énergie ingérée en masse corporelle. Cette hypothèse est cohérente avec l'augmentation de l'efficacité alimentaire observée, mais devra être confirmée par des analyses complémentaires.

Au niveau hypothalamique, peu de modifications des gènes impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique sont observées, à l'exception d'une diminution significative de l'expression de *Kiss1* chez les souris LPS+HFHS. Bien que les kisspeptines soient principalement reconnues pour leur rôle essentiel dans la reproduction, leur implication dans l'homéostasie énergétique est de plus en plus documentée[49]. La signalisation hypothalamique par la kisspeptine influence la prise alimentaire, le poids corporel et la dépense énergétique, tout en agissant simultanément sur la thermogenèse et le métabolisme du glucose[49]. La diminution de l'expression de *Kiss1* observée dans notre modèle pourrait ainsi participer aux altérations métaboliques associées à la combinaison du LPS et du régime HFHS. Il est intéressant de constater que cette modification transcriptionnelle est observée dans un contexte où les souris LPS+HFHS présentent également une augmentation des marqueurs de neuroinflammation hypothalamique. Cette association soulève l'hypothèse qu'une neuroinflammation hypothalamique puisse altérer l'expression de *Kiss1*. Toutefois, les présentes données ne permettent pas d'établir une relation causale entre ces phénomènes, ni de conclure que la diminution de *Kiss1* participe directement au phénotype métabolique observé. Les effets de la kisspeptine sur l'homéostasie énergétique demeurent toutefois controversés, plusieurs études rapportant des actions tant orexigènes qu'anorexigènes[49]. Des travaux complémentaires seront donc nécessaires afin de préciser le rôle de la signalisation par la kisspeptine dans les altérations métaboliques observées dans les altérations métaboliques associées à la neuroinflammation et au régime obésogène.

Enfin, les effets observés ne se limitent pas aux paramètres neuroinflammatoires et métaboliques, les évaluations comportementales suggèrent une augmentation modeste des comportements associés à l'anxiété et au désespoir comportemental chez les souris LPS+HFHS[97]. En effet, ces dernières présentent une diminution de la fréquence d'entrées dans la zone centrale de l'*Open Field Test* ainsi qu'une augmentation du temps d'immobilité dans le *Forced Swim Test* comparativement aux souris HFHS. En revanche, le temps passé

dans la zone centrale de l'*Open Field Test* et les paramètres mesurés dans l'*Elevated Plus Maze* demeurent inchangés. L'ampleur relativement modeste des différences comportementales observées n'est toutefois pas surprenante. Les évaluations comportementales ont été réalisées après seulement deux semaines de diète, une période au cours de laquelle le régime HFHS induit déjà, à lui seul, des modifications comportementales précoces[83]. Ainsi, malgré un contexte où la diète exerce déjà des effets sur le comportement, le traitement au LPS est associé à une exacerbation de certains comportements anxiodépressifs.

5.4. Contribution biologique de la microglie

Les résultats obtenus dans ce projet suggèrent que la microglie pourrait jouer un rôle central dans les effets synergiques observés entre une neuroinflammation induite par le LPS et un régime obésogène. En effet, l'augmentation de l'expression d'*Iba-1* ainsi que du marquage immunofluorescent d'Iba-1 dans le noyau arqué de l'hypothalamus indique une réactivité microgliale accrue au cours de la période de vulnérabilité identifiée. Bien que ces observations ne permettent pas d'établir un rôle causal de la microglie dans les altérations métaboliques et comportementales observées, elles appuient l'hypothèse selon laquelle cette population cellulaire participe à l'exacerbation de la réponse neuroinflammatoire.

Afin d'approfondir cette hypothèse, un troisième objectif du projet visait à isoler et à étudier plus spécifiquement la contribution de la microglie aux effets synergiques observés entre une neuroinflammation induite par le LPS et un régime obésogène. Pour ce faire, un modèle *in vitro* de microglies en culture a été développé afin d'évaluer les effets des facteurs sécrétés par les microglies activées sur les neurones hypothalamiques. Bien que cet objectif n'ait pas pu être complété dans le cadre du présent mémoire, plusieurs étapes importantes ont été réalisées. En conséquence, aucun résultat n'est présenté pour cette partie, les éléments qui suivent visent plutôt à présenter les travaux entrepris et leur contribution à la poursuite du projet.

Un modèle *in vitro* de microglies N9 a été développé afin d'étudier les effets des facteurs sécrétés par les microglies activées sur les neurones hypothalamiques. Contrairement aux modèles *in vitro* utilisant habituellement une stimulation directe au LPS, les cellules ont

été stimulées à l'aide de sérum provenant de souris traitées au LPS, une approche plus représentative de l'environnement inflammatoire systémique généré *in vivo* où les microglies sont exposées à un ensemble de médiateurs circulants plutôt qu'au LPS seul. L'activation des cellules N9 a été caractérisée par la mesure de l'expression de gènes pro-inflammatoires (*Iba-1*, *Il-1β*, *Nfkb p65* et *Cd68*) ainsi que par le dosage du TNFα sécrété dans le surnageant. Une courbe dose-réponse a permis d'identifier qu'une concentration de 2 % de sérum LPS induisait une activation microgliale tout en optimisant l'utilisation du sérum disponible. En parallèle, une stimulation directe au LPS a confirmé la réactivité des cellules N9. À partir d'une concentration de 50 ng/mL, les cellules semblaient présenter des signes de cytotoxicité plutôt qu'une simple activation inflammatoire. Une concentration de 10 ng/mL a donc été retenue pour la production du milieu conditionné, puisqu'elle permettait d'activer les microglies tout en préservant leur viabilité.

Ce modèle constitue une étape importante pour la poursuite du projet et permettra d'évaluer les effets des facteurs sécrétés par les microglies activées sur les neurones impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique. Il permettra notamment de déterminer si ces facteurs contribuent aux modifications de l'expression de *Kiss1* observées dans le présent projet et d'explorer plus directement les mécanismes cellulaires reliant la neuroinflammation aux altérations métaboliques mises en évidence.

6. CONCLUSION ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE

Conclusion générale

Les travaux réalisés dans le cadre de ce mémoire ont permis de démontrer que la combinaison d'une neuroinflammation d'origine non obésogène induite par le LPS et d'un régime obésogène entraîne des effets synergiques sur la neuroinflammation hypothalamique, le métabolisme et les troubles de l'humeur. Ces effets sont particulièrement marqués après trois semaines d'exposition à la diète, alors qu'ils sont fortement atténués, voire absents, après neuf semaines. Ensemble, ces résultats suggèrent que les interactions entre une neuroinflammation induite par le LPS et celle induite par le régime obésogène sont particulièrement importantes au début de l'exposition à la diète. Ils soulèvent également plusieurs hypothèses et ouvrent de nouvelles avenues de recherche visant à mieux comprendre les mécanismes impliqués ainsi qu'à développer de potentielles stratégies thérapeutiques.

Perspectives de recherche

Perspectives *in vitro*

Les résultats obtenus suggèrent que la microglie constitue un acteur clé des effets synergiques observés. La poursuite du projet visera donc à utiliser le milieu conditionné obtenu à partir de microglies N9 activées afin de traiter des cultures primaires de neurones hypothalamiques. Cette approche permettra de déterminer si les facteurs sécrétés par les microglies sont suffisants pour induire les altérations neuronales observées *in vivo*, notamment les modifications de l'expression de *Kiss1*, et d'explorer plus directement les mécanismes cellulaires reliant la neuroinflammation aux perturbations métaboliques.

Perspectives *in vivo*

Les résultats obtenus soulèvent également la possibilité qu'une seconde période de vulnérabilité survienne lors de la phase chronique de la neuroinflammation induite par le régime obésogène. Puisque notre hypothèse repose sur le chevauchement temporel de deux réponses neuroinflammatoires, il est plausible que des effets synergiques réapparaissent lors de la deuxième phase de la neuroinflammation induite par la diète. Il sera alors

essentiel d'évaluer l'intensité de ces effets synergiques dans un contexte d'exposition chronique au régime obésogène. Nous faisons l'hypothèse que cette seconde phase pourrait de nouveau s'accompagner d'une augmentation de l'efficacité alimentaire ainsi que d'une exacerbation des altérations métaboliques, neuroinflammatoires et des troubles de l'humeur. Cette hypothèse constituera l'une des principales avenues de recherche découlant des présents travaux.

Perspectives thérapeutiques

La compréhension des liens directionnels entre l'inflammation du cerveau et les capacités cognitives et l'obésité ainsi que l'établissement d'un modèle normalisé permettant d'étudier ces interactions, ouvrent des perspectives thérapeutiques tant préventives que curatives. Actuellement, nous ne connaissons aucune façon non pharmacologique de moduler à la baisse la neuroinflammation. Une piste prometteuse de recherche suggère que le système digestif, par sa perméabilité variable, ses molécules et hormones générées, et par sa composition bactérienne (flore intestinale), pourrait jouer un rôle important dans la modulation de la neuroinflammation[98,99]. Divers types d'interventions via différents effets sur le microbiote, des produits inflammatoires ou antioxydants sont disponibles. Bien que les suppléments alimentaires soient des composés naturels avec peu d'effets secondaires négatifs, ils sont peu validés dans la littérature, rehaussant l'intérêt et l'originalité de le faire dans l'optique d'offrir une approche non pharmacologique et accessible. Plusieurs dérivés alimentaires bioactifs tels que les polyphénols et les acides gras pourraient moduler l'écosystème complexe de l'axe intestin-cerveau et ainsi induire des effets neuroprotecteurs via la diversité microbienne, la perméabilité intestinale, la fonction des cellules entéroendocrines et la progression des maladies neurodégénératives via le nerf vague dans le but de prévenir ou de traiter les dommages causés par la neuroinflammation. Les polyphénols agissent directement dans le cerveau en ayant des effets antioxydants et anti-inflammatoires et au niveau de l'intestin où ils y sont modifiés par le microbiote. Cette modification peut améliorer leur structure, leur efficacité ainsi que leur biodisponibilité dépendamment de la nature de la flore intestinale présente[100]. La N-acétyl-cystéine (NAC), un dérivé de la L-cystéine, est précurseur d'antioxydants qui exerce un double rôle. En plus d'améliorer la santé intestinale en favorisant la croissance de bactéries bénéfiques, elle

réduit également l'inflammation ainsi que la perméabilité intestinale. Elle agit centralement en ayant des actions antioxydants et anti-inflammatoires[101].

L'angle thérapeutique reposerait donc sur une intervention nutritionnelle à base de suppléments de polyphénols (bleuets nordiques) et de précurseurs d'antioxydants modulateurs du microbiote (n-acétyl-cystéine) pour un effet synergique neuroprotecteur. Nous croyons que ces deux suppléments alimentaires diminueraient la neuroinflammation via entre autres des changements au niveau du métabolisme du tryptophane, qu'ils permettraient de limiter le déclin cognitif, et qu'ils atténueraient la relation cyclique de la neuroinflammation et de l'obésité.

Conclusion finale

Dans l'ensemble, nos travaux démontrent que les effets synergiques entre une neuroinflammation d'origine non obésogène induite par le LPS et un régime obésogène sont particulièrement marqués au cours des premières semaines d'exposition à la diète. Ces résultats mettent en évidence l'existence d'une fenêtre de vulnérabilité au début de l'exposition au régime obésogène, durant laquelle les interactions entre ces deux processus neuroinflammatoires favorisent l'exacerbation de la neuroinflammation hypothalamique, des altérations métaboliques et des troubles de l'humeur. Les données obtenues soutiennent également l'hypothèse selon laquelle la microglie pourrait contribuer à ces effets synergiques, bien que des analyses complémentaires soient nécessaires pour confirmer cette contribution. Les prochaines étapes de ce projet viseront à approfondir ces résultats à l'aide d'approches *in vitro* ciblant les interactions entre les microglies et les neurones hypothalamiques, de protocoles *in vivo* permettant d'étudier les effets de la neuroinflammation induite par le LPS lors d'une exposition chronique au régime obésogène, ainsi que de l'exploration de stratégies nutritionnelles visant à moduler l'axe intestin-cerveau.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1 Schwartz, M. W. *et al.* Obesity Pathogenesis: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr Rev* **38**, 267-296 (2017). https://doi.org/10.1210/er.2017-00111

2 Ng, M. *et al.* Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* **384**, 766-781 (2014). https://doi.org/10.1016/s0140-6736(14)60460-8

3 World Obesity Federation. World Obesity Atlas 2023. . (World Obesity Federation, , 2023).

4 Twells, L. K., Janssen, I. & Kuk, J. L. Canadian Adult Obesity Clinical Practice Guidelines: Epidemiology of Adult Obesity. (Obesity Canada,, 2020).

5 Gregor, M. F. & Hotamisligil, G. S. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol* **29**, 415-445 (2011). https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101322

6 Sharma, S., Fernandes, M. F. & Fulton, S. Adaptations in brain reward circuitry underlie palatable food cravings and anxiety induced by high-fat diet withdrawal. *Int J Obes (Lond)* **37**, 1183-1191 (2013). https://doi.org/10.1038/ijo.2012.197

7 Kendig, M. D., Leigh, S. J. & Morris, M. J. Unravelling the impacts of western-style diets on brain, gut microbiota and cognition. *Neurosci Biobehav Rev* **128**, 233-243 (2021). https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.05.031

8 Lean, M. & Hankey, C. Keeping it off: the challenge of weight-loss maintenance. *Lancet Diabetes Endocrinol* **6**, 681-683 (2018). https://doi.org/10.1016/s2213-8587(17)30405-9

9 Klein, R. *et al.* COVID-19 induces neuroinflammation and loss of hippocampal neurogenesis. *Res Sq* (2021). https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1031824/v1

10 Thaler, J. P. *et al.* Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. *J Clin Invest* **122**, 153-162 (2012). https://doi.org/10.1172/jci59660

11 Miller, A. A. & Spencer, S. J. Obesity and neuroinflammation: a pathway to cognitive impairment. *Brain Behav Immun* **42**, 10-21 (2014). https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.04.001

12 Guillemot-Legris, O. & Muccioli, G. G. Obesity-Induced Neuroinflammation: Beyond the Hypothalamus. *Trends Neurosci* **40**, 237-253 (2017). https://doi.org/10.1016/j.tins.2017.02.005

13 *Lignes directrices canadiennes pour la classification du poids chez les adultes*, <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/aliments-nutrition/saine-alimentation/poids-sante/lignes-directrices-classification-poids-chez-adultes/guide-reference-rapide-intention-professionnels.html> (2020).

14 Heindel, J. J., Lustig, R. H., Howard, S. & Corkey, B. E. Obesogens: a unifying theory for the global rise in obesity. *Int J Obes (Lond)* **48**, 449-460 (2024). https://doi.org/10.1038/s41366-024-01460-3

15 Greenway, F. L. Physiological adaptations to weight loss and factors favouring weight regain. *Int J Obes (Lond)* **39**, 1188-1196 (2015). https://doi.org/10.1038/ijo.2015.59

16 Cani, P. D. *et al.* Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* **56**, 1761-1772 (2007). https://doi.org/10.2337/db06-1491

17 Hotamisligil, G. S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* **444**, 860-867 (2006). https://doi.org/10.1038/nature05485
18 Furlan, A. & Petrus, P. Brain-body communication in metabolic control. *Trends Endocrinol Metab* **34**, 813-822 (2023). https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.08.014
19 Dietrich, M. O. & Horvath, T. L. Hypothalamic control of energy balance: insights into the role of synaptic plasticity. *Trends Neurosci* **36**, 65-73 (2013). https://doi.org/10.1016/j.tins.2012.12.005
20 Le Thuc, O. *et al.* Hypothalamic Inflammation and Energy Balance Disruptions: Spotlight on Chemokines. *Front Endocrinol (Lausanne)* **8**, 197 (2017). https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00197
21 Lenard, N. R. & Berthoud, H. R. Central and peripheral regulation of food intake and physical activity: pathways and genes. *Obesity (Silver Spring)* **16 Suppl 3**, S11-22 (2008). https://doi.org/10.1038/oby.2008.511
22 Ludwig, D. S. *et al.* Competing paradigms of obesity pathogenesis: energy balance versus carbohydrate-insulin models. *Eur J Clin Nutr* **76**, 1209-1221 (2022). https://doi.org/10.1038/s41430-022-01179-2
23 Hall, K. D. *et al.* The energy balance model of obesity: beyond calories in, calories out. *Am J Clin Nutr* **115**, 1243-1254 (2022). https://doi.org/10.1093/ajcn/nqac031
24 Morton, G. J., Cummings, D. E., Baskin, D. G., Barsh, G. S. & Schwartz, M. W. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature* **443**, 289-295 (2006). https://doi.org/10.1038/nature05026
25 Kringelbach, M. L. Food for thought: hedonic experience beyond homeostasis in the human brain. *Neuroscience* **126**, 807-819 (2004). https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.04.035
26 Berridge, K. C., Robinson, T. E. & Aldridge, J. W. Dissecting components of reward: 'liking', 'wanting', and learning. *Curr Opin Pharmacol* **9**, 65-73 (2009). https://doi.org/10.1016/j.coph.2008.12.014
27 Berthoud, H. R. The vagus nerve, food intake and obesity. *Regul Pept* **149**, 15-25 (2008). https://doi.org/10.1016/j.regpep.2007.08.024
28 Berthoud, H. R. Multiple neural systems controlling food intake and body weight. *Neurosci Biobehav Rev* **26**, 393-428 (2002). https://doi.org/10.1016/s0149-7634(02)00014-3
29 Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Jr., Seeley, R. J. & Baskin, D. G. Central nervous system control of food intake. *Nature* **404**, 661-671 (2000). https://doi.org/10.1038/35007534
30 Moran, T. H. Gut peptides in the control of food intake. *Int J Obes (Lond)* **33 Suppl 1**, S7-10 (2009). https://doi.org/10.1038/ijo.2009.9
31 Myers, M. G., Jr. & Olson, D. P. Central nervous system control of metabolism. *Nature* **491**, 357-363 (2012). https://doi.org/10.1038/nature11705
32 Sharma, S. & Fulton, S. Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. *Int J Obes (Lond)* **37**, 382-389 (2013). https://doi.org/10.1038/ijo.2012.48
33 Hommel, J. D. *et al.* Leptin receptor signaling in midbrain dopamine neurons regulates feeding. *Neuron* **51**, 801-810 (2006). https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.08.023

34 Baroncini, M. *et al.* MRI atlas of the human hypothalamus. *Neuroimage* **59**, 168-180 (2012). https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.07.013
35 Garfield, A. S., Lam, D. D., Marston, O. J., Przydzial, M. J. & Heisler, L. K. Role of central melanocortin pathways in energy homeostasis. *Trends Endocrinol Metab* **20**, 203-215 (2009). https://doi.org/10.1016/j.tem.2009.02.002
36 Krashes, M. J., Lowell, B. B. & Garfield, A. S. Melanocortin-4 receptor-regulated energy homeostasis. *Nat Neurosci* **19**, 206-219 (2016). https://doi.org/10.1038/nn.4202
37 Dionysopoulou, S. *et al.* The Role of Hypothalamic Inflammation in Diet-Induced Obesity and Its Association with Cognitive and Mood Disorders. *Nutrients* **13** (2021). https://doi.org/10.3390/nu13020498
38 Williams, G. *et al.* The hypothalamus and the control of energy homeostasis: different circuits, different purposes. *Physiol Behav* **74**, 683-701 (2001). https://doi.org/10.1016/s0031-9384(01)00612-6
39 Smith, P. M. & Ferguson, A. V. Neurophysiology of hunger and satiety. *Dev Disabil Res Rev* **14**, 96-104 (2008). https://doi.org/10.1002/ddrr.13
40 Folick, A., Cheang, R. T., Valdearcos, M. & Koliwad, S. K. Metabolic factors in the regulation of hypothalamic innate immune responses in obesity. *Exp Mol Med* **54**, 393-402 (2022). https://doi.org/10.1038/s12276-021-00666-z
41 Huszar, D. *et al.* Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell* **88**, 131-141 (1997). https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81865-6
42 Fan, W., Boston, B. A., Kesterson, R. A., Hruby, V. J. & Cone, R. D. Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature* **385**, 165-168 (1997). https://doi.org/10.1038/385165a0
43 van den Top, M., Lee, K., Whyment, A. D., Blanks, A. M. & Spanswick, D. Orexigen-sensitive NPY/AgRP pacemaker neurons in the hypothalamic arcuate nucleus. *Nat Neurosci* **7**, 493-494 (2004). https://doi.org/10.1038/nn1226
44 Campbell, J. N. *et al.* A molecular census of arcuate hypothalamus and median eminence cell types. *Nat Neurosci* **20**, 484-496 (2017). https://doi.org/10.1038/nn.4495
45 Zhang, X. & van den Pol, A. N. Hypothalamic arcuate nucleus tyrosine hydroxylase neurons play orexigenic role in energy homeostasis. *Nat Neurosci* **19**, 1341-1347 (2016). https://doi.org/10.1038/nn.4372
46 Lim, L. W. C., Egnot, C. T., Papaioannou, P. & Yip, S. H. The Hypothalamic Arcuate Nucleus Dopaminergic Neurons: More Than Just Prolactin Secretion. *Endocrinology* **166** (2025). https://doi.org/10.1210/endocr/bqaf025
47 Jais, A. *et al.* PNOC(ARC) Neurons Promote Hyperphagia and Obesity upon High-Fat-Diet Feeding. *Neuron* **106**, 1009-1025.e1010 (2020). https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.03.022
48 Tng, E. L. Kisspeptin signalling and its roles in humans. *Singapore Med J* **56**, 649-656 (2015). https://doi.org/10.11622/smedj.2015183
49 Sun, L., Gao, R. & Chen, J. The role of Kiss1 neurons in regulating metabolism and energy balance. *Peptides* **198**, 171497 (2026). https://doi.org/10.1016/j.peptides.2026.171497

50 Huang, Y., Liu, Q., Huang, G., Wen, J. & Chen, G. Hypothalamic Kisspeptin Neurons Regulates Energy Metabolism and Reproduction Under Chronic Stress. *Front Endocrinol (Lausanne)* **13**, 844397 (2022). https://doi.org/10.3389/fendo.2022.844397
51 Lainez, N. M. & Coss, D. Obesity, Neuroinflammation, and Reproductive Function. *Endocrinology* **160**, 2719-2736 (2019). https://doi.org/10.1210/en.2019-00487
52 García-Cáceres, C. *et al.* Role of astrocytes, microglia, and tanycytes in brain control of systemic metabolism. *Nat Neurosci* **22**, 7-14 (2019). https://doi.org/10.1038/s41593-018-0286-y
53 Valdearcos, M. *et al.* Microglial Inflammatory Signaling Orchestrates the Hypothalamic Immune Response to Dietary Excess and Mediates Obesity Susceptibility. *Cell Metab* **26**, 185-197.e183 (2017). https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.05.015
54 Lee, C. H., Suk, K., Yu, R. & Kim, M. S. Cellular Contributors to Hypothalamic Inflammation in Obesity. *Mol Cells* **43**, 431-437 (2020). https://doi.org/10.14348/molcells.2020.0055
55 Jais, A. & Brüning, J. C. Arcuate Nucleus-Dependent Regulation of Metabolism-Pathways to Obesity and Diabetes Mellitus. *Endocr Rev* **43**, 314-328 (2022). https://doi.org/10.1210/endrev/bnab025
56 Benyaich, A. & Benyaich, K. The orexigenic and anorectic peptides involved in central and peripheral regulation of eating behavior

Les peptides orexigènes et anorexigènes impliqués dans la régulation centrale et périphérique du comportement alimentaire. *Pratiques en Nutrition : santé et alimentation* (2017).
57 Lumeng, C. N. & Saltiel, A. R. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest* **121**, 2111-2117 (2011). https://doi.org/10.1172/jci57132
58 Folick, A., Cheang, R. T., Valdearcos, M. & Koliwad, S. K. Metabolic factors in the regulation of hypothalamic innate immune responses in obesity. *Experimental & Molecular Medicine* **54**, 393-402 (2022). https://doi.org/10.1038/s12276-021-00666-z
59 Trayhurn, P. & Wood, I. S. Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity. *Biochem Soc Trans* **33**, 1078-1081 (2005). https://doi.org/10.1042/bst0331078
60 Palmer, B. F. & Clegg, D. J. The sexual dimorphism of obesity. *Mol Cell Endocrinol* **402**, 113-119 (2015). https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.11.029
61 Stubbins, R. E., Holcomb, V. B., Hong, J. & Núñez, N. P. Estrogen modulates abdominal adiposity and protects female mice from obesity and impaired glucose tolerance. *Eur J Nutr* **51**, 861-870 (2012). https://doi.org/10.1007/s00394-011-0266-4
62 Riant, E. *et al.* Estrogens protect against high-fat diet-induced insulin resistance and glucose intolerance in mice. *Endocrinology* **150**, 2109-2117 (2009). https://doi.org/10.1210/en.2008-0971
63 Vallis TM, M. D., Russell-Mayhew S. Canadian Adult Obesity Clinical Practice Guidelines: Effective Psychological and Behavioural Interventions in Obesity Management. (The Canadian Adult Obesity Clinical Practice Guidelines, 2020).

64 Pedersen SD, M. P., Dash S, Jain A, Pearce N, Poddar M. Canadian Adult Obesity Clinical Practice Guidelines: Pharmacotherapy for Obesity Management in Adults. (Obesity Canada, 2020).
65 McGowan, B. *et al.* A systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of pharmacological treatments for obesity in adults. *Nature Medicine* **31**, 3317-3329 (2025). https://doi.org/10.1038/s41591-025-03978-z
66 West, S. *et al.* Weight regain after cessation of medication for weight management: systematic review and meta-analysis. *Bmj* **392**, e085304 (2026). https://doi.org/10.1136/bmj-2025-085304
67 Biertho L, H. D., Gagner M. Canadian Adult Obesity Clinical Practice Guidelines: Bariatric Surgery: Surgical Options and Outcomes. (Obesity Canada, 2020).
68 Thaler, J. P. *et al.* Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. *Journal of Clinical Investigation* **122**, 153-162 (2012). https://doi.org/10.1172/jci59660
69 Passamonti, L. *et al.* Neuroinflammation and Functional Connectivity in Alzheimer's Disease: Interactive Influences on Cognitive Performance. *The Journal of Neuroscience* **39**, 7218-7226 (2019). https://doi.org/10.1523/jneurosci.2574-18.2019
70 Zhao, J. *et al.* Neuroinflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment in mice. *Scientific Reports* **9** (2019). https://doi.org/10.1038/s41598-019-42286-8
71 DiSabato, D. J., Quan, N. & Godbout, J. P. Neuroinflammation: the devil is in the details. *J Neurochem* **139 Suppl 2**, 136-153 (2016). https://doi.org/10.1111/jnc.13607
72 Lyman, M., Lloyd, D. G., Ji, X., Vizcaychipi, M. P. & Ma, D. Neuroinflammation: the role and consequences. *Neurosci Res* **79**, 1-12 (2014). https://doi.org/10.1016/j.neures.2013.10.004
73 Tremblay, M. *et al.* The role of microglia in the healthy brain. *J Neurosci* **31**, 16064-16069 (2011). https://doi.org/10.1523/jneurosci.4158-11.2011
74 Renaud, J., Therien, H. M., Plouffe, M. & Martinoli, M. G. [Neuroinflammation: Dr Jekyll or Mr Hyde?]. *Med Sci (Paris)* **31**, 979-988 (2015). https://doi.org/10.1051/medsci/20153111012
75 Catorce, M. N. & Gevorkian, G. LPS-induced Murine Neuroinflammation Model: Main Features and Suitability for Pre-clinical Assessment of Nutraceuticals. *Curr Neuropharmacol* **14**, 155-164 (2016). https://doi.org/10.2174/1570159x14666151204122017
76 Qin, L. *et al.* Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia* **55**, 453-462 (2007). https://doi.org/10.1002/glia.20467
77 Lu, Y. C., Yeh, W. C. & Ohashi, P. S. LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine* **42**, 145-151 (2008). https://doi.org/10.1016/j.cyto.2008.01.006
78 Guzman-Martinez, L. *et al.* Neuroinflammation as a Common Feature of Neurodegenerative Disorders. *Front Pharmacol* **10**, 1008 (2019). https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01008
79 D'Mello, C. & Swain, M. G. Liver-brain inflammation axis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **301**, G749-761 (2011). https://doi.org/10.1152/ajpgi.00184.2011

80 Jais, A. & Brüning, J. C. Hypothalamic inflammation in obesity and metabolic disease. *J Clin Invest* **127**, 24-32 (2017). https://doi.org/10.1172/jci88878
81 Mendes, N. F., Kim, Y. B., Velloso, L. A. & Araújo, E. P. Hypothalamic Microglial Activation in Obesity: A Mini-Review. *Front Neurosci* **12**, 846 (2018). https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00846
82 Bora, A. & Fisette, A. The obese brain: is it a matter of time? *Trends Endocrinol Metab* **34**, 691-693 (2023). https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.08.003
83 McLean, F. H. *et al.* Rapid and reversible impairment of episodic memory by a high-fat diet in mice. *Sci Rep* **8**, 11976 (2018). https://doi.org/10.1038/s41598-018-30265-4
84 Collins, S., Martin, T. L., Surwit, R. S. & Robidoux, J. Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics. *Physiol Behav* **81**, 243-248 (2004). https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.02.006
85 Wang, C. Y. & Liao, J. K. A mouse model of diet-induced obesity and insulin resistance. *Methods Mol Biol* **821**, 421-433 (2012). https://doi.org/10.1007/978-1-61779-430-8_27
86 Zhao, J. *et al.* Neuroinflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment in mice. *Sci Rep* **9**, 5790 (2019). https://doi.org/10.1038/s41598-019-42286-8
87 Stansley, B., Post, J. & Hensley, K. A comparative review of cell culture systems for the study of microglial biology in Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* **9**, 115 (2012). https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-115
88 Prendergast, B. J., Onishi, K. G. & Zucker, I. Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research. *Neurosci Biobehav Rev* **40**, 1-5 (2014). https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.01.001
89 Décarie-Spain, L. *et al.* GLP-1/dexamethasone inhibits food reward without inducing mood and memory deficits in mice. *Neuropharmacology* **151**, 55-63 (2019). https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.03.035
90 Auguste, S. *et al.* Central Agonism of GPR120 Acutely Inhibits Food Intake and Food Reward and Chronically Suppresses Anxiety-Like Behavior in Mice. *Int J Neuropsychopharmacol* **19** (2016). https://doi.org/10.1093/ijnp/pyw014
91 Décarie-Spain, L. *et al.* Nucleus accumbens inflammation mediates anxiodepressive behavior and compulsive sucrose seeking elicited by saturated dietary fat. *Mol Metab* **10**, 1-13 (2018). https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.01.018
92 Morris, R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods* **11**, 47-60 (1984). https://doi.org/10.1016/0165-0270(84)90007-4
93 Hickman, S. E., Allison, E. K. & El Khoury, J. Microglial dysfunction and defective beta-amyloid clearance pathways in aging Alzheimer's disease mice. *J Neurosci* **28**, 8354-8360 (2008). https://doi.org/10.1523/jneurosci.0616-08.2008
94 Moro, C. & Magnan, C. Revisited guidelines for metabolic tolerance tests in mice. *Lab Anim (NY)* **54**, 16-23 (2025). https://doi.org/10.1038/s41684-024-01473-5

95 Quarta, C. *et al.* Functional identity of hypothalamic melanocortin neurons depends on Tbx3. *Nat Metab* **1**, 222-235 (2019). https://doi.org/10.1038/s42255-018-0028-1

96 Krishna, S. *et al.* Neurochemical and electrophysiological deficits in the ventral hippocampus and selective behavioral alterations caused by high-fat diet in female C57BL/6 mice. *Neuroscience* **297**, 170-181 (2015). https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.03.068

97 Fulton, S., Décarie-Spain, L., Fioramonti, X., Guiard, B. & Nakajima, S. The menace of obesity to depression and anxiety prevalence. *Trends Endocrinol Metab* **33**, 18-35 (2022). https://doi.org/10.1016/j.tem.2021.10.005

98 Fisette, A., Sergi, D., Breton-Morin, A., Descôteaux, S. & Martinoli, M. G. New insights on the role of bioactive food derivatives in neurodegeneration and neuroprotection. *Curr Pharm Des* (2022). https://doi.org/10.2174/1381612828666220919085742

99 Megur, A., Baltriukiene, D., Bukelskiene, V. & Burokas, A. The Microbiota-Gut-Brain Axis and Alzheimer's Disease: Neuroinflammation Is to Blame? *Nutrients* **13** (2020). https://doi.org/10.3390/nu13010037

100 Tran, P. H. L. & Tran, T. T. D. Blueberry Supplementation in Neuronal Health and Protective Technologies for Efficient Delivery of Blueberry Anthocyanins. *Biomolecules* **11** (2021). https://doi.org/10.3390/biom11010102

101 Hou, Y., Wang, L., Yi, D. & Wu, G. N-acetylcysteine and intestinal health: a focus on its mechanism of action. *Front Biosci (Landmark Ed)* **20**, 872-891 (2015). https://doi.org/10.2741/4342