

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

LABORATOIRE DES NEUROSCIENCES COGNITIVES ET ADAPTATIVES (UMR 7364)

THÈSE présentée par :

Anne-Sophie AUBRY

soutenue le : 15 décembre 2023

pour obtenir le grade de : **DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE STRASBOURG**

Discipline/ Spécialité : **NEUROSCIENCES**

Consommation excessive de sucre : impact sur les réponses comportementales, la neuroinflammation et le système endocannabinoïde

THÈSE dirigée par :

Mme BEFORT Katia

Chargée de recherche CNRS, Université de Strasbourg

RAPPORTEURS :

Mme MANSUY-AUBERT Virginie

Professeure associée, Université de Lausanne

M FIORAMONTI Xavier

Chargé de recherche INRAE, Université de Bordeaux

EXAMINATEUR :

M Challet Etienne

Directeur de recherche CNRS, Université de Strasbourg

Le serment des docteurs relatif à l'intégrité scientifique :

« *En présence de mes pairs.*

Parvenue à l'issue de mon doctorat en Neurosciences, et ayant ainsi pratiqué, dans ma quête du savoir, l'exercice d'une recherche scientifique exigeante, en cultivant la rigueur intellectuelle, la réflexivité éthique et dans le respect des principes de l'intégrité scientifique, je m'engage, pour ce qui dépendra de moi, dans la suite de ma carrière professionnelle quel qu'en soit le secteur ou le domaine d'activité, à maintenir une conduite intègre dans mon rapport au savoir, mes méthodes et mes résultats. »

TABLE DES MATIERES

Table des Matières	1
Liste des figures.....	5
Liste des Tableaux	6
PhD portfolio	7
I. Introduction	11
A. Le binge eating disorder : une pathologie de la prise alimentaire hédonique	11
1. Évolution dans la prise alimentaire à la recherche du plaisir	11
a) Répondre à un besoin physiologique : l'homéostasie.....	11
b) La recherche du plaisir : l'hédonisme.....	11
2. Mécanismes impliqués dans la prise alimentaire.....	13
a) Signaux périphériques	14
b) Structures cérébrales impliquées	16
1- Régulation homéostatique de la prise alimentaire.....	16
2- Régulation hédonique de la prise alimentaire	18
3. Surconsommation des aliments palatables	21
a) Hypothèses évolutives	21
b) Hypothèse de l'addiction à la nourriture.....	23
4. Le binge eating disorder	24
a) Définition et prévalence.....	24
b) Étude du binge eating disorder chez l'humain et chez l'animal	27
1- Les recherches sur le binge eating disorder chez l'humain.....	27
2- Les recherches pré-cliniques sur le binge eating disorder	28
i. Modélisation du comportement de binge chez l'animal.....	28
ii. Les recherches dans des modèles animaux de binge eating.....	30
B. Les troubles anxieux et dépressifs comorbidités du BED	31
1. Définitions et données épidémiologiques	31
a) Les troubles anxieux	31
b) Les troubles de l'humeur.....	32
2. Les troubles émotionnels causes ou conséquences du BED ?	32
a) « Manger ses émotions »	32
b) Psychologie nutritionnelle	34
3. Évaluer l'état émotionnel chez les murins.....	35
a) Les comportements de type anxieux	35
b) Les comportements de type dépressifs	37
1- Mesure du désespoir	37
2- Mesure du bien-être	38
4. Effet d'une prise alimentaire excessive sur le bien-être, dans des modèles murins	39
a) Régimes riches en gras et en sucre.....	39
b) Régimes riches en gras	42
c) Régimes riches en sucre	44
C. Le binge eating disorder : facteur de risque de maladies douloureuses chroniques ?	48

1. La douleur chronique	48
2. Comorbidité entre le binge eating disorder et les douleurs chroniques	49
D. Neuroinflammation et adaptations du système endocannabinoïde	51
1. La neuroinflammation	51
a) Généralités sur la neuroinflammation	51
b) Induction de réponse neuroinflammatoire par la prise alimentaire	55
2. Le système endocannabinoïde	59
a) Généralités sur le système endocannabinoïde	59
b) Rôle du système endocannabinoïde dans la prise alimentaire	62
3. Revue : « Neuroinflammation induite par une prise alimentaire incontrôlée : risque de douleurs chroniques ? »	64
II. Hypothèses et objectifs de la thèse	73
III. Matériels et Méthodes général.....	79
A. Études comportementales	79
1. Déclaration éthique	79
2. Conditions d'hébergement des animaux.....	79
3. Protocole de binge saccharose (BS)	79
4. Mesure de l'activité locomotrice	81
5. Tests nociceptifs	82
Von Frey.....	83
Plantar	84
Plaque froide	84
6. Tests de bien-être	84
Splash test.....	85
Nesting	85
Burrowing	86
Urine sniffing test (UST)	87
7. Tests d'anxiété	88
Open field (champ ouvert).....	89
Light/dark.....	89
Labyrinthe en croix surélevé	89
B. Études moléculaires	90
1. Prélèvements des tissus	90
a) Tissus frais	90
b) Tissus fixés par perfusion trans-cardiaque	91
2. Prélèvements sanguins.....	91
A la queue	91
Lors des sacrifices.....	92
3. Mesure de la glycémie	92
4. qPCR	92
Tissus cérébraux	92
Tissus hépatiques	93
5. Colorations histologiques du foie	94
Coupe au cryostat	94
Hématoxyline-éosine (HE)	94
Red oil (RO)	94
C. Quantification et analyses statistiques	95

1. Quantification du marquage RO	95
2. Statistiques	95
IV. Comorbidités comportementales associées au comportement de binge saccharose	99
A. Article 1: Altered reward processing following sucrose bingeing in mice	99
B. Résultats supplémentaires	125
1. Mise au point d'un test de light/dark	125
2. Impact du protocole de binge saccharose sur les seuils de sensibilité mécaniques et thermiques	127
3. Comportement de binge saccharose chez des souris groupées	129
V. Binge saccharose : inflammation centrale et systémique et modulations de l'ECS.....	135
A. Article 2 (manuscrit en préparation): Central and peripheric inflammation in a prolonged model of excessive sucrose intake in male and female mice	135
B. Perspectives : mieux caractériser l'inflammation dans le modèle de BS	170
VI. Étude de comportements nociceptifs dans un modèle de binge drinking	173
A. Le binge drinking	173
1. Définition du binge drinking.....	173
2. Altération de la nociception lors d'une consommation excessive d'alcool....	174
a) Données épidémiologiques	174
b) Mécanismes sous-jacents	175
B. Résultats préliminaires	177
1. Comportement de binge	177
2. Seuils nociceptifs	179
3. BD : nociception et neuroinflammation	181
C. Matériels et Méthodes	183
1. Conditions d'hébergement des animaux.....	183
2. Protocole de binge drinking (BD)	183
3. Tests comportementaux	185
4. Prélèvements de tissus	185
5. Analyse statistique	186
D. Résultats	186
1. L'accès intermittent à l'éthanol n'a pas induit de comportement de binge dans cette cohorte	186
2. La consommation d'alcool altère la sensibilité mécanique	189
3. La consommation d'alcool n'altère pas le bien-être	190
4. Activité locomotrice	191
E. Discussion	193
1. Comportement de binge drinking non reproduit.....	193
2. Analyse du bien-être lors d'un protocole de consommation d'alcool : points critiques.....	196
3. La consommation d'alcool altère différemment la sensibilité mécanique et thermique	197

F. Conclusion	199
VII. Discussion générale	203
A. Le sexe, une variable à prendre en compte dans les études précliniques de binge	203
1. Le cycle œstral induit-il plus de variabilité dans les mesures comportementales ?	203
2. Les femelles sont-elles plus vulnérables aux comportements de binge ?....	204
3. Perspectives : altération de la motivation par le comportement de BS.....	207
B. Le sucre est-il vraiment néfaste pour notre santé ?.....	208
1. Une consommation excessive de sucre induit une neuroinflammation	208
2. Une consommation excessive de saccharose altère-t-elle d'autres comportements ?	212
3. Perspectives : identifier de nouvelles cibles moléculaires impliquées dans la consommation excessive de saccharose	215
VIII. Conclusion	221
IX. Annexe	223
French version of the Yale Food Addiction Scale 2.0	223
Remerciements	229
Références	234
Abréviations	270

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Test de réactivité au goût, et rôle des papilles gustatives	13
Figure 2. Facteurs régulant la prise alimentaire	14
Figure 3. Implication de l'axe intestin-cerveau dans la prise alimentaire	15
Figure 4. Structures cérébrales impliquées dans la prise alimentaire	18
Figure 5. Tests mesurant les comportements de type anxieux chez les murins	36
Figure 6. Tests mesurant le désespoir chez les murins	38
Figure 7. Régimes modélisant une prise alimentaire excessive chez les rongeurs	40
Figure 8. Classification des douleurs chroniques selon la CIM-11	50
Figure 9. Réponse inflammatoire périphérique	52
Figure 10. La réponse neuroinflammatoire	54
Figure 11. Expression des récepteurs endocannabinoïdes et fonctions associées à l'ECS chez l'humain.....	60
Figure 12. Voies de synthèse et de dégradation de l'anandamide et du 2-AG	61
Figure 13. Protocole de binge saccharose (BS)	80
Figure 14. Mesure de l'activité locomotrice spontanée.....	81
Figure 15. Tests nociceptifs.....	83
Figure 16. Tests du nesting et du burrowing.....	86
Figure 17. Urine sniffing test.....	88
Figure 18. Design expérimental cohortes D et E.....	99
Figure 19. Experimental design and cohort details.....	104
Figure 20. Sucrose intake during 2-week sucrose bingeing paradigm.....	108
Figure 21. Figure 21. Ethanol CPP following sucrose bingeing	110
Figure 22. Sucrose intake during 8 weeks of sucrose bingeing paradigm.....	111
Figure 23. Well-being and activity measures through 8 weeks of sucrose bingeing.....	112
Supplementary Figure 24. Pilot CPP test and Ethanol preference	121
Supplementary Figure 25. Sucrose intake during 8 weeks of sucrose bingeing paradigm	122
Supplementary Figure 26. Number of grooming episodes during the splash test.....	123
Supplementary Figure 27. UST test in female mice	123
Supplementary Figure 28. Number of entries in arms during the EPM.....	124
Supplementary Figure 29. Actometry	124
Figure 30. Mise au point du test du light/dark chez des souris C57BL/6J	125
Figure 31. Test du light/dark après 8 semaines de binge saccharose	126
Figure 32. Mesure de la sensibilité mécanique durant le protocole de binge saccharose.....	127
Figure 33. Mesure de la sensibilité thermique au chaud durant le protocole de binge saccharose	128
Figure 34. Mesure de la sensibilité thermique au froid durant le protocole de binge saccharose	129
Figure 35. Consommation de solution sucrée lors du protocole de binge saccharose chez des souris groupées	131
Figure 36. Calories imputables au saccharose chez des souris isolées et groupées.....	132
Figure 37. Gain de poids après 8 semaines de binge saccharose chez des souris isolées et groupées	133
Figure 38. Impact of 2-week and 8-week sucrose access on caloric intake and weight gain.....	147
Figure 39. Neuroinflammatory gene expression in PFC and NAc following 2- and 8-week sucrose access	149
Figure 40. Impact of 2- and 8-week sucrose access on liver.....	150
Figure 41. Cytokine array in the PFC and the serum in female mice after 8-week sucrose access paradigm.....	152

<i>Supplementary Figure 42. Experimental design</i>	160
<i>Supplementary Figure 43. 2-week BS cohort effect</i>	160
<i>Supplementary Figure 44. 8-week BS cohort effect</i>	161
<i>Supplementary Figure 45. Calories imputable to sucrose</i>	162
<i>Supplementary Figure 46. Sucrose intake</i>	163
<i>Supplementary Figure 47. ECS gene expression in PFC, NAc and liver following sucrose access</i>	164
<i>Supplementary Figure 48. Hematoxyline-eosine scores of NAFLD features</i>	165
<i>Supplementary Figure 49. Cohort E metabolic observations</i>	166
<i>Supplementary Figure 50. Glycemia measures</i>	167
<i>Supplementary Figure 51. Sexe difference in inflammatory gene expression in the liver</i>	167
<i>Supplementary Figure 52. Cytokine array</i>	168
<i>Figure 53. Mécanismes périphériques et centraux impliqués dans développement de douleurs neuropathiques</i>	176
<i>Figure 54. Comportement de binge drinking chez des souris mâles et femelles</i>	178
<i>Figure 55. Design expérimental de l'expérience préliminaire de binge drinking</i>	179
<i>Figure 56. Seuils de sensibilité mécanique et thermique durant un protocole de binge drinking de 8 semaines</i>	180
<i>Figure 57. Consommation d'éthanol durant les deux premières heures d'accès, chez les souris mâles et femelles</i>	181
<i>Figure 58. Conception expérimentale du protocole de binge drinking</i>	184
<i>Figure 59. Consommation d'alcool dans un modèle de binge drinking chez des souris mâles</i> ..	188
<i>Figure 60. Mesure des seuils nociceptifs mécaniques et thermiques dans un protocole de binge drinking, chez des souris mâles</i>	189
<i>Figure 61. Évaluation du bien-être durant un protocole de binge drinking chez des souris mâles</i>	191
<i>Figure 62. Mesure de l'activité locomotrice spontanée</i>	192
<i>Figure 63 Relations entre : consommation d'alcool, douleur et mal-être ?</i>	199
<i>Figure 64. Conséquences métaboliques et inflammatoires d'une consommation excessive de saccharoses</i>	212
<i>Figure 65. Contribution des sucres libres dans les problématiques de santé publique actuelles et pistes thérapeutiques</i>	222

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1 – Critères diagnostiques du binge eating disorder selon le DSM-5</i>	25
<i>Tableau 2 – Prévalence des troubles mentaux chez les patients souffrant de BED</i>	31
<i>Tableau 3 – Recommandations sur la consommation de lipides et glucides chez les adultes</i>	42
<i>Tableau 4 – Prévalence (%) de maladies douloureuses chroniques lors de troubles du comportement alimentaire</i>	51
<i>Table 5 – Cohort informations</i>	141
<i>Table 6 - Primer sequences</i>	143
<i>Supplementary Table 7 - List of cytokines screened by cytokine array</i>	169
<i>Tableau 8 – Valeurs nutritionnelles des aliments RF421 et A04</i>	195

PHD PORTFOLIO

FORMATIONS

- 2020 – 2023 : PhD en neurosciences, équipe : « Abus de Drogues et Neuroadaptations »,
Direction : K. Befort (LNCA, Strasbourg, France)
- 2018 – 2020 : Joint Master in Neurosciences (JMN), Graduate school of pain (EURIDOL),
Université de Strasbourg, France
- 2016 – 2018 : Licence Sciences de la vie, Spécialité : biologie moléculaire et cellulaire,
Université de Bordeaux, France

EXPERIENCES PROFESSIONNELLES SCIENTIFIQUES

- 2020 – 2023 : Projet de thèse, équipe : « Abus de Drogues et Neuroadaptations », Direction:
K. Befort (LNCA, Strasbourg, France), Consommation excessive de sucre:
impact sur les réponses comportementales, la neuroinflammation et le système
endocannabinoïde
- 2020 : Projet de master, équipe 3: « Abus de Drogues et Neuroadaptations », Direction : K.
Befort (LNCA, Strasbourg, France), Etude nociceptive et neuroinflammatoire
dans un modèle de sucrose- bingeing chez la souris
- 2019 : Stage technique, équipe : « Métabolisme, neurochimies et rôle des morphines sur le
système sensorimoteur », Direction : Y. Goumon (INCI, Strasbourg, France),
Etude des interactions métaboliques entre le tamoxifène et des opioïdes
(morphine et codéine), chez la souris
- 2019 : Stage technique, équipe : « Neuropsychologie cognitive et physiopathologie de la
schizophrénie », Direction : D Pinault (Inserm unité 1114, Strasbourg, France),
Etude électrophysiologique des circuits cortico-thalamiques chez le rat
- 2017 : Stage technique, équipe : « Memory interaction networks, drugs and stress », Direction:
V. David (INCIA, Bordeaux, France), Etudes comportementales et
électrophysiologiques des effets de l'alcool sur la mémoire, chez la souris

ENCADREMENT

- 2022 : Étudiante M2 Pharmacologie et toxicologie (Audrey Faesser) ; 6 mois
- 2022 : Étudiant L3 Sciences de la vie (Cody Bowen) ; 5 mois
- 2022 - 2023 : Étudiante 1^{ère} et 2^{ème} année de BST Bio-technologie (Lise Schmitt) ; 2x2 mois
- 2022 - 2023 : Étudiant M1 et M2 Neurosciences cellulaires et intégrées (Henry Odent) ; 1
mois ; 6 mois

PUBLICATIONS

- 2020 - Gabel F., Aubry A.S., Hovhannisyan V., Chavant V., Weinsanto I., Maduna T., Darbon P., Goumon Y. (2020). Unveiling the Impact of Morphine on Tamoxifen Metabolism in Mice *in vivo*. *Front Oncol* 10. DOI 10.3389/fonc.2020.00025
- 2020 - Mahdavi A., Qin Y., Aubry A.S., Corne D., Kulikova S., Pinault D., 2020. A single psychotomimetic dose of ketamine decreases thalamocortical spindles and delta oscillations in mice. *Frontiers in Psychology* 11. DOI 10.3389/fpsyg.2020.00362

tions in the sedated rat. *Schizophr. Res.* 2020. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2020.04.029> S0920-9964(20)30236-X.

2022 – **Aubry AS**, Awad G, Befort K, 2022. Neuro-inflammation induite par une prise alimentaire incontrôlée : risque de douleurs chroniques ? *Douleur et analgésie* 35 : 174-179. DOI 10.3166/dea-2022-0226

2023 – Awad G, **Aubry AS**, Olmstead MC, Befort K, 2023. Altered reward processing following sucrose bingeing in mice. Soumis

2023 - Awad G, **Aubry AS**, Chu Sin Chung P, Décosterd I, Olmstead MC, Befort K. Increased mechanical sensitivity following alcohol or sucrose forced abstinence in mice. En préparation

2023 – **Aubry AS**, Awad G, Schmitt L, Charlot A, Zoll J, Bourdy R, Olmstead MC, Befort K. Central and peripheric inflammation in a prolonged model of excessive sucrose intake in male and female mice. En préparation

CONFÉRENCES, CONGRES, PRÉSENTATIONS

2021 – ED Days ; Strasbourg / visioconférence ; **Poster** : **Aubry AS**, Awad G, Olmstead MC, Befort K. Impact of alcohol or sucrose bingeing on thermal and mechanical nociceptive thresholds in mice

2021 – NeuroFrance 2021 ; Strasbourg / visioconférence ; **Poster** : Awad G, **Aubry AS**, Chu Sin Chung P; Décosterd I, Olmstead MC, Befort K. Does sucrose or alcohol bingeing modulate nociceptive sensitivity?

2021 – Journée Euridol ; Strasbourg ; **Poster** : Awad G, **Aubry AS**, Chu Sin Chung P; Décosterd I, Olmstead MC, Befort K. Impact of alcohol or sucrose bingeing on thermal and mechanical nociceptive thresholds in mice

2022 – Journée jeunes chercheur.ses de la faculté[✉] de psychologie de Strasbourg ; **Communication orale** : Conséquences nociceptives et moléculaires de la consommation incontrôlée de sucre chez la souris

2022 – Neurex workshop ; Strasbourg ; **Communication orale** : Effect of sucrose bingeing on well-being and nociception in female and male mice

2023 – Regards croisés de la faculté de psychologie de Strasbourg ; **Communication orale** : Hyperphagie boulimique : effets du sexe sur le bien-être et la nociception

2023 – NeuroFrance 2023 ; Lyon ; **Poster** : **Aubry AS**, Awad G, Olmstead MC, Befort K. Duration of sucrose bingeing impacts well-being and neuroinflammatory processes in mice

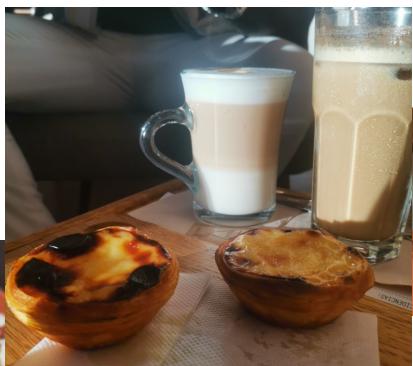
DIFFUSION DE L'INFORMATION SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE

2021/ 2022 – Participation à la fête de la Science

2021 - 2023 – Engagement avec le Jardin des Sciences dans une mission doctorale de médiation scientifique au sein du projet les Sciences pour toutes et tous

2023 – CASF (Centre d'animation sociale et familiale) ; Bischwiller ; **Conférence grand public** organisée par le jardin des sciences, à deux voix avec K Befort : Quand le sucre nous fait perdre la tête

Introduction



Exemples de nourritures palatables issus d'archives personnelles

I. Introduction

A. Le binge eating disorder : une pathologie de la prise alimentaire hédonique

1. Évolution dans la prise alimentaire à la recherche du plaisir

a) Répondre à un besoin physiologique : l'homéostasie

La prise alimentaire est un comportement essentiel à la survie des organismes, répondant à un besoin physiologique, et permettant de réguler les réserves énergétiques. Le corps a un besoin constant en énergie, à la fois pour des actions visibles comme un effort musculaire, mais également pour des phénomènes invisibles à l'œil nu tels que la régénération cellulaire, ces différents phénomènes contribuent à la dépense énergétique. L'apport énergétique est fourni par la consommation de nourriture, qui constitue le carburant nécessaire au corps pour son fonctionnement.

L'équilibre énergétique, entre dépense et apport doit être finement réglé pour assurer le maintien de l'intégrité de l'organisme. Grâce à l'intéroception, souvent assimilé à un sixième sens permettant de connaître l'état interne du corps, le système nerveux central détecte des signaux envoyés par la périphérie, et engendre une réponse comportementale si nécessaire. Dans le cas de la prise alimentaire, le déficit énergétique induit une sensation de faim, traduite par une sensation de creux au niveau de l'estomac, ce signal envoyé au cerveau via le nerf vague initie un comportement motivé : la recherche de nourriture, puis sa consommation. Lorsque l'apport de nutriments et calories est suffisant la sensation de satiété met fin au repas. La prise alimentaire agit donc comme un processus de régulation par lequel l'organisme maintient des constantes du milieu intérieur entre les limites de valeurs normales, ce phénomène est appelé homéostasie (Cooper, 2008).

b) La recherche du plaisir : l'hédonisme

L'apport nutritif n'est cependant pas le seul élément déterminant dans la prise alimentaire qui résulte de la convergence de signaux cognitifs, sensoriels et homéostatiques. En effet, la perception sensorielle (vu, goût, odeur) des aliments peut influer sur leur consommation. Le test de réactivité au goût a notamment montré une

aversion naturelle pour l'amer, opposée à une attirance innée au goût sucré chez des humains nouveaux nés (Steiner, 1973), ainsi que d'autres espèces de primates (Steiner et al., 2001), ou encore des rats (Grill and Norgren, 1978), via l'observation des réflexes gusto-faciaux (**Figure 1A**). Le goût est détecté par les bourgeons gustatifs présents à la surface de la langue au niveau de régions épithéliales spécialisées appelées papilles gustatives (**Figure 1B**). Chaque bourgeon gustatif contient entre 50 et 100 cellules réceptrices du goût, présentant à leur surface des récepteurs aux goûts (ou taste receptors; TR). Les goûts amer, sucré et umami sont transduits par des récepteurs métabotropiques couplés aux protéines G (GPCR), alors que le salé et l'amer interagissent avec des canaux ioniques (pour revue détaillée voir: Breslin and Spector, 2008). De plus, chez le rat l'ajout de sucralose et d'huile minérale, des composés non nutritifs donnant respectivement un goût sucré et « huileux », induit une forte préférence pour ces aliments, attestée par une consommation supérieure, en comparaison d'aliment non supplémenté (Tordoff et al., 2017). Des études chez l'humain montrent une corrélation positive entre la quantité d'aliment consommée et son appréciation, scorée sur une échelle numérique (Hellemann and Tuorila, 1991; Zandstra et al., 1999). Ces données prouvent que la sensation de faim n'est pas l'unique facteur déterminant la consommation alimentaire. Tout un chacun peut facilement relater s'être laissé tenter par « une petite douceur », comme un gâteau au chocolat ou des profiteroles, à la suite d'un repas au restaurant, quand bien même il est déjà repu. Cependant rares sont ceux mangeant un fruit dans les mêmes conditions. Cet exemple montre bien la recherche de plaisir associée à la prise alimentaire. Cet aspect de la consommation alimentaire ne répondant pas à un besoin physiologique est appelé prise alimentaire hédonique. L'hédonisme renvoie à un courant philosophique développé par Aristippe de Cyrène, 400 ans avant notre ère, selon qui la recherche du plaisir est le but de l'existence.

L'industrie agroalimentaire s'est largement intéressée à l'étude de la consommation non homéostatique, en l'étendant à l'étude de la « saveur », définie comme une perception multimodale découlant de l'intégration du goût, de l'olfaction rétro-nasale et la somatosensation orale (Small, 2012). Les avancés dans ce domaine ont permis de mettre au point des aliments hautement palatables (chips, crème glacée, gâteaux, biscuits, hamburger...) (Forde and De Graaf, 2022), procurant une sensation de plaisir lors de leur consommation (Yeomans, 1998). L'objectif étant d'orienter le

choix des consommateurs vers ces produits ultra-transformés riches en sucre, gras et additifs divers (colorants, arômes, conservateurs...) (Monteiro et al., 2019; Teo et al., 2022), en se jouant des biais cognitifs.

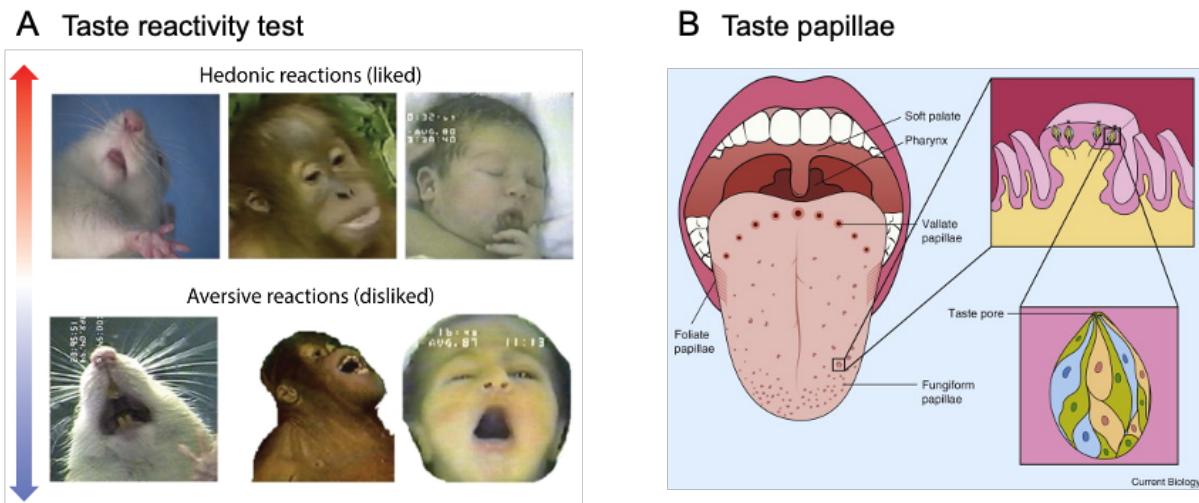


Figure 1. Test de réactivité au goût, et rôle des papilles gustatives

(A) La présentation de goûts agréables et désagréables chez différentes espèces animales révèle des réponses faciales stéréotypées. Un goût plaisir (sucré) induit la protrusion de la langue (haut), assimilée à une réponse hédonique, alors qu'un goût désagréable (amer) engendre une ouverture de la bouche (bas) assimilée à une aversion. (B) Les 5 goûts (sucré, salé, acide, umami, amer) sont détectés au niveau des papilles gustatives présentes sur la langue, et contenant des bourgeons gustatifs, chacun contenant 50 à 100 cellules réceptrices du goût exprimant des récepteurs aux différents goûts. D'après De Araujo et al. (2020) et Breslin (2013)

2. Mécanismes impliqués dans la prise alimentaire

La prise alimentaire apparaît donc comme un comportement complexe, résultant de l'intégration d'une multitude d'informations endogènes et exogènes, le cerveau agissant comme le chef d'orchestre (**Figure 2**).

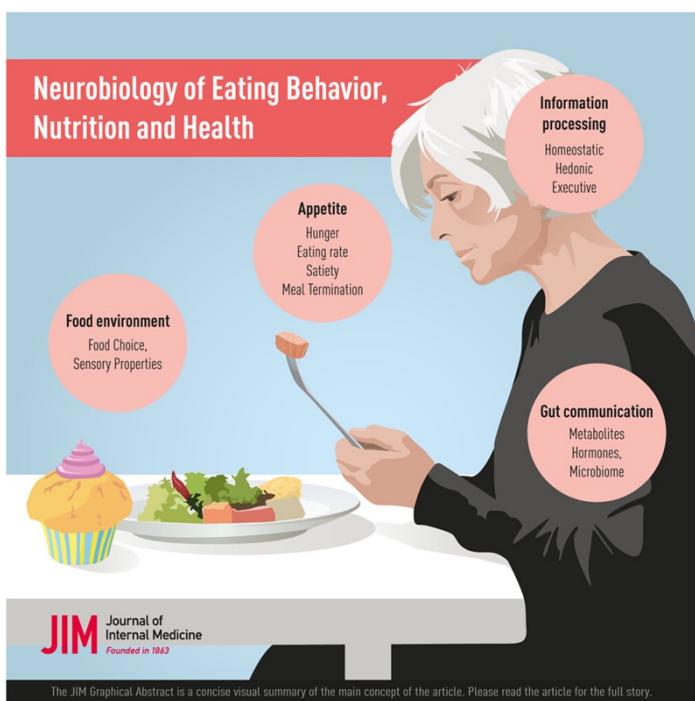


Figure 2. Facteurs régulant la prise alimentaire

Le comportement de prise alimentaire résulte de l'intégration de signaux endogènes et exogènes, influençant le choix des aliments consommés. Le système digestif communique avec le cerveau, qui intègre ces informations pour induire une prise alimentaire, selon les besoins physiologiques de l'organisme (homéostasie), dirigée par une sensation de faim. La recherche de plaisir (hédonisme) peut également orienter le comportement alimentaire, en favorisant la consommation de certains types d'aliments, ou en induisant une prise alimentaire en l'absence de sensation de faim. Le choix des aliments consommés dépend de leurs propriétés sensorielles déterminant leur palatabilité. D'après Stover et al. (2023)

a) Signaux périphériques

L'axe intestin-cerveau permet des échanges bidirectionnels entre le système digestif et le système nerveux central (SNC), à la fois via le nerf vague et le système sanguin (**Figure 3**). Les signaux périphériques participent ainsi à la régulation de la prise alimentaire.

Le nerf vague ou X^{ème} paire de nerfs crâniens, est le plus long du corps humain, envoyant des projections aux différents viscères et remontant jusqu'au tronc cérébral. Nous nous intéressons ici à ses projections vers le système digestif. Il transporte à la fois des signaux mécaniques (étirement, déformation) détectés grâce à des mécanorécepteurs présents sur les couches externes des organes, et des signaux chimiques (hormone, peptide) décelés par des récepteurs spécifiques sur les terminaisons dans la muqueuse interne des organes. L'ensemble de ces informations remonte au tronc cérébral, projetant ensuite vers l'hypothalamus, où elles sont intégrées, donnant des renseignements sur l'assimilation, le stockage ou encore l'utilisation des nutriments (Berthoud, 2008).

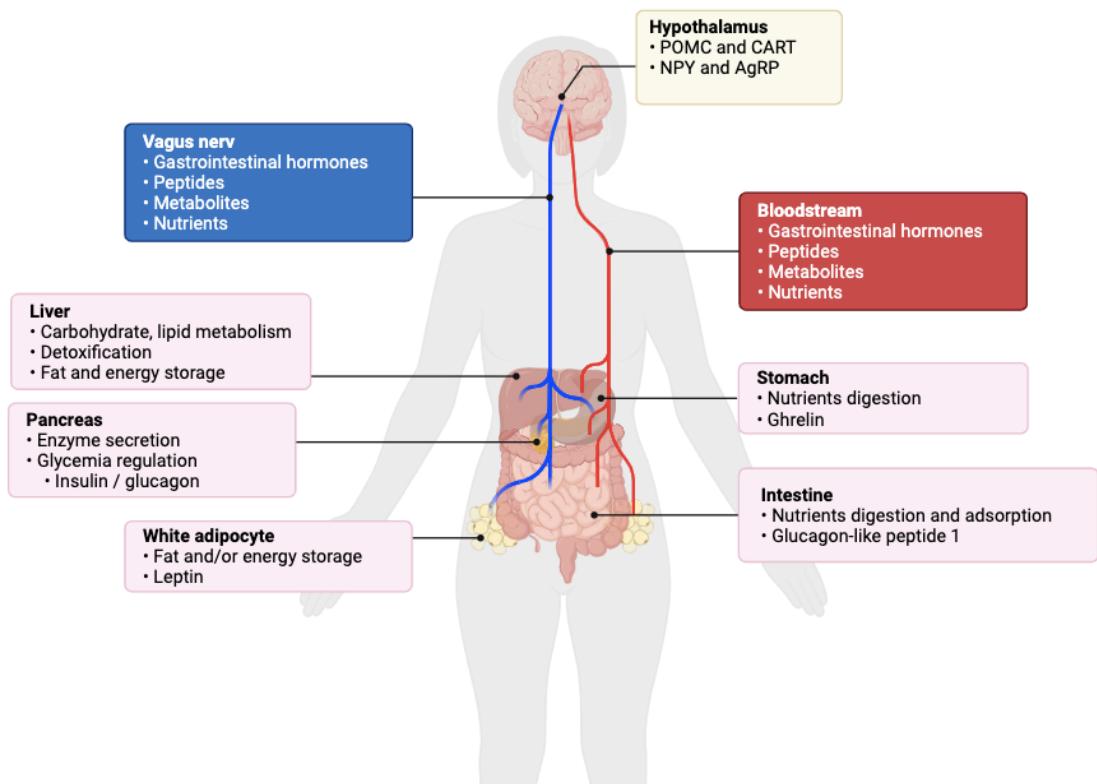


Figure 3. Implication de l'axe intestin-cerveau dans la prise alimentaire

Chaque organe du tractus digestif a un rôle spécifique permettant *in fine* la digestion et l'assimilation des nutriments. L'axe intestin cerveau permet une communication bidirectionnelle entre la périphérie et le système nerveux central, via le nerf vague et la circulation sanguine. L'hypothalamus, centre homéostatique, reçoit des informations des différents organes du tractus digestifs, lui permettant de moduler la prise alimentaire, selon les besoins de l'organisme. Les hormones et peptides sécrétés participent à ce processus, certains étant orexigène (ghréline) favorisant la prise alimentaire, et d'autres anorexigène (insuline; leptine, glucagon-like peptide-1) l'inhibent. (Réalisé avec Biorender)

Il existe plus d'une vingtaine de peptides et hormones impliqués dans la régulation énergétique, seuls certains d'entre eux, connus pour agir au niveau cérébral seront évoqués ici. Leur action au niveau du système nerveux central (SCN) sera développée ultérieurement. Ils peuvent être regroupés en deux catégories, orexigène (ghréline) et anorexigène (leptine, GLP1, insuline), respectivement favorisant et inhibant la prise alimentaire. Chacune de ces molécules est sécrétée par un organe différent : l'estomac (ghréline), les tissus adipeux blancs (leptine), le pancréas (insuline) ou encore l'intestin (GLP-1) (**Figure 3**).

La ghréline aussi appelée hormone de la faim, est sécrétée par les cellules oxyntiques de l'estomac en réponse à un jeûne, ou une hypoglycémie. Elle se fixe sur le GHSR1a (growth hormone secretagogue receptor 1a) de type GPCR, activé par la forme acylée de la ghréline. L'activation de ce récepteur largement exprimé en

périphérie (pancréas, foie, estomac...) et dans le SNC, engendre un vaste panel de réponses physiologiques (stimulation de la motilité intestinale, régulation du métabolisme glucidique...) contribuant à la sensation de faim et visant à favoriser la prise alimentaire (Müller et al., 2015).

La leptine est une hormone, dont la concentration dans le sang est proportionnelle à la quantité de tissus adipeux blanc, il a été montré que lors d'une perte de masse grasse, la diminution de la concentration de leptine dans le sang favorise la consommation de nourriture (Domingos et al., 2011). Les niveaux de leptine circulants varient également au cours du cycle circadien, et selon l'état nutritionnel participant ainsi à la régulation du comportement alimentaire. Son action anorexigène est principalement due à l'activation de récepteurs spécifiques au niveau cérébral, son action sur les organes périphériques étant indirecte (Friedman, 2019). Les récepteurs à la leptine appartiennent à la famille des récepteurs associés à des tyrosines kinases, et sont présents au niveau de la membrane plasmatische des cellules.

L'insuline est une hormone hypoglycémiant permettant le stockage du glucose sous forme de glycogène dans le foie, les tissus adipeux et les muscles (Agrawal et al., 2021). À la suite de l'ingestion d'un bolus alimentaire, l'augmentation du glucose sanguin engendre une libération de GLP1, favorisant la libération d'insuline par les cellules β du pancréas, afin de maintenir la glycémie dans des valeurs normales (minimum : 0.70 g de glucose par litre de sang ; maximum : 1.4 g/L).

De façon intéressantes, toutes ces molécules ont la capacité de passer la barrière hémato-encéphalique (BHE) afin d'agir directement sur des structures clés de la régulation du comportement de prise alimentaire (Ferrario et al., 2016; Liu and Kanoski, 2018; Campos et al., 2022).

b) Structures cérébrales impliquées

1- Régulation homéostatique de la prise alimentaire

Les premières études scientifiques donnant des indices sur les mécanismes cérébraux impliqués dans la prise alimentaire, s'intéressaient en réalité à l'obésité. Ainsi, dans les années 1940, les premiers travaux sur l'hypothalamus, ont montré qu'une lésion au niveau du noyau ventro-médian (NVM) induit une prise de poids massive chez le rat, associée à une augmentation de la consommation alimentaire

(Hetherington and Ranson, 1940, 1942a, 1942b). Le NVM est alors présenté comme le centre de la satiété. Dix ans plus tard, l'hypothalamus latéral (LH) est lui décrit comme le centre de la faim. En effet, une lésion du LH induit une aphagie (absence d'alimentation) et une adipsie (absence de soif) complète, les animaux allant jusqu'à se laisser mourir de faim (Anand and Brobeck, 1951). A l'inverse une stimulation du NVM induit une diminution de la prise alimentaire (Beltt and Keesey, 1975), alors qu'une stimulation du LH augmente la prise alimentaire (Delgado and Anand, 1952). Toutes ces éléments mettent en évidence l'hypothalamus comme le centre homéostatique de la prise alimentaire.

D'autres noyaux hypothalamiques sont également impliqués dans la régulation de la prise alimentaire (**Figure 4**). Le NVM projette vers le noyau arqué (ARC), dont le rôle dans la régulation de la prise alimentaire a été extensivement étudié. En effet, ce noyau hypothalamique se situe à proximité du 3^{ème} ventricule, et de l'éminence caudale. Cette dernière fait partie des organes circumventriculaires, zones vasculaires où la barrière hémato-encéphalique est perméable, facilitant les échanges avec la périphérie. L'ARC comprend deux sous populations neuronales influant la prise alimentaire. Les premiers coexpriment le neuropeptide Y (NPY) et le peptide lié à agouti (AGRP), et sont dits orexigènes. Les deuxièmes coexpriment la pro-opiomélanocortine (POMC) et le transcript régulé par la cocaïne et les amphétamines (CART), et ont une action anorexigène. Ces deux types de neurones sont sensibles aux hormones régulant l'équilibre énergétique, mais de façon antagoniste. La ghréline produite par l'estomac et favorisant la faim, active les neurones ARC^{AgRP}, et inhibe les neurones ARC^{POMC}. Au contraire la leptine, une hormone de satiété, active les neurones ARC^{POMC} et inhibe les neurones ARC^{AgRP}.

Les neurones de l'ARC envoient des projections à d'autres noyaux hypothalamiques, tel que le LH et le noyau paraventriculaire (PVN). Ce dernier intègre ces différents signaux, et projette au niveau du tronc cérébral, au noyau parabrachial (PBN) ou encore au noyau du tractus solitaire (NTS). Ces structures génèrent un rétrocontrôle de la prise alimentaire, grâce à leurs efférences au niveau cérébral (dont l'hypothalamus) et périphérique (**Figure 4**).

Le comportement de prise alimentaire homéostatique est régi par un réseau complexe, impliquant une multitude de structures cérébrales interconnectées. L'hypothalamus ou le centre homéostatique, jouant le rôle d'intégrateur des signaux

homéostatiques périphériques (ARC), et de régulateur par ses projections intrinsèques (PVN, LH) et extrinsèques (PBN, NTS) modulant la réponse comportementale. Pour des revues plus détaillées sur le contrôle homéostatique de la prise alimentaire voir (Sohn, 2015; Webber et al., 2015; Sutton et al., 2016; Campos et al., 2022; Cifuentes and Acosta, 2022). A ce réseau s'ajoute également les structures impliquées dans l'aspect hédonique du comportement alimentaire.

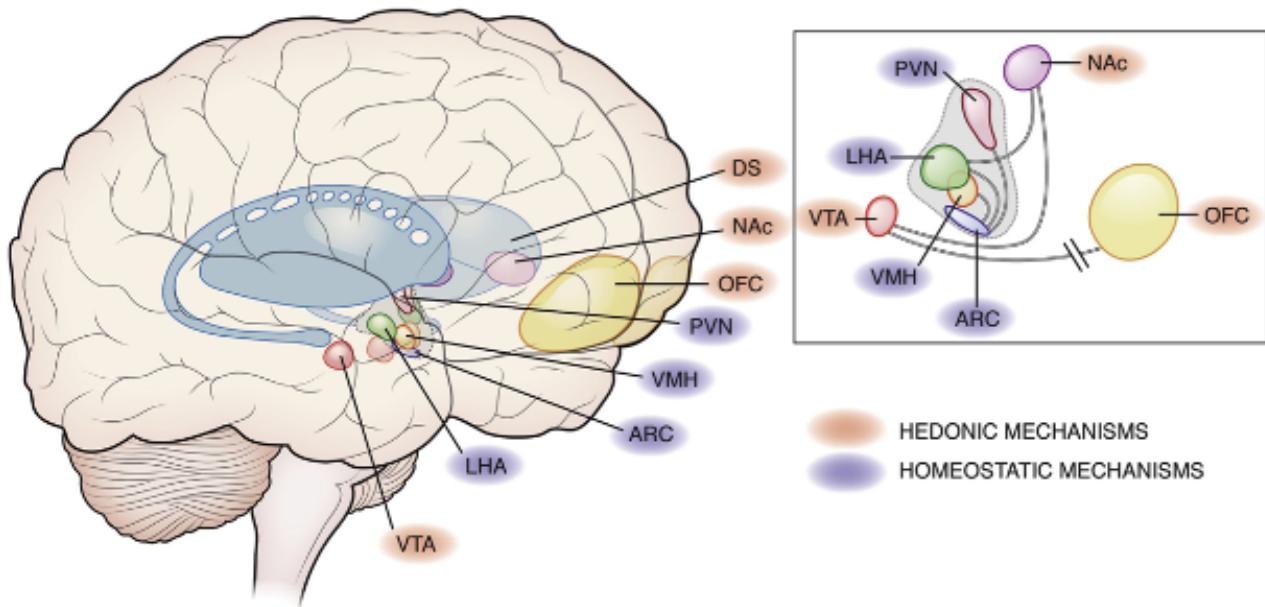


Figure 4. Structures cérébrales impliquées dans la prise alimentaire

Les structures cérébrales impliquées dans la prise alimentaire peuvent être subdivisées en deux voies, intriquées l'une avec l'autre. La voie homéostatique (violet), localisée au sein de l'hypothalamus, permet le maintien de l'équilibre énergétique de l'organisme en réponse à un besoin physiologique. La voie hédonique (orange), comprend des structures appartenant à la voie mésocorticolimbique du système de la récompense, favorisant la consommation d'aliments à forte valeur récompensante. (DS : stratum dorsal ; NAC : nucleus accumbens ; OFC : cortex orbito-frontal ; PVN : noyau paraventriculaire ; VMH : hypothalamus ventro-médian ; ARC : noyau arqué ; LHA : hypothalamus latéral ; VTA : aire tegmentale ventrale). D'après Tulloch et al., 2015

2- Régulation hédonique de la prise alimentaire

Le LH évoqué précédemment comme le centre de la faim, est une structure à l'interface entre le circuit homéostatique et hédonique. En effet, en plus d'augmenter la prise alimentaire lors de sa stimulation, il a été montré chez le rat que l'implantation d'électrodes dans cette région, induit une autostimulation par activation d'un levier (Olds and Milner, 1954). L'activation du levier n'étant pas couplée à un autre type de récompense, cela montre que la stimulation à elle seule est suffisante pour induire ce

comportement, et a donc un effet renforçant et récompensant, engendrant la répétition de ce mouvement par les animaux. Cette autostimulation peut être renforcée suite à une restriction alimentaire, ou diminuée en réponse à un signal de satiété (Fulton et al., 2000). Ces observations prouvent l'intrication entre processus hédoniques et homéostatiques.

L'enchevêtrement de ces mécanismes peut également s'expliquer par les connections entre le LH et certaines structures appartenant au système mésocorticolimbique de la récompense (Figure 4). Ce système est impliqué dans la mise en place de comportements motivés physiologiques tels que la reproduction ou encore la prise alimentaire, mais aussi pathologiques comme la consommation de substances addictives (Kelley and Berridge, 2002). Le LH envoie notamment des projections à l'air tegmentale ventrale (VTA). Cette structure est composée à 70% des neurones dopaminergiques (DA) (Nair-Roberts et al., 2008), activés par des stimuli récompensants. Le LH induit la désinhibition des neurones DA de la VTA, via la libération de différents neurotransmetteurs : acide γ -aminobutyrique (GABA) (Nieh et al., 2016), hypocrétine (orexine) (Borgland et al., 2008; Cason and Aston-Jones, 2013), favorisant ainsi la prise alimentaire. De façon intéressante, les neurones DA de la VTA expriment à leur surface les récepteurs à la ghréline, la leptine, au GLP1 et à l'insuline. Chez le rat, l'injection de ghréline directement dans la VTA augmente la prise alimentaire de façon dose-dépendante, au contraire l'injection d'un antagoniste du GHSR1a diminue la consommation d'un aliment préféré (ici de la nourriture riche en gras) (King et al., 2011). De plus, l'injection de ghréline dans la VTA augmente le nombre d'activation de levier dans un expérience de ratio-progressif, dans laquelle la difficulté (soit le nombre d'appuie) pour obtenir des pastilles goût chocolat augmente progressivement, suggérant une augmentation de la motivation à obtenir la récompense. Chez des souris soumises à une déprivation alimentaire, l'injection de leptine dans la VTA diminue la préférence pour le saccharose, lors d'un test de consommation libre entre deux bouteilles (eau vs saccharose) (Domingos et al., 2011). L'injection d'un agoniste des récepteurs GLP1 directement dans la VTA diminue la consommation de nourriture grasse chez le rat (Wang et al., 2015). De plus, une sous-population de neurones du NTS synthétisent le GLP1 projettent notamment vers la VTA (Gu et al., 2013), l'activation spécifique de ces neurones par approche virale engendre une diminution de la consommation de nourriture riche en gras (Wang et al.,

2015). Ces résultats montrent une intrication des mécanismes de prise alimentaire hédonique et homéostatique, l'activité neurones DA de la VTA étant directement régulée par les peptides et hormones sécrétés par le système digestif pour moduler la réponse comportementale.

Les neurones DA de la VTA projettent vers le striatum, divisé en deux sous-structures le noyau accumbens (NAc) et le striatum dorsal (DS). Une récompense ou un stimulus récompensant engendre une libération de DA dans le NAc, qui sera proportionnelle au niveau d'expectation permettant le maintien du comportement orienté vers un but (Baldo and Kelley, 2007). Le DS joue lui un rôle dans la régulation des comportements moteurs, ainsi que le renforcement de comportements spécifiques (Kravitz et al., 2012). Il a été montré par microdialyse cérébrale, une technique permettant l'analyse du milieu extracellulaire par insertion d'une sonde composée d'une membrane semi-perméable à l'eau et aux petites molécules, que l'ingestion de nourriture palatable augmente la libération de DA dans le NAc (Hernandez and Hoebel, 1988; Small et al., 2003; Rada et al., 2005; Roitman et al., 2008). De plus, l'activation des récepteurs DA par optogénétique dans le NAc et le DS augmente la consommation de solution sucrée (Tellez et al., 2016). La libération de DA dans le striatum favorise donc la consommation de nourriture palatable.

La VTA projette également ses neurones DA vers le cortex préfrontal (PFC), intervenant dans les fonctions exécutives et notamment la prise de décision (Jones and Graff-Radford, 2021). Chez l'humain, des études d'imagerie ont permis de montrer que les niveaux d'oxygène sanguin ou signal BOLD (blood oxygen level dependent), dans le PFC sont positivement corrélés à l'appréciation de la saveur (De Araujo et al., 2003). Chez l'animal, la consommation d'aliments palatables induit une libération de DA dans cette structure, montré par microdialyse (Hernandez and Hoebel, 1988; Bassareo and Di Chiara, 1997). Une stimulation optogénétique des récepteurs DA de type 1 (D1R) dans le PFC augmente la consommation de nourriture palatable et standard (Land et al., 2014).

La VTA, le striatum (NAc et DS), et le PFC appartiennent au système mésocorticolimbique de la récompense, leur activation participe à la prise alimentaire, en engendrant des comportements motivés dirigés vers un but. Ce système est tout particulièrement impliqué dans la consommation de nourriture palatable, ces aliments

activant la voie DA, conduisant à la consommation de ces aliments en l'absence de sensation de faim.

3. Surconsommation des aliments palatables

Actuellement les aliments hautement transformés, produits par l'industrie agro-alimentaire ont envahi le marché. Nombre d'entre eux sont considérés comme des aliments palatables, riches en gras et/ou en sucre (chips, cookies, crème glacée ...). Leur omniprésence, et leurs prix attractifs contribuent à amplifier leur consommation, pouvant conduire à des situations pathologiques (diabète, obésité, troubles du comportement alimentaire (TCA)...). Bien que ces facteurs économiques et sociaux participent au problème de santé publique en rendant ces aliments facilement accessibles, cela n'explique pas pourquoi ils ont tendance à être surconsommés. Nous développerons ici deux hypothèses pouvant expliquer pourquoi lorsque nous commençons une tablette de chocolat, il est difficile de s'arrêter d'en manger avant qu'elle soit terminée.

a) Hypothèses évolutives

Depuis l'apparition de l'espèce humaine son comportement et donc ses habitudes de consommation ont fortement changé. En effet, nous descendons initialement d'une population de chasseurs-cueilleurs, dont l'accès aux ressources alimentaires dépendait de leur environnement. Neel s'est basé sur ce constat pour développer l'hypothèse des « *thrifty genes* », ou des gènes économies en français (Neel, 1962). En l'absence d'agriculture, la nature régissait le type ainsi que la quantité de ressources disponibles, engendrant des périodes de famine, où les ressources manquaient, ponctuées de périodes de festin, ou forte abondance. Dans ce contexte la sélection naturelle aurait favorisé le maintien de gènes influençant le choix des nutriments ingérés vers ceux ayant une forte valeur énergétique, riche en carbohydrates et en gras, et engendrant un stockage sous forme de tissus adipeux. Les organismes capables de faire des réserves énergétiques pendant les périodes d'abondance présenteraient un avantage pendant les périodes de famine, ces réserves permettant une régulation de l'homéostasie sur le long terme, la survie de l'organisme ainsi que le maintien de la fécondité donc de la reproduction de l'espèce. Malheureusement l'évolution du mode de vie des individus du genre *Homo* a rendu

ces gènes initialement avantageux délétères, favorisant les désordres métaboliques, dont la prise de poids, face à l'accès constant à ces aliments riches en énergie.

Cette théorie selon laquelle un phénotype conférant une efficacité exceptionnelle dans la consommation et/ou l'utilisation de nourriture, est réfutée par la prévalence d'obésité ([Speakman, 2008](#)). En effet, si cette hypothèse était correcte, l'intégralité de la population devrait être atteinte d'obésité à l'heure actuelle. Une nouvelle hypothèse appelée « *drifty genes* » ou « *predation release* », pouvant être traduit par libération de la prédation a donc été développée ([Speakman, 2007](#)). En devenant l'espèce la plus haute dans la chaîne alimentaire, grâce à la découverte du feu, et la fabrication d'outils et d'armes permettant de chasser des animaux considérés jusque-là comme des prédateurs, l'humain s'est affranchi de son rôle de proie et donc de la pression de prédation. Les gènes précédemment favorisés car valorisant le comportement de prédation (vitesse, agilité, endurance, athlétisme, minceur) ne le sont plus, surviennent alors des mutations aléatoires. Lorsque ces dernières apparaissent sur des gènes impliqués dans le système hypothalamique de régulation énergétique tel que le système leptine-mélanocortine, ou encore des gènes impliqués dans le métabolisme alimentaire elles peuvent conduire à des phénotypes de consommation alimentaire excessive associés à des altérations métaboliques ([Pinto et al., 2019](#)). En l'absence de pression de sélection, ces mutations ne conférant pas d'avantage évolutif ont été transmises, expliquant que seulement une partie de la population soit touchée par ce phénotype.

Alors que l'hypothèse évolutive des « *thrifty genes* » supposent que notre génome initialement sélectionné pour conférer un avantage évolutif aux individus, en favorisant la consommation d'aliments riches en énergie est finalement devenu délétère face à l'évolution des conditions de vie de l'espèce humaine et à la surabondance de ces aliments. L'hypothèse des « *drifty genes* » suppose qu'en l'absence de pression de sélection des mutations génétiques ne conférant pas d'avantage évolutif aient pu être transmises sur plusieurs générations. Cette théorie peut donc expliquer la transmission de phénotypes de types hyperphagiques chez certains êtres humains. De plus, dans le contexte actuel de surabondance alimentaire, ce comportement pourrait se diriger plus particulièrement vers des aliments à forte valeur palatale, riches en énergie, ayant été développés spécifiquement pour inciter leur consommation. La tablette de chocolat est donc perçue par notre organisme

comme une source d'énergie importante, qui suivant les mutations génétiques héritées nous incitera à la consommer entièrement pour constituer des réserves énergétiques utilisables ultérieurement.

b) Hypothèse de l'addiction à la nourriture

Bien que toujours débattu au sein de la communauté scientifique le concept d'addiction à la nourriture, renvoyant à des comportements alimentaires caractérisés par une consommation excessive et dérégulée d'aliments à haute valeur énergétique se développe depuis plusieurs années (Imperatori et al., 2016; Kalon et al., 2016; Greenberg and St. Peter, 2021; Florio et al., 2022). L'addiction est définie par The American Psychiatric Association comme une maladie mentale se manifestant par l'utilisation compulsive de substance, en dépit des conséquences négatives associées. Cela peut être assimilée aux maladies métaboliques (obésité, diabète...) induites par la surconsommation d'aliments palatables. De plus, des mécanismes neuropsychologiques et neurobiologiques communs à la consommation d'aliments palatables, et la prise de drogue existent. Une diminution de la disponibilité des récepteurs dopaminergiques de type 2 (D2R) a été montrée par imagerie médicale en utilisant un ligand radiomarqué, dans le striatum de personnes souffrant d'addiction à une drogue, ou d'obésité (Volkow et al., 2017). L'affinité des D2R pour la DA est supérieure à celle des D1R, les D2R sont donc physiologiquement activés par de faibles niveaux de DA. Une diminution de leur expression engendre donc une atténuation des effets de la DA dans le striatum. De plus, il a été montré que cette réduction des D2R minimise l'activité dans le PFC, conduisant à des comportements impulsifs et compulsifs, et donc une consommation excessive de drogue ou de nourriture (Volkow and Morales, 2015).

Afin de mieux caractériser ce concept d'addiction à la nourriture une échelle diagnostique nommée la Yale Food Addiction Scale (YFAS) a été développée (Gearhardt et al., 2009, 2016) (la version française est présentée en annexe p. 204), en se basant sur les critères diagnostiques des troubles d'abus de substance établis par la 5^{ème} édition du manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux (DSM-5) (American Psychiatric Association, 2013). Cet outils diagnostique permet notamment de déceler des individus ne parvenant pas à réguler leur prise alimentaire, et entraînant des conséquences négatives sur la santé comme une prise excessive de poids, et de leur apporter un accompagnement adapté tout en tentant de comprendre

les mécanismes psychologiques impliqués. La principale critique à cette théorie est que la nourriture est essentielle à la survie de tout organisme, et ne pourrait donc pas être considérée comme une substance addictive (Fletcher and Kenny, 2018), certains parlant alors d'addiction au comportement alimentaire (Hebebrand et al., 2014). Cependant, quelle que soit la terminologie utilisée ce concept permet d'expliquer la consommation compulsive de nourriture chez certaines personnes, telle qu'une tablette de chocolat pour en revenir à notre exemple initial. De façon intéressante, le diagnostic d'addiction à la nourriture par la YFAS est associé à des degrés plus sévères de pathologies de la prise alimentaire, tel que le binge eating disorder (BED ; la terminologie anglaise sera privilégiée, à la française « hyperphagie boulimique » dans ce manuscrit) suggérant des mécanismes communs entre ce trouble et les troubles addictifs.

La prise alimentaire apparaît donc comme un comportement essentiel, régulé à la fois au niveau cérébral et périphérique, par des mécanismes complexes et interconnectés. L'évolution de l'être humain et de son milieu de vie, a engendré l'apparition de TCA, parmi lesquels le BED caractérisé notamment par une consommation excessive de nourriture palatable. Lors duquel les mécanismes physiologiques impliqués dans la prise alimentaire sont altérés, engendrant une consommation de nourriture pathologique.

4. Le binge eating disorder

a) Définition et prévalence

Le BED est classifié comme un TCA à part entière seulement depuis la parution du DSM-5 en 2013 (American Psychiatric Association, 2013), bien que des cas cliniques présentant des symptômes similaires aient été reportés dans la littérature dès 1932 par le psychanalyste Moshe Wulff (Ely and Cusack, 2015). Il se définit par des épisodes de binge, caractérisés par une prise de nourriture importante en une courte période de temps, en l'absence de sensation de faim et associés à une perte de contrôle. Il n'existe pas de consensus sur la quantité minimale de nourriture consommée lors d'un épisode de binge, cette consommation devant être largement plus importante que ce qu'une autre personne aurait consommé dans le même temps et des circonstances similaires. Les études menées chez des patients atteints de BED rapportent généralement une consommation >1000 Kcal, avec une large variabilité

entre les études allant de 743 à 2 963 Kcal consommées au cours d'un épisode de binge ([Wolfe et al., 2009](#)). Ces épisodes de binge doivent se produire au moins au moins 1 fois par semaine durant 3 mois pour qu'un diagnostic de BED soit établi par un médecin (**Tableau 1**).

Tableau 1 – Critères diagnostiques du binge eating disorder selon le DSM-5

Critère 1	Survenue récurrente d'accès hyperphagiques (crises de glotonnerie) (Binge Eating). Un accès hyperphagique répond aux deux caractéristiques suivantes : <ol style="list-style-type: none"> 1. absorption, en une période de temps limitée (par exemple, moins de 2 heures), d'une quantité de nourriture largement supérieure à ce que la plupart des gens absorberaient en une période de temps similaire et dans les mêmes circonstances 2. sentiment d'une perte de contrôle sur le comportement alimentaire pendant la crise (par exemple, sentiment de ne pas pouvoir s'arrêter de manger ou de ne pas pouvoir contrôler ce que l'on mange ou la quantité que l'on mange)
Critère 2	Les accès hyperphagiques (de glotonnerie) sont associés à au moins trois des caractéristiques suivantes : <ol style="list-style-type: none"> 1. manger beaucoup plus rapidement que la normale 2. manger jusqu'à éprouver une sensation pénible de distension abdominale 3. manger de grandes quantités de nourriture en l'absence d'une sensation physique de faim 4. manger seul parce que l'on est gêné de la quantité de nourriture que l'on absorbe 5. se sentir dégoûté de soi-même, déprimé ou très coupable après avoir mangé
Critère 3	Les accès hyperphagiques (de glotonnerie) entraînent une détresse marquée.
Critère 4	Les accès hyperphagiques (de glotonnerie) surviennent, en moyenne, au moins une fois par semaine pendant 3 mois.
Critère 5	Les accès hyperphagiques (de glotonnerie) ne sont pas associés au recours régulier à des comportements compensatoires inappropriés comme dans la boulimie, et ne surviennent pas exclusivement au cours de la boulimie ou de l'anorexie mentale.
Sévérité	Le seuil de sévérité est établi selon la fréquence des accès hyperphagiques ; le niveau de gravité peut être majoré afin de refléter les autres symptômes et le degré d'incapacité fonctionnelle : <ul style="list-style-type: none"> • Léger : un-trois accès hyperphagiques par semaine • Moyen : quatre-sept accès hyperphagiques par semaine • Grave : huit-13 accès hyperphagiques par semaine • Extrême : > 14 accès hyperphagiques par semaine.

Adapté de [HAS - FAAB, 2019](#)

Les données épidémiologiques sur les TCA proviennent majoritairement d'études communautaires s'intéressant à des sous populations précises selon l'âge, le genre ou encore l'origine ethnique, aucun pays n'ayant réalisé d'étude à l'échelle nationale. Cependant, ces rapports communautaires montrent tous une tendance commune, révélant que le BED est le TCA le plus prévalent devant l'anorexie nerveuse ou la boulimie nerveuse (Hoek, 2016; Keski-Rahkonen and Mustelin, 2016). La prévalence du BED variant de 1.4% à 1.9% selon les pays, d'après l'enquête de l'organisation mondiale de la santé (OMS) sur la santé mentale dans le monde (Word mental health survey initiative) (Kessler et al., 2013). Ce trouble apparaît généralement chez les jeunes adultes, autour de la vingtaine. Les femmes sont plus vulnérables à ce TCA en comparaison des hommes, avec des prévalences respectives de 3.5% et 2% (Guerdjikova et al., 2019). Cependant, le BED semble encore sous-diagnostiqué, probablement à cause de la honte éprouvée par les patients pour parler de leurs symptômes. De plus, les recommandations de prise en charge de la haute autorité de santé (HAS) en France reposent sur des thérapies, car aucun traitement médicamenteux n'existe sur le marché européen, les tentatives de prise en charge s'étant focalisées sur des symptômes associés comme l'obésité, plutôt que sur la psychopathologie du BED (Goracci et al., 2015). Aux Etats-Unis, la lisdexamfétamine (LDX ; Vyvanse®) est le seul traitement pharmacologique autorisé par la FDA (Food and drug administration) pour les formes moyennes à extrêmes de BED. Ce dérivé d'amphétamine bloque la pompe de recapture de la DA et augmente la libération de DA et de noradrénaline dans la fente synaptique. Des études pré-cliniques et cliniques ont démontré son efficacité pour réduire la fréquence des épisodes de binge, ainsi que la quantité de nourriture ingurgitée lors de ceux-ci (Heal and Smith, 2022).

Le BED est une maladie psychiatrique complexe, où les patients présentent des altérations cognitives relatives à l'impulsivité / la compulsivité, aux fonctions exécutives, l'attention et la prise de décision (Kessler et al., 2016). Le circuit mésocorticolimbique de la récompense semble jouer un rôle majeur dans l'étiologie de ce TCA.

b) Étude du binge eating disorder chez l'humain et chez l'animal

1- Les recherches sur le binge eating disorder chez l'humain

Les recherches chez l'humain sont limitées par les techniques pouvant être utilisées, devant être le moins invasives possibles. De plus, elles se sont essentiellement focalisées sur des individus souffrant de BED, souvent des femmes, dans un contexte d'obésité, ces deux conditions étant cependant dissociables.

Certaines études se sont concentrées sur les facteurs génétiques impliqués dans le BED, des analyses intra-familiales montrent que le diagnostic de BED est régulièrement retrouvé chez plusieurs individus d'une même famille. L'analyse statistique des facteurs génétiques et environnementaux révèle un taux d'héritabilité du BED oscillant entre 41% et 57% ([Reichborn-Kjennerud et al., 2004; Javaras et al., 2008](#)). L'analyse de polymorphismes génétiques s'est largement tournée vers les gènes apparentés aux D2R, impliqués dans les fonctions DA, la récompense et les addictions ([Foll et al., 2009](#)). Des individus obèses atteints de BED expriment plus l'allèle A2 du gène Taq1A, en comparaison de personnes atteintes d'obésité sans BED ([Davis et al., 2009, 2012](#)), ce polymorphisme étant associé à une plus grande activité DA ([Noble, 1991](#)). Ces données suggèrent que le BED pourrait venir d'une hypersensibilité à la récompense.

Les chercheurs ont également utilisé des techniques d'imagerie médicale pour tenter de mieux comprendre les mécanismes cérébraux impliqués dans le BED ([Leenaerts et al., 2022](#)). Cependant les études utilisant des tâches liées à la nourriture sont rares avec des effectifs souvent faibles. De façon intéressante, une stimulation visuelle, olfactive et gustative à la nourriture induit une augmentation de la libération de DA dans le striatum d'individus obèses atteints de BED, en comparaison de ceux ne présentant pas de comportement de binge ([Wang et al., 2011](#)), appuyant l'hypothèse de l'hypersensibilité à la récompense. Récemment, lors d'un essai clinique pilote la sévérité et la fréquence des épisodes de binge ont été diminuées par des stimulations cérébrales profondes au niveau du NAc ([Shivacharan et al., 2022](#)). De plus, lors de la présentation de photos de nourriture l'activité au sein de régions du circuit de la récompense, est augmentée chez des femmes atteintes de BED, en particulier dans des régions du PFC ([Karhunen et al., 2000; Schienle et al., 2009](#)). Une étude associant une tâche de type go-nogo, et de la magnétoencéphalographie,

permettant de mesurer en temps réel l'activité électrique du cerveau, montre une plus grande impulsivité lors de la présentation d'images alimentaires, les patients atteints de BED ayant plus de difficulté à inhiber leur réponse face à ce type de stimuli, associée à une diminution de l'activité du PFC ([Hege et al., 2015](#)). Ces résultats laissent à penser que les individus souffrant de BED présentent une suractivation du circuit de la récompense, face à de la nourriture, liée à une impulsivité dirigée vers ces items, menant à des épisodes de surconsommation.

2- Les recherches pré-cliniques sur le binge eating disorder

i. Modélisation du comportement de binge chez l'animal

Afin de comprendre les mécanismes neurobiologiques impliqués dans le BED, les laboratoires de recherches ont développé des modèles animaux permettant d'étudier le comportement de binge, ainsi que les mécanismes moléculaires associés. Ces modèles dits isomorphiques sont conçus pour ressembler à la pathologie humaine, et dans ce cas reproduire un comportement de type binge, en général la consommation d'une grande quantité de nourriture en une courte période de temps. Corwin a proposé trois critères essentiels à un modèle de BED ([Corwin and Budai-Levin, 2004](#)):

- Le comportement doit se répéter sur une période prolongée
- Les animaux bingeurs doivent consommer plus de nourriture que des animaux contrôles placés dans les mêmes conditions
- Si un comportement compensatoire est observé, il devrait être initié par l'animal et non imposé par l'expérimentateur.

Tous ces modèles utilisent des aliments palatables, riches en gras et/ou en sucre, généralement consommés par les patients atteints de BED lors des crises d'hyperphagie. Différents items sont utilisés pour imiter la consommation lors des épisodes de binge allant d'une solution sucrée, à des croquettes enrichies en gras et/ou en sucre, ou encore des produits de grande consommation comme des oreo ou du nutella ([Hildebrandt and Ahmari, 2021](#)). En jouant sur les conditions d'accès à ces aliments les expérimentateurs induisent un comportement de type binge chez les rongeurs.

Plusieurs modèles reposent sur un accès intermittent à la nourriture palatable. L'équipe d'Avena a développé un modèle durant lequel des rats ont accès 12h par jour à une solution de saccharose 10% et de la nourriture standard, suivi de 12h de restriction alimentaire pendant 1 mois, engendrant une augmentation de la consommation de solution sucrée durant la 1^{ère}h d'accès, au cours des sessions (Avena, 2007; Avena et al., 2008b). Cependant, les animaux étant soumis à une restriction alimentaire, il semble probable que la consommation de saccharose soit, au moins en partie, due à une sensation de faim, cela allant à l'encontre des critères de binge stipulant que les épisodes de binge ont lieu en l'absence de sensation de faim. Pour pallier à ce biais un nouveau modèle d'accès intermittent 2h par jour, 3 jours par semaine (lundi, mercredi, vendredi) à une solution de saccharose 10% (Berner et al., 2008) ou de la graisse alimentaire (Corwin and Wojnicki, 2006), sans restriction à la nourriture standard a été développé. Là encore les rats augmentent leur consommation d'aliments palatables au cours des sessions, et consomment des quantités plus importantes de nourriture palatable durant les 2h d'accès en comparaison d'animaux ayant un accès continu à l'item, ces observations définissent un comportement de type binge. Ce type de modèle répond donc à plusieurs critères du BED : une consommation plus importante de nourriture que ce qu'un autre individu aurait consommé dans des circonstances similaires, et en l'absence de sensation de faim. Des modèles équivalents ont donc été mis au point chez la souris avec dans une premier temps un accès 4h par jours à une solution sucrée et de la nourriture standard, suivi de 20h de restriction alimentaire (Yasoshima and Shimura, 2015), ayant été par la suite amélioré pour se rapprocher des critères du DSM-5 avec une accès 4h par jours à la solution sucrée sans restriction alimentaire (Awad et al., 2020). Des profils de consommation similaires à ceux obtenus chez le rat sont obtenus chez la souris avec une augmentation de la consommation de solution de saccharose durant la première heure d'accès au cours des sessions, et plus importante sur cette même période que des souris ayant accès 24h/24 à la solution de saccharose. Le modèle de l'accès intermittent imite les restrictions auto-induites par les patients souffrant de BED, essayant parfois de limiter leur consommation de certains aliments.

Un autre type de modèle repose sur le développement d'un comportement de binge à la suite d'un stress aigu, comme un choc électrique, ou chronique, tel qu'une séparation maternelle précoce, ou une restriction d'espace, induit par

l'expérimentateur (pour revue voir : ([Corwin and Buda-Levin, 2004](#); [Brown and James, 2023](#))). Ces modèles de binge induits par le stress rappellent la comorbidité élevée entre BED et troubles de l'anxiété (qui sera abordée plus tard dans ce manuscrit).

Au-delà de l'étude comportementale, chacun de ces modèles permet d'investiguer les processus biologiques sous-tendant le développement et le maintien du comportement de binge ([Turton et al., 2017](#)).

ii. Les recherches dans des modèles animaux de binge eating

Les recherches sur des modèles animaux permettent d'utiliser un panel plus large de techniques. Une augmentation de la libération de DA lors de chaque exposition à de la nourriture palatable, est montrée par microdialyse chez les animaux ayant un comportement de type binge ([Rada et al., 2005](#); [Liang et al., 2006](#); [Bocarsly et al., 2014](#)). De plus, l'étude de l'expression des récepteurs DA, à la suite d'un comportement de binge, révèle une diminution de l'expression génique du D2R dans le NAc ([Spangler et al., 2004](#)), et de sa liaison par autoradiographie ([Colantuoni et al., 2001](#); [Bello et al., 2002](#)). Au contraire l'expression du gène codant le D1R est augmentée dans le NAc ([Spangler et al., 2004](#)). Comme montré chez l'homme une stimulation cérébrale profonde au niveau du NAc diminue le comportement de type binge chez des souris, par la voie des D2R ([Halpern et al., 2013](#)). Conformément aux recherches menées chez l'humain, ces données confirment l'implication du système DA et en particulier des D2R dans le comportement de binge.

L'utilisation de techniques d'optogénétique et de pharmacogénétique, permettant d'activer ou inhiber spécifiquement une voie neuronale, montre que les projections du PFC vers le NAc régulent la quantité de nourriture palatable consommée dans un modèle de binge. En effet, l'activation de cette voie diminue la quantité de gras ingurgitée, alors que son inactivation l'augmente ([Christoffel et al., 2021](#)). De plus, l'inhibition de cette voie supprime à la fois le comportement de binge, et l'impulsivité motrice ([Anastasio et al., 2019](#)). Ces résultats confortent les observations faites chez l'humain, et permettent de pointer spécifiquement les projections entre le PFC et le NAc comme modulatrices du comportement de binge.

B. Les troubles anxieux et dépressifs comorbidités du BED

1. Définitions et données épidémiologiques

D'après les données du rapport mondial sur la santé mentale, collectées par l'OMS, 79% des individus atteints de BED souffrent également d'un autre trouble psychiatrique, avec en tête les troubles anxieux (56%) et de l'humeur (46%) ([Kessler et al., 2013](#)) (**Tableau 2**). Les diagnostiques établis dans ce rapport reposent sur les critères de la version précédente du DSM (DSM-IV), aucune mise à jour n'a été publiée depuis la parution de la 5^{ème} édition. Lorsque plusieurs pathologies sont diagnostiquées simultanément chez un patient, on parle de comorbidité entre ces troubles.

Tableau 2 – Prévalence des troubles mentaux chez les patients souffrant de BED

Troubles mentaux	Prévalence (%) chez les patients atteints de BED
Troubles de l'humeur	46.1
Troubles dépressifs	42.2
Trouble bipolaire	12.3
Troubles anxieux	56.1
Trouble anxieux généralisé	16.4
Crise de panique / agoraphobie	15.3
Phobie sociale	20.4
Troubles phobiques spécifiques	29.2
Trouble de stress post-traumatique	13.7
Troubles liés à l'usage de substance	23.7
Trouble lié à la consommation d'alcool	21.7
Trouble lié à la consommation de drogue	14.4
Troubles mentaux	79

D'après [Kessler et al., 2013](#)

a) Les troubles anxieux

Les troubles anxieux sont les troubles mentaux les plus présents chez les patients atteints de BED, avec 56% d'entre eux présentant un de ces troubles. Bien

que la peur et l'anxiété - définies respectivement comme une réponse émotionnelle à une menace imminente réelle ou perçue ; et l'anticipation d'une menace future – fassent partie de l'expérience humaine normale, elles engendrent au-delà d'un certain seuil une souffrance excessive. Le diagnostic d'un trouble anxieux peut être établi par un professionnel de santé si l'anxiété ressentie n'est pas imputable à l'effet physiologique d'une substance ou à une autre affection médicale, qu'elle engendre une importante souffrance pouvant altérer les capacités fonctionnelles, et qu'elle ne disparaît pas au bout de quelques jours. Le DSM-5 spécifie différentes catégories de troubles anxieux selon l'origine de l'anxiété, par exemple l'anxiété de séparation manifeste, anxiété sociale ou encore l'anxiété généralisée ([American Psychiatric Association, 2013](#)).

b) Les troubles de l'humeur

Les troubles de l'humeur sont les deuxièmes troubles mentaux les plus répandus chez les patients présentant un BED, avec 46% d'entre eux concernés. Ces troubles psychiatriques sont caractérisés par des périodes prolongées de tristesse (dépression) ou de joie excessive (manie) altérant la capacité à fonctionner socialement et physiquement. Parmi ces affections, les troubles dépressifs sont présents chez 42% des patients atteints de BED. Ils se caractérisent par une humeur dépressive - qui peut être définie par un sentiment de tristesse, de vide, de désespoir – rapportée par le sujet lui-même ou son entourage, associée une perte d'intérêt ou de plaisir (anhédonie) pour les activités précédemment appréciées, persistant durant au moins 2 semaines ([American Psychiatric Association, 2013](#)). Ces troubles peuvent mener à des idées suicidaires, des symptômes psychotiques (hallucination, délire), ainsi qu'une incapacité à maintenir des activités de la vie quotidienne (hygiène corporelle, alimentation...).

2. Les troubles émotionnels causes ou conséquences du BED ?

a) « Manger ses émotions »

L'expression « manger ses émotions » renvoie au concept d'alimentation émotionnelle, selon lequel certains individus modulent leur prise alimentaire en réponse à un ressenti émotionnel, positif ou négatif, plutôt que par celui de la faim ou de la satiété ([Macht, 2008; Berthoz, 2015](#)). D'après des études basées sur des

questionnaires chez l'humain, les émotions positives et négatives induisent des différences dans le comportement alimentaire. En effet, les émotions positives (joie, relaxation, amusement) augmentent le plaisir ressentit lors de la prise de nourriture, et favorisent la consommation d'aliments sains. Alors que les émotions négatives (colère, peur, tristesse) augmentent la motivation à consommer de la nourriture, de façon impulsive (consommation rapide et irrégulière de n'importe quel aliment disponible), souvent dirigée vers de la malbouffe, dans le but de réguler l'état émotionnel (Lyman, 1982; Macht, 1999; Macht and Simons, 2000). Ce principe peut être parfaitement illustré par l'image de Bridget Jones, dans le film éponyme, mangeant un pot de glace sous sa couette à la suite d'une déception amoureuse, pour faire face à son anuptaphobie, soit une peur irrationnelle de rester célibataire toute sa vie. Une autre icône de la pop culture actuelle, Oprah Winfrey a déclaré : « *Ma drogue de prédilection est la nourriture. J'utilise la nourriture pour les mêmes raisons qu'un addict prend de la drogue : pour me réconforter, pour m'apaiser, pour atténuer le stress* ». Tout comme ces personnalités publiques, de nombreuses personnes utilisent la nourriture, et plus particulièrement des « aliments doudous », généralement sucrés et gras, pour trouver du réconfort face à des émotions négatives. L'étude prospective NutriNet-Santé, conduite en France depuis 2009 par des questionnaires sur internet, a récemment montré une consommation plus importante de sucres ajoutés simples chez des individus de moins de 45 ans avec un niveau d'anxiété élevé en comparaison d'individus avec un faible niveau d'anxiété (Kose et al., 2021).

Des chercheurs ont développé des questionnaires servant d'outils d'autoévaluation du comportement de prise alimentaire émotionnelle. De façon intéressante, les scores d'alimentation émotionnelle sont plus élevés chez des personnes présentant un BED, en comparaison de personnes ne répondant pas aux critères diagnostiques (Schulz and Laessle, 2010; Černelič-Bizjak and Guiné, 2022). La réalisation de ces questionnaires par des patients souffrant de BED a montré que la moitié des crises d'hyperphagie se produisent en réponse à un sentiment d'anxiété (Masheb and Grilo, 2006). De plus, l'induction d'émotions négatives en laboratoire, par le visionnage d'images ou vidéos, chez des patientes obèses souffrant de BED, induit la consommation d'une quantité de nourriture plus importante, correspondant plus fréquemment à des épisodes de binge, en comparaison à des individus soumis à un stimuli « neutre » (Telch and Agras, 1996; Chua et al., 2004). Ces données laissent

penser que le BED pourraient se développer chez des patients souffrant de troubles émotionnels (troubles anxieux ou de l'humeur) afin de soulager leur détresse, répondant à la théorie de l'évitement cognitif, selon laquelle certains individus vont utiliser une distraction (ici une consommation excessive de nourriture) pour ne pas faire face à une situation inconfortable (Heatherton and Baumeister, 1991; Rosenbaum and White, 2013; Ulrich-Lai, 2016; Dingemans et al., 2017). Cette stratégie d'évitement ne permet un réconfort que de courte durée, limité au temps d'engagement dans la distraction.

b) Psychologie nutritionnelle

La psychologie nutritionnelle est un pendant de la psychologie s'intéressant à la relation entre l'apport alimentaire et la santé mentale chez l'humain (Jacka, 2017). Des études montrent que les régimes alimentaires occidentaux, composés de d'aliments industriels transformés, riches en acide gras saturés et sucres raffinés, sont associés à un taux élevé de symptômes dépressifs et anxieux, au contraire, des régimes méditerranéens et traditionnels, constitués de produits frais, enrichis en acides gras insaturés, et à faible teneur en sucres ajoutés, ayant un effet protecteur (Firth et al., 2019; Lassale et al., 2019; Aucoin et al., 2021). Des études prospectives ont pointé du doigt la consommation accrue de sodas et plus généralement de sucres, comme facteur de risque de dépression (Guo et al., 2014; Knüppel et al., 2017; Sanchez-Villegas et al., 2018; Kadel et al., 2020). De plus, chez des individus souffrant de troubles dépressifs la consommation d'un régime alimentaire plus sain pendant au moins 3 mois, améliore leur santé mentale (Jacka et al., 2017; Parletta et al., 2019). Cela montre que les aliments consommés peuvent influer sur la santé mentale, la consommation de malbouffe favorisant les troubles anxieux et dépressifs.

Il est intéressant de noter que des recherches révèlent une amplification des émotions négatives à l'issu des épisodes de binge dans le BED. Certaines études demandent à des patients atteints de BED de noter leur humeur, à différents moments de leur journée, par exemple avant et après un épisode de binge. L'analyse des données recueillies montrent que les patients mettent des scores d'humeur plus bas après l'épisode de binge comparé à avant, et rapportent plus d'émotions négatives (Wegner et al., 2002; Hilbert and Tuschen-Caffier, 2007; Stein et al., 2007; Haedt-Matt and Keel, 2011). Plus le sentiment de perte de contrôle est important lors des crises

d'hyperphagie, plus les ressentis négatifs sont importants à l'issu du binge (Goldschmidt et al., 2012). En opposition à la théorie de l'évitement cognitif, il semble que le comportement de binge ne présente pas une stratégie efficace pour diminuer le mal-être, et pourrait même l'accroître.

Les recherches menées chez l'humain présentent l'inconvénient d'être difficilement réalisables sur le long terme. En effet, il y a un risque important de désengagement des individus impliqués au cours du temps. Cela explique qu'aucune donnée n'existe sur la chronologie de survenue du BED et des comorbidités qui lui sont associées. D'après les éléments présentés ici, la relation entre le BED et les troubles anxieux et dépressifs, semble être bidirectionnelle. Le BED pouvant à la fois résulter de ces troubles, mais également les favoriser par le comportement de binge lui-même, ainsi que les aliments consommés pendant ces crises d'hyperphagie.

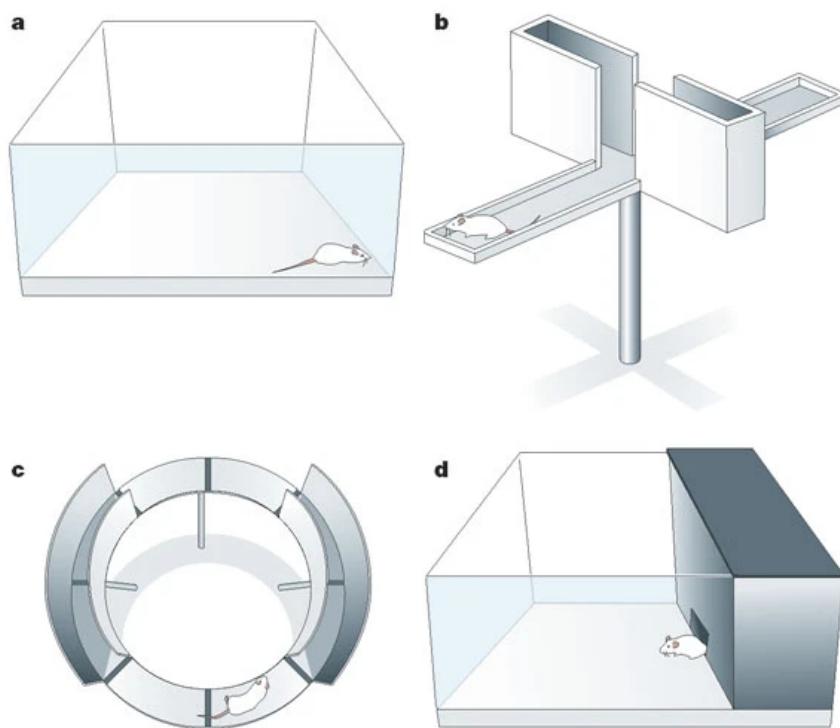
3. Évaluer l'état émotionnel chez les murins

Grâce à l'éthologie, l'étude scientifique du comportement animal, des tests comportementaux visant à évaluer les comportements de type anxieux et dépressifs chez les rongeurs (plus particulièrement la sous-famille des murins : rats et souris) ont été mis en place. Ces tests n'ont pas pour but de modéliser les troubles psychiatriques humains, avec une vision anthropocentré, car il est objectivement impossible de savoir si un animal présente un trouble anxieux ou dépressif décrit par le DSM-5. Cependant ils offrent des outils pour mieux comprendre la physiopathologie associée à ces troubles, en se basant sur des comportements objectivement mesurables, analogues à certains critères diagnostiques. Une liste exhaustive des tests existant ne sera pas présentée ici, mais ceux évoqués et utilisés dans la suite de ce manuscrit seront explicités.

a) Les comportements de type anxieux

L'anxiété est une réponse adaptative normale à un danger ou une menace, qui se caractérise par une augmentation de la vigilance. Les rongeurs sont des animaux curieux aimant explorer leur environnement, mais restent des proies pour qui un espace découvert et fortement éclairé présente un danger. Face à ce constat des tests dits « d'approche et d'évitement » ont été développés pour mesurer les comportements de type anxieux lorsque l'animal est placé dans une situation

conflictuelle, entre leur comportement exploratoire spontané et une situation aversive (**Figure 5**).



Copyright © 2005 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Drug Discovery

Figure 5. Tests mesurant les comportements de type anxieux chez les murins

Les tests de mesures de comportements anxiogènes chez les murins reposent sur le comportement « d'approche et d'évitement » de ces animaux. Les tests de l'open field (a), de l'elevated plus maze (b), du zero-maze (c) et du light-dark (d), mettent en conflit les rats et les souris entre leur comportement d'exploration naturel, et leur peur des espaces découverts et illuminés où ils sont vulnérables face à la menace des prédateurs. D'après [Cryan and Holmes, 2005](#).

Durant le test de l'open field (OF ; ou champ ouvert) (**Figure 5a**), l'animal peut explorer librement une arène carrée, cernée par des parois hautes permettant de définir deux zones : la périphérie et le centre. Le comportement de thigmotaxie, soit la tendance des murins à rester en contact avec les parois, est mesurée. Ce test donne à la fois un indice de l'activité locomotrice par la distance totale parcourue et la vitesse de déplacement, et du comportement de type anxieux par le temps passé dans la zone centrale. Moins un animal passe de temps dans cette zone fortement découverte, plus il est considéré comme présentant un phénotype de type anxieux.

Le test de l'elevated plus maze (EPM; ou labyrinthe en croix surélevée) ([Pellow et al., 1985; Lister, 1987](#)) (**Figure 5b**) est composé de deux bras ouverts, et deux bras fermés encadrés par des parois élevées, séparés par une zone centrale. Le comportement de type anxieux est mesuré par le nombre d'entrées, ainsi que le temps passé dans les bras ouverts et fermés. Plus les animaux présentent un comportement anxiogène, plus ils ont tendance à éviter d'aller dans les bras ouverts, où ils seraient fortement exposés et vulnérables, aux prédateurs en conditions naturelles. Plus récemment, le zero-maze ([Shepherd et al., 1994](#)) (**Figure 5c**) a été développé afin de s'affranchir de la zone centrale, pouvant induire des biais de mesure cette zone n'appartenant ni aux bras ouverts ni au bras fermés.

Lors du test du light-dark (LD ; ou clair/obscur) ([Crawley and Goodwin, 1980](#)) (**Figure 5d**), les animaux ont le choix entre un compartiment sombre et un compartiment fortement éclairé avec des parois transparentes. Le temps passé dans chacun des compartiments, ainsi que le nombre d'entrées donnent une mesure du comportement de type anxieux. En effet, plus un animal présente un comportement de type anxieux moins il passera de temps dans le compartiment clair.

De façon intéressante, ces tests ont pu être validés par l'administration de traitements anxiolytiques chez les animaux, augmentant le temps passé dans les espaces découverts en comparaison des animaux n'ayant pas reçu le traitement. Pour des revues plus détaillées sur ces tests, et d'autres tests non évoqués ici, voir : ([Belzung and Griebel, 2001; Cryan and Holmes, 2005; Belovicova et al., 2017; Lezak et al., 2017](#)).

b) Les comportements de type dépressifs

Les troubles dépressifs sont caractérisés par un sentiment de tristesse excessif. Les animaux ne pouvant pas exprimer leurs émotions, d'autres paramètres sont pris en compte pour mesurer les comportements de types anxieux ([Becker et al., 2021](#)).

1- Mesure du désespoir

Les tests de références sont le forced swim test (FST ; nage forcée) ([Porsolt et al., 1977](#)) et le tail suspension test (TST ; suspension par la queue) ([Cryan et al., 2005](#)), lors desquels les animaux sont mis dans une situation stressante et leurs stratégies d'adaptation au stress donnent un indice de désespoir. Il est important de souligner ici

que les personnes atteintes de dépression ont généralement du mal à gérer le stress. Durant le FST les animaux sont placés dans une cuve remplie d'eau (**Figure 6A**), et sont accrochés par la queue la tête en bas dans le TST (**Figure 6B**), dans les deux cas aucune échappatoire n'existe. Dans un premier temps les animaux tentent d'échapper au dispositif, en nageant ou en luttant, puis vont commencer à montrer des périodes d'immobilité de plus en plus longues. La latence de première immobilité, ainsi que le temps total d'immobilité sont les paramètres mesurés dans ces tests. En effet, une souris ou un rat avec un comportement de type dépressif passe plus de temps immobile, et arrête plus rapidement de se débattre. Ces tests sont validés par l'administration de traitements anti-dépresseurs, allongeant le temps passé par les animaux à tenter d'échapper à la situation stressante.

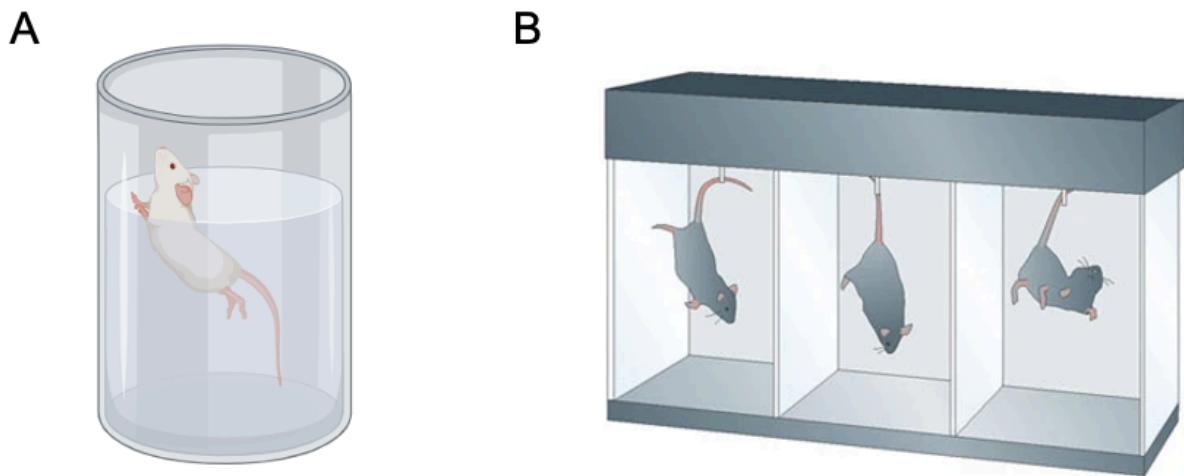


Figure 6. Tests mesurant le désespoir chez les murins

Le forced swim test (A) et le tail suspension test (B) sont les tests de référence pour mesurer les comportements de type anxieux et dépressifs chez les rats et les souris. Adapté de [Cryan and Holmes, 2005](#) et [Biorender](#)

2- Mesure du bien-être

Les troubles dépressifs ne se limitant pas à une gestion du stress déficiente, d'autres tests ont donc été développés pour mesurer le niveau de bien-être général des animaux. Ces tests reposent sur des observations et des mesures de comportements innés ([Deacon, 2012](#); [Jirkof, 2014](#); [Kremer et al., 2021](#)). On peut notamment citer le test du nesting, du burrowing ou encore le splash test, décrits plus en détail dans la partie « matérielles et méthodes » de ce manuscrit. Ils permettent de mettre en évidence chez les rongeurs des altérations des comportements dirigés vers

un but, respectivement la construction d'un nid, comportement de creusage et de toilettage, pouvant se rapporter chez l'Homme à une incapacité à réaliser des activités de la vie quotidienne par manque d'envie.

Le test de préférence au saccharose ou à la saccharine (Katz, 1982; Willner et al., 1987) permet lui de mesurer l'anhédonie chez les animaux. Ces derniers ont accès simultanément à un biberon avec une solution sucrée (saccharose ou saccharine) et un biberon d'eau. L'index de préférence à la solution sucrée est calculé par le ratio de consommation de solution sucrée sur la consommation totale de liquides. Une diminution de cet index, donc de la préférence au goût sucré est considéré comme un signe d'anhédonie, donc de comportement de type dépressif.

4. Effet d'une prise alimentaire excessive sur le bien-être, dans des modèles murins

Les études s'intéressant à l'effet d'un modèle de binge sur la composante émotionnelle étant encore rares, nous avons élargi nos recherches à l'effet des régimes dits obésogènes (**Figure 7**), durant lesquels les animaux ont un accès *ad libitum* à de la nourriture palatable engendrant généralement une prise de poids importante (Bastías-Pérez et al., 2020). Les recherches abordant l'impact de la nutrition maternelle sur la descendance étant hors de notre champ d'étude (Monteiro et al., 2022), nous nous concentrerons ici sur les études réalisées chez des animaux juvéniles et adultes.

a) Régimes riches en gras et en sucre

Il existe différents types de régimes utilisés chez les animaux visant à reproduire le régime alimentaire occidental. Le « cafeteria diet » (CAF) se compose d'aliments ultra-transformés facilement trouvables en supermarché (**Figure 7**). Les expérimentateurs utilisent en général 8 à 9 items de malbouffes, riches en sucre et/ou en gras, les plus communs sont les gâteaux et biscuits (muffin, donuts) et de la viande transformées (bacon, hot-dog), permettant ainsi de varier l'accès chaque jour (Lalanza and Snoeren, 2021). Le « western diet » (WD) équivalent du régime riche en gras et en sucre (high-fat high sugar, HFHS), repose sur l'utilisation d'aliments spécialement conçus pour les animaux enrichis en gras et en sucre. Une autre façon de faire

consiste à donner accès en plus de la nourriture standard à du gras généralement sous forme de lard, et une solution sucrée (saccharose ou fructose) (Hintze et al., 2018) (**Figure 7**). Ces régimes permettent d'induire différentes maladies métaboliques, telles que l'obésité, le diabète de type 2, ou encore la stéatose hépatique non alcoolique chez les rongeurs. En effet, ils induisent une prise de poids importante, associée à une accumulation de gras dans les tissus adipeux, ainsi que des altérations métaboliques comme une résistance à l'insuline, et une inflammation systémique.

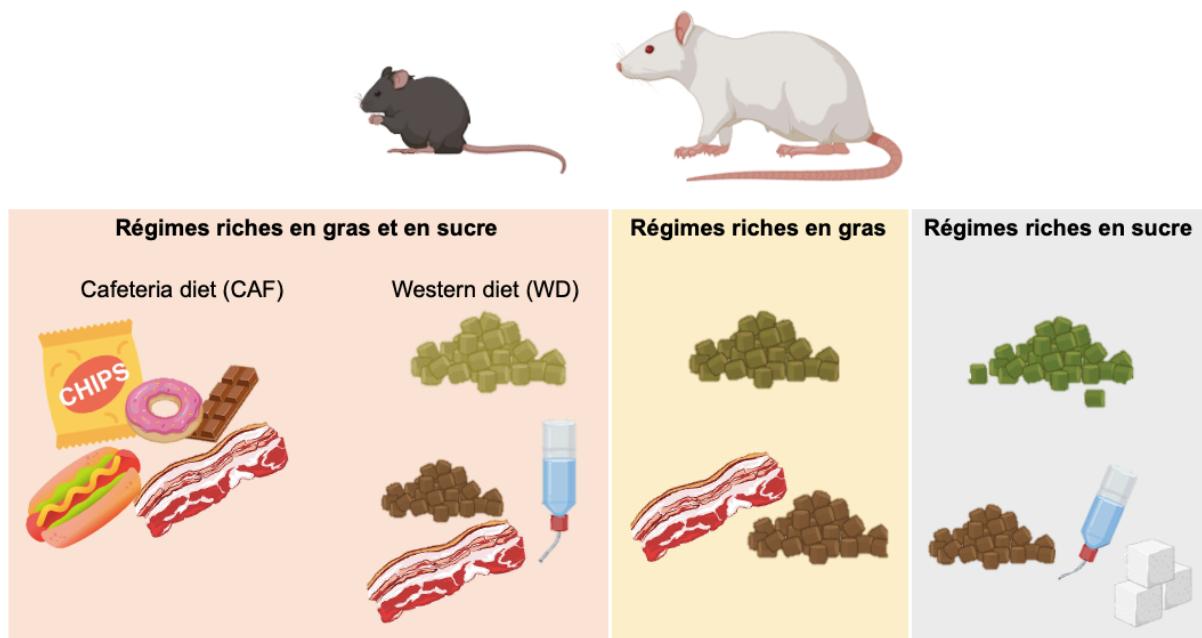


Figure 7. Régimes modélisant une prise alimentaire excessive chez les rongeurs

Différents types de régimes peuvent être donnés aux rongeurs afin de modéliser les habitudes de consommation humaines. Les régimes riches en gras et en sucre, parmi lesquels figurent le cafeteria diet (CD) durant lequel de la nourriture hautement transformée, trouvable en supermarché est donnée aux animaux, et le western diet (WD) pour lequel le régime standard est enrichi en gras et en sucre, soit directement dans les croquettes, soit par un accès supplémentaire à du lard/gras saturé et une solution de saccharose, se rapprochent le plus d'un régime alimentaire humain occidental. Afin de comprendre l'impact des différents nutriments sur les problèmes de santé, des régimes spécifiquement enrichis en gras ou en sucre ont également été développés. Pour mettre en place ces régimes, les laboratoires de recherches ont le choix entre acheter de la nourriture pour rongeur standardisée et supplémentée, ou ajouter un accès à une source de gras (lard, margarine, graisse alimentaire), ou de sucre (solution de saccharose ou fructose, sucre en morceau) en plus des croquettes. (Réalisé avec [Biorender](#))

Les données de la littérature montrent des effets divergents du CAF sur les comportements de types anxieux attestés par les tests d'EPM et OF. En effet, certaines études montrent une diminution de ces comportements (Lalande et al., 2014; Warneke et al., 2014; Leffa et al., 2015), d'autres une augmentation (Ferreira et al., 2018) et enfin certains n'ont pas observé d'effet (Pini et al., 2017; Beilharz et al., 2018).

Ces discordances peuvent s'expliquer par de nombreux facteurs, comme l'âge de début du régime, la durée, les items utilisés, l'espèce étudiée ou encore le sexe des animaux. Par exemple [Warneke et ses collaborateurs](#) ont montré que les femelles adultes soumises au CAF passent plus de temps dans les bras ouverts lors de l'EPM, et font plus d'entrées dans la zone centrale de l'OF suggérant un effet anxiolytique du CAF, alors qu'aucun effet n'est observé chez les individus mâles ([Warneke et al., 2014](#)). Cette même étude n'a pas montré d'effet du CAF dans ces tests comportementaux chez des individus plus jeunes, suggérant un effet du sexe et de l'âge sur les effets anxiolytique du CAF. Cependant la durée du régime est relativement courte (4 semaines), en comparaison aux recherches des équipes de [Leffa et Lalande](#) donnant accès au régime durant 13 et 8 semaines respectivement et observant eux aussi des effets anxiolytiques mais chez les mâles ([Lalande et al., 2014; Leffa et al., 2015](#)). Une étude récente, utilisant des tests de bien-être (splash test, préférence au saccharose) a montré que chez des rats jeunes l'accès au CAF durant 11 jours induit un profil d'anhédonie uniquement chez les mâles, sans différence observée dans l'OF en comparaison du groupe contrôle ([Mota-Ramírez and Escobar, 2023](#)). L'ensemble de ces travaux suggèrent donc que le CAF diminue les comportements de type anxieux chez les rongeurs, ces effets étant observés plus précocement chez les femelles que chez les mâles.

Concernant le WD les résultats publiés semblent plus homogènes montrant le développement d'un phénotype anxiodépressif chez les rongeurs ([Anderson et al., 2013; Sharma and Fulton, 2013; Yang et al., 2016; Gancheva et al., 2017; Peris-Sampedro et al., 2019; Veniaminova et al., 2020; Mota et al., 2023](#)). Seule une étude basée sur un régime de 10 jours n'a pas montré de différence de temps passé dans les bras ouverts et fermés durant l'EPM en comparaison des animaux nourris avec de la nourriture standard ([Rabasa et al., 2016](#)). Les autres régimes ayant duré entre 3 et 12 semaines, nous pouvons supposer que 10 jours d'accès sont insuffisants pour l'observation d'altérations comportementales.

En conclusion, l'utilisation de ces régimes visant à se rapprocher du régime alimentaire humain occidental, peut mener à des résultats très variés, comme montré ici pour le CAF. Le WD dans lequel les quantités de gras et de carbohydrates utilisées sont plus standardisées, montre qu'une consommation excessive de ces nutriments induit une altération du bien-être des animaux, notamment en accentuant le

comportement de type anxieux. Cependant, afin de déchiffrer les mécanismes moléculaires impliqués, d'autres types de régimes ont été développés, tels que les régimes riches en gras (ou high-fat diet en anglais ; HFD), ou riches en sucre (high-sugar ; HS). Le but de ces derniers étant de comprendre quel est l'impact de chacun de ces nutriments sur la santé mentale.

b) Régimes riches en gras

Les études menées chez les rongeurs sur les régimes HFD (**Figure 7**), utilisent généralement des concentrations de gras comprises entre 45% et 60%, les régimes standards en comprenant généralement 10%. Ces valeurs ont été choisies face aux recommandations de l'OMS stipulant que l'apport calorique en acides gras saturés ne dépasse pas 10% de l'apport calorique total (**Tableau 3**), cependant la consommation réelle est en moyenne de 28% à 46% ([Eilander et al., 2015](#)).

Tableau 3 – Recommandations sur la consommation de lipides et glucides chez les adultes

	OMS	EFSA	ANSES	FDA
Lipides	<30 ^a	20-35 ^a	35-40 ^a	<30 ^a
Acides gras saturés	<10 ^a	Aussi bas que possible	<2 ^a	<19 ^a
Acides gras trans	<1 ^a	Aussi bas que possible	<2%	Aussi bas que possible
Glucides	40-60 ^a	40-60 ^a	40-55 ^a - <100 g/jour ^b - Max 1 boisson sucrée /jour	275 g/jour ^b
Sucres libres	<10 ^a - 50 g/jour ^b ou 12 cc	NA	NA	<10 ^a

^a % de l'apport calorique total

^b pour un apport calorique journalier de 2 000 Kcal

OMS : organisation mondiale de la santé ; EFSA : autorité européenne de sécurité des aliments ; ANSES : agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail ; FDA : food and drug administration (USA).

Les données de la littérature semblent indiquer une période de vulnérabilité au HFD, chez les rongeurs « jeunes adultes », correspondant à des souris ou des rats âgés respectivement de 6 à 9 semaines ou 9 à 10 semaines. En effet, un accès continu

au HFD chez des animaux de cet âge favorise les comportements de types anxieux et dépressifs chez les mâles (André et al., 2014; Dutheil et al., 2016; Zemdegs et al., 2016, 2019; Décarie-Spain et al., 2018; De Paula et al., 2021; Lama et al., 2021) et les femelles (Sivanathan et al., 2015; Décarie-Spain et al., 2021), au contraire des recherches menées chez des animaux plus jeunes (Del Rio et al., 2016; Gainey et al., 2016; Duffy et al., 2019), ou plus vieux (Duffy et al., 2019; Lizarbe et al., 2019). De façon intéressante, une étude a montré un comportement de type anxieux plus fort, chez les souris présentant des altérations métaboliques, en comparaison des souris résistantes au phénotype obésogène, par des analyses de corrélation (Sweeney et al., 2017). La détérioration du bien-être induite par un HFD, pourrait donc dépendre de l'apparition d'un phénotype obésogène. En effet, à l'issu d'un régime de 7 semaines d'accès à un HFD composé de 50% de gras, n'engendrant pas une prise de poids plus importante que chez les rats contrôles, le temps passé dans les bras ouverts et fermés durant l'EPM n'est pas différent entre ces deux groupes (Pini et al., 2017). Ces données montrant une plus forte vulnérabilité aux effets d'un HFD chez des individus juvéniles ou présentant un phénotype obèse, concorde aux observations faite chez l'humain. En effet, les adolescents représentent une population vulnérable aux problèmes de santé mentale, chez qui la malbouffe est particulièrement populaire. Les résultats d'une méta-analyse récente confirme qu'une consommation accrue de malbouffe représente un facteur de risque pour les troubles de l'humeur et d'anxiété chez les adolescents (Malmir et al., 2023). Les taux de dépression chez les individus obèses sont plus élevés que dans la population générale, certains évoquant même une « dépression associée à l'obésité » (Weiss et al., 2020).

Il semble que le type de gras utilisé dans ces régimes soit aussi un élément clé dans le développement d'altérations de la composante émotionnelle (Spencer et al., 2017). En effet, au contraire des acides gras saturés, les acides gras polyinsaturés, tout particulièrement les omega-3, largement retrouvés dans le régime méditerranéen connu pour ses effets bénéfiques (Guasch-Ferré and Willett, 2021), ne sont pas associés au développement d'un phénotype anxiodépressif chez les souris (Décarie-Spain et al., 2018, 2021). De plus, une supplémentation en omega-3, lors d'un HFD, atténue les comportements de type anxieux dans l'EPM et le LD, et dépressif lors du FST (Demers et al., 2020). Les animaux ayant accès à des acides gras polyinsaturés,

présentent également des altérations métaboliques, moins importantes malgré une prise de poids et une accumulation de gras équivalente.

Trois études ont utilisé un accès intermittent à un HFD, pour modéliser le BED, l'une chez des rats femelles ([Satta et al., 2016](#)) et les autres chez des souris mâles ([Blanco-Gandía et al., 2017, 2019](#)). Après 6 semaines de binge (soit 18 sessions d'accès), les ratten présentent une diminution du comportement de type anxieux, attesté par un temps plus long passé dans les bras ouverts durant l'EPM. Chez les souris mâles aucun effet n'a été observé à l'issu des 13 sessions de binge, en revanche, les animaux soumis à 2 semaines d'abstinence forcée au gras présentent une diminution du temps passé dans les bras ouverts. Cependant, ce résultat n'est pas spécifique au comportement de binge, car le comportement est similaire lors d'un accès continu au gras suivi de 2 semaines d'abstinence forcée ([Blanco-Gandía et al., 2019](#)).

En conclusion, les données de la littérature montrent que la consommation prolongée d'un HFD, et en particulier d'acides gras saturés chez les rongeurs jeunes adultes, induisant un phénotype obésogène résulte en un comportement de type anxiodépressif. Le nombre limité d'études ayant utilisé un modèle de BED ne permet pas de conclure sur l'effet d'un comportement de binge de gras, sur la composante émotionnelle des rongeurs.

c) Régimes riches en sucre

L'industrie agro-alimentaire ajoute généralement du sucre dans les produits alimentaires, car il agit comme un exhausteur de goût et un conservateur. Face à la monté de l'obésité l'OMS recommande de limiter l'apport en sucres libres - monosaccharides et disaccharides ajoutés aux aliments par le fabricant, le cuisinier ou le consommateur, ainsi que les sucres naturellement présents dans le miel, les sirops, les jus de fruits et les concentrés de jus de fruits – à 10% de l'apport énergétique total, et encourage de le limiter à 5% ([World Health Organization, 2015](#)) (**Tableau 3**). Cette dernière recommandation équivaut à 25g de sucre par jour pour un adulte soit 6 cuillères à café, pour comparaison une canette de soda équivaut déjà à 10 cuillères à café de sucre, et dépasse donc les recommandations. En Europe, les sucres ajoutés représentent 7.3% à 11.4% de l'apport énergétique total selon les pays (en France il est de 8%) chez les adultes, ces taux sont plus élevés chez les enfants allant de 11%

à 16.8% (12.5% en France) (Azaïs-Braesco et al., 2017). Il apparaît donc clairement que les consommations réelles dépassent les recommandations de santé publique.

Les recherches s'intéressant à l'exposition à de grandes quantités de sucre (HS) présentent une forte hétérogénéité dans la méthodologie employée, et il en découle des résultats variés sur les tests classiquement utilisés pour mesurer les comportements de types anxieux. Certains modèles laissent apparaître un comportement de type anxieux suite à un HS (Souza et al., 2007; Reddy et al., 2016; Rebolledo-Solleiro et al., 2017), d'autres au contraire ne montrent pas d'effet du HS (Cao et al., 2007; Pyndt Jørgensen et al., 2014; Santos et al., 2018; Beecher et al., 2021; Flores-Fuentes et al., 2021; Dubljević et al., 2022). Premièrement, l'espèce utilisée semble influer sur les résultats. En effet, il semble que les souris mâles (aucune recherche ne provenant de femelles) soient moins susceptibles aux effets d'une forte consommation de sucre que les rats mâles. En effet, toutes les études rapportant le développement d'un comportement de type anxieux sont menées chez des rats (Souza et al., 2007; Harrell et al., 2015; Reddy et al., 2016; Rebolledo-Solleiro et al., 2017), et seule l'une d'entre elle ne montre pas d'effet après 20 et 40 semaines d'accès à une solution de saccharose (25%) (Flores-Fuentes et al., 2021). En plus de l'espèce utilisée, le temps d'exposition pourrait également jouer un rôle important. L'une des études menées chez la souris utilise un temps d'exposition relativement court (10 jours), qui malgré une forte concentration en saccharose (32%), n'altère pas le comportement lors du test de l'EPM (Dubljević et al., 2022). En comparaison les études montrant un effet chez le rat exposent les animaux durant au moins 8 semaines (Souza et al., 2007; Harrell et al., 2015; Reddy et al., 2016; Rebolledo-Solleiro et al., 2017). Enfin, les concentrations utilisées semblent également influer les changements comportementaux. L'utilisation d'une concentration faible de saccharose (10%), par rapport aux concentrations utilisées dans les autres paradigmes (>20%), malgré une exposition de 25 semaines ne diminue pas le temps passé dans les bras ouverts de l'EPM ou le centre de l'OF chez les souris (Cao et al., 2007). Il paraît intéressant de noter qu'une exposition durant 1 an à un régime comprenant 7.9% de saccharose chez le rat résulte en une tendance à la diminution du temps passé dans les bras ouverts lors de l'EPM, en comparaison des animaux ayant un régime standard, alors qu'un régime contenant 10% de miel a significativement augmenté ce paramètre (Chepulis et al., 2009). Une augmentation du temps d'immobilité lors du TST suggérant un

comportement de type dépressif est montré chez la souris après 12 semaines d'accès à un régime contenant 30% de sucres (Santos et al., 2018). Des résultats similaires sont observés chez le rat après 10 semaines d'exposition à un régime enrichi en fructose (55%) (Harrell et al., 2015). L'ensemble de ces données montre qu'une consommation prolongée de sucre à des concentrations élevées induisent un comportement de type anxieux chez les rats mâles, et dépressif chez les souris et rats mâles avec un nombre d'études limité. De façon intéressante, des études longitudinales chez l'humain montrent que les personnes consommant des quantités plus importantes de sucres (Knüppel et al., 2017; Hu et al., 2019) ou de boissons sucrées (Park et al., 2023), présentent un risque plus élevé de troubles de l'humeur ou de dépression. Des résultats concordants ont été publiés par la « Women's health initiative » investiguant spécifiquement des femmes (Gangwisch et al., 2015). Il serait donc intéressant de mener des recherches pré-cliniques chez des individus femelles, afin de compléter les données obtenues chez des mâles, et voir si les mécanismes impliqués sont similaires chez les deux sexes.

Les résultats obtenus après une période d'abstinence forcée au HS s'avèrent plus consistants, les rongeurs présentant un phénotype anxieux (Cottone et al., 2008, 2009; Iemolo et al., 2012; Kim et al., 2018; Xu and Reichelt, 2018). Cette constatation est faite dépendamment des expériences chez des mâles ou des femelles. Il semble que cette modification de comportement puisse être induite en moins de 24h. En effet, dans des modèles donnant un accès intermittent à la nourriture palatable 2 jours par semaine (Cottone et al., 2008, 2009; Iemolo et al., 2012), les altérations comportementales sont observées lorsque l'EPM et le FST sont effectués dans les 24h suivant la fin de l'accès au HS, alors que ces mêmes tests réalisés durant la période d'accès aboutissent à des résultats équivalents à ceux des animaux contrôles. Il semble donc que l'abstinence au sucre augmente les comportements de type anxieux chez les rongeurs.

Les résultats dans des modèles de binge de sucre semblent être variables. Une étude utilisant 12 semaines d'accès continu ou intermittent (2h par jour, 5 jours sur 7) à une solution de saccharose (25%), chez des souris mâles, ne révèle pas de modification de comportement dans les tests d'EPM, OF et FST réalisés après 24h sans accès au saccharose (Beecher et al., 2021). Il est montré chez le rat, qu'un accès intermittent 2h par jour augmente la consommation de croquettes enrichies en

saccharose sur une courte période de temps (2h) en comparaison d'un accès de 4h ou 8h (Kreisler et al., 2018). De façon intéressante, cette potentialisation du comportement de binge, induit une diminution du temps passé dans les bras ouverts lors du tests d'EPM réalisé après 3 semaines de régime, juste après la session d'accès à la nourriture palatable, en comparaison des groupes ayant 4h et 8h d'accès intermittent, cependant la différence n'est pas significative en comparaison du groupe contrôle. Une autre étude donnant accès 2h par jours à une solution de saccharose (10%) (Xu and Reichelt, 2018), montre dans l'EPM une diminution du temps passé dans les bras ouverts, ce test étant réalisé avant le nouvel accès au HS autrement dit après 20h d'abstinence forcée. Lors de l'OF fait immédiatement après la session d'accès au saccharose, aucune différence de comportement n'est observée en comparaison des animaux ayant seulement accès au régime standard. Dans un modèle de binge utilisant un cycle de 12h d'accès à une solution de 10% de saccharose en plus de la nourriture standard, suivi de 12h de privation alimentaire durant 28 jours, à la suite duquel une privation alimentaire de 36h induit une diminution du temps passé dans les bras ouverts, chez ces rats en comparaison de rats contrôles également privés de nourriture durant 36h (Avena et al., 2008a). Dans un protocole d'accès similaire utilisant une solution de glucose durant 1 mois, l'injection de naloxone (un antagoniste du système opioïde) après 24h de privation alimentaire diminue le temps passé dans les bras ouverts en comparaison des animaux n'ayant pas reçu de naloxone (Colantuoni et al., 2002). De plus, ce changement de comportement suite à l'injection de naloxone est spécifique au groupe intermittent supplémenté en glucose, les groupes ayant un accès intermittent ou continu aux croquettes, ou au glucose, et continu aux deux items passent plus de temps dans les bras ouverts, suggérant que ce protocole induit des symptômes ressemblant à ceux du sevrage à une drogue telle que la morphine. L'ensemble de ces données suggèrent que les modèles de binge HS peuvent induire des comportements de type anxieux chez les rongeurs. Cependant, les tests sont réalisés en dehors des périodes d'accès au sucre, vraisemblablement pour ne pas gêner la consommation par les animaux, or nous avons vu précédemment que l'abstinence forcée à l'item sucré altère les comportements de types anxieux. Les designs expérimentaux utilisés ne nous permettent pas de savoir si les effets observés sont dû au comportement de binge ou à la période d'abstinence forcée.

Les données présentées ci-dessus, nous laissent penser qu'une consommation de sucre peut induire un phénotype anxiodépressif, si les quantités ingurgitées sont suffisamment élevées sur une période relativement longue, ou dans le cas d'une abstinence forcée (Kendig, 2014; Jacques et al., 2019a). Les modèles de binge utilisent un accès intermittent au sucre, les tests comportementaux réalisés en dehors de ces périodes ne nous permettent pas de savoir si les effets observés sont dû au comportement de binge ou à la période d'abstinence forcée. Sachant que les prévalences de dépression et de troubles de l'humeur sont plus élevées chez les femmes que chez les hommes (Riecher-Rössler, 2017). Ces dernières étant également plus sujettes à l'alimentation émotionnelle (Camilleri et al., 2014), il paraît important d'inclure des individus femelles à part égal avec les mâles dans les études précliniques.

Les études cliniques et précliniques réalisées jusqu'à aujourd'hui du fait de leur faible nombre et de leur design expérimental ne permettent de conclure sur le sens de la relation entre le BED et l'impact sur la santé mentale. De plus, alors que les études pré-cliniques semblent incriminer de façon unanime le rôle des acides gras saturés dans l'altération des comportements de types anxieux et dépressifs, les effets du sucre sur ces paramètres semblent encore à déterminer. D'autres comorbidités sont associées au BED, tels que les maladies douloureuses chroniques, auxquelles nous nous sommes également intéressés dans ce projet.

C. Le binge eating disorder : facteur de risque de maladies douloureuses chroniques ?

1. La douleur chronique

L'IASP (international association for the study of pain) définit la douleur comme : « une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable associée à, ou ressemblant à celle associée à, une lésion tissulaire réelle ou potentielle » (Raja et al., 2020), et apporte les précisions suivantes :

- la douleur est toujours une expérience personnelle qui est influencée à des degrés divers par des facteurs biologiques, psychologiques et sociaux
- la douleur et la nociception sont des phénomènes différents. La douleur ne peut être déduite uniquement de l'activité des neurones sensoriels

- à travers leurs expériences de vie, les individus apprennent le concept de la douleur
- l'expression d'une personne sur une expérience de douleur doit être respectée
- bien que la douleur joue généralement un rôle adaptatif, elle peut avoir des effets négatifs sur le fonctionnement et le bien-être social et psychologique
- la description verbale n'est qu'un des nombreux comportements permettant d'exprimer la douleur; l'incapacité à communiquer n'exclut pas la possibilité qu'un être humain ou un animal non humain éprouve de la douleur.

Bien que la douleur soit initialement un phénomène physiologique permettant le maintien de l'intégrité de l'organisme, en agissant comme un signal d'alarme face à une menace, elle peut devenir pathologique dans certaines conditions. La onzième édition de la classification internationale des maladies (CIM-11) ([World Health Organization, 2019](#)) classe les douleurs persistant plus de 3 mois, et induisant une diminution de la qualité de vie, comme chroniques. Les douleurs chroniques peuvent être primaires, donc considérées comme une maladie à part entière, ou secondaires, donc la résultante d'une autre pathologie, un accident, ou encore une chirurgie (**Figure 8**). Cette classification intégrée à la CIM-11 résulte de la réflexion conjointe de l'IASP et l'OMS ([Treede et al., 2019](#)). Avec une prévalence d'environ 30% en France ([Chenaf et al., 2018](#)), les douleurs chroniques représentent un problème majeur de santé publique. L'OMS par son étude sur la charge globale de morbidité (ou *global burden of disease*, en anglais) a conclu que les maladies douloureuses sont la première cause d'invalidité dans le monde ([Vos et al., 2017](#)).

2. Comorbidité entre le binge eating disorder et les douleurs chroniques

Les études menées chez des patients atteints de BED révèlent une association entre le BED et des douleurs chroniques ([Olguin et al., 2017](#)). De plus, les prévalences de maladies douloureuses chroniques sont plus élevées chez des patients présentant un BED, en comparaison de patients ayant d'autres TCA, ou de sujets sains d'après une enquête épidémiologique conduite dans la population nord-américaine ([Udo and Grilo, 2019](#)) (**Tableau 4**). L'utilisation de questionnaires spécifiant l'âge d'apparition rétrospectif de chacun de ces troubles, semblent indiquer que le BED peut précéder

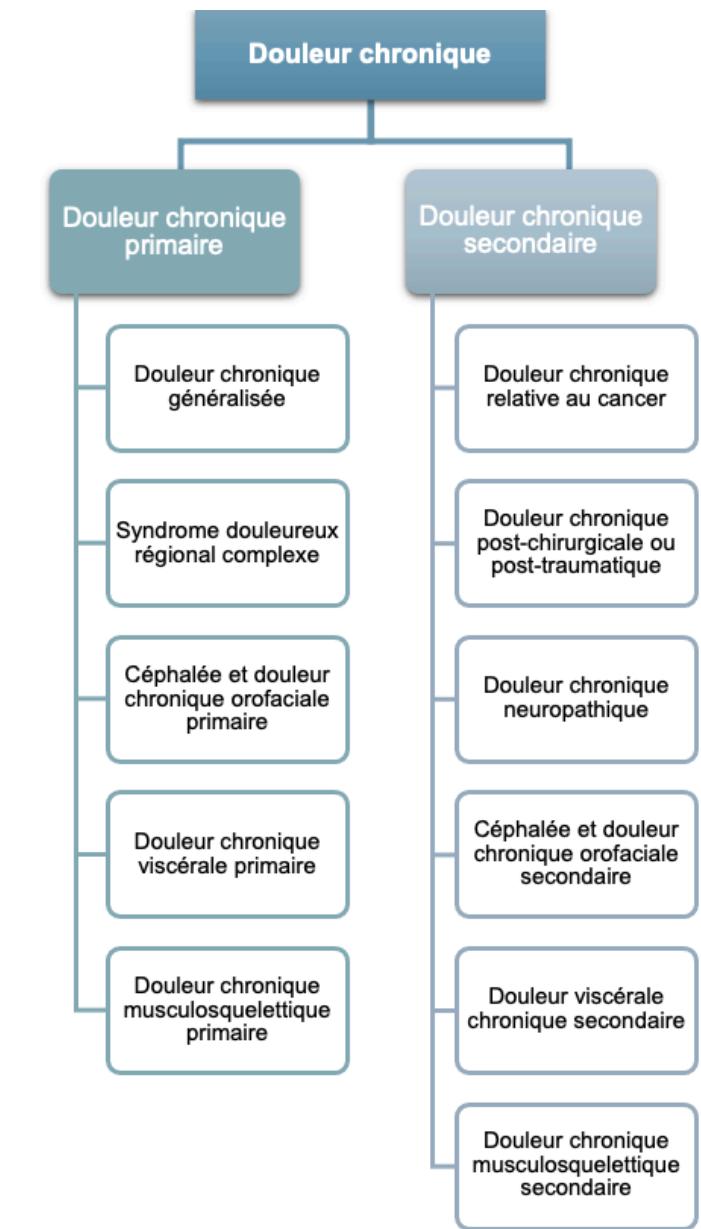


Figure 8. Classification des douleurs chroniques selon la CIM-11

Il semblerait que le BED puisse induire des douleurs chroniques secondaires. Ces dernières dépendraient de mécanismes inflammatoires induits par la consommation excessive de nourriture palatable, qui sont explicités dans la mini-revue rédigée durant ce projet de thèse et inclue à la fin de cette introduction (voir p 65).

l'apparition de douleurs chroniques (Kessler et al., 2013). Des patients ayant des maladies douloureuses chroniques déclarent augmenter leur prise alimentaire lors des épisodes douloureux (Amy and Kozak, 2012; Bigand and Wilson, 2019). Lors de ces épisodes ils favorisent les aliments perçus comme réconfortants, dans le but de soulager leur mal-être. Certains d'entre-eux évoquant des épisodes de binge, sans que soit vérifiée leur adhésion aux critères diagnostiques du BED. De plus, en l'absence de données prospectives, les recherches chez l'humain ne permettent pas de conclure sur le lien de causalité entre ces deux pathologies.

Tableau 4 – Prévalence (%) de maladies douloureuses chroniques lors de troubles du comportement alimentaire

Maladies douloureuses chroniques	Anorexie nerveuse	Boulimie nerveuse	Binge eating disorder	Sans trouble du comportement alimentaire
Arthrose	19.7	13.1	24.0	18.7
Fibromyalgie	8.1	0.5	5.3	2.0
Troubles intestinaux¹	8.0	8.4	11.9	3.7
Problèmes nerveux²	14.2	10.4	16.0	10.2

¹Les troubles intestinaux regroupent les troubles du côlon irritable et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

²Les problèmes nerveux incluent la dystrophie sympathique réflexe, le syndrome douloureux régional complexe et d'autres problèmes nerveux dans les jambes, les bras et le dos

D'après [Udo and Grilo, 2019](#)

Une mini-revue rédigée durant la deuxième année de ce projet de thèse, intitulée : « Neuro-inflammation induite par une prise alimentaire incontrôlée : risque de douleurs chroniques ? », est présentée à la fin de cette introduction (p 65). Nos hypothèses sur les mécanismes impliqués dans le développement de douleurs chroniques par le comportement de binge y sont explicitées.

D. Neuroinflammation et adaptations du système endocannabinoïde

1. La neuroinflammation

a) Généralités sur la neuroinflammation

Le système immunitaire agit comme une sentinelle, permettant au corps de réagir et se protéger face à une agression pathogène ou un traumatisme, grâce au recrutement des cellules immunitaires. Les récepteurs nommés PPR présents à leur surface reconnaissent des signaux de danger (DAMP) et des motifs pathogéniques (PAMP), induisant leur activation caractérisée par une libération de médiateurs de l'inflammation, parmi lesquels des cytokines pro-inflammatoires, dans le milieu extracellulaire. Ces derniers permettent le recrutement de plus de cellules immunitaires induisant une réponse inflammatoire en périphérie (**Figure 9**), caractérisée par une

sensation de chaleur, une rougeur, un gonflement et une douleur aigue, ayant pour but d'éliminer les éléments étrangers.

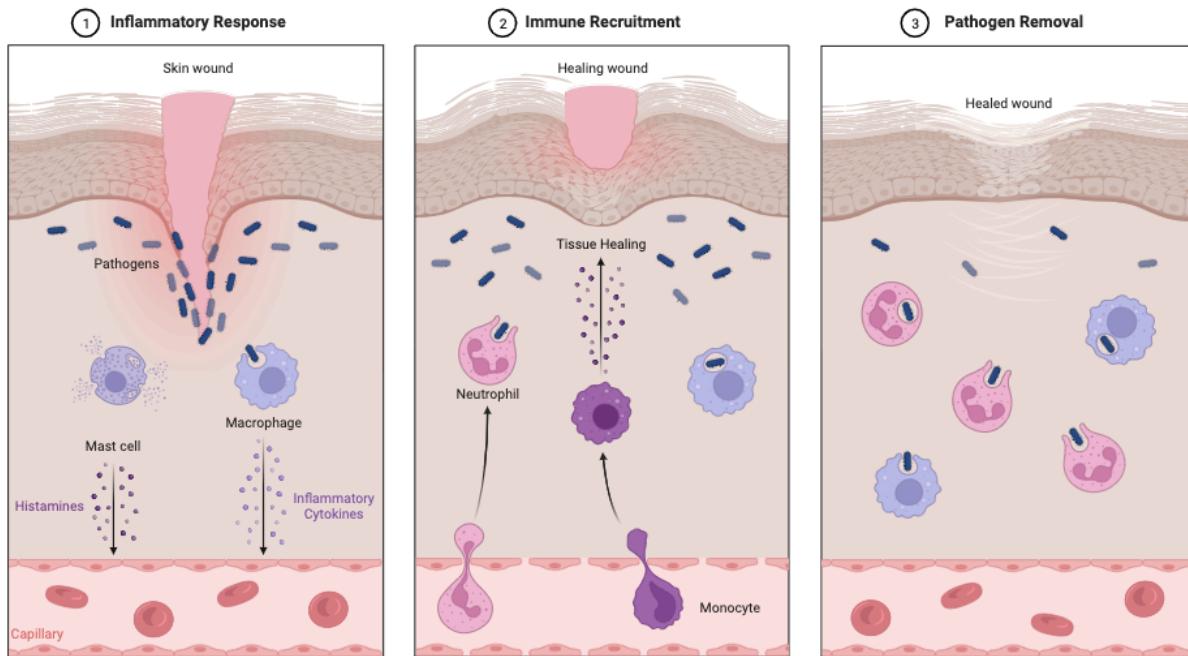


Figure 9. Réponse inflammatoire périphérique

(1) Lors de la réponse inflammatoire des éléments du non-soi sont reconnus par les macrophages et les mastocytes, qui libèrent des médiateurs de l'inflammation (histamine, cytokine) permettant de (2) recruter d'autres cellules de l'immunité (neutrophile, monocyte, macrophages) ayant des capacités de phagocytoses permettant d'éliminer ces corps étrangers. Ils libèrent également des facteurs de cicatrisation. (3) Les derniers résidus sont éliminés finalisant la cicatrisation des tissus.
D'après [Murphy and Weaver, 2016](#)

La BHE limite le passage des cellules immunitaires et des médiateurs de l'inflammation au sein du SNC. De plus, ce dernier présente des capacités de régénération faibles, expliquant son « privilège immunitaire » permettant de limiter les dommages lors de l'inflammation ([Galea et al., 2007](#)). Ce concept de « privilège immunitaire » a longtemps été amalgamé avec le rôle de la BHE emmenant à croire le SNC complètement isolé du reste de l'organisme, et donc exempt de mécanismes inflammatoires. Cependant, comme évoqué précédemment dans ce manuscrit (p.17) certaines zones de la BHE appelées organes circumventriculaires sont plus perméables permettant des échanges entre les compartiments vasculaires périphériques et centraux. De plus, il a également été démontré que lors d'une atteinte du SNC, l'intégrité des jonctions serrées liant les cellules endothéliales composant la BHE est réduite facilitant le passage des cellules immunitaires dans le SNC ([Stamatovic et al., 2008](#)) (**Figure 10**). Les cellules gliales décrites dans un premier

temps comme des cellules amorphes ayant uniquement un rôle de soutien ([Virchow, 1856](#)), sont maintenant reconnues comme jouant un rôle clé dans les mécanismes neuroinflammatoires, tout particulièrement les cellules microgliales et les astrocytes.

Les cellules microgliales sont omniprésentes dans le SNC et comptent pour 15% des cellules totales ([Melchior et al., 2006](#)). Elles sont considérées comme les macrophages du SNC, scrutant en permanence leur environnement, afin de détecter des menaces potentielles et par leur capacité de phagocytose. La surveillance de leur environnement est possible grâce à leur « sensome » correspondant à l'ensemble des récepteurs et protéines permettant aux microglies de repérer des pathogènes, des protéines anormales, des chimiokines et cytokines, des métabolites, des substances inorganiques ou encore une modification du pH ou de la matrice extracellulaire ([Hickman et al., 2013](#)). Face à un tel évènement la microglie s'active et converge vers le site endommagé, où elle va induire une réponse neuroinflammatoire par la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (interleukine (IL)-1 β , IL-6, tumor necrosis factor alpha (TNF- α) ...) et chimiokines (chimiokine ligand (CCL) 2, CCL5...) visant à recruter plus de cellules et éliminer les éléments du non-soi. Les cellules microgliales peuvent également sécréter des molécules anti-inflammatoires (IL-4, IL-10...), afin de limiter la réponse pro-inflammatoire, elles sont alors qualifiées de neuroprotectrices (**Figure 10**). Pour des revues plus détaillées sur la microglie voir : ([Prinz et al., 2019](#); [Kwon and Koh, 2020](#)).

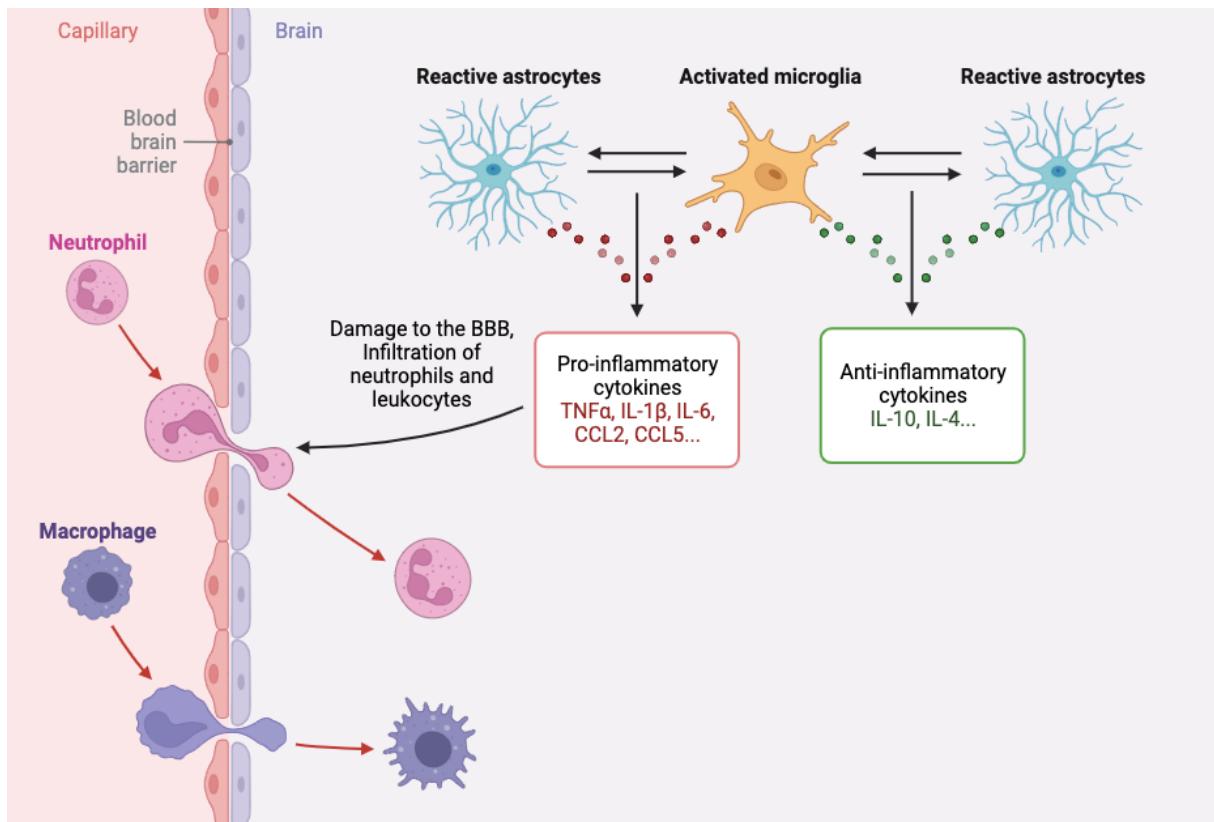


Figure 10. La réponse neuroinflammatoire

Le système nerveux central présente une réponse inflammatoire qui lui est propre, appelée neuroinflammation. Les cellules microgliales et les astrocytes par un dialogue bidirectionnel régulent la réponse neuroinflammatoire face aux dangers potentiels, en libérant à la fois des cytokines pro-inflammatoires contribuant au recrutement des cellules immunitaires périphériques, de cellules microgliales et d'astrocytes ; et des cytokines anti-inflammatoires qui limitent la neuroinflammation le système nerveux central ayant des capacités de régénération limitées. Réalisé avec Biorender

Les astrocytes sont les cellules gliales majoritaires, représentant 35% des cellules totales du SNC (Carson et al., 2006). En conditions physiologiques, les cellules astrocytaires contribuent à l'homéostasie du SNC, en participant à l'intégrité de la BHE (Koehler et al., 2006) ou encore au fonctionnement des neurones et tout particulièrement de la transmission synaptique (Chung et al., 2015; Haim and Rowitch, 2017). En condition pathologique, les astrocytes participent à la réponse neuroinflammatoire et notamment à la formation de la cicatrice gliale limitant la propagation des médiateurs inflammatoires et neurotoxiques (Colombo and Farina, 2016; Linnerbauer et al., 2020). La libération de médiateurs inflammatoires par la microglie activée engendre l'activation des astrocytes grâce aux récepteurs présents à leur surface. On parle d'un dialogue bidirectionnel entre les cellules microgliales et astrocytaires (Jha et al., 2019) (Figure 10). En effet, les astrocytes activés, reconnus

par l'expression accrue de la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP) (Sofroniew, 2009), vont à leur tour libérer des médiateurs inflammatoires pouvant agir sur la microglie.

Le SNC dispose d'une réponse inflammatoire unique, appelée neuroinflammation, largement dépendante des cellules microgliales et astrocytaires, ayant pour but de le protéger face à des agressions de différentes natures. La neuroinflammation est un mécanisme physiologique, permettant *in fine* d'éliminer les débris cellulaires et la cicatrisation tissulaire. Cependant, une réponse inflammatoire prolongée est néfaste, empêchant la régénération cellulaire dans le cerveau. Ces mécanismes semblent être impliqués dans de nombreuses pathologies, telles que les maladies neurodégénératives (Kwon and Koh, 2020), les douleurs chroniques (Ji et al., 2013) ou les maladies mentales (Guo et al., 2023).

b) Induction de réponse neuroinflammatoire par la prise alimentaire

En dehors de conditions pathologiques (maladies neurodégénératives, infections...) une réponse neuroinflammatoire peut également être observée dans le cadre d'un régime alimentaire de type occidental, ce phénomène apparaissant suite à des dérégulations en périphérie. En effet, une consommation excessive de gras et de sucre peut induire une dérégulation du microbiote intestinal (Jamar et al., 2021). L'intestin contient environ 10^{14} micro-organismes appelés microbiote intestinal, vivant en symbiose avec leur hôte et participant aux processus de digestion. Des études montrent que les aliments consommés modulent la composition du microbiote, tant dans l'abondance, que la diversité des micro-organismes présents (Statovci et al., 2017). Une consommation de quantités trop importantes de gras et/ou de sucre engendre une dysbiose qui induit une inflammation locale, augmente la perméabilité intestinale et interfère dans la communication intestin-cerveau via le nerf vague (González Olmo et al., 2021). L'augmentation de la perméabilité intestinale engendre un passage des molécules inflammatoires et d'endotoxines bactériennes (lipopolysaccharides) dans la circulation sanguine, et potentialise l'absorption de ces nutriments (gras et sucre) et de leurs métabolites. Les molécules inflammatoires ainsi que les endotoxines participent au développement d'une inflammation systémique, appelée endotoxémie, par le recrutement des cellules de l'immunité, et sont capables de traverser la BHE contribuant à la neuroinflammation. La présence des nutriments et leurs métabolites dans la circulation sanguine active les cellules de l'immunité

périphérique et traversent la BHE pour interagir avec les cellules neuronales et gliales (Butler, 2021). Ces réponses neuroinflammatoires sont largement décrites dans l'hypothalamus (De Souza et al., 2005; Thaler et al., 2012; Waise et al., 2015; Alboni et al., 2017; Gao et al., 2017; Cavaliere et al., 2018; Daly et al., 2020), et plus récemment dans d'autres structures cérébrales comme le NAc (Décarie-Spain et al., 2018, 2021), le cortex cérébral, l'hippocampe ou encore l'amygdale (Guillemot-Legrí and Muccioli, 2017; Patkar et al., 2021). Des preuves de neuroinflammation sont également observées chez des patients souffrant d'obésité par IRM cérébrale (Thaler et al., 2012; Kreutzer et al., 2017). L'intensité de marquage est plus forte dans l'hypothalamus de ces patients, révélant un signe de réponse inflammatoire. En effet, une étude post-mortem montre une association positive entre l'intensité de marquage en IRM et le nombre d'astrocytes détectés par immunohistologie anti-GFAP dans l'hypothalamus de patients obèses (Schur et al., 2015). Ces patients consommant généralement des quantités plus importantes d'aliments gras et sucrés, cela suggère qu'une alimentation déséquilibrée peut induire une neuroinflammation.

Les recherches pré-cliniques permettent de décrypter l'impact respectif du sucre et du gras sur la neuroinflammation. Les régimes riches en gras induisent une prise de poids importante due à une accumulation de lipides dans les tissus adipeux chez ces animaux contribuant à des altérations métaboliques et une inflammation systémique (Duan et al., 2018). Des recherches montrent que la neuroinflammation peut se développer rapidement dans l'hypothalamus - dès 24h d'accès à un HFD – et pourrait donc précéder l'inflammation systémique (Valdearcos et al., 2014; Waise et al., 2015). L'hypothèse prédominante actuellement suppose que l'inflammation hypothalamique induite par le HFD précède l'inflammation périphérique et contribue aux altérations métaboliques menant à une prise de poids accrue (Ullah et al., 2021). De plus, chez des souris présentant des altérations métaboliques similaire suite à 8 semaines d'exposition à un régime enrichi en acide gras saturés et monoinsaturés, seul le premier régime induit une augmentation des marqueurs inflammatoires NAc uniquement (Décarie-Spain et al., 2018, 2021). En effet, les acides gras saturés peuvent traverser le BHE et activer directement les macrophages et la microglie en se liant aux récepteurs « toll-like » (TLR), induisant la libération de cytokines pro-inflammatoires (Statovci et al., 2017; González Olmo et al., 2021). Cela suggère que les mécanismes neuroinflammatoires induits par une consommation excessive de gras

peuvent être induits directement par l'action du nutriment sur les cellules gliales et être maintenus dans le temps par une inflammation périphérique liée à des altérations métaboliques.

Le glucose est la principale source d'énergie du cerveau, ce dernier étant l'organe en consommant le plus. Chez l'humain, le cerveau représente environ 2% du poids total du corps mais utilise 20% de l'énergie totale de l'organisme (Mergenthaler et al., 2013). Selon l'état énergétique de l'organisme lors de l'ingestion de glucose, sous l'influence de l'insuline, il peut être stocké dans le foie ou les muscles sous forme de glycogène, où distribué aux cellules pour répondre à leurs besoins énergétiques. Le glucose traverse la BHE via les transporteurs de glucose de type (GLUT) 1. Les mêmes transporteurs permettent son entrée dans les cellules gliales, alors que les neurones utilisent GLUT3 qui a un rendement plus élevé. Le glucose sert donc de substrat énergétique essentiel au bon fonctionnement du cerveau. Cependant, il a été montré qu'une hyperglycémie provoque un stress oxydatif, qui augmente la perméabilité de la BHE et induit une activation microgliale dans des modèles murins de diabète (Rom et al., 2019) et *in-vitro* (Vargas-Soria et al., 2023). Contrairement au gras, le glucose n'active pas directement les cellules immunitaires, mais peut conduire à une réponse inflammatoire lorsqu'il est présent en excès dans l'organisme.

Le fructose est un autre monosaccharide, dont la consommation a largement augmenté au cours du dernier siècle, par l'utilisation massive de sirop de fructose dans les produits industriels, particulièrement aux Etats-Unis. Le fructose représentait moins de 1% de l'apport calorique en sucre en 1970, pour atteindre 42% en 2000 (Gillespie et al., 2023). A la différence du glucose, son métabolisme est indépendant de l'insuline. Il peut donc entrer dans les cellules hépatiques sans tenir compte de l'état énergétique de l'organisme, où il sera converti pour 50% en glucose, 15 à 20% en glycogène, 20-25% en acide lactique et 5% en triglycérides (Campos and Tappy, 2016). Chez l'humain des études épidémiologiques alertent sur l'association entre la consommation de boissons sucrées – contenant du sirop de maïs à haute teneur en fructose (42-55% fructose additionné de glucose) aux USA, et du saccharose (50% fructose, 50% glucose) en Europe - et la survenue de stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) (Chen et al., 2019; Sekkarie et al., 2021; Malik and Hu, 2022). De plus, la consommation d'un régime enrichi en fructose (25% de l'apport énergétique total) durant 9 jours chez des sujets sains augmente la synthèse de lipides hépatiques

(Schwarz et al., 2015). Chez les rongeurs un régime enrichi en fructose induit une accumulation de lipides hépatiques associée à une inflammation (Ackerman et al., 2005; Kawasaki et al., 2009; Spruss et al., 2009; Crescenzo et al., 2018; Todoric et al., 2020). Une consommation trop importante de fructose peut donc induire une accumulation de triglycérides hépatiques, conduisant à une inflammation hépatique autrement dit le développement d'une NAFLD, participant à une inflammation périphérique (Zhang et al., 2017b). Dans les études pré-cliniques, l'utilisation de régimes riches en fructose montre l'induction d'une neuroinflammation associée à une augmentation de l'expression de marqueurs pro-inflammatoires au niveau hypothalamique, hippocampique et cortical (Spagnuolo et al., 2020). Malgré la présence de GLUT5 le transporteur du fructose, dans le cerveau, et à la surface des cellules microgliales, nous ne savons pas si le fructose peut traverser la BHE. Les preuves de neuroinflammation suite à un régime riche en fructose durant au moins 2 semaines sont constatées chez des animaux présentant des altérations métaboliques et une inflammation périphérique (Djordjevic et al., 2015; Harrell et al., 2015; Hsu et al., 2015; Li et al., 2015; Xu et al., 2016; Cigliano et al., 2018). Cependant, une étude où les animaux sont exposés 7 jours à une solution de fructose (8% et 15%) révèle une perte neuronale associée à une perte de fonction mitochondriale, suggérant des mécanismes inflammatoires dans l'hippocampe en l'absence de signes d'altérations métaboliques (Jiménez-Maldonado et al., 2018). De plus, dans cette étude l'expression des transporteurs GLUT5 est accrue dans l'hippocampe suggérant que le fructose ingéré pourrait favoriser l'utilisation du fructose comme substrat énergétique par le cerveau.

Étonnamment peu d'études sur la neuroinflammation se sont intéressées au saccharose, plus communément appelé sucre de table. La consommation de ce di-disaccharide composé d'une molécule de glucose et une molécule de fructose, chez des rongeurs engendre une réponse neuroinflammatoire dans l'hypothalamus (Fuente-Martín et al., 2013; Gao et al., 2017; Patkar et al., 2021). Une étude s'intéressant spécifiquement à l'hippocampe n'a pas montré d'augmentation de l'expression d'IL-1 β et IL-6 par western blot, après 30 jours d'accès à une solution de saccharose (Hsu et al., 2015). Patkar et ses collaborateurs ont montré une augmentation du nombre de cellules microgliales dans cette même structure, ainsi que le cortex, l'amygdale et l'hypothalamus, par marquage immunohistochimique, dans un

modèle d'accès intermittent à la solution de saccharose modélisant le comportement de binge (Patkar et al., 2021). Une inflammation périphérique est également mise en évidence dans cette étude, malgré une prise de poids équivalente à celle des animaux contrôles. Les études menées avec du saccharose ne permettent pas de savoir si la neuroinflammation se développe avant ou après l'inflammation périphérique.

La consommation excessive de gras ou de sucres libres induit une neuroinflammation qui semble, au moins dans le cas du gras et du fructose, précéder le développement d'une inflammation périphérique. L'inflammation au sein de l'hypothalamus, le centre homéostatique de la prise alimentaire semble contribuer à la dérégulation du comportement de prise alimentaire en altérant les voies de signalisations métaboliques impliquées. Cependant, des réponses neuroinflammatoires sont également observées dans des structures cérébrales du circuit de la récompense qui pourraient contribuer au dérèglement de la consommation alimentaire hédonique. L'étude de l'impact du saccharose, l'un des sucres libres les plus présents dans notre alimentation, sur les mécanismes inflammatoires et neuroinflammatoires en est à ses prémisses. Il semble nécessaire de mieux caractériser ces mécanismes qui semblent participer à la surconsommation de sucres, et aux pathologies associées.

2. Le système endocannabinoïde

a) Généralités sur le système endocannabinoïde

Le système endocannabinoïde (ECS) largement exprimé au sein de l'organisme est impliqué dans une multitude de fonctions telles que la douleur (Woodhams et al., 2017), les troubles émotionnels (Micale et al., 2013), l'immunité (Jean-Gilles et al., 2010) ou encore la récompense (Befort, 2015). Dans le contexte de ce travail de thèse nous allons nous intéresser à son rôle dans la prise alimentaire, et plus particulièrement lorsque celle-ci est pathologique (Bourdy and Befort, 2023).

L'ECS est un système endogène composé de lipides bioactifs appelés endocannabinoïdes, ainsi que des enzymes nécessaires à leur synthèse et leur dégradation, et les récepteurs avec lesquels ils interagissent. Malgré l'utilisation de cannabis depuis des millénaires par l'humain, à des fins spirituelles, récréatives ou encore curatives (Mechoulam, 2019), la recherche sur l'ECS est relativement récente

avec la découverte du premier récepteur cannabinoïde (CB) à la fin des années 1980 (Matsuda et al., 1990).

CB1 et CB2 appartiennent à la famille des GPCR et sont tous deux couplés à une protéine G inhibitrice. Initialement la découverte de l'expression de CB1 a été faite dans le SNC, au contraire CB2 a d'abord été observé en périphérie et plus particulièrement dans des cellules immunitaires. Cependant, nous savons aujourd'hui que chacun de ces récepteurs est largement exprimé par une multitude d'organes (peau, cœur, foie, cerveau...) et de types cellulaires (cellules immunitaires, neurones, cellules musculaires...) (Joshi and Onaivi, 2019) (Figure 11). CB1 est le GPCR le plus exprimé dans le SNC, retrouvé à la fois dans les neurones, les astrocytes et les cellules microgliales (Hu and Mackie, 2015). Bien que certaines études n'aient pas montré d'expression de CB2 dans des cerveaux sains (Galiegue et al., 1995; Griffin et al., 1999), des études plus récentes attestent de sa présence dans les cellules neuronales et gliales de différentes régions du SNC (Gong et al., 2006; Onaivi et al., 2006; Xi et al., 2011; Zhang et al., 2014, 2017a).

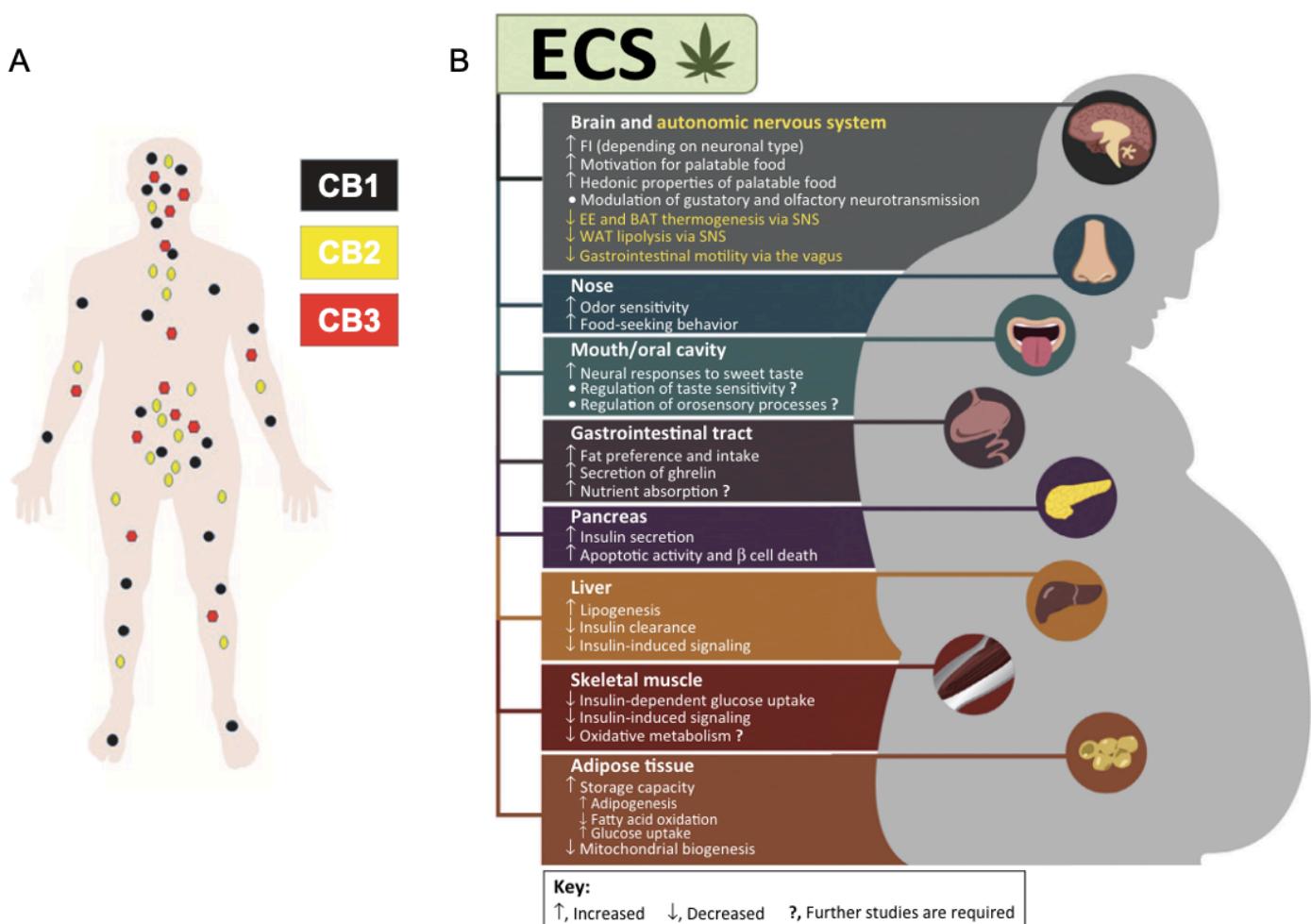


Figure 11. Expression des récepteurs endocannabinoïdes et fonctions associées à l'ECS chez l'humain

FI : food intake ; EE : energy expenditure; BAT: brown adipose tissue; SNS: sympathetic nervous system; WAT: white adipose tissue. D'après Joshi and Onaivi, 2019 et Mazier et al., 2015

De nombreux dérivés lipidiques endogènes agissent sur les CB, cependant l'anandamide ou N-arachidonylethanolamine (AEA) et le 2-arachidonoylglycerol (2-AG) sont considérés comme les 2 endocannabinoïdes principaux car leurs métabolismes (**Figure 12**) et leurs effets pharmacologiques ont été minutieusement étudiés (Hillard, 2018). L'AEA et le 2-AG sont tous les deux des agonistes de CB1 et CB2, l'AEA présentant une affinité plus grande pour CB1. L'AEA et le 2-AG sont également des agonistes des récepteurs vanilloïdes 1 (TRPV1), ces récepteurs sont parfois appelés CB3. Étant donné leur nature lipidique il semblerait qu'une fois produits les endocannabinoïdes puissent diffuser librement à travers les membranes plasmatisques, ou utiliser des transporteurs transmembranaires pour sortir de la cellule, cependant de telles molécules n'ont pas encore été mises à jour.

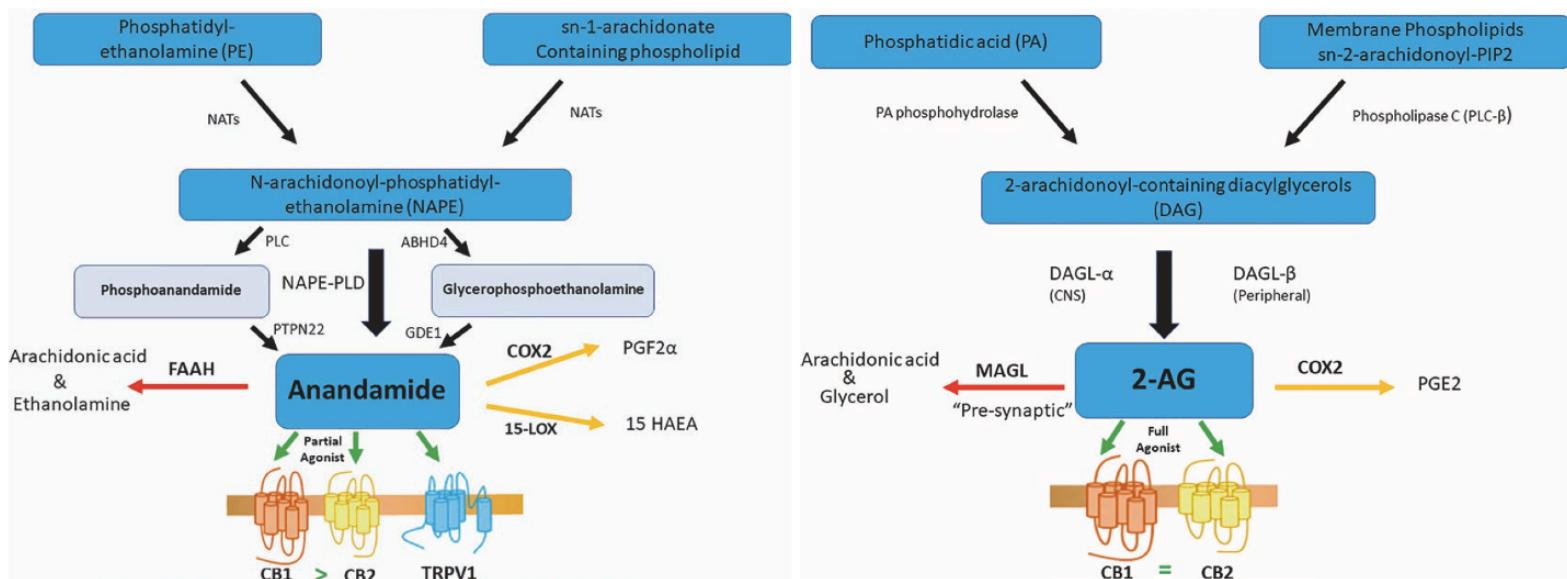


Figure 12. Voies de synthèse et de dégradation de l'anandamide et du 2-AG

CB1/2 : récepteur cannabinoïde 1/2; COX2 : cyclooxygénase 2; DAG : diacylglycérol; FAAH : hydrolase des amides d'acides gras; MAGL : monoacylglycérol lipase; NAPE-PLD : phospholipase spécifique de la N-acyl-phosphatidyléthanolamine D; NATs : N-acyltransférases; PA : acide phosphatidique ; PLC β : phospholipase C β ; 15-LOX : 15-lipoxygenase; PTPN22 : protéine tyrosine phosphatase non-recepteur type 22; PGF2 α : Prostaglandine F2alpha-éthanolamide; 15 HAEA : 15(S)-HETE Éthanolamine; PGE2 : Prostaglandine E2-glycerol ester; TRPV1 : récepteur vanilloïde 1. D'après Narouze, 2021

b) Rôle du système endocannabinoïde dans la prise alimentaire

L'évidence première de l'implication de l'ECS dans la prise alimentaire provient de la stimulation de l'appétit lors de la consommation de cannabis, et en particulier pour des aliments sucrés et palatables (Cota et al., 2003). Par la suite, des études pharmacologiques chez l'animal ont montré que l'administration systémique d'endocannabinoïdes ou d'agonistes de CB1 stimule la prise alimentaire, au contraire des antagonistes qui l'inhibent (Di Marzo and Matias, 2005; Bourdy and Befort, 2023). Une étude par chromatographie couplée à de la spectrométrie de masse chez le rat a montré que les taux d'endocannabinoïdes (AEA et 2-AG) varient de façon physiologique lors de la prise alimentaire dans l'hypothalamus et le système limbique antérieur (comprenant entre autres le NAc) (Kirkham et al., 2002). Ces derniers augmentent lors d'une privation alimentaire et diminuent lors de la consommation de nourriture. Similairement aux résultats obtenus lors d'injections systémiques, des injections intra-cérébrales d'endocannabinoïdes au niveau du VMH (Jamshidi and Taylor, 2001), du NAc (Kirkham et al., 2002) et de la VTA (Sinnayah et al., 2008) augmentent la prise alimentaire chez les rongeurs. Certaines études montrent que l'injection d'agoniste de CB1 dans le cerveau augmente spécifiquement la consommation de nourriture palatable, sans modifier la consommation de nourriture standard (Koch and Matthews, 2001; DiPatrizio and Simansky, 2008; Shinohara et al., 2009). Cela suggère que l'ECS joue un rôle dans la régulation homéostatique et hédonique de la prise alimentaire.

De plus, le développement de souris génétiquement modifiées pour ne pas exprimer certains gènes de l'ECS, appelées KO (knockout), a également permis de mieux caractériser son rôle dans le comportement de prise alimentaire. En effet, des souris FAAHKO - n'exprimant pas l'enzyme de dégradation de l'AEA de façon constitutive – entraînées dans un paradigme de conditionnement opérant à presser un levier pour obtenir une récompense (ici de la nourriture standard, des pellets de chocolat ou de HFD) montrent des performances supérieures aux wild-type (Touriño et al., 2010). Lors de l'apprentissage en ratio-fixe (FR) 1 et 5 les FAAHKO activent plus de fois le levier pour obtenir de la nourriture standard et des pellets de chocolat. Lors du test de ratio-progressif (PR) permettant de mesurer la motivation, le nombre d'activations du levier nécessaire pour obtenir la récompense augmentant progressivement au cours de la séance, les FAAHKO atteignent des points de ruptures

plus élevés pour les trois types d'items, cependant la consommation alimentaire est similaire entre les deux phénotypes. Ces animaux génétiquement modifiés ont des taux plus élevé d'AEA dans l'hypothalamus, ainsi qu'en périphérie (foie, intestin), mais aussi de leptine et d'insuline circulantes suggérant une déficience métabolique. La délétion de CB1 dans des souris CB1KO engendre une consommation de solution sucrée moins importante que chez des contrôles lors de protocoles d'accès libre sans déprivation alimentaire (Poncelet et al., 2003; Sanchis-Segura et al., 2004). Ces animaux CB1KO montrent une diminution de la motivation pour obtenir de la nourriture sucrée dans une tâche de PR (Poncelet et al., 2003; Sanchis-Segura et al., 2004; Ward and Dykstra, 2005). Récemment une étude sur des souris mâles CB2KO a révélé une diminution des performances lors du conditionnement opérant (FR et PR) pour des pellets de chocolat chez ces animaux (García-Blanco et al., 2023). Ces souris sont également moins performantes dans des tâches de mesure de persistance durant laquelle l'activation du levier n'induit pas de libération de récompense, et de compulsion où la récompense est associée à un choc électrique, suggérant que la délétion constitutive de CB2 diminue le phénotype de type addiction à la nourriture. Les souris CB1KO et CB2KO présentent également un phénotype de résistance à l'obésité, dans lequel un HFD n'induit pas de prise de poids excessive, d'altération des hormones impliquées dans la prise alimentaire, ou encore d'accumulation de lipides hépatiques indice du développement d'une NAFLD (Deveaux et al., 2009; Agudo et al., 2010; Ousey et al., 2023). L'étude des animaux génétiquement modifiés suggère un rôle de l'ECS central et périphérique dans la prise alimentaire à la fois par la régulation des systèmes hormonaux, mais aussi dans la motivation à obtenir de la nourriture palatable.

Au-delà de son implication physiologique dans la prise alimentaire, des différences de polymorphismes génétiques d'ECS ont pu être observées dans le cadre de TCA (Donato et al., 2022). Un nombre croissant d'études démontre le rôle du ECS dans le développement et le maintien du BED (Bourdy and Befort, 2023). Une partie de ces éléments sont détaillés dans la revue citée dans la partie suivante (p. 65).

3. Revue : « Neuroinflammation induite par une prise alimentaire incontrôlée : risque de douleurs chroniques ? »

Le BED est une maladie mentale complexe impliquant les systèmes de neurotransmission DA, opioïde, endocannabinoïde, et sérotonergique dont les mécanismes physiopathologiques sont encore largement méconnus (Kessler et al., 2016). La revue ci-après, rédigée durant ma deuxième année de thèse fait l'état des lieux des potentiels mécanismes neuroinflammatoires induit par un comportement de binge, généralement dirigé vers des aliments transformés. Ces derniers sont riches en gras et sucres, des nutriments dont la consommation excessive est à l'origine d'une réponse neuroinflammatoire. L'ECS déjà désigné comme un acteur impliqué dans le BED semble être un bon candidat à étudier dans ce contexte. En effet, au-delà de son rôle dans la régulation de la prise alimentaire et les processus de récompense, il contribue également aux mécanismes inflammatoires notamment par l'intermédiaire de CB2. En effet, ce récepteur est particulièrement exprimé dans les cellules immunitaires. Enfin, il semble probable qu'une réponse neuroinflammatoire prolongée chez les patients souffrant de BED puisse être à l'origine du développement de comorbidités. Nous nous intéressons ici aux douleurs chroniques lors desquelles les mécanismes inflammatoires périphériques et centraux engendrent respectivement une sensibilisation des nocicepteurs et centrale résultant au maintien de ces douleurs dans le temps (Fang et al., 2023). De plus, une augmentation de l'expression de CB2 est vue dans les cellules gliales dans des modèles de douleurs chroniques (Van Den Hoogen et al., 2022). L'augmentation de l'expression de marqueurs inflammatoires, parmi lesquels CB2, pourrait donc contribuer au développement de douleurs chroniques secondaires au BED.

Neuro-inflammation induite par une prise alimentaire incontrôlée : risque de douleurs chroniques ?

Neuroinflammation Induced by Uncontrolled Food Intake: Risk of Chronic Pain?

A.-S. Aubry · G. Awad · K. Befort

Reçu le 6 août 2022 ; accepté le 2 septembre 2022
© Lavoisier SAS 2022

Résumé L'hyperphagie boulimique ou *binge eating disorder* (BED) est le trouble du comportement alimentaire le plus répandu. Il est caractérisé par une prise incontrôlée d'aliments riches en calories, comme le gras et/ou le sucre. Les recherches cliniques et précliniques sur cette pathologie montrent le développement d'une réponse inflammatoire induite par des régimes riches en gras et/ou en sucre. Cette réaction inflammatoire se propage au système nerveux central, en particulier aux structures cérébrales impliquées dans les circuits de la récompense et de la prise alimentaire, via l'axe intestin–cerveau. Les mécanismes neuro-inflammatoires sont associés à une modulation, entre autres, du système endocannabinoïde. Celui-ci est également impliqué dans la régulation de la prise alimentaire, de la récompense et dans le contrôle de la douleur. Les comorbidités associées au BED favorisent l'obésité mais incluent également des troubles de l'humeur (anxiété, dépression notamment). Le *binge eating* pourrait aussi être un facteur de risque majeur de l'apparition de douleurs chroniques, sous-tendues par des mécanismes neuro-inflammatoires. Des recherches futures dans le domaine permettront de développer des stratégies de traitement de cette pathologie, en considérant ces comorbidités.

Mots clés Hyperphagie boulimique · Neuro-inflammation · Système nerveux central · Système endocannabinoïde · Douleur chronique

Abstract Binge eating disorder (BED) is the most common eating disorder. It is characterized by an uncontrolled intake of high-calorie foods, such as fat and/or sugar. Clinical and pre-clinical research on this disorder show the development of an inflammatory response induced by diets high in fat and/or

sugar. This inflammatory response spreads to the central nervous system, in particular to brain structures involved in reward and food intake circuits, via the gut–brain axis. Neuroinflammatory mechanisms are associated with a modulation of the endocannabinoid system, among others. The latter is also involved in the regulation of food intake, reward, and pain control. The comorbidities associated with BED not only favor obesity but also include mood disorders like anxiety or depression. Binge eating could also be a major risk factor for the development of chronic pain, underpinned by neuroinflammatory mechanisms. Future research in this field will allow the development of treatment strategies for this pathology, taking into account these comorbidities.

Keywords Binge eating disorder · Neuroinflammation · Central nervous system · Endocannabinoid system · Chronic pain

Abréviations

- 2-AG : 2-arachidonylglycérol
- AEA : anandamide
- AM : anorexie mentale
- BN : boulimie nerveuse
- BED : *binge eating disorder*
- CB1 : récepteur cannabinoïde 1
- CB2 : récepteur cannabinoïde 2
- LDX : lisdexamfétamine
- SNC : système nerveux central
- TCA : troubles du comportement alimentaire

Troubles du comportement alimentaire, focus sur le *binge eating disorder*

Les troubles du comportement alimentaire (TCA) sont considérés comme des maladies mentales menant à une altération de la prise alimentaire et constituent un problème majeur de santé publique. Les personnes atteintes de TCA

A.-S. Aubry · G. Awad · K. Befort (✉)
Laboratoire de neurosciences cognitives et adaptatives (LNCA), Centre national de la recherche scientifique, université de Strasbourg, 12, rue Goethe, F-67000 Strasbourg, France
e-mail : katia.befort@unistra.fr

ont généralement des complications médicales sévères en lien avec la prise alimentaire excessive comme des syndromes métaboliques (obésité, maladies cardiovasculaires, diabète, etc.) et/ou psychiatriques (troubles de l'humeur, anxiété, abus de substances...). Les TCA les plus connus, l'anorexie mentale (AM) et la boulimie nerveuse (BN), respectivement associés à un apport calorique insuffisant ou trop important, viennent d'une estime de soi excessivement influencée par le poids et la forme corporelle. Cependant, un troisième TCA référencé pour la première fois dans le *DSM-5* en 2013 [1], nommé hyperphagie boulimique ou *binge eating disorder* (BED) en anglais, est un trouble associé à une surconsommation alimentaire incontrôlée et s'avère être le plus prévalent, touchant 1,9 % de la population mondiale, femmes (2,6 %) et hommes (1 %) confondus [2].

Le BED est défini par des épisodes de boulimie ou *binge*, avec une fréquence d'au moins une fois par semaine durant trois mois, au cours desquels une sensation de perte de contrôle engendre l'ingestion d'une grande quantité de nourriture sur une courte période, en l'absence d'une sensation de faim. Les aliments consommés durant ces crises sont généralement des aliments transformés riches en gras et/ou en sucre. Ces épisodes de *binge* sont associés à des sentiments négatifs et, contrairement à la BN, ne sont pas accompagnés par des comportements inappropriés (vomissements, activité sportive excessive...) visant à compenser la prise calorique.

Des modèles précliniques chez le rongeur sont utilisés pour comprendre les effets d'une prise alimentaire excessive soit par des accès libres à des aliments riches en calories à haute teneur en gras et/ou en sucre [3,4], soit par des accès intermittents à ce type de nourriture considéré comme appétissant [5–8]. Ce dernier type de modèle permet notamment de mesurer un comportement de *binge* qui ressemble aux accès hyperphagiques observés chez les personnes souffrant de BED. Ces modèles permettent d'explorer les mécanismes sous-jacents d'une prise alimentaire incontrôlée, en particulier au niveau du système nerveux.

Neuro-inflammation associée au BED

Les recherches cliniques sur les modifications métaboliques du BED sont encore rares. Celles-ci restent focalisées sur le BED des patients obèses, la prévalence étant particulièrement élevée dans cette population [9]. L'obésité est associée à une inflammation chronique pouvant modifier la prise alimentaire [10]. Cependant, ces études cliniques ont montré des taux plus élevés de marqueurs inflammatoires dans le plasma des patients obèses atteints de BED, en comparaison à des individus obèses sans BED [9,11].

En préclinique, une quantité plus importante de cellules immunitaires dans le sang des animaux présentant un profil de *binge* a été observée en comparaison avec ceux n'ayant pas

eu d'accès au sucre [12]. En revanche, aucune différence de poids n'a été constatée entre ces deux groupes d'animaux, suggérant que la prise de poids excessive n'est pas nécessaire à l'émergence de la réponse inflammatoire en périphérie.

Il semblerait que la réponse inflammatoire induite par ces régimes alimentaires puisse atteindre le système nerveux central (SNC) via l'axe intestin–cerveau [13]. Ce dernier permet une communication bidirectionnelle entre le système digestif et le SNC, passant par le système sanguin ou le nerf vague (Fig. 1A). Chez les rongeurs, une élévation des niveaux de marqueurs inflammatoires a notamment été observée au sein de structures du circuit de la récompense, tel le noyau accumbens, lors d'un accès à de la nourriture appétante [14,15]. Ce circuit cérébral est impliqué dans les processus motivationnels et l'aspect plaisant des comportements [16]. Plusieurs études précliniques ont également montré une réponse neuro-inflammatoire au niveau de l'hypothalamus [17–21], le centre homéostatique du cerveau régulant notamment la prise alimentaire, suite à une consommation de nourriture grasse et/ou sucrée. Plus récemment, des techniques d'imagerie et d'immunohistofluorescence ont permis de déceler un nombre élevé de cellules non neuronales, les cellules gliales (microglie et astrocytes), signant ainsi au sein de différentes structures cérébrales une neuro-inflammation. La microglie est considérée comme le gardien immunitaire de l'intégrité du SNC, et une augmentation des cellules microgliales témoigne de la neuro-inflammation. Ces atteintes ont été observées dans le système de la récompense (cortex, amygdale) et l'hypothalamus, chez des rats soumis à un protocole de *binge* [12].

Implication du système endocannabinoïde dans le BED

Le système endocannabinoïde semble particulièrement intéressant dans le contexte du BED, de par son implication dans le contrôle de la prise alimentaire [22], le circuit de la récompense [23,24], ainsi que les mécanismes neuro-inflammatoires [25]. Ce système comprend deux récepteurs bien caractérisés (CB1 et CB2), leurs agonistes endogènes, le 2-arachidonoylglycérol (2-AG) et l'anandamide (AEA), ainsi que des enzymes de synthèse et de dégradation associées.

Deux études ont notamment montré des quantités plus élevées d'AEA dans le sang de femmes souffrant d'obésité ou en surpoids avec BED en comparaison à des sujets sans TCA [26,27]. La seconde étude a également mis en avant une augmentation du 2-AG lors de l'analyse des prélèvements sanguins chez ces mêmes patientes. Ainsi, les recherches cliniques ont montré que le BED induit des modulations du système endocannabinoïde, se traduisant par une

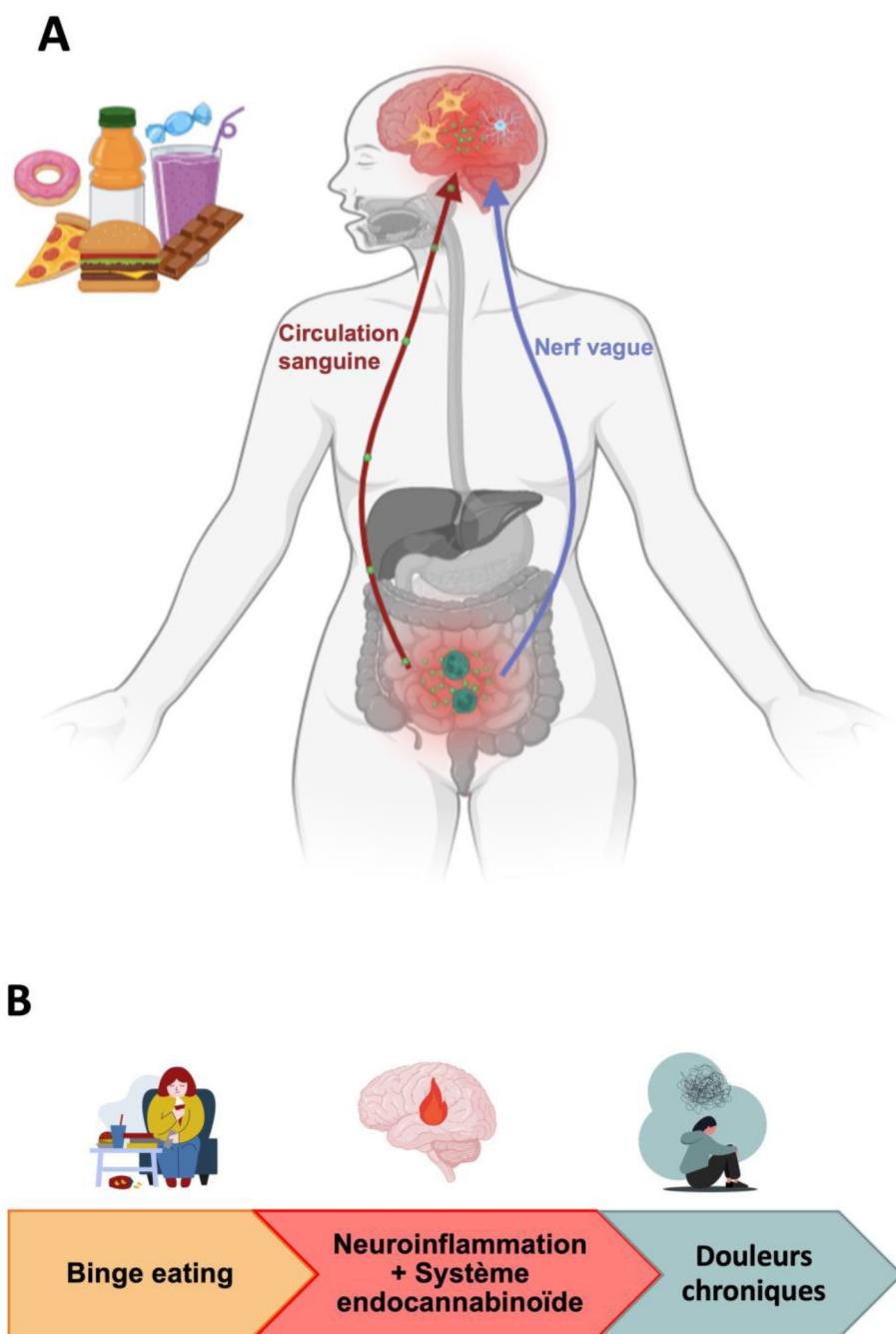


Fig. 1 A. Mécanismes inflammatoires et neuro-inflammatoires induits par le *binge eating*. Au cours des épisodes de *binge*, les patients consomment des aliments transformés riches en gras et en sucre. Cette consommation engendre une réaction inflammatoire dans le tractus digestif, due à une modification du microbiote intestinal. Cette activation du système immunitaire est transmise au SNC, et notamment à l'hypothalamus, ainsi qu'aux structures du circuit de la récompense, via l'axe intestin–cerveau. Cette communication est possible grâce à l'activation du nerf vague, mais aussi grâce au transport de molécules pro-inflammatoires, des cytokines (en vert clair), par les vaisseaux sanguins. La combinaison de ces messages nerveux et de la signalisation moléculaire induite par les cytokines traversant la barrière hématoencéphalique engendre une neuro-inflammation dans le cerveau, caractérisée par une activation des cellules gliales (microglie en jaune et astrocytes en bleu) qui à leur tour libèrent des cytokines. Cette réponse neuro-inflammatoire serait associée à une modulation du système endocannabinoïde. B. Risque accru de douleurs chroniques chez les patients souffrant de *binge eating*. La prise alimentaire incontrôlée chez les patients souffrant de *binge* induit une neuro-inflammation potentiellement associée à une modulation du système endocannabinoïde. Ces mécanismes neuroadaptatifs ont également été observés lors de douleurs chroniques. Il semble donc que la réponse neuro-inflammatoire induite par le *binge eating* pourrait favoriser le développement de douleurs chroniques chez ces patients (réalisée avec biorender <https://biorender.com>)

augmentation des cannabinoïdes endogènes en périphérie, chez des personnes de sexe féminin [26,27].

Jusqu'à aujourd'hui, les recherches sur la prise alimentaire excessive menées chez des rongeurs ne se sont pas intéressées aux régulations du système endocannabinoïde en périphérie. Néanmoins, des études pharmacologiques ont montré que l'injection intrapéritonéale d'un agoniste des récepteurs CB1/CB2 augmente la consommation de gras chez le rat [28]. De plus, au niveau du SNC, lors d'un accès libre à un régime riche en gras et en sucre chez le rat [3], et dans un modèle de *binge* de sucre [6], une augmentation de l'expression des gènes codant pour CB1 et CB2 a pu être observée, cela à nouveau dans les structures cérébrales du circuit de la récompense. De façon intéressante, le système endocannabinoïde est aussi connu pour intervenir dans les mécanismes neuro-inflammatoires [25]. Par exemple, le récepteur CB2 est surexprimé dans la microglie activée [29], où il jouerait un rôle de régulateur de l'inflammation en limitant la libération de cytokines pro-inflammatoires [30].

Douleurs chroniques : une comorbidité du BED ?

Des rapports épidémiologiques ont montré que les patients souffrant de BED rapportent des taux plus élevés de maladies douloureuses chroniques telles que l'arthrose, la fibromyalgie ou encore des douleurs neuropathiques, en comparaison à des sujets sains ou souffrant d'autres TCA [31]. Selon la Classification internationale des maladies établie par l'Organisation mondiale de la santé (OMS, révision ICD-11), pour être considérée comme chronique une douleur doit persister, ou réapparaître, pendant au moins trois mois. Un rapport de l'OMS a mis en évidence un lien chronologique entre le BED et l'apparition ultérieure de pathologies douloureuses [2]. Chez des rongeurs, l'utilisation de régimes hypercaloriques induit une diminution des seuils nociceptifs [32,33].

Le développement et le maintien des douleurs chroniques sont notamment sous-tendus par des mécanismes neuro-inflammatoires [34]. Une activation microgliale au niveau du circuit de la récompense a été observée lors de l'induction de douleurs chroniques dans des modèles précliniques [35,36]. Ces données nous laissent supposer que la réponse neuro-inflammatoire induite par une prise alimentaire incontrôlée pourrait engendrer ou favoriser le développement de douleurs chroniques chez les patients souffrant de BED.

Le système endocannabinoïde est également impliqué dans la régulation de la douleur [37]. Une approche par spectrométrie de masse a montré dans le cerveau de rats qu'une modulation des agonistes endogènes du système endocannabinoïde est en lien avec l'induction d'une douleur chronique [38]. De plus, l'expression des récepteurs CB1 et CB2 par les cellules gliales ainsi que leur rôle de modulateur de la réponse inflam-

matoire [25] renforcent l'hypothèse selon laquelle la neuroinflammation, présente chez les patients atteints de BED et douloureux chroniques, serait accompagnée d'une modulation du système endocannabinoïde (Fig. 1B).

Traitements du BED : perspectives ?

Des approches pharmacothérapeutiques ont été testées en association avec de la psychothérapie pour traiter les patients atteints de BED et présentant différentes comorbidités. Parmi ces approches, des antidépresseurs, des antiépileptiques, des médicaments contre l'obésité ou approuvés pour le trouble du déficit de l'attention/hyperactivité ont été proposés [39,40]. À ce jour, le diméthylsulfate de lisdexamfétamine (LDX) est le seul médicament homologué pour le traitement du BED modéré à sévère chez le patient adulte. C'est un dérivé d'amphétamine qui induit la libération de catécholamines. Il réduit la prise de nourriture en supprimant l'appétit et diminue ainsi considérablement le nombre de crises d'hyperphagie [39,41]. Parmi d'autres pistes thérapeutiques, le système endocannabinoïde a été largement considéré dans certaines pathologies neurologiques [42] et notamment dans le cadre de l'obésité [43]. En effet, le rôle de ce système dans la prise alimentaire et dans le circuit de la récompense en fait un candidat idéal. Pour exemple, le rimonabant, molécule antiobésogénique, est un antagoniste CB1 et s'est avéré très efficace pour la perte de poids. Malheureusement, il a rapidement été retiré du marché en raison de graves effets secondaires psychiatriques [44]. Parallèlement, le rimonabant chez le rat permet notamment la diminution du comportement de *binge eating* [6]. Différentes molécules candidates pour le traitement de l'obésité ciblent aussi le système endocannabinoïde [45]. Ce sont des anticorps, des molécules hybrides agissant à la fois sur un récepteur cannabinoïde et sur d'autres récepteurs, des ligands ou des modulateurs allostériques ciblant spécifiquement les récepteurs CB1 et CB2. Certaines molécules permettent aussi de moduler le système endocannabinoïde en ciblant les enzymes de synthèse ou de dégradation des endocannabinoïdes [46]. Un traitement du BED pourrait aussi directement cibler les mécanismes neuro-inflammatoires décrits plus haut soit avec des traitements anti-inflammatoires afin de limiter la propagation de l'inflammation au SNC, soit en combinaison avec des molécules ciblant le système endocannabinoïde, pour bloquer l'inflammation et potentiellement diminuer le développement de douleurs chroniques. Ainsi, davantage de recherches sont nécessaires pour tester de telles approches, et la prise en compte des comorbidités de patients souffrant du BED paraît essentielle dans la recherche de nouveaux médicaments pour une prise en charge globale et personnalisée de la pathologie.

Conclusion

Malgré une prévalence importante, le BED reste un TCA encore mal caractérisé. Les recherches cliniques menées ces dernières années et les modèles précliniques pointent des mécanismes neuro-inflammatoires associés à une modulation du système endocannabinoïde, induits par une prise alimentaire incontrôlée. Ces altérations du SNC pourraient être à l'origine du développement de douleurs chroniques chez les patients souffrant de BED. Compte tenu du manque de traitements actuels du BED, il semble critique de poursuivre les recherches d'approches thérapeutiques, en ciblant notamment des molécules anti-inflammatoires et/ou des modulateurs du système endocannabinoïde pour limiter les effets adverses au maximum et permettre une action métabolique optimale.

Remerciements Notre équipe est soutenue par le Centre national de la recherche scientifique (CNRS), l'université de Strasbourg, l'Agence nationale de recherche (ANR) via le Programme d'investissement d'avenir (ANR-2017-CE12-0027, Euridol, Graduate School of Pain), l'Institut national du cancer et l'Institut pour la recherche en santé publique (INCa/IReSP16129). ASA est financée par un contrat doctoral d'Euridol, et GA est financée par un contrat doctoral du ministère français de l'Enseignement supérieur et de la Recherche. Nous remercions les Professeures Isabelle Décosster et Mary C Olmstead pour leur soutien continu et leurs discussions fructueuses

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent qu'ils n'ont aucun lien d'intérêt.

Références

- American Psychiatric Association (2013) Diagnostic and statistical manual of mental disorders fifth edition, American Psychiatric Association. doi: 10.1176/appi.books.9780890425596
- Kessler RC, Berglund PA, Chiu WT, et al (2013) The prevalence and correlates of binge eating disorder in the World Health Organization World mental health surveys biological psychiatry 73:904–14. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.11.020
- Bourdy R, Hertz A, Filliol D, et al (2021) The endocannabinoid system is modulated in reward and homeostatic brain regions following diet-induced obesity in rats: a cluster analysis approach. Eur J Nutr 60:4621–33. doi: 10.1007/s00394-021-02613-0
- Slomp M, Belegri E, Blancas-Velazquez AS, et al (2019) Stressing the importance of choice: validity of a preclinical free-choice high-caloric diet paradigm to model behavioural, physiological and molecular adaptations during human diet-induced obesity and metabolic dysfunction. J Neuroendocrinol 31:e12718. doi: 10.1111/jne.12718
- Awad G, Roeckel LA, Massotte D, et al (2020) Deletion of mu opioid receptors reduces palatable solution intake in a mouse model of binge eating. Behav Pharmacol 31:249–55. doi: 10.1097/FBP.0000000000000496
- Sa Nogueira D de, Bourdy R, Filliol D, et al (2021) Binge sucrose-induced neuroadaptations: a focus on the endocannabinoid system. Appetite 164:105258. doi: 10.1016/j.appet.2021.105258
- Corwin RL, Wojnicki FH (2006) Binge eating in rats with limited access to vegetable shortening. Curr Protoc Neurosci 9:9.23B:1–11
- Berner LA, Avena NM, Hoebel BG (2008) Bingeing, self-restriction, and increased body weight in rats with limited access to a sweet-fat diet. Obesity 16:1998–2002. doi: 10.1038/oby.2008.328
- Succurro E, Segura-Garcia C, Ruffo M, et al (2015) Obese patients with a binge eating disorder have an unfavorable metabolic and inflammatory profile. Medicine 94:e2098. doi: 10.1097/MD.0000000000002098
- Lumeng CN, Saltiel AR (2011) Inflammatory links between obesity and metabolic disease. J Clin Invest 121:2111–7. doi: 10.1172/JCI57132
- Caldas N do R, Braulio VB, Brasil MAA, et al (2022) Binge eating disorder, frequency of depression, and systemic inflammatory state in individuals with obesity — A cross-sectional study. Arch Endocrinol Metab. doi: 10.20945/2359-3997000000489
- Patkar OL, Mohamed AZ, Narayanan A, et al (2021) A binge high sucrose diet provokes systemic and cerebral inflammation in rats without inducing obesity. Sci Rep 11:11252. doi: 10.1038/s41598-021-90817-z
- Jamar G, Ribeiro DA, Pisani LP (2021) High-fat or high-sugar diets as trigger inflammation in the microbiota–gut–brain axis. Crit Rev Food Sci Nutr 61:836–54. doi: 10.1080/10408398.2020.1747046
- Décarie-Spain L, Sharma S, Hryhorczuk C, et al (2018) Nucleus accumbens inflammation mediates anxiolytic behavior and compulsive sucrose seeking elicited by saturated dietary fat. Mol Metab 10:1–13. doi: 10.1016/j.molmet.2018.01.018
- Décarie-Spain L, Hryhorczuk C, Lau D, et al (2021) Prolonged saturated, but not mono-unsaturated, high-fat feeding provokes anxiolytic-like behaviors in female mice despite similar metabolic consequences. Brain Behav Immun Health 16:100324. doi: 10.1016/j.bbih.2021.100324
- Koob GF, Volkow ND (2010) Neurocircuitry of addiction. Neuropsychopharmacol 35:217–38. doi: 10.1038/npp.2009.110
- Waise TMZ, Toshinai K, Naznin F, et al (2015) One-day high-fat diet induces inflammation in the no dose ganglion and hypothalamus of mice. Biochem Biophys Res Commun 464:1157–62. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.07.097
- Cavaliere G, Viggiano E, Trinchese G, et al (2018) Long feeding high-fat diet induces hypothalamic oxidative stress and inflammation, and prolonged hypothalamic AMPK activation in rat animal model. Front Physiol 9:818. doi: 10.3389/fphys.2018.00818
- Fuente-Martín E, García-Cáceres C, Díaz F, et al (2013) Hypothalamic inflammation without astrogliosis in response to high sucrose intake is modulated by neonatal nutrition in male rats. Endocrinology 154:2318–30. doi: 10.1210/en.2012-2196
- Gao Y, Bielohuby M, Fleming T, et al (2017) Dietary sugars, not lipids, drive hypothalamic inflammation. Mol Metab 6:897–908. doi: 10.1016/j.molmet.2017.06.008
- Daly CM, Saxena J, Singh J, et al (2020) Sex differences in response to a high fat, high sucrose diet in both the gut microbiome and hypothalamic astrocytes and microglia. Nutr Neurosci 0:1–15. doi: 10.1080/1028415X.2020.1752996
- Di Marzo V, Matias I (2005) Endocannabinoid control of food intake and energy balance. Nat Neurosci 8:585–9. doi: 10.1038/nn1457
- Covey DP, Mateo Y, Sulzer D, et al (2017) Endocannabinoid modulation of dopamine neurotransmission. Neuropharmacology 124:52–61. doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.04.033
- Belfort K (2015) Interactions of the opioid and cannabinoid systems in reward: insights from knockout studies. Front Pharmacol 6:6. doi: 10.3389/fphar.2015.00006

25. Walter L, Stella N (2004) Cannabinoids and neuroinflammation. *Br J Pharmacol* 141:775–85. doi: 10.1038/sj.bjp.0705667
26. Monteleone P, Matias I, Martiadis V, et al (2005) Blood levels of the endocannabinoid anandamide are increased in anorexia nervosa and in binge eating disorder, but not in bulimia nervosa. *Neuropsychopharmacol* 30:1216–21. doi: 10.1038/sj.npp.1300695
27. Yagin NL, Aliasgari F, Alizadeh M, et al (2020) Comparison of endocannabinoids levels, *FAAH* gene polymorphisms, and appetite regulatory substances in women with and without binge eating disorder: a cross-sectional study. *Nutr Res* 83:86–93. doi: 10.1016/j.nutres.2020.09.001
28. Scherma M, Fattore L, Satta V, et al (2013) Pharmacological modulation of the endocannabinoid signalling alters binge-type eating behaviour in female rats: endocannabinoid system and binge eating behavior. *Br J Pharmacol* 169:820–33. doi: 10.1111/bph.12014
29. Cabral GA (2005) Cannabinoid receptors in microglia of the central nervous system: immune functional relevance. *J Leukoc Biol* 78:1192–7. doi: 10.1189/jlb.0405216
30. Komorowska-Müller JA, Schmöle AC (2020) CB2 receptor in microglia: the guardian of self-control. *Int J Mol Sci* 22:19. doi: 10.3390/ijms22010019
31. Udo T, Grilo CM (2019) Psychiatric and medical correlates of DSM-5 eating disorders in a nationally representative sample of adults in the United States. *Int J Eat Disord* 52:42–50. doi: 10.1002/eat.23004
32. Xie F, Fu H, Hou JF, et al (2013) High energy diets-induced metabolic and prediabetic painful polyneuropathy in rats. *PLoS One* 8:e57427. doi: 10.1371/journal.pone.0057427
33. Song Z, Xie W, Chen S, et al (2017) High-fat diet increases pain behaviors in rats with or without obesity. *Sci Rep* 7:10350. doi: 10.1038/s41598-017-10458-z
34. Tsuda M, Shigemoto-Mogami Y, Koizumi S, et al (2003) P2X4 receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury. *Nature* 424:778–83. doi: 10.1038/nature01786
35. Chu Sin Chung P, Panigada T, Cardis R, et al (2017) Peripheral nerve injury induces a transitory microglial reaction in the rat infralimbic cortex. *Neurosci Lett* 655:14–20. doi: 10.1016/j.neulet.2017.06.037
36. Taylor AMW, Castonguay A, Taylor AJ, et al (2015) Microglia disrupt mesolimbic reward circuitry in chronic pain. *J Neurosci* 35:8442–50. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4036-14.2015
37. Woodhams SG, Chapman V, Finn DP, et al (2017) The cannabinoid system and pain. *Neuropharmacology* 124:105–20. doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.06.015
38. Petrosino S, Palazzo E, Novellis V de, et al (2007) Changes in spinal and supraspinal endocannabinoid levels in neuropathic rats. *Neuropharmacology* 52:415–22. doi: 10.1016/j.neuropharm.2006.08.011
39. Guedjikova AI, Mori N, Casuto LS, McElroy SL (2019) Update on binge eating disorder. *Med Clin North Am* 103:669–80. doi: 10.1016/j.mcna.2019.02.003
40. McElroy SL, Guedjikova AI, Mori N, et al (2015) Overview of the treatment of binge eating disorder. *CNS Spectr* 20:546–56. doi: 10.1017/S1092852915000759
41. Heal DJ, Smith SL (2022) Prospects for new drugs to treat binge eating disorder: insights from psychopathology and neuropharmacology. *J Psychopharmacol* 36:680–703. doi: 10.1177/02698811211032475
42. Iannotti FA, Di Marzo V, Petrosino S (2016) Endocannabinoids and endocannabinoid-related mediators: targets, metabolism and role in neurological disorders. *Prog Lipid Res* 62:107–28. doi: 10.1016/j.plipres.2016.02.002
43. Mazier W, Saucisse N, Gatta-Cherifi B, Cota D (2015) The endocannabinoid system: pivotal orchestrator of obesity and metabolic disease. *Trends Endocrinol Metab* 26:524–37. doi: 10.1016/j.tem.2015.07.007
44. Moreira FA, Crippa JAS (2009) The psychiatric side-effects of rimonabant. Os efeitos-colaterais psiquiátricos do rimonabant. *Rev Bras Psiquiatr* 31:145–53
45. Ceglia M de, Decara J, Gaetani S, Rodriguez de Fonseca F (2021) Obesity as a condition determined by food addiction: should brain endocannabinoid system alterations be the cause and its modulation the solution. *Pharmaceuticals* 14:1002. doi: 10.3390/ph14101002
46. Bisogno T, Mahadevan A, Coccurello R, et al (2013) A novel fluorophosphonate inhibitor of the biosynthesis of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol with potential anti-obesity effects: a novel inhibitor of endocannabinoid 2-AG biosynthesis. *Br J Pharmacol* 169:784–93. doi: 10.1111/bph.12013



Hypothèses et objectifs

II. Hypothèses et objectifs de la thèse

L'objectif de mon travail de thèse est de mieux caractériser un modèle murin de binge saccharose (BS) développé au LNCA, sur le plan comportemental et moléculaire. En effet, dans ce modèle de 2 semaines induisant un comportement de type binge chez les souris mâles et femelles exposées de façon intermittente au saccharose (Awad et al., 2020), nous nous sommes demandé si les principales comorbidités observées chez les patients atteints de BED étaient retrouvées, et quels en étaient les mécanismes moléculaires sous-jacents.

Chez l'humain, plus de 50% des patients souffrant de BED ont également des troubles de l'humeur (dépression) et/ou des troubles anxieux. Cependant, nous ne savons pas si ces troubles sont la cause ou la conséquence du BED. Les études pré-cliniques réalisées dans des modèles de BED sont peu nombreuses. Avena et ses collaborateurs (Avena et al., 2008a) montrent une exacerbation du comportement anxieux lors du test du labyrinthe en croix surélevé chez des rats soumis à un protocole de BS durant 28 jours (10%). Il semble cependant que ces résultats puissent résulter de la restriction alimentaire de 36h imposée aux animaux avant la réalisation du test. En effet, d'autres études utilisant des modèles d'accès à un régime riche en sucre (50%) 2 jours par semaine durant 7 semaines montrent une diminution du temps passés dans les bras ouverts lors du test de l'EPM, et une augmentation du temps d'immobilité dans le test de la nage forcée lors d'une abstinence forcée à cette substance (Cottone et al., 2008; Iemolo et al., 2012). Ces résultats n'ont pas été reproduits lorsque les tests comportementaux sont réalisés durant la période d'accès au sucre.

Hypothèse 1 : Un comportement de BS induisant une consommation excessive de sucre pourrait induire une altération du bien-être chez la souris, associée à des comportements de type anxieux et dépressifs.

Ainsi, mon premier objectif est de mesurer l'évolution de l'état émotionnel des animaux au cours du protocole de BS prolongé à 8 semaines, grâce à des tests de bien-être (burrowing), de comportements de type dépressifs (nesting, splash test, UST) et anxieux (open field, light-dark, EPM). Ce travail est présenté dans la partie IV.A, sous forme d'article soumis.

D'après les rapports épidémiologiques les patients atteints de BED présentent une prévalence plus importante de maladies douloureuses chroniques, en comparaison de personnes présentant d'autres type de TCA, ou de sujets sains (Udo and Grilo, 2019). De plus, un autre comportement de type « binge » : le binge drinking (BD) (qui sera développé dans la partie VI. de ce manuscrit ; p. 173), consistant en une consommation excessive d'alcool, semble également être un facteur de risque pour le développement de douleurs chroniques (You et al., 2020).

Hypothèse 2 : Un comportement de binge saccharose ou drinking pourrait induire une diminution des seuils nociceptifs chez la souris.

Mon deuxième objectif est de mesurer l'évolution des seuils nociceptifs des animaux au cours d'un protocole de BS, et de BD (éthanol). Ces recherches sont présentées dans la partie IV.B.2 pour le BS, et VI.D concernant le BD.

Le BED est une maladie mentale complexe impliquant les systèmes de neurotransmission DA, opioïde, endocannabinoïde, et sérotonergique dont les mécanismes physiopathologiques sont encore largement méconnus (Kessler et al., 2016). Les études cliniques chez des patients atteints de BED pointent des altérations au sein du circuit de la récompense (Leenaerts et al., 2022). De façon intéressante, une étude récente montre une inflammation périphérique avec une augmentation des cellules immunitaires dans le sang, associée à une neuroinflammation dans plusieurs structures cérébrales induite par un modèle de BS chez le rat (Patkar et al., 2021). De plus, la consommation excessive d'aliments palatables lors des épisodes de binge induit une réponse neuroinflammatoire dans l'hypothalamus qui semble précéder l'inflammation systémique (Jamar et al., 2021). Il semble donc que le comportement de binge induise une réponse inflammatoire au sein du circuit de la récompense qui favorise la prise alimentaire hédonique. L'ECS contribue à la fois aux mécanismes inflammatoires et au comportement de prise alimentaire. Des modulations de l'ECS sont observées en périphérie chez des patients souffrant de ce TCA (Monteleone et al., 2005; Yagin et al., 2020), et dans un modèle murin de BS (Berland et al., 2022). De plus, des modifications d'expression de CB1 et CB2 sont également démontrées dans le NAc de rats soumis à un protocole de BS, dans notre laboratoire (de Sa Nogueira et al., 2021).

Hypothèse 3 : Les mécanismes neuroinflammatoires associés à une modulation de l'ECS au sein du circuit de la récompense participeraient au

développement et au maintien du comportement de binge. Ce dernier induirait également une inflammation périphérique.

Mon troisième objectif est de caractériser les mécanismes moléculaires impliqués dans le développement et le maintien du comportement de type BS, par la mesure de l'expression de marqueurs neuroinflammatoires, et de l'ECS dans des structures du circuit de la récompense (PFC et NAc) et en périphérie. Cette partie est décrite dans la partie V. sous forme d'un article en préparation.

Matériels et Méthodes



Exemples de nourritures palatables issus d'archives personnelles

III. Matériels et Méthodes général

A. Études comportementales

1. Déclaration éthique

Ce projet de recherche s'appuie sur l'utilisation de modèles murins. Les animaux ont été traités dans le strict respect des recommandations pour l'expérimentation animale, établies par la directive européenne 2010/63/EU. Cette dernière a été transposée dans le droit français en 2013, par le décret n°2013-118, s'appuyant sur le respect de la règle des 3R (Réduire, Remplacer, Raffiner). Les procédures ont été évaluées et approuvées par le comité d'éthique pour l'expérimentation animale de Strasbourg (CREMEAS) et validées par le ministère les numéros d'agréments APAFIS sont indiqués pour chaque projet p.103, 141 et 183.

2. Conditions d'hébergement des animaux

Des souris C57BL/6J mâles et femelles âgés de 8 semaines au début des protocoles comportementaux ont été utilisées durant ce projet. Les animaux sont hébergés dans une salle à température régulée (22 ± 2 °C), avec un cycle jour/nuit de 12 heures. Les expériences comportementales ont été menées en phase lumineuse. Après une période d'habituation à l'animalerie, les animaux ont été isolés, sauf si précision contraire, dans des cages individuelles (14 cm h x 16 cm l x 29.5 cm L) enrichies avec du matériel pour faire leur nid (une feuille de papier absorbant), transparentes et ouvertes, afin de garder un contact visuel et olfactifs avec leurs congénères, durant toute la période des expériences. L'isolement des animaux est nécessaire pour réaliser des mesures de consommation précises pour chaque individu. Afin de réduire le stress induit chez les souris lors d'une manipulation par la queue, les animaux ont été habitués à entrer dans des tubes en plastique transparent afin d'être manipulé (Clarkson et al., 2018).

3. Protocole de binge saccharose (BS)

Après l'isolement, les biberons sont remplacés par deux tubes Falcon de 50 mL (avec des bouchons : Ancare, NY, USA) remplis d'eau, afin que les animaux s'habituent à ce dispositif durant au moins 5 jours. En effet, ce protocole développé au

LNCA (Awad et al., 2020) repose sur le paradigme du choix entre deux bouteilles (**Figure 13.A**), permettant une consommation libre des animaux entre de l'eau et une solution sucrée à 17.1% (sucre Erstein, dissout dans l'eau du robinet, m/V, 0.5M). Cette concentration a été choisie d'après l'article de Yashoshima ayant établi un modèle similaire (Yasoshima and Shimura, 2015).

Après l'habituation à ce dispositif, les animaux sont répartis en 3 groupes (**Figure 13.B**) selon leurs poids, afin que le poids moyen des animaux soit équivalent entre les groupes. Le groupe test a un accès intermittent (IA) à la solution sucrée 4h par jour, commençant 2h après l'allumage des lumières. Le premier groupe contrôle a un accès continu (CA) à la solution sucrée. Le deuxième groupe contrôle (NA) n'a pas d'accès à la solution sucrée. Durant ce protocole tous les animaux ont accès sans restriction à la nourriture standard A04 (SAFE®, Augy, France) (lipides : 8.4% ; carbohydrates : 72.4% ; saccharose : 4.4% ; protéines : 19.3%).

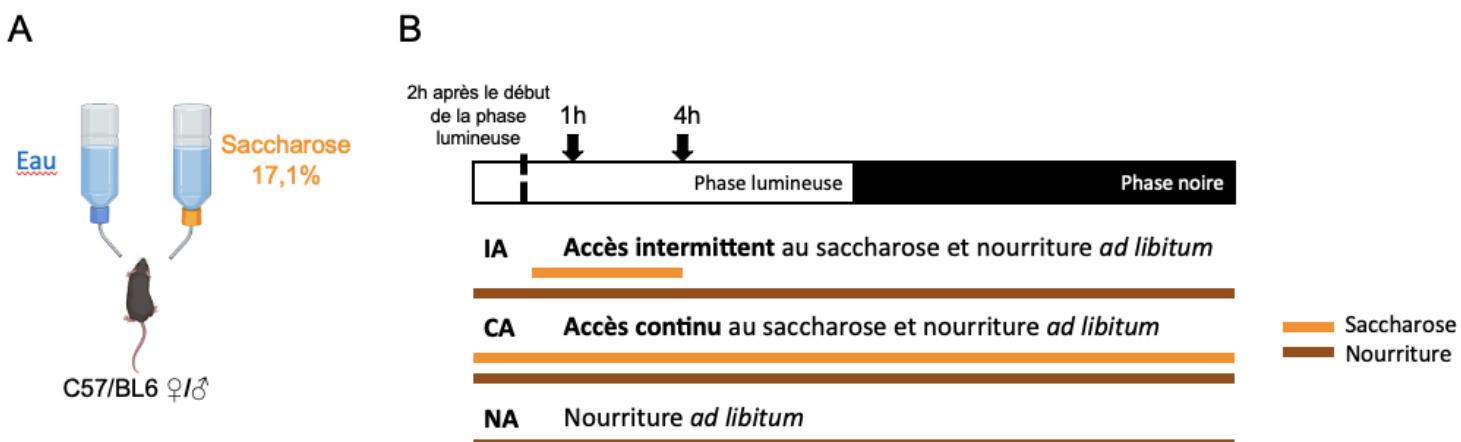


Figure 13. Protocole de binge saccharose (BS)

(A) Ce modèle réalisé chez des souris mâles et femelles, se base sur le paradigme de choix entre deux bouteilles, ici l'une remplie d'eau et l'autre d'une solution de saccharose (17.1% m/V). (B) Les animaux sont répartis en trois groupes ayant respectivement un accès à la solution sucrée de façon intermittente (IA) 4h/jour, continue (CA) ou n'ayant pas d'accès (NA), sans déprivation alimentaire. L'accès à la solution de saccharose débute 2h après l'allumage des lumières, et les mesures de consommation sont réalisées 1h, 4h et 24h après le début de l'accès.

Ce protocole a initialement été établi sur une période de 2 semaines consécutives (avec suivi du poids quotidien), cependant il a parfois été prolongé jusqu'à 8 semaines dans certaines de nos expériences, durant lesquelles les animaux sont pesés au moins 2 fois par semaine. Au cours de ce protocole la consommation d'eau et de solution sucrée sont mesurées, en pesant les tubes Falcons, 1h, 4h et 24h

après le début de l'accès au sucre. La consommation alimentaire des croquettes est également mesurée quotidiennement.

4. Mesure de l'activité locomotrice

L'activité locomotrice spontanée des animaux est mesurée grâce à un rack équipé de faisceaux infrarouges, traversant les cages à leurs extrémités, relié à un ordinateur (**Figure 14.A**). Le passage de l'animal entre les faisceaux infrarouges, les interrompt, et est comptabilisé informatiquement (**Figure 14.B**). Ce système nous a donc permis de mesurer le nombre d'aller-retours effectués par chaque animal, au sein de leur cage habituelle, donc sans induire de stress lié à un nouvel environnement. Le niveau d'enrichissement des cages a dû être légèrement amoindri en diminuant la quantité de sciure, et en enlevant le matériel de nidification, afin que cela n'interrompe pas le passage des faisceaux infrarouges et empêche la mesure de l'activité locomotrice.

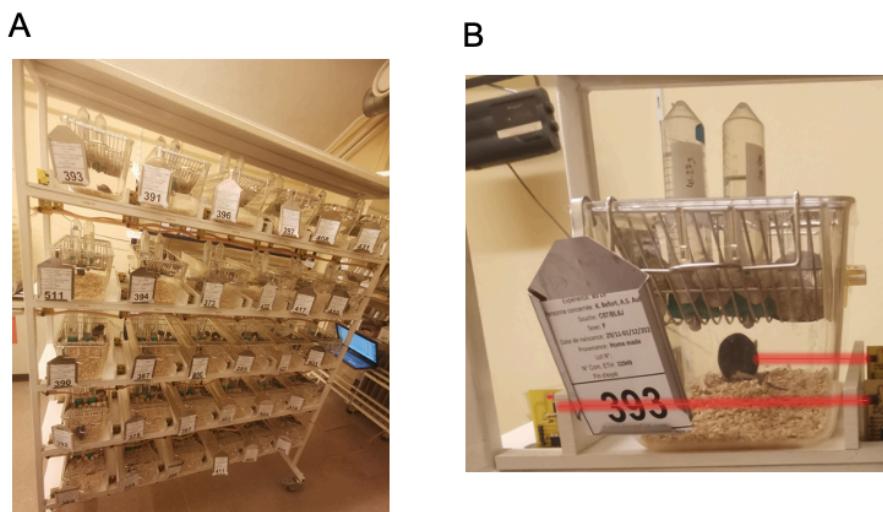


Figure 14. Mesure de l'activité locomotrice spontanée

(A) réalisée dans la pièce d'hébergement des animaux grâce à un rack de 30 cages, équipé de faisceaux infrarouges et relié à un ordinateur permettant de comptabiliser les aller-retours au sein de la cage. (B) Chaque cage est traversée par deux faisceaux infrarouge, à l'avant et à l'arrière de la cage. Sur cette image schématique le faisceau arrière est interrompu par l'animal, engendrant le décompte de ce déplacement sur l'ordinateur. Durant cette mesure, il est nécessaire de diminuer la quantité de sciure dans la cage et d'enlever le matériel de nidification qui pourraient entraîner l'interruption des faisceaux et donc une mauvaise comptabilisation des déplacements des souris.

Durant le protocole de BS l'actographie est réalisée sur une période de 20h (de 18h à 14h), comprenant la phase nocturne (19h-7h) et la période d'accès au sucre (9h-13h), à la fin des semaines impaires (1,3,7) ainsi que la semaine 8.

5. Tests nociceptifs

Des tests nociceptifs visant à mesurer les seuils de sensibilité à des stimuli mécaniques ou thermiques ([Barrot, 2012; Kremer et al., 2021](#)) sont réalisés en parallèle du protocole de BS.

Deux semaines avant le début du protocole de BS les souris sont habituées à la salle où se déroulent les tests nociceptifs, ainsi qu'au matériel. Deux mesures de références (baseline) sont faites pour chaque test la semaine précédant le début de l'accès à la solution sucrée. Les tests nociceptifs sont réalisés, les semaines paires du protocole de BS, en dehors des horaires d'accès à la solution sucrée. Une période de minimum 24h sans stimulus a été respectée entre deux tests nociceptifs. De plus, l'ordre de passage des animaux est randomisé selon le groupe et le sexe afin de réduire les biais induits par l'heure du test.

Pour les tests du filament de Von Frey et du plantar, les animaux sont testés par groupe de neuf. Ils placés dans des boîtes individuelles en plexiglass transparent, positionnées sur la grille (**Figure 15.A**), ou la plaque en verre (**Figure 15.B**). Une phase d'habituation de 10 min à l'environnement, permet de minimiser les mouvements des souris durant le test.

Pour chacun des tests le matériel est rincé avec de l'eau chaude entre chaque animal afin d'enlever l'urine et les excréments et d'amoindrir les odeurs. A la fin de chaque session le matériel est nettoyé avec de l'alcool 70%.

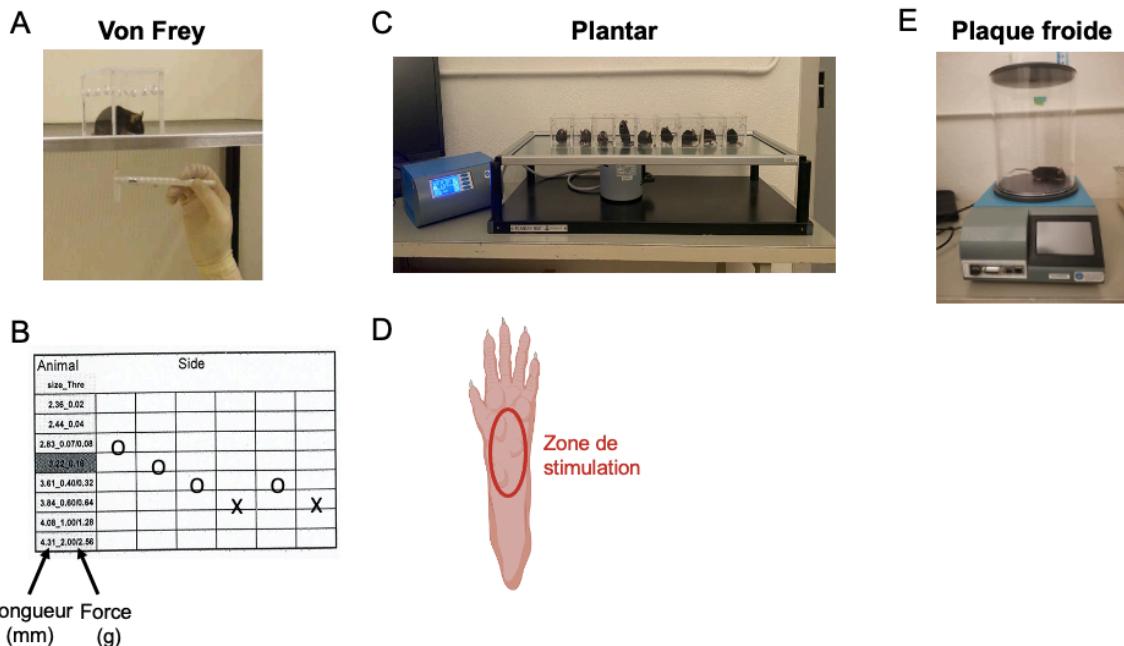


Figure 15. Tests nociceptifs

(A) Le tests du filament de Von Frey permet de mesurer le seuil de sensibilité mécanique par l'application de filaments de Von Frey au niveau de la patte arrière. Lors de ce test les animaux sont isolés dans une boîte en plexiglass transparent placée sur une grille surélevée. (B) Exemple de feuille de score complétée par l'expérimentateur lors du test de Von Frey, les ronds (O) indiquent une absence de réaction de l'animal, les croix (X) indiquent une réponse nociceptive de l'animal. (C) Pour le test du plantar, les animaux sont placés sur une plaque en verre surélevée, isolés dans des boîtes en plexiglass, et stimulés par un faisceau infrarouge, au niveau des pattes arrières pour déterminer le seuil de sensibilité au chaud. (D) Lors des tests de Von Frey et du plantar les stimuli sont appliqués au milieu de la face ventrale de la patte arrière des souris, représentée sur ce schéma par le cercle rouge indiquant la zone de stimulation. (E) Lors du test de la plaque froide, chaque animal est placé sur une plaque réglée à une température de 2°C, durant maximum 20 secondes. Lors de l'observation d'une réponse nociceptive induite par le froid l'animal est retiré de la plaque et la latence notée.

Von Frey : Le test du filament de Von Frey permet de mesurer la sensibilité mécanique des animaux. Nous avons utilisé la méthode du « up and down » (Chaplan et al., 1994), qui consiste à appliquer le filament sous la patte arrière de la souris (**Figure 15.A, D**). Si un réflexe nociceptif est observé (retrait, léchage ou secouement de la patte) la force du filament testé sera diminuée, au contraire si aucun réflexe nociceptif n'est observé on augmente la force du filament. Six filaments (BioSeb, Vitrolles, France) de : 0,02g, 0,04g, 0,07g, 0,16g, 0,4g, 0,6g, 1g et 2g sont utilisés, en commençant par celui de 0,16g. Les filaments sont tous appliqués avec une force équivalente jusqu'à ce qu'ils se courbent durant 3 s. Chaque patte est stimulée 6 fois, en respectant un intervalle de minimum 5 min entre chaque stimulation, les résultats sont reportés sur une fiche de score (**Figure 15.B**).

Plantar : Le test de Hargreaves, aussi nommé plantar permet de mesurer la sensibilité thermique au chaud ([Hargreaves et al., 1988](#)). Sous la plaque de verre se trouve un faisceau laser (Ugo Basile, Gemonio, Italie), qui est appliqué au niveau de la face plantaire de la patte arrière des souris (**Figure 15.C-D**) avec une intensité de radiation de 15 durant maximum 20 s afin d'éviter toute lésion des tissus. Nous mesurons 3 latences de retrait par patte, chacune espacée d'au moins 5 min.

Plaque froide : Le test de la plaque froide permet de mesurer la sensibilité thermique au froid des animaux ([Jasmin et al., 1998](#)). Ces derniers sont amenés dans la salle de test par groupe de 9, ils sont laissés dans leur cage durant 5 min afin qu'ils s'habituent à l'environnement. Les animaux sont testés un par un. On place l'animal au centre de la plaque (Ugo Basile, Gemonio, Italie) (**Figure 15.D**) réglée à une température de 2°C, durant maximum 20 s afin d'éviter toute lésion tissulaire. Dès qu'un signe d'inconfort est observé (retrait d'une patte de la surface de la plaque, déplacement saccadé, saut) l'animal est retiré de la plaque et replacé dans sa cage. La latence de réaction est notée.

6. Tests de bien-être

Ces tests visent à évaluer le niveau de bien-être général des animaux, par des observations et des mesures de comportements innés ([Deacon, 2012](#); [Jirkof, 2014](#); [Kremer et al., 2021](#)). Ils permettent de mettre en évidence chez les rongeurs des altérations des comportements dirigés vers un but (toilettage, construction d'un nid...), pouvant se rapporter chez l'Homme à une incapacité à réaliser des activités de la vie quotidienne par manque d'envie, des symptômes communs à de nombreuses maladies psychiatriques (troubles de l'humeur, schizophrénie...) et neurologiques (neuropathie, Alzheimer...). Ces testent servent donc à mieux caractériser les modèles animaux utilisés lors des recherches précliniques.

Afin de réduire au maximum le stress induit par le changement d'environnement des animaux, les tests de nesting et de burrowing sont réalisés dans les pièces et cages d'hébergement (**Figure 16.B-C**) des animaux.

Afin de voir l'impact du comportement de binge sur le bien-être des animaux au cours du temps, ces tests sont réalisés 2,4 et 8 semaines après le début du protocole de BS (**Figure 18**), en dehors des horaires d'accès à la solution sucrée.

Splash test : Le splash test a pour but d'évaluer le bien-être des animaux en se basant sur leur activité de toilettage. De nombreuses études montrent une diminution du temps passé à se toiletter dans des modèles de stress chronique (Willner, 2005; Planchez et al., 2019). Les animaux sont placés dans une cage propre avec de la sciure, après une période de 2 min leur permettant d'explorer le nouvel environnement, une solution visqueuse (saccharose 20%, m/V) est vaporisée sur leur dos incitant ainsi l'auto-nettoyage de leur fourrure (Yalcin et al., 2005; Roeckel et al., 2017). Durant les 5 min de test plusieurs paramètres sont mesurés : la latence de premier toilettage, le temps total de toilettage, la zone (tête, dos), le nombre d'épisodes de toilettage, le nombre d'ébrouement. Une altération du bien-être des animaux engendre une diminution du toilettage.

Nesting: Le test du nesting vise à évaluer le bien-être des rongeurs selon le soin apporté à la construction de leur nid (Deacon, 2006, 2012; Jirkof, 2014). Dans la nature le nid sert à la fois à réguler la température corporelle, à se protéger des prédateurs ou autres menaces externes, ou encore pour garantir la reproduction de l'espèce. En laboratoire, ce comportement est également observé spontanément chez les souris mâles et femelles. Afin de réaliser ce test, une échelle de score allant de 1 à 5 (**Figure 16.B**), selon le degré de complexité du nid, a été établie dans le laboratoire. Une feuille de papier absorbant (utilisée en routine comme matériel de nidification dans le laboratoire) pliée en 3, est introduite dans la cage de l'animal, après avoir préalablement enlevé tout autre matériel de nidification, 3h avant l'extinction des lumières (**Figure 16.A**) une période de faible activité pour les souris. Les scores sont attribués sur photos prises après 2h, sans que l'expérimentateur ne connaisse le groupe de l'animal correspondant. Lors de ce test plus le score est élevé, meilleure est la qualité du nid et donc l'investissement de l'animal dans ce procédé. Au contraire un score faible indique un nid moins bien élaboré, dû à un désengagement dans les soins autoadministrés.

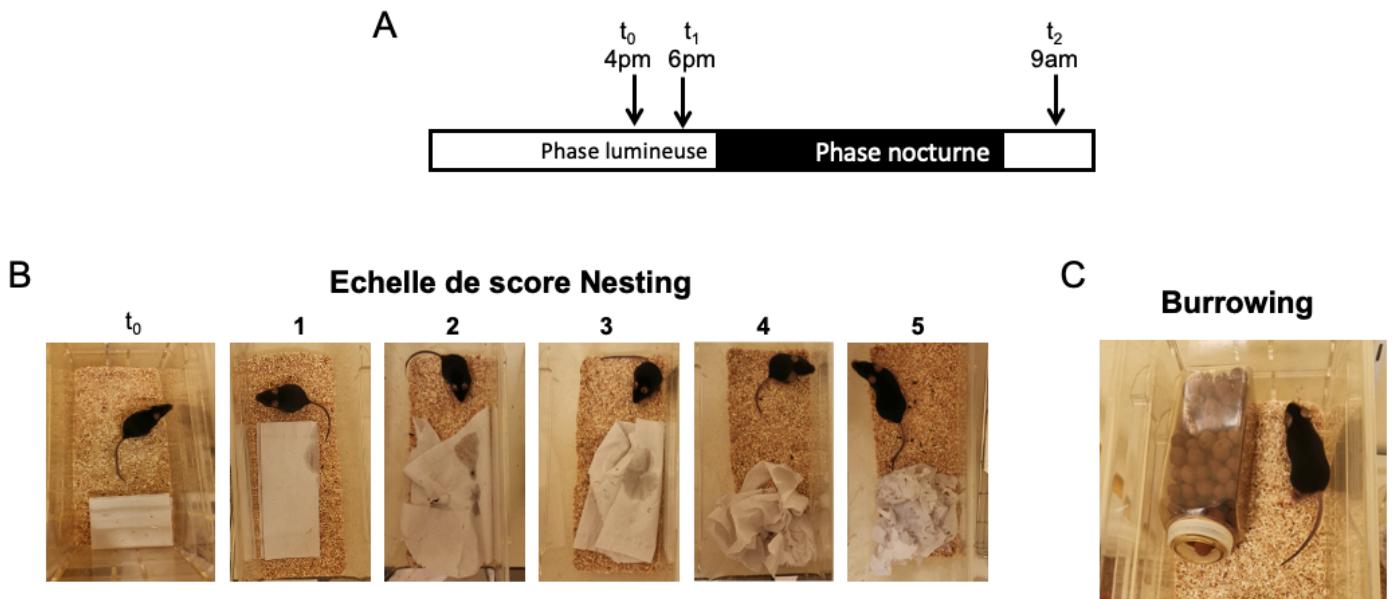


Figure 16. Tests du nesting et du burrowing

(A) Ces tests donnant un indice du bien être des souris, sont réalisés durant la phase lumineuse, 3h avant l'extinction des lumières (t₀), dans les cages d'hébergement afin de ne pas induire de stress. Deux mesures sont faites, la première 2h après le début du test (t₁), et la deuxième le lendemain matin soit 15h après (t₂). (B) Afin de réaliser le test du nesting, une feuille de papier absorbant pliée en 3, est introduite dans la cage à t₀. Une échelle de score de 1 à 5 est établie avec les critères suivants : 1. la feuille est toujours pliée, ou au moins partiellement, 2. la feuille est dépliée, mais pas déchirée, 3. la feuille est dépliée et légèrement déchirée et positionnée au milieu de la cage, 4. la feuille est modérément déchirée, placée contre une des parois de la cage en forme de nid avec des «murs» hauts, 5. «le nid parfait» placé contre une des parois, le papier est largement déchiré, présente un trou au milieu où l'animal peut se nicher et des «murs» hauts. (C) Au début du test de burrowing (t₀), un biberon rempli de billes d'argile est placé dans la cage d'hébergement de chaque animal, permettant de mesurer la quantité de billes déplacées hors du biberon par l'animal.

Burrowing: Le test du burrowing se base sur le comportement inné des rongeurs à creuser (Deacon, 2012; Jirkof, 2014) qui dans leur environnement naturel leur sert à construire et entretenir les galeries sous-terraines leur permettant d'atteindre des sources de nourriture ou d'y faire un terrier. Lors de ce protocole, un biberon de 300 mL rempli de billes d'argile (8-16mm de diamètre, Botanic) (**Figure 16.C**) est introduit dans la cage 3h avant le début de la phase sombre (**Figure 16.A**), une période où les souris ne sont pas spontanément actives, permettant ainsi d'éviter un effet seuil. Les biberons pleins sont pesés avant qu'ils ne soient placés dans les cages (t₀), 2h après (t₁) (les biberons sont reremplis avant d'être replacés dans la cage), et le lendemain matin (soit 15h plus tard), afin de calculer la quantité de billes déplacées par chaque animal ($Billes\ déplacées = (poids\ biberons\ t_0) - (poids\ biberons\ t_1)$). L'activité importante des animaux durant la phase nocturne engendre l'apparition d'un effet

seuil, avec des biberons complètement vidés, ne permettant pas de différentier les animaux. Seule l'activité sur 15h sera présentée. La mise au point de ce test nous a montré la nécessité d'une séance d'habituation afin de contrer l'effet de néophobie à l'encontre du matériel utilisé. Durant ce test, si les souris creusent moins, donc déplacent des quantités de billes moins importantes hors du contenant, leur bien-être est probablement plus altéré.

Urine sniffing test (UST): Ce test comportemental décrit dans la littérature uniquement chez les individus mâles, se base sur l'intérêt des animaux pour les odeurs provenant des phéromones du sexe opposé ([Malkesman et al., 2010; Scheggi et al., 2018](#)) et donc du comportement de reproduction. Nous avons adapté le protocole d'après l'étude réalisée par Malkesman et ses collaborateurs ([Malkesman et al., 2010](#)), montrant chez des rongeurs mâles une augmentation de la libération de dopamine, associé à des vocalisations lors de la présentation d'urine de femelles, suggérant que ce stimulus est perçu comme récompensant. De plus, ils ont montré que suite à un protocole d'impuissance acquise les rongeurs mâles passent moins de temps à renifler l'urine d'individus femelles, montrant que ce comportement est altéré dans un contexte stressant.

L'expérience est filmée et analysée à l'aide du logiciel ANYmaze (Stoelting Co, Dublin, Europe), permettant de mesurer le temps passé dans les différentes zones, ainsi que la vitesse de déplacement, et le temps passé à renifler les coton tiges. Nous avons choisi d'exposer les individus simultanément à deux stimuli olfactifs, respectivement de l'urine de souris mâles et femelles (**Figure 17.A**), comme fait précédemment dans la littérature avec de la litière provenant de cages d'individus des deux sexes ([Agustín-Pavón et al., 2014](#)). Pour cela, un coton tige imbibé d'urine de souris mâles ou femelles, a été fixé à chaque extrémité d'une cage (14 cm h x 16 cm l x 29.5 cm L), divisée en 3 zones (**Figure 17.B**) :

- « urine femelle » située à l'extrémité de la cage contenant le coton imprégné d'urine de femelles
- « urine mâle » à l'autre extrémité de la cage avec le coton imprégné d'urine de mâles
- « centre » séparant les deux zones précédentes.

Les zones mâles et femelles représentent chacune 40% de l'espace total, et le centre 20%. Avant le passage de chaque individus 20 µL d'urine sont ajoutés sur les cotons tiges. L'urine est prélevée par simple contention chez plusieurs animaux mâles et femelles de même fond génétique (C57BL6/J), en âge de se reproduire (8 mois), et conservée à 4°C durant maximum 4 jours.

En dépit, du manque de données dans la littérature sur ce test chez les femelles, nous avons décidé de tester les deux sexes. Même si les femelles sont naturellement attirées par l'odeur d'individus mâles, à des fins reproductive, plusieurs études montrent que les femelles passent plus de temps à explorer des stimuli olfactifs d'individus du même sexe (Davies and Bellamy, 1972; Martinez-Ricos et al., 2006; Agustín-Pavón et al., 2014). Cependant, seules les odeurs du sexe opposé engendrent une préférence de place (Martinez-Ricos et al., 2006; Agustín-Pavón et al., 2014), suggérant que les stimuli olfactifs provenant de mâles sont récompensant pour les femelles. En cas de stress, ou d'altération du bien être des souris femelles, on pourrait donc s'attendre à une diminution du temps passé à renifler l'urine mâle.

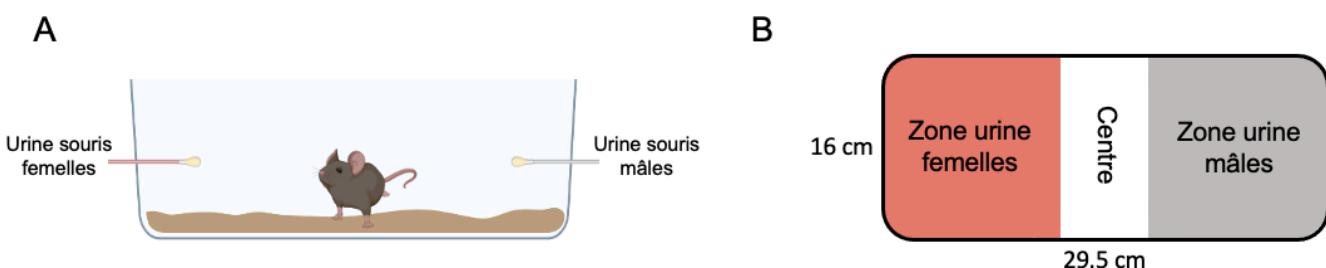


Figure 17. Urine sniffing test

(A) Un coton tige imprégné d'urine de souris mâles ou femelles est fixé à chaque extrémité de la cage. Le temps passé à renifler l'urine de chaque sexe est comptabilisé durant 5 minutes. (B) Le dispositif de test est divisé en 3 zones distinctes : le centre séparant les deux zones de taille équivalente contenant le coton avec l'urine.

7. Tests d'anxiété

Ces tests ont pour but de mesurer le niveau d'anxiété des animaux en les plaçant dans des situations conflictuelles entre leur comportement exploratoire spontané et une situation aversive, basée sur la condition naturelle de proies des souris évitant les endroits fortement lumineux et exposés (La-Vu et al., 2020).

Entre chaque animal le matériel est nettoyé avec de l'alcool 35% et rincé à l'eau pour nettoyer les excréments et éliminer les odeurs. A la fin de chaque session de l'alcool 70% est utilisé.

Open field (champ ouvert) (Figure 5.A) Ce test de 5 min, se déroule dans une arène carrée (54 x 54 cm), dont le centre et fortement éclairé (>300 Lux) et à découvert, la périphérie plus faiblement éclairée (<150 Lux) est bordée de parois hautes (40cm). Les mouvements des animaux sont filmés avec le logiciel ANYmaze (Stoelting Co, Dublin, Europe), qui permet également de mesurer et analyser la distance parcourue et le temps passé dans les différentes zones ([Seibenhener and Wooten, 2015](#)). Les parois rendent la périphérie plus sécurisante, alors que le centre est considéré comme anxiogène pour l'animal. Le temps passé au centre, ainsi que le nombre d'entrées sont donc des indices du niveau d'anxiété des souris. Au début du test la souris est déposée dans la zone périphérique. Ce test permet également de donner un indice de l'activité locomotrice globale des animaux.

Light/dark (Figure 5.D) Durant ce test les animaux sont placés dans des boîtes (boîte CPP, Imétronic, Bordeaux, France) en plexiglass, séparées en 3 compartiments : un compartiment sombre (<2Lux) et un compartiment fortement éclairé (>3000 Lux) de dimensions équivalentes (15.5 x 16.6 x 20 cm), séparés par un couloir central (6 x 16.5 x 20 cm). Le test a été réalisé selon les conditions décrites dans la littérature ([Takao and Miyakawa, 2006](#)). Au début du test l'animal est placé dans le compartiment sombre, et peut librement explorer les 3 compartiments durant 10 min. Ses déplacements ainsi que le temps passé au sein des différents compartiments sont mesurés automatiquement, grâce à un système de faisceaux infrarouges. Le compartiment sombre est sécurisant pour l'animal, alors que le compartiment lumineux est anxiogène. Plus l'animal est anxieux plus il passera de temps dans le compartiment obscur.

Labyrinthe en croix surélevé Le labyrinthe (Ugo basile) (**Figure 5.B**) comme décrit dans la littérature ([Komada et al., 2008](#)) est surélevé à 60 cm au-dessus du sol, et composé de 4 bras (80 L x 4 L cm), 2 bras fermés encadrés par des parois hautes de 35 cm où la luminosité est faible (8Lux), 2 bras ouverts fortement éclairés (200Lux). A l'intersection de ces 4 bras le centre présente une intensité lumineuse de 90Lux. Les bras ouverts représentent une zone de danger pour la souris, qui se retrouve

complètement à découvert. Au début du test les animaux sont placés au niveau du centre du labyrinthe la tête face à un bras fermé. Ils peuvent explorer librement le dispositif durant 5 min, au cours desquelles leurs déplacements sont enregistrés grâce au logiciel ANYmaze (Stoelting Co, Dublin, Europe). Le temps passé dans les bras ouverts donne donc un indice de l'anxiété des animaux. D'autres paramètres éthologiques d'exploration liés à la prise de risque ont été comptabilisés, tels que les « head dipping », qui correspondent aux moments où l'animal se trouve dans le bras ouvert et plonge sa tête dans le vide pour regarder par-dessus, ou encore les étirements, lors desquels l'animal se trouve dans le bras fermé et allonge son corps pour explorer le bras ouvert.

B. Études moléculaires

1. Prélèvements des tissus

a) Tissus frais

Le dernier jour du protocole de BS les animaux sont mis à mort par dislocation cervicale, à l'heure supposée de début d'accès à la solution sucrée ($\pm 3h$).

Le cerveau est rapidement extrait de la boîte crânienne afin de réaliser une micro-dissection sur glace, à l'aide d'une matrice (Harvard apparatus, Holliston, MA, USA) et d'emportes pièces des régions suivantes : cortex préfrontal (PFC), noyaux caudé putamen (CPu), nucleus accumbens (Nac), aire tegmentale ventrale (VTA), hypothalamus latéral (LH), substance grise péréiaqueducale (PAG), amygdale (AMY).

Les foies ainsi que les tissus adipeux (TA) gonadiques gauches sont prélevés et pesés. Plusieurs prélèvements sont réalisés au niveau hépatique, un morceau de 3 mm provenant du lobe hépatique droit (le lobe le plus volumineux) servira à l'analyse histologique il est plongé dans l'isopentane préalablement refroidi sur glace durant 1 min, pour l'analyse par PCR 3 morceaux d'environ 2 mm^2 sont prélevés aléatoirement sur les 3 autres lobes.

Les tissus cérébraux et gonadiques sont congelés dans de la glace carbonique, puis conservés à -80°C . Les tissus hépatiques sont congelés dans l'azote liquide, puis conservés à -80°C .

b) Tissus fixés par perfusion trans-cardiaque

Les animaux sont profondément anesthésiés par injection intrapéritonéale d'une dose létale (10mL/Kg) d'une solution de Kétamine (Imalgène 1000, 200 mg/kg) Xylazine (Rompun 2%, 30 mg/kg). Lorsqu'ils ne présentent plus de réflexes moteurs, le thorax est incisé afin d'exposer le cœur. Une aiguille reliée à une pompe péristaltique, permettant de faire passer des fluides avec un débit constant de 19 mL/min, est insérée au niveau de l'apex gauche du cœur (Wu et al., 2021), permettant le passage des solutions à travers tout le système vasculaire. Dans un premier temps une solution saline (NaCl 0,9%) refroidie à 4°C permet de rincer tout le sang présent, ensuite une solution de paraformaldéhyde (PFA) 4% permet de fixer les tissus en inhibant les réactions enzymatiques et métaboliques, et en permettant la création de liaisons covalentes entre les acides aminés.

Les cerveaux sont retirés de la boîte crânienne et conservés 24h à 4°C dans du PFA 4%, avant d'être transférés durant 72h dans une solution de D-glucose 30%, permettant de maintenir l'intégrité cellulaire, et d'éviter la formation de cristaux de glace lors de la congélation. Ils sont ensuite plongés 1 min dans de l'isopentane refroidi à -45°C, puis congelés au -80°C jusqu'à utilisation des échantillons.

Cette technique de fixation permet de préserver la morphologie de l'échantillon, ainsi que la structure secondaire et tertiaire des protéines.

2. Prélèvements sanguins

A la queue : Nous avons fait le choix de réaliser des prélèvements sanguins à la queue, afin de limiter le stress induit par des prélèvements submandibulaires pour lesquelles une contention est nécessaire chez la souris. 5 à 10 min avant le début de cette procédure, un anesthésique local (Eurocaïne) est appliqué à l'extrémité de la queue des animaux. Une légère incision permettant un écoulement sanguin est réalisée, et le sang est collecté avec des capillaires héparinés de 20 µL (Vf=60 µL). A la fin du prélèvement, l'écoulement sanguin est stoppé par une légère compression de la queue. Le sang est transféré dans des tubes héparinés (PST LH tubes, BD Microtrainer), centrifugé 10 min à 6 000 rcf. La phase supérieure des échantillons correspondant au sérum ($\pm 30 \mu\text{L}/\text{animal}$) est transférée dans un tube Eppendorf et congelée à -80°C.

Lors des sacrifices : Afin de limiter le stress induit aux animaux, les prélèvements sanguins sont faits après la décapitation de l'animal en récupérant le sang au niveau de la nuque. Le sang est transféré dans des tubes héparinés (PST LH tubes, BD Microtrainer), centrifugé 10 min à 6 000 rcf. La phase supérieure des échantillons correspondant au sérum ($\pm 100 \mu\text{L}/\text{animal}$) est transférée dans un tube Eppendorf et congelée à -80°C.

3. Mesure de la glycémie

Ces mesures sont faites en début d'après-midi, à l'issu des 4h d'accès à la solution sucrée. Lors des prélèvements sanguins une goutte de sang est déposée à l'extrémité d'une bandelette de test de glycémie, connectée à un glucomètre permettant de déterminer le taux de glucose présent dans le sang en mg/dL.

4. qPCR

Tissus cérébraux

L'ARN total des tissus cérébraux est isolé et purifié par une technique d'extraction liquide-liquide classiquement utilisée au laboratoire (Bourdy et al., 2021; de Sa Nogueira et al., 2021). Le matériel et les surfaces sont traités avec du RNaseZAP (Sigma, #SLBD1696V) afin de prévenir la dégradation des ARN par les RNases omniprésentes dans notre environnement. Les tissus sont homogénéisés par broyage mécanique avec un potter dans du Trizol (TR118, MRC). Le chloroforme permet de séparer la solution en trois phases distinctes, la phase inférieure contenant les protéines dénaturées, la phase intermédiaire correspondant à l'ADN et la phase supérieure contenant l'ARN. Cette dernière est récupérée et incubée à -20°C toute la nuit avec de l'isopropanol pour précipiter les ARN, qui sont ensuite lavés avec de l'éthanol 75%. Après séchage, et mise en suspension des ARN dans 20 μL d'eau ultrapure, la quantité d'ARN présente dans les échantillons est dosée par spectrophotométrie, avec le Nanovue (GE Healthcare).

Une étape de rétrotranscription permet de synthétiser l'ADN complémentaire (ADNc) à partir de 750ng d'ARN total avec le réactif iScript Reverse Transcription Supermix (Biorad, #1708841).

Les PCR sont réalisées dans le thermocycleur CFX96 TouchTM (Biorad, France), dans des plaques 96 puits en tripliquas, à partir de 0.5 µL d'ADNc par puits, 3 µL de primers (1µM), 7.5 µL Sso AdvancedTM Universal SYBR Green supermix (Biorad, France). Les primers ont été spécifiquement élaborés avec Primer-BLAST (NCBI). Nous avons ciblé des gènes du système endocannabinoïdes (CB1, CB2, FAAH), des marqueurs astrocytaire (GFAP), microglial (Iba1) et inflammatoires (TNF α , CCL2, CCL5) (**Tableau 6**). Une quantification relative, par rapport au gène de référence (rplp0 ou 36B4) et au groupe contrôle (NA), a été réalisée par la méthode des $\Delta\Delta Cq$.

Tissus hépatiques

Cette expérience étant faite en collaboration avec le CRBS, nous avons donc utilisé la technique d'extraction faite en routine dans ce laboratoire, avec le kit d'isolement d'ARN MagMaxTM mirVanaTM (#A27828). Dans un premier temps, les échantillons de foies d'environ 120mg, sont broyés mécaniquement par des billes métalliques, dans 500 µL de tampon de lyse (ThermoFisher, #85001), à 3000 rpm durant 1 min avec un homogénéisateur (micro-dismembrator).

125 µL de lysats tissulaires sont incubés 30 min à 56°C avec la protéinase K permettant de dégrader les protéines. Ensuite, les lysats tissulaires sont placés dans un système de purification d'acides nucléiques (KingFisherTM Duo Prime, #5400110), dans une plaque de 96 puits. L'isopropanol permet de précipiter les ARN, et une DNase dégrade l'ADN présent. L'ARN est sélectivement extrait par liaison sur des microbilles magnétiques.

Les concentrations d'ARN, ainsi que leur intégrité sont mesurées par fluorométrie avec le Qubit (Invitrogen).

Les concentrations obtenues étant élevées (>600 ng/µL), les échantillons d'ARN sont dilués pour obtenir des solutions d'ARN de 500 ng/µL afin d'éviter des pipetages de moins de 1 µL, lors de la rétrotranscription. Cette dernière est faite à partir 1 µg d'ARN avec le réactif iScript Reverse Transcription Supermix (Biorad, #1708841).

Les PCR sont réalisées de la même façon que dans les tissus cérébraux, en ciblant les gènes du système endocannabinoïde (CB1, CB2, FAAH) et des marqueurs inflammatoires (TNF α , IL1 β , CCL2, CCL5) (**Tableau 6**).

5. Colorations histologiques du foie

Coupe au cryostat L'échantillon provenant du lobe hépatique droit est fixé avec de l'OCT sur le socle du cryostat (Leica, CM3050 S) à -21°C. Après avoir entamé la coupe du tissu sur $\pm 300 \mu\text{m}$ et vérifié au microscope (x20) que les coupes ne présentaient plus d'artefacts dus à la congélation, 6 coupes de 10 μm d'épaisseur sont récupérées sur lames avec un échantillonnage de 60 μm . Pour chaque individu nous avons collecté 6 lames conservées à -20°C, avant la réalisation des techniques de coloration. Le tissu restant est récupéré et placé au -80°C.

Hématoxyline-éosine (HE)

Cette coloration est utilisée en routine pour marquer les différents composants cellulaires grâce à l'hématoxyline un colorant basique qui donne une couleur bleue aux substances acides telles que l'ADN présent dans les noyaux, et l'éosine un colorant acide qui se fixe aux molécules basiques donnant une couleur rose au cytoplasme. Après déhydrations (acétone) et séchage (incubation à 37°C) des lames, elles sont plongées successivement dans différents bains : eau du robinet, hématoxyline (DiaPath), eau du robinet, alcool acide, eau du robinet, éosine (Sigma-Aldrich), eau du robinet, éthanol 80%, éthanol 100%. Une lame par animal est colorée. Après fixation de la lamelle avec une solution non aqueuse (EUKITT) et séchage, les lames peuvent être observées au microscope (Leica, DM5500).

Red oil (RO)

Cette technique de coloration permet la visualisation des triglycérides et lipides neutres grâce à l'utilisation d'un colorant liposoluble. Elle est réalisée par passage des lames dans des bains successifs : PBS, solution RO (poudre red oil (Sigma-Aldrich) diluée dans de l'isopropanol 99%), isopropanol 60%, rinçage à l'eau, hématoxyline (pour colorer les noyaux), rinçage à l'eau. Une lame par animal est colorée. Après fixation de la lamelle avec une solution aqueuse (Aquatex, Merck) et séchage, les lames sont observées au microscope (Leica, DM5500).

C. Quantification et analyses statistiques

1. Quantification du marquage RO

Lors de l'observation au microscope, une photo par coupe, au grossissement x20, est prise, soit 6 photos par animaux. Le logiciel *Qupath 0.3.0* est utilisé pour quantifier les pixels rouges, en utilisant le module « pixel classification ». Ce dernier permet la création d'un seuil de détection permettant de comptabiliser les pixels de valeurs définies comme positifs pour le marquage. La valeur seuil de détection est déterminée par la valeur des pixels de zones colorées en rouge sur 5 images choisies aléatoirement. Le seuil fixé est testé sur plusieurs images afin de s'assurer que la détection est optimale. De plus, pour chaque image les zones à analyser sont définies, afin d'éliminer les artefacts présents, tels que des déchirures sur la coupe. Enfin, la valeur du bruit de fond est soustraite pour chaque image, pour éviter la détection de faux positifs.

2. Statistiques

Toutes les analyses statistiques sont faites en utilisant le logiciel RStudio version 1.2.5042.

Les données de consommation (liquide, nourriture), d'évolution du poids des animaux au cours du temps et d'actographie sont traitées en utilisant un modèle linéaire mixte (LMM), permettant la comparaison de mesures répétées, en prenant en compte la variabilité due à des effets fixes : le groupe, le sexe ou le point temporel (jour ou semaine), et des effets aléatoires : la variabilité interindividuelle. La fonction « *lmer* » du package « *lme4* » a permis de comparer les groupes entre eux, associé à l'effet du temps, du sexe et l'interaction entre ces trois paramètres.

Le test du nesting a nécessité une analyse particulière par un modèle linéaire mixte généralisé (MLMG), afin de pouvoir comparer des variables discrètes (les scores). La fonction « *glmer* » du package « *lme4* » permet de comparer l'effet du groupe, du sexe, du temps et l'interaction entre ces facteurs sur la distribution des scores.

Pour les tests comportementaux répétés au cours du temps chez les mêmes animaux (Von Frey, plantar, plaque froide, burrowing, splash test) les données sont

analysées par ANOVA mixte à mesure répétée, avec la fonction « aov_car » du package « afex ». Ce type d'ANOVA permet de comparer des données non-indépendantes en prenant en compte les effets fixes (groupe, sexe, temps) et aléatoires (sujet). Avec cette analyse les moyennes entre les groupes sont comparées entre elles, ainsi que l'impact des effets fixes et les interactions entre eux.

Pour les tests comportementaux réalisés qu'une fois au cours du protocole (OF, EPM, UST), ainsi que la prise de poids, les données métaboliques (poids du foie, des tissus adipeux) et les données de qPCR, la fonction « aov » du package « stat » est utilisée pour faire des ANOVA à un ou deux facteurs (groupe, groupe*sexe).

Pour les analyses de type ANOVA, les conditions d'application sont vérifiées avec le test de Levene (« levenetest », package « car ») pour l'homogénéité des variances, et le test de Shapiro-Wilk (« shapiro.test », package « stat ») pour la normalité. Pour les données ne respectant pas la distribution normale, elles sont transformées par transformation logarithmique, racine carrée ou racine cubique pour obtenir une distribution normale.

Pour les qPCR, un seuil de cycle de quantification (Cq) de 33 est établi, au-delà duquel l'expression du gène d'intérêt est considérée comme trop faible, et les données exclues ([Bourdy et al., 2021](#)). De plus, au sein des tripliquats une différence entre deux Cq supérieure à un est considéré comme une valeur aberrante, la valeur la plus éloignée des deux autres est exclue de l'analyse. L'expression relative des gènes est calculée par la méthode $\Delta\Delta Cq$, le premier delta correspondant à la différence entre la moyenne des Cq du gène d'intérêt et le Cq moyen du gène de référence (36B4) chez le même individu. Le second delta correspondant lui à la différence entre le premier delta pour l'échantillon d'intérêt, et le delta moyen du groupe contrôle (NA).

Au sein de chaque groupe les éventuelles valeurs aberrantes sont définies par la méthode d'écart interquartile (IQR), selon laquelle un point situé 1.5 fois l'IQR au-dessus du 3^{ème} quartile ou en dessous du 1^{er} quartile est exclu.

En cas de différence significative, au seuil p<0.05, une analyse post-hoc est réalisée avec un test de comparaisons multiples « emmeans » avec la correction de Bonferroni.

Résultats



Exemples de nourritures palatables issus d'archives personnelles

IV. Comorbidités comportementales associées au comportement de binge saccharose

A. Article 1: Altered reward processing following sucrose bingeing in mice

Cet article regroupe des résultats obtenus par la précédente doctorante de l'équipe Gaëlle Awad et par moi-même. Le projet de thèse de Gaëlle Awad portait sur les modifications induites par le comportement de BS sur les propriétés renforçantes de l'alcool par un protocole de préférence de place conditionnée (CPP). J'ai pour ma part réalisé les expériences sur les cohortes D et E. Dans ce contexte, j'ai mis en place des tests pour la mesure de l'anxiété, de l'état dépressif et du bien-être chez la souris, et j'ai également prolongé le protocole de BS à 8 semaines. J'ai donc réalisé les expériences pour les 2 cohortes de cet article sur lesquelles le protocole de BS est prolongé à 8 semaines et l'état émotionnel des souris est évalué (**Figure 18**). J'ai contribué aux expériences, à l'analyse des données et leur représentation graphique et à la rédaction de l'article, et développé certains points de la discussion.

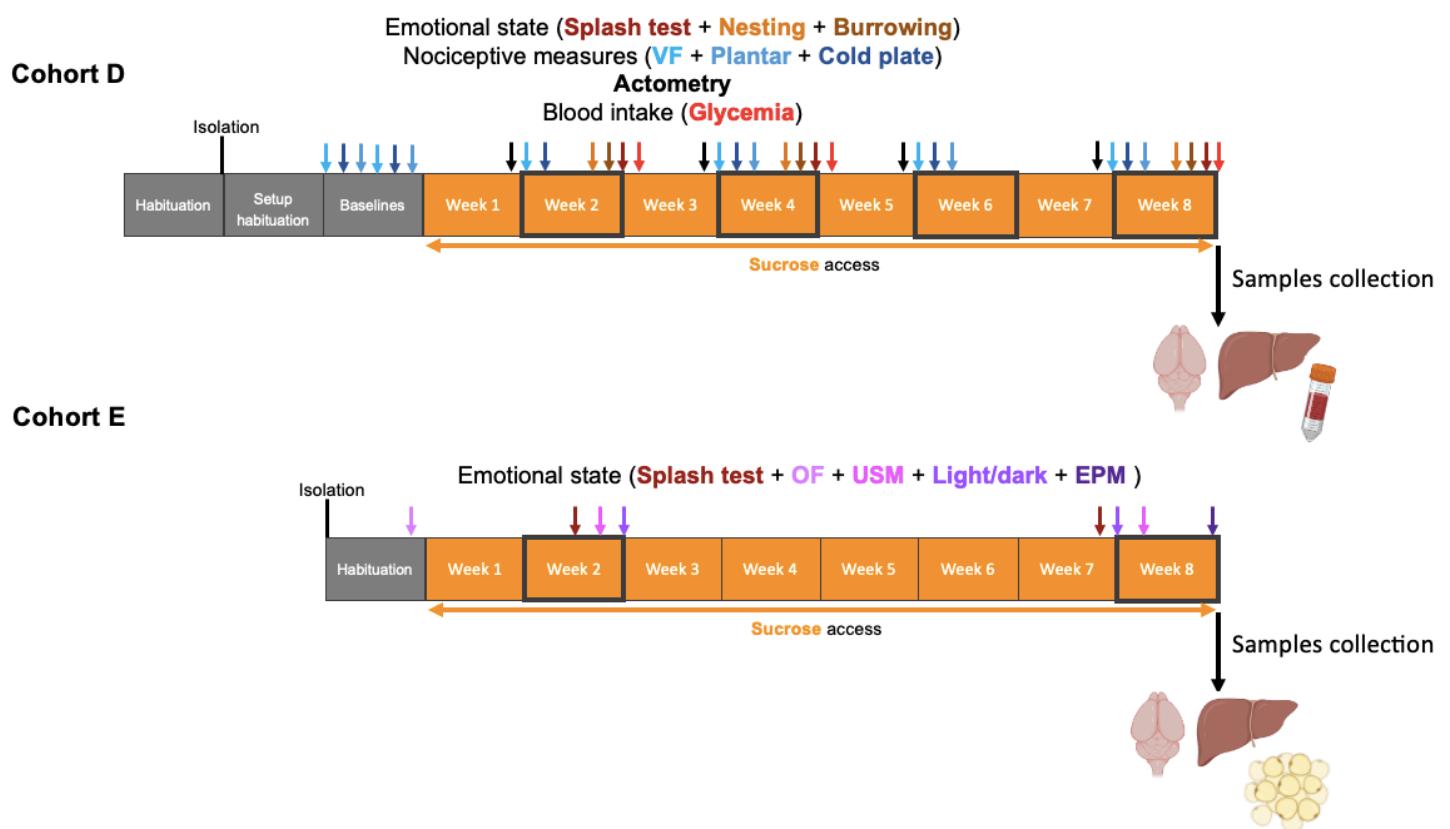


Figure 18. Design expérimental cohortes D et E

Altered reward processing following sucrose bingeing in mice

Gaëlle Awad¹, Anne-Sophie Aubry¹, Mary C. Olmstead², Katia Befort¹

¹Université de Strasbourg, Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives (LNCA), Centre de la Recherche Nationale Scientifique, 12 rue Goethe, F-67000, Strasbourg France

²Department of Psychology, Center for Neuroscience Studies, Queen's University, Kingston, Ontario K7L 3N6, Canada

Abstract

Binge eating disorder (BED) is the most prevalent eating disorder associated with multiple adverse health outcomes, especially mental health issues, including substance use disorders and mood and anxiety disorders. Given these high comorbidities, the objective of our study was to examine the relationship between the bingeing and the behavioral symptoms of BED. We used a sucrose bingeing model based on an intermittent access paradigm, in male and female mice. We examined the effect of 2-week sucrose paradigm on ethanol reinforcing properties using a conditioned place preference test (CPP). Well-being, anxiety-like and depressive-like behavioral tests were used to assessed emotional state following 2 and 8-week sucrose bingeing paradigm. Mice with intermittent access to sucrose developed binge-like behavior assessed by higher sucrose intake and escalation rate during the 1st hour of access in comparison to mice with a continuous sucrose access. CPP was blocked by sucrose bingeing behavior in both sexes, showing altered EtOH reinforcing properties. Emotional state was not altered in bingeing mice, even following a prolonged sucrose bingeing behavior. Interestingly, female bingeing behavior was exacerbated upon the prolonged protocol.

Key words (max 6): Binge eating; sucrose; CPP; well-being; sex; ethanol

Introduction

Among eating disorders, binge eating disorder (BED) is highly prevalent (Kessler et al., 2013; Guedjikova et al., 2019), and is characterized by excessive consumption of food, usually high in sugar and/or fat, within a short period of time. Recurring bingeing episodes are typically associated by a feeling of loss control over food intake (American Psychiatric Association, 2013a). Today, limited treatment options for BED exist (Giel et al., 2022; Monteleone et al., 2022);

Recent research have revealed that bingeing on palatable food can potentially influence vulnerability to develop psychostimulant (Blanco-Gandía et al., 2020) and alcohol (Azevedo et al., 2021) addiction. Preclinical results are rather inconsistent, with either an impairment of or an increase in intake or motivation for the drug, depending on the bingeing conditions, species or nature of palatable food. In particular, few studies have examined the effect of sucrose bingeing on ethanol responses, with one study highlighting an increase of ethanol (EtOH) intake following excessive sucrose access, with mixed results following intermittent or continuous sucrose access depending on EtOH concentrations (Avena et al., 2004). Other preclinical studies using a high fat diet (HFD) revealed that high fat bingeing attenuated (Sirohi et al., 2017) or increased EtOH (Blanco-Gandía et al., 2017, 2018) intake. Altered reward processing may be a key mechanism involved in such adaptations but this possibility remains unclear (Bodell and Racine, 2023). Based on these results, we hypothesize that animals that binge on sucrose would present a dysfunction of the reward response for reinforcing effects of ethanol.

BED is also highly comorbid with mood and anxiety disorders, with respective lifetime prevalence of 69.9% and 59% in BED patients (Udo and Grilo, 2019); It is stated in BED diagnostic criteria that hyperphagia episodes lead to marked distress and could induce self-disgust and guilt. Also, high levels of sucrose intake from sweet food/beverage appear harmful to mental health, in various countries (Shi et al., 2010; Knüppel et al., 2017; Jacques et al., 2019b). Preclinical studies indicate inconsistent findings with no change or altered emotional states in bingeing animals (Satta et al., 2016; Blanco-Gandía et al., 2017).

Therefore, in this context, we hypothesized that intermittent access to high sucrose would lead to altered perception of reinforcing properties of EtOH and changes

in well-being. To do so, we measured ethanol reward in the conditioned place preference (CPP) paradigm following two-week sucrose bingeing in mice. We also examined the potential alteration of well-being and mood following sucrose bingeing, by measuring behavioral responses to naturalistic stimuli, locomotor activity as well as anxiety like behavior, following prolonged sucrose access. Results from this study indicate that sucrose bingeing induces alteration of reward processing that is not associated with deficits in well-being or affective responses.

Materials and methods

Subjects

Male and female C57BL/6J mice were either from Charles River Laboratories, 4 weeks old upon arrival, or bred in the laboratory. They were housed 3 or 4 animals/cage under a 12-hour light dark cycle and standard temperature and humidity conditions ($22\pm2^{\circ}\text{C}$, $55\pm10\%$). Naïve mice were used to set up the EtOH CPP protocol. Other cohorts of mice were used for sucrose bingeing and EtOH experiments, or behavioral responses related to well-being and mood. Details of each cohort are provided in **Figure 19**. One week before the beginning of sucrose access, animals were isolated in standard cages (11.5 x 29.5 x 13 cm) and habituated to a two-bottle choice paradigm with access to water only. All experimental procedures took place during the light cycle. All procedures in this report were conducted in accordance with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and approved by the Comité Régional d’Ethique en Matière d’Expérimentation Animale de Strasbourg CREMEAS (APAFIS#2018100414319951 and #2021091410585920).

Drugs and treatment

EtOH solution for the drinking experiments was prepared from absolute anhydrous EtOH diluted to 20% alcohol (v/v) in tap water. EtOH solution was diluted to 20% (v/v) in saline for systemic administration at 2, 3, and 4 g.kg⁻¹doses.

Sucrose bingeing paradigm

Animals from 4 distinct cohorts were exposed to the sucrose bingeing paradigm to explore its consequences on ethanol reward, ethanol preference, well-being and anxiety-like behaviors. Caster sugar (Erstein, France) was dissolved in tap water,

measured as weight per volume (17.1% g/L), and delivered in 50 ml bottles in a two-bottle choice protocol (**Figure 19A**). This procedure, adapted from (Yasoshima and Shimura, 2015) was conducted as previously described (Awad et al., 2020); Briefly, all groups had access to water and standard food (either Mucedola RF421 or Safe A04) *ad libitum*. For the following 2 or 8 weeks, the intermittent access group (IA) received access to sucrose for 4 h/day in a 2-bottle choice paradigm (**Figure 19B**). One control group had continuous access to sucrose (CA) and a second control group had no access to sucrose (NA). Sucrose intake, divided by body weight (mL/g), was measured 1, 4, and 24 h after exposure. To avoid side preference, the placement (left or right) of the water and sucrose bottles was alternated each session.

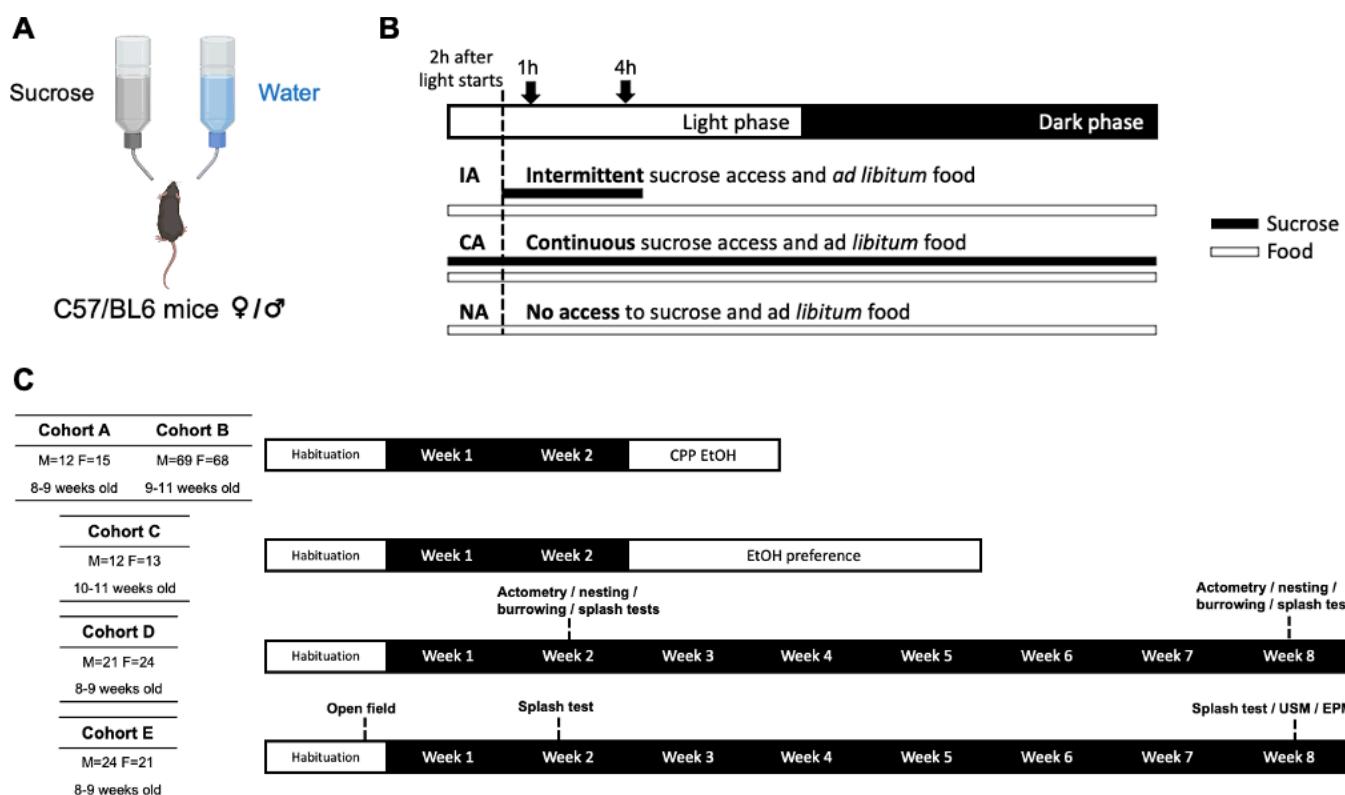


Figure 19. Experimental design and cohort details

(A) Male and female mice had access to a two-bottle choice set up, with sucrose and water, and *ad libitum* access to water and chow. (B) The experimental group had intermittent access (IA) to sucrose for 4 h, starting 2 h after the start of light cycle. The CA group received continuous access to sucrose and the NA group had no access to sucrose. (C) Sucrose bingeing paradigm was maintained for either 2 or 8 weeks, with other behavioral experiments conducted at specific time points depending on cohorts. Three cohorts went through 2 weeks of sucrose bingeing. In cohort A, mice from each of the three groups (NA, CA, IA) were tested for a CPP to EtOH, at the dose of $3\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. In cohort B, mice from NA and IA groups were tested on three EtOH doses ($2\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, $3\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$; $4\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$). Cohort C went through EtOH preference testing. Cohorts D and E went through an 8-week bingeing paradigm. Locomotor activity and emotional state tests were performed on cohort D at 2 and 8 weeks. An open field (before the start of sucrose access) and urine sniffing test (UST) and elevated plus maze tests (EPM) (at 8 weeks of sucrose access) were performed on cohort E. (CPP: conditioned place preference; EtOH: ethanol).

Conditioned place preference (CPP) to ethanol

This test, adapted from (Ben Hamida et al., 2019), was conducted in an apparatus (Imetronic, Bordeaux, France) composed of two compartments that differ by spatial pattern and floor texture. A central compartment separates the two others. The purpose of the pre-test is to familiarize the animals with the apparatus. Mice were placed in the corridor and once the recording started, they had access to both compartments during 30 min. For the conditioning phase (one conditioning trial/day), within each group and sex, mice were randomly assigned to one ethanol (EtOH) associated compartment (i.p. 2, 3, or 4 g.kg⁻¹; 20% v/v in saline) and one sodium chloride (NaCl) 0.9% associated compartment in a counterbalanced manner. To set up the test, a control group of mice received saline in both compartments. The mice were confined to their compartment for 5 minutes. The conditioning trial sessions to EtOH and NaCl occurred on alternating days over 8 days, also in a counterbalanced manner. On day 10 (post-conditioning trial), mice were placed in the corridor and allowed to freely explore both compartments during 30 min. Time spent in each compartment as well as locomotor activity were recorded. This experiment was conducted on cohorts A and B (**Figure 19C**) and a cohort of naïve mice was used to set up the CPP conditions without prior access to sucrose (M=6; F=7).

Two-bottle choice ethanol preference

In a distinct cohort of mice (cohort C, **Figure 19C**), EtOH consumption and preference at 5 different concentrations were examined, as in (Avena et al., 2004; Blednov et al., 2005). Briefly, 3%, 6%, 9%, 12% and 15% EtOH concentration volume to volume (v/v in tap water) were offered to mice on 4 days, starting with the lowest concentration and increasing to the highest over days. Bottle sides were exchanged every 2 days.

Well-being and mood behavior tests

On week 2 and 8 of the binge sucrose paradigm, male and female mice were tested for depressive-like behavior (nesting and splash tests) and well-being (burrowing test) (cohort D) (**Figure 19C**). Prior to the start of the sucrose access paradigm, mice were habituated to the new materials for the nesting and burrowing experiments. In a parallel cohort, behavioral responses of male and female mice were examined for depressive-like (splash test, weeks 2 and 8, urine sniffing test, UST, week

8) and anxiety behaviors (Open field, prior to sucrose access; elevated plus maze, EPM, week 8) (cohort E, **Figure 19C**). Experiments were conducted outside the 4 h sucrose access period (IA group), with at least 24 h between two tests.

Burrowing test

This test depends on the natural digging behavior of mice and was performed in the home cage ([Jirkof, 2014](#)). A 300 mL open bottle filled with clay marbles was weighed and introduced to each cage before light extinction. On the next morning, bottles were weighed to calculate the amount of marbles displaced by the animals.

Nesting test

This test is based on the innate behavior of nest building in mice and was performed in the home cage ([Deacon, 2006](#)). Briefly, a sheet of paper towel folded in 3 was placed in each cage 3h before light extinction, a period of low activity. Two hours later the quality and complexity of the nest was scored from 1 (worst) to 5 (best) by an experimenter blind to the experimental conditions of the animals.

Splash test

This test allows to evaluate the grooming behavior, which attests of self-care in mice ([Yalcin et al., 2005](#)). Mice were introduced into a clean cage (2 min), and sprayed with a viscous solution (20% w/V, sucrose) on their back. The number of grooming responses, and time spent grooming were recorded during 5 min.

Urine sniffing test

In this test, male exposure to female urine is perceived as a rewarding stimuli, and time sniffing is reduced following a learned helplessness paradigm ([Malkesman et al., 2010](#)). Briefly, mice were placed in a clean cage with cotton swabs fixed on each extremity of the cage with either 20 µl of male or female urine. ANYmaze software (Stoelting Co, Dublin, Europe) was used to record the experiment. Time spent and number of times each cotton swab was sniffed were recorded.

Open field

Two days prior to the start of sucrose access paradigm, mice were acclimated to the experimental room for 1h. Then they were placed in a square arena (54 x 54 cm)

with high walls (40 cm), the center was brightly illuminated (300 Lux) compared to the periphery (<150 Lux). Movements were video-recorded (ANY-maze software, Stoelting Co, Dublin, Europe) for 10 min, to measure global locomotor activity; increased time spent in the center reflects a lower anxiety-like behavior.

Elevated plus maze

Mice were acclimated to the experimental room for 1h, before starting the test. They were placed in the center of the apparatus (Elevated plus maze mouse, Ugo Basile) facing a closed arm, and left free to explore all the arms during 5 min. The session was video-recorded with ANYmaze software, to quantify the number of entries and time spent in open and closed arms.

Locomotor activity

Global locomotor activity of mice from cohort D was measured on week 2 and 8 (from 3pm-7am) using an actometry rack with infrared photocells on each extremity of the cage. This system provided counts of the number of back and forth movements in the cage, when mice break the beam. Cages were placed in the rack 4 h before light extinction, and the 3 first hours were counted as a habituation period.

Statistics

Statistical analyses were performed using RStudio (Version v1.3.1093). Sucrose intake was analyzed with a linear mixed model with fixed effects being groups*time*sex. Mixed analysis of variance (ANOVA) was used for CPP, EtOH preference and burrowing tests, with respective fixed effects: compartment*group*dose*sex; sex*group*concentration; sex*group*time. For anxiety tests, differences between the groups were analyzed by a two-way ANOVA (group*sex), as for UST (group*area), in which data for males and females were analyzed separately. Post hoc analyses were conducted by multiple pairwise comparisons using the Tukey correction method. For CPP, pairwise comparisons were conducted even if overall ANOVA did not reach significance since pairwise comparisons of contrasts using lsmeans and Tukey correction method remain valid (Hsu, 1999). Nesting test was analyzed with a generalized linear mixed model, with group*sex*time as the fixed effects, and post hoc analyses conducted with multiple pairwise comparisons using the Bonferroni correction method.

Results

Intermittent access to sucrose induces binge intake

In the 2-week paradigm, intermittent access group IA significantly increased sucrose intake across days during the 1st h (cohort A, $t_{(227)}=6.806$; $p=8.81 \cdot 10^{-11}$). The rate of escalation was significantly higher in the IA group compared to the CA group after 1 hour ($t_{(227.2)}=4.701$; $p=4.48 \cdot 10^6$) (Figure 20A). There was no significant difference of the daily intake for the IA group (cohort A: $t_{(228.82)}=0.858$; $p=0.392$), however, the rate of escalation was significantly higher in the IA group compared to the CA group (cohort A: $t_{(228.84)}=5.557$; $p=7.62 \cdot 10^{-8}$). A significant decrease in daily sucrose intake of the CA group across the days was observed (cohort A: $t_{(228.82)}=-7.046$; $p=2.14 \cdot 10^{-11}$) (Figure 20B). There was no sex difference for either the 1st h of access or the daily intake for cohort A (IA and CA, not shown). Similar results were obtained with cohort B, the IA group significantly increased sucrose intake across days during the 1st h of access (cohort B: $t_{(879)}=22.22$; $p<2 \cdot 10^{-16}$) (Figure 20A) and in terms of daily intake (cohort B: $t_{(879)}=29.84$; $p<2 \cdot 10^{-16}$) (Figure 20B). Interestingly, 1st h and daily sucrose intake escalated at a higher rate across days in females than males (cohort B: $t_{(878)}=2.70$; $p=0.0072$; data not shown).

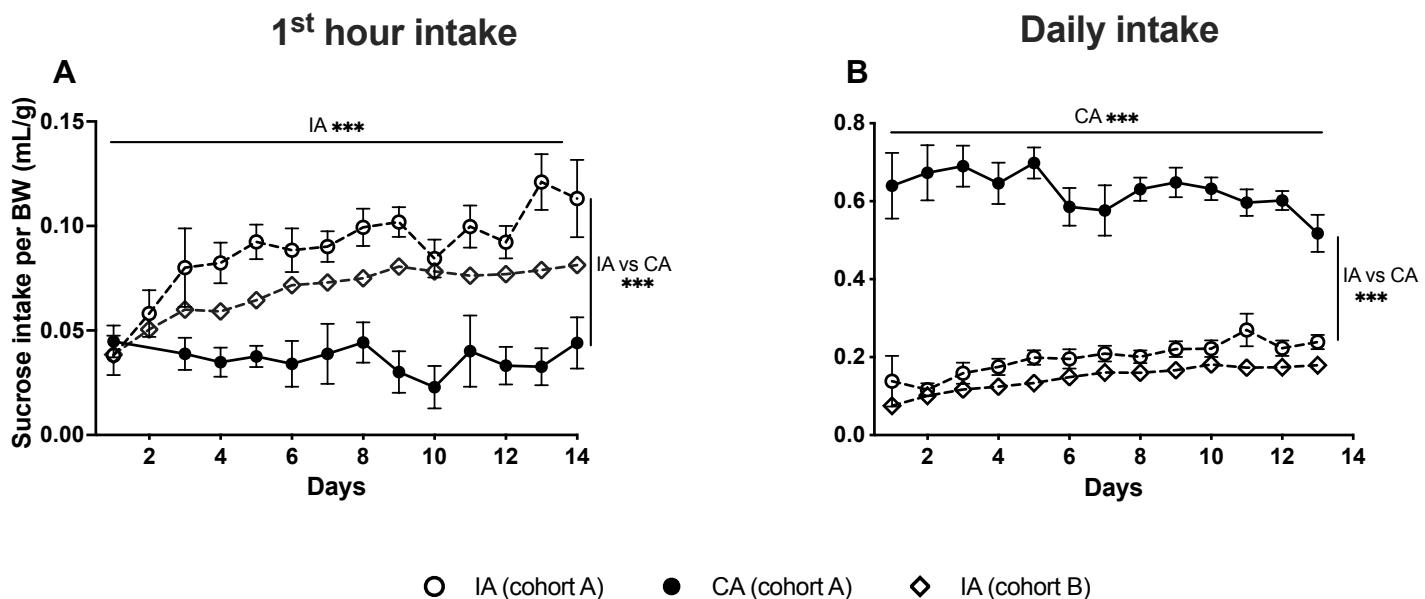


Figure 20. Sucrose intake during 2-week sucrose bingeing paradigm

(A) In cohort A, mice from the IA group (open circles) significantly escalated their intake compared to the CA group (dark circles) during the first hour of access. In cohort B, the IA mice (open diamond) showed a similar escalation intake profile as in cohort A. (B) In cohort A, CA mice showed a higher intake compared to IA mice, and significantly decreased their daily sucrose intake. IA mice from both cohorts showed an escalation of their daily intake. (IA: intermittent access; CA: continuous access; NA : No access; BW: bodyweight). Data presented as group mean \pm SEM. ***: $p < 0.001$.

EtOH induced CPP is blocked by sucrose bingeing

Results indicated an EtOH-CPP as the group x compartment effect was highlighted in cohort A ($F_{(2,19)}=5.26; p=0.015$). NA group of mice spent significantly greater time in the EtOH (3 g.kg⁻¹) paired compartment compared to the NaCl paired one ($t=2.91; p=0.0081$), as expected from the pilot experiment (**Supplementary Figure 24A**). A similar CPP was observed for the CA group mice ($t=3.44; p=0.0023$). However, the IA group showed no significant difference between time spent in each compartment ($t=-0.257; p=0.7998$) (**Figure 21A**). Interestingly, the same results were obtained at 3g.kg⁻¹, with a blocked EtOH-CPP in the IA group ($t=0.63; p=0.53$) compared to NA mice in a distinct cohort (cohort B) (**Figure 21B**). EtOH-CPP experiments at a lower dose (2g.kg⁻¹) and a higher dose (4g.kg⁻¹) showed no place preference neither in NA (2g.kg⁻¹: $t=0.27; p=0.79$; 4g.kg⁻¹: $t=0.69; p=0.49$) nor IA groups (2g.kg⁻¹: $t=0.92; p=0.36$; 4g.kg⁻¹: $t=0.92; p=0.36$) (**Figure 21B**). The results showing a blocked CPP following bingeing behavior is not due to differences in EtOH preferences. Indeed, there was no significant differences between groups in an experiment evaluating EtOH consumption at different concentrations (**Supplementary Figure 24B**).

Sucrose bingeing is reproduced and maintained over 8 weeks

As for the 2 weeks protocol, the IA group significantly increased sucrose intake during the 1st h of access across 8 weeks ($t_{(210)}=10.239; p=2.16.10^{-16}$), whereas intake was constant in the CA group ($t_{(210)}=1.199; p=0.232$) (cohort D). Moreover, IA mice had a higher escalation rate ($t_{(210)}=-6.887; p=6.51.10^{-11}$), associated with an excessive sucrose intake ($t_{(210)}=4.495;10^1; p=6.33.10^{-9}$) during the 1st h of access compared to CA mice (**Figure 22A**). Statistical analysis also revealed sex differences in the IA group, with both males and females showing increased sucrose intake over time during the first hour of sucrose intake ($t_{(210)}=5.116; p=7.03.10^{-7}$; $t_{(210)}=11.454; p=2.10^{-16}$), with an increased escalation rate in females compared to males ($t_{(210)}=4.870; p=2.19.10^{-6}$), starting at the second week of sucrose access (**Figure 22B**). Analysis of the 4 h sucrose intake showed similar profiles (data not shown).

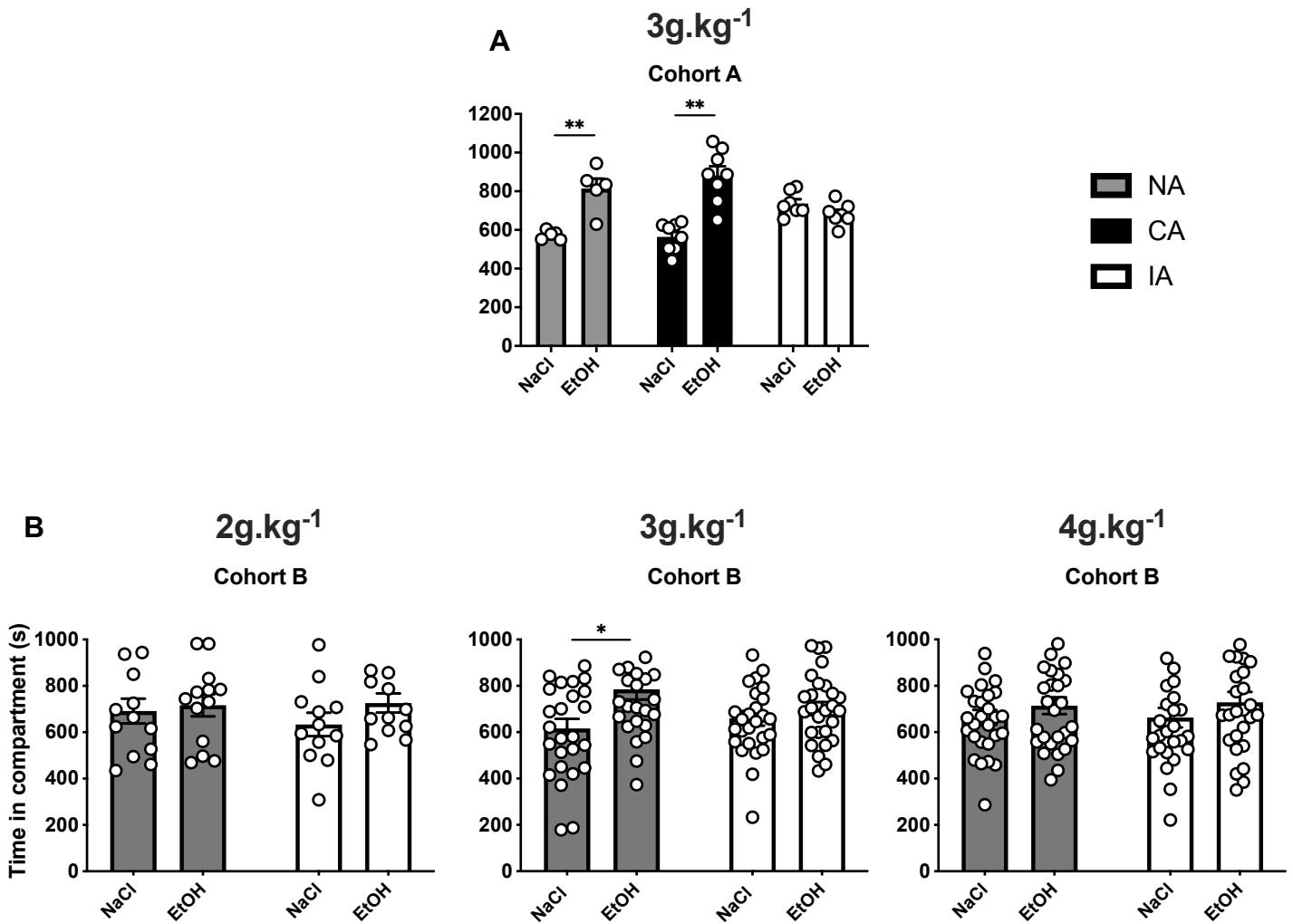


Figure 21. Figure 21. Ethanol CPP following sucrose bingeing

(A) In cohort A, both NA and CA groups expressed an EtOH-CPP at 3g.kg⁻¹ whereas the IA group did not show any CPP. (B) This result was confirmed in cohort B, whereas doses of 2g.kg⁻¹ and 4g.kg⁻¹ did not induce any CPP in any group. (IA: intermittent access; CA: continuous access; NA : No access; EtOH: ethanol; NaCl: sodium chloride; CPP: conditioned place preference). Data presented as group mean \pm SEM. ***:p< 0.001; **:p<0.01; *:p<0.05.

Analysis of the daily sucrose intake showed a decreased consumption over 8 weeks in the CA group ($t_{(210)}=-5.404$; $p=1.76 \cdot 10^{-7}$), whereas animals of the IA group increased their sucrose intake ($t_{(210)}=6.651$; $p=2.47 \cdot 10^{-10}$) (Figure 22C). Daily sucrose intake was significantly higher in the CA compared to IA group ($t_{(37.7)}=15.890$; $p=2.10^{-16}$) (Figure 22C). In the CA group, despite a higher daily sucrose intake in females compared to males ($t_{(67.65)}=9.988$; $p=6.06 \cdot 10^{-15}$), females also displayed a lower escalation rate ($t_{(210)}=-2.991$; $p=0.003$). In contrast, in the IA group females had a higher escalation rate compared to males ($t_{(210)}=2.594$; $p=0.0101$) (Figure 22D). Similar results were found when the prolonged protocol was reproduced in a second cohort of mice (cohort E) (Supplementary Figure 25).

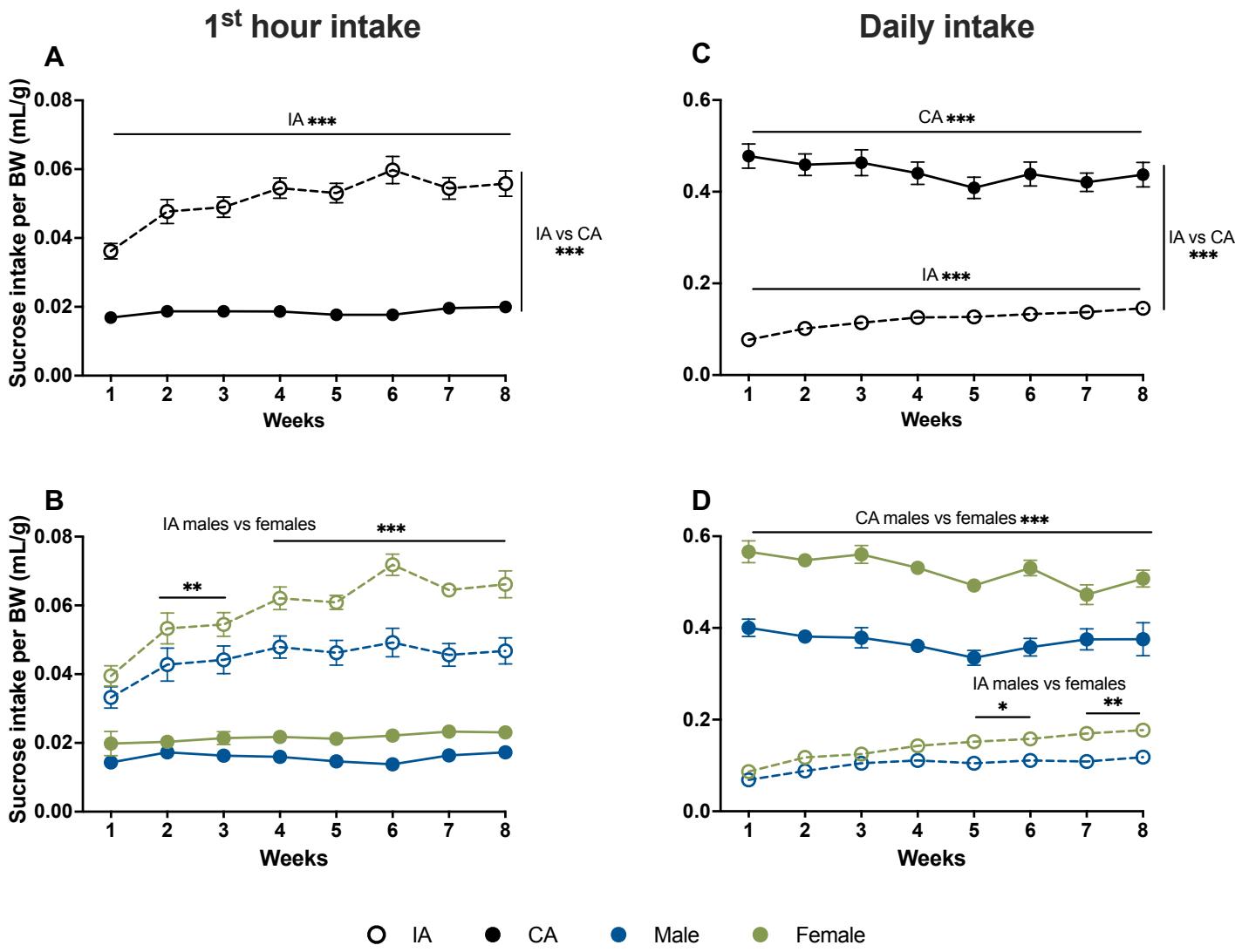


Figure 22. Sucrose intake during 8 weeks of sucrose bingeing paradigm

(A) Mice from the IA group (open circles) significantly escalated their sucrose intake over 8 weeks, compared to the CA group (dark circles), during the first hour. (B) During the first hour of sucrose access, the IA female mice (open green) consumed significantly more sucrose than their male counterparts (open blue) starting at week 2, with no sex difference for the CA groups. (C) Daily access was significantly higher in the CA group compared to the IA group and decreased over time. The IA group showed an increase of daily sucrose intake over the 8 weeks. (D) The IA female mice showed a significantly higher daily intake than males, starting at week 5. The CA female mice showed a significantly higher daily sucrose intake than males throughout the 8 weeks. (IA: intermittent access; CA: continuous access; NA : No access; BW: bodyweight). Data presented as group mean per week \pm SEM. ***: $p < 0.001$; **: $p < 0.01$.

Sucrose bingeing over 8 weeks does not alter well-being, and anxiety-like behavior

In the burrowing test we observed a significant sex effect, with females digging less than males independently of their sucrose access ($F_{(1,39)}=6.98$; $p=0.012$) (Figure 23A). Moreover, mixed ANOVA also highlighted an interaction effect between group

and week of the test ($F_{(2,39)}=7.98$; $p=0.001$), with IA inducing increased digging ($t=2.466$; $p=0.0182$), and CA decreased digging ($t=3.038$; $p=0.0042$) over 8 weeks of sucrose access, with no effect in the NA group ($t=0.813$; $p=0.4212$). A significant interaction between group, sex and time of testing ($F_{(2,39)}=5.03$; $p=0.011$) showed that decreased digging at 8 weeks in the CA group was mainly due to females ($t=4.428$; $p=0.0004$), with no differences in males ($t=0.286$; $p=0.9918$) (**Figure 23A**).

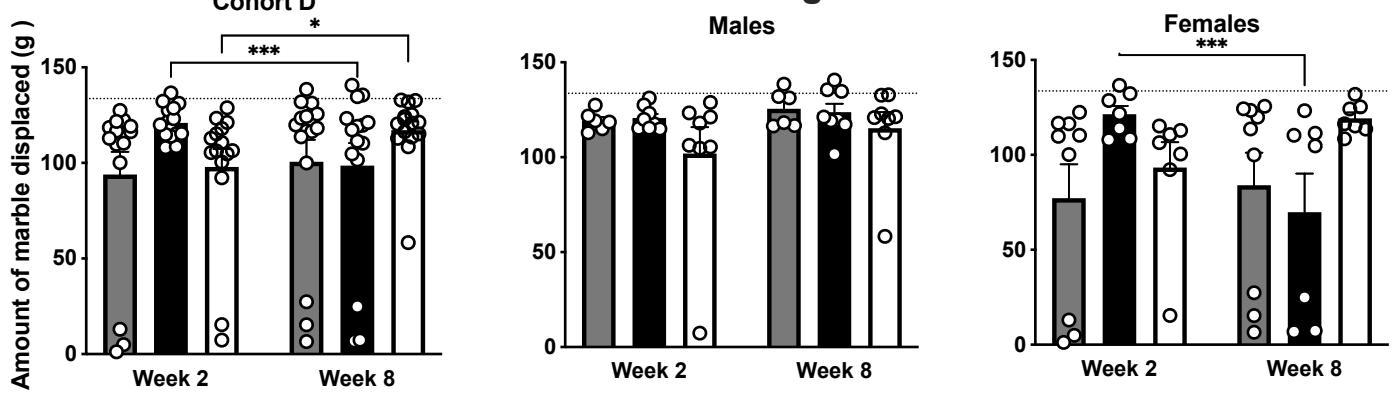
Analysis of nesting test data revealed a group ($t_{(2,84)}=13.4294$; $p=0.0012$) and sex ($t_{(1,84)}=9.8746$; $p=0.0017$) effect, without any time effect ($t_{(2,84)}=0.1279$; $p=0.7206$), or interaction between these factors (**Figure 23B**). Further analysis showed that males reached higher nesting scores than females ($z=1.916$; $p=0.0554$), independently of group. Moreover, concerning the group effect, CA mice had significantly lower scores than mice from the NA group ($z=-2.087$; $p=0.0369$), and lower IA group according to z-score, despite no significant p-value ($z=-1.824$; $p=0.0682$).

In the splash test, mixed ANOVA for cohort D did not show any effect of sex, group and time on grooming duration ($F_{(2,39)}=0.01$; $p=0.994$) (**Figure 23C**) or episodes ($F_{(2,39)}=0.75$; $p=0.479$) (Supplementary figure 3). Whereas on cohort E, statistical analysis revealed a group ($F_{(2,39)}=3.3$; $p=0.047$) associated with a sex effect ($F_{(2,39)}=5.72$; $p=0.007$) on grooming duration (**Figure 23C**). CA group groomed for significant less time compared to NA group ($t=2.571$; $p=0.0367$). Moreover, females from CA group spent less time grooming compared to CA males ($t=3.013$; $p=0.0045$) and to females of the NA group ($t=4.055$; $p=0.0007$). Comparable results were obtained for episodes ($F_{(2,39)}=4.53$; $p=0.017$) of grooming, with females of the CA group displaying fewer episodes than CA males ($t=2.826$; $p=0.0074$), and females from the NA group ($t=3.186$; $p=0.0078$) (**Supplementary figure 26**). There was no group effect on grooming in males.

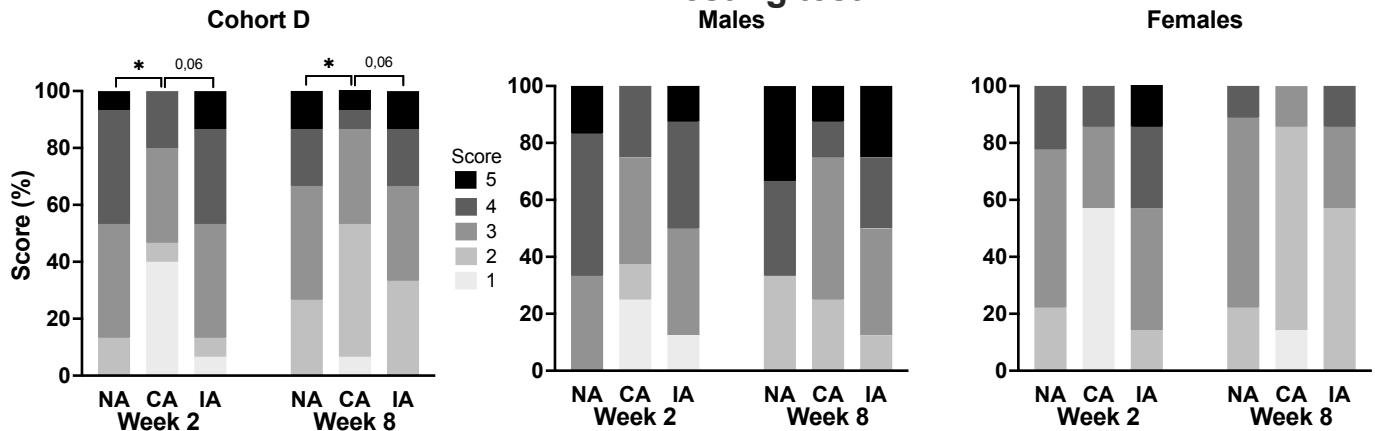
Figure 23. Well-being and activity measures through 8 weeks of sucrose bingeing

(A) In the burrowing test, the IA group showed a significant increase of their digging activity, whereas the CA mice decreased this behavior. Females dug significantly less than males in all groups. (B) In the nesting test, CA group displayed significantly lower scores in comparison to the NA group. Moreover, independently of the group, males reached higher scores than females. (C) In the splash test, there was no difference between the three groups for cohort D in grooming durations and episodes. Interestingly, in a distinct cohort (cohort E), sex differences were observed, with CA female mice grooming less than male counterparts, and less than NA female mice. (D) In the urine sniffing test, male mice spent more time and underwent more episodes sniffing female urine compared to male urine, without any group effect. (E) Open field test before the beginning of sucrose access showed similar activity between all groups. (F) In the elevated plus maze test, no significant difference in the number of entries or time spent in the open arms was observed, following the 8-week sucrose bingeing paradigm. (G) Global locomotor activity was significantly decreased during the last 3h of the dark period in the IA group compared to NA and CA groups. (IA: intermittent access; CA: continuous access; NA: No access). Data are from $n=7-8/group/sex$ for all experiments except for locomotor activity ($n=5/group/sex$). Data presented as group mean \pm SEM. ***: $p<0.001$; **: $p<0.01$; *: $p<0.05$.

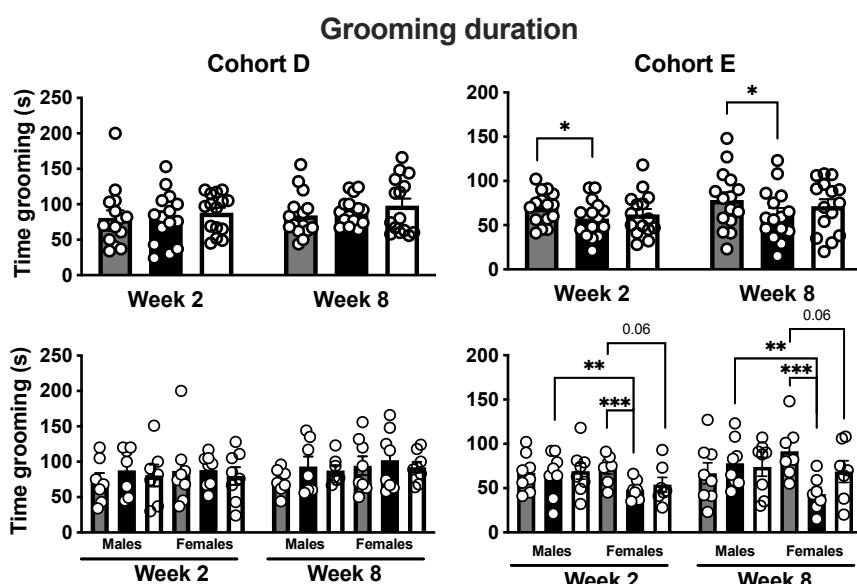
A. Burrowing test



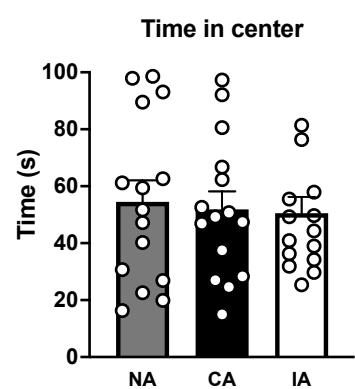
B. Nesting test



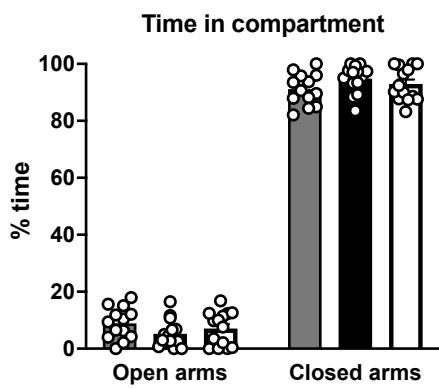
C. Splash test



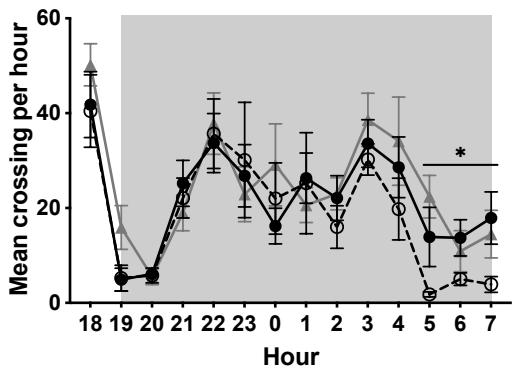
E. Open field



F. Elevated plus maze



G. Actometry Week 8 dark phase



■ NA ■ CA □ IA

★ NA ● CA ○ IA

For the UST test, sexes were analyzed separately using a two-way ANOVA for group and urine origin effects. Interestingly, sex effect but no group effect was observed. Higher sniffing duration and episodes of sniffing the female urine compared to male urine was observed in both male ($F_{(1,42)}=12.3197$; $p=0.0011$; $F_{(1,42)}=8.0104$; $p=0.0071$) (**Figure 23C**) and female ($F_{(1,36)}=10.2912$; $p=0.0028$; $F_{(1,36)}=8.1777$; $p=0.007$) mice (**Supplementary figure 27**).

In the open field (**Figure 23E**), two-way ANOVA showed an effect of group and sex on the total distance traveled ($F_{(2,39)}=3.823$; $p=0.0305$), with no specific group ($F_{(2,39)}=0.8285$; $p=0.4442$) or sex ($F_{(1,39)}=0.6907$; $p=0.411$) effect, and post hoc analysis did not reveal any specific differences. Moreover, time spent in the center of the open field before the beginning of the sucrose access paradigm was similar between groups and sexes ($F_{(2,39)}=2.3845$; $p=0.1054$). In the EPM, neither group or sex induced modifications of the percentage of time spent ($F_{(2,37)}=1.0361$; $p=0.3649$) (**Figure 23F**) and the number of entries ($F_{(2,37)}=0.8075$; $p=0.4537$) (**Supplementary figure 5**) in the open arms. Even if no significant difference in the percentage of time spent in closed arms ($F_{(2,37)}=1.0361$; $p=0.3649$) was obtained, a significant group effect was revealed ($F_{(2,37)}=4.1611$; $p=0.0234$) for the number of entries in closed arms, which was specifically decreased in the CA group compared to the IA group ($t=3.6667$; $p=0.0176$) (**Supplementary figure 28**).

Global locomotor activity was measured during the second and last weeks of the bingeing paradigm (dark phase), and no significant difference between sexes or groups was revealed. A decreased activity at the end of the night period (starting at 5 a.m) was observed in the animals of the IA group compared to the NA group ($t_{(390)}=2.167$; $p=0.0389$) and CA group ($t_{(390)}=2.904$; $p=0.0309$) (**Figure 23G**). Mixed ANOVA of the total number of crossings revealed a significant time effect between week 2 and week 8 ($F_{(1,23)}=27.83$; $p<0.001$), with a global decrease in all animals (**Supplementary figure 29**). Sucrose access and sex had no effect on global activity, nor was there any interaction between the factors.

Discussion

The current study shows for the first time that sucrose bingeing in mice modifies positive reinforcing effect of EtOH in a CPP paradigm, at least at a 3 g.kg⁻¹ dose. When we tested lower (2 g.kg⁻¹) and higher (4 g.kg⁻¹) doses of EtOH, there was no EtOH-

CPP in any group. In our conditions, EtOH consumption in an EtOH preference test is not impacted by previous sucrose exposure. Avena and co-workers reported that sucrose bingeing rats (10%, 12h/d, 3 weeks), subsequently stopped for 3 days, consumed more EtOH at the highest concentration tested (9%, two-bottle choice paradigm) compared to those with *ad libitum* access to sucrose or chow. In contrast, this effect was opposite at a lower concentration (7%), suggesting a modulation of sensitivity towards EtOH (Avena et al., 2004). In another study, adult rats on an intermittent HFD (24h, twice a week, 5 weeks) displayed attenuated acquisition of EtOH intake (20%, two-bottle choice paradigm) (Sirohi et al., 2017). In contrast, intermittent exposure to HFD (2h/d, 3d/week) induced a higher sensitivity to the conditioned rewarding effects of subthreshold doses of ethanol and produced greater ethanol consumption. High-fat binge also induced higher motivation to obtain EtOH (Blanco-Gandía et al., 2017). A more recent study from the same authors showed that, after 2 weeks without the HFD, young adult mice exposed to sucrose during adolescence increased their consumption of EtOH and showed greater motivation to obtain EtOH, but no effects were observed in the EtOH-CPP test (Blanco-Gandía et al., 2018). These results suggest that withdrawal of palatable food may differentially influence the conditioned rewarding effect of EtOH, without affecting its primary reinforcing effects. Interestingly, bingeing mice show increased sensitivity to the rewarding effects of cocaine, with the development of a CPP at a low dose that was not effective in standard fed mice (Blanco-Gandía et al., 2017). Moreover, these animals showed enhanced cocaine self-administration and heightened vulnerability to relapse in seeking cocaine (Blanco-Gandía et al., 2017). In contrast, impairment in a cocaine-CPP was observed following continuous HFD in adolescent male mice (4 weeks) (Morales et al., 2012). Noticeably, the latter experiment was performed on adolescent C57Bl/6 mice whereas Blanco-Gandia and colleagues used adolescent male OF1 mice, which may partly explain discrepancies with our results using adult C57Bl/6 mice and a distinct intermittent palatable food access paradigm. Indeed, it is well described that different bingeing profiles may occur depending on the strains (Babbs et al., 2018), and that adolescent are more prone to binge eating (Bekker et al., 2014). Altogether, we provide here new evidence that different macronutrients may differentially affect reward responses to EtOH, and this may apply to other reinforcing stimuli.

Sucrose bingeing behavior, assessed by higher intake of sucrose solution during the 1st h of access, was observed in mice with intermittent access in comparison to mice with continuous access. This was successfully reproduced in multiple cohorts and maintained over an extended period of 8 weeks. Interestingly, female mice displayed an exacerbated bingeing behavior (g/BW) compared to males in this prolonged paradigm. Our result is in line with previous preclinical studies in mice or rats, showing sex differences in bingeing animals. Higher consumption in females was reported in rats with intermittent access to vanilla frosting (3 d/week, 5 weeks), with males showing higher chow intake ([Klump et al., 2013](#)). In this study, the rate of binge eating prone phenotype, defined as more frosting intake than the median consumption during the first 4h of access ([Boggiano et al., 2007](#)), was two to six time higher in females compare to males, suggesting a sex vulnerability for binge eating. In another 5-week paradigm using intermittent access to shortening (20 min, 3 times/week), intake escalated faster in female rats ([Babbs et al., 2011](#)). Systemic injection of 2-hydroxyestradiol, an estradiol metabolite, following the 5-week access and just before fat access, increased shortening intake only in bingeing rats. The authors suggested that female sexual hormones play a critical role in the amount of palatable food consumed during binge episodes, probably through altered DA signaling processes, but specific mechanisms are still unknown. In a drinking in the dark procedure with sucrose (5%, 4 days), female mice showed higher bingeing behavior than males (g/BW) ([Wei et al., 2021](#)). Interestingly, naïve female mice in this study were more vulnerable to the reinforcing properties of sucrose in an operant paradigm, with higher lever pressing during the time out period of the task and during a progressive ratio task, indicating higher persistence and motivation for sucrose. However, when sugar taste was made bitter, lever pressing to obtain the solution was equally reduced in both males and females. These results suggest an enhanced addictive-like phenotype for sucrose in females compared to males, despite no sex difference for compulsivity. Together with our results, accumulating evidence indicates a higher vulnerability for sucrose bingeing in females.

Among well-being tests, we analyzed burrowing performances in mice following sucrose access. Such behavior is altered in models of neurodegenerative diseases and chronic pain, in the absence of locomotor impairments ([Jirkof, 2014](#)). The IA group displayed an increased digging behavior over time, suggesting that prolonged sucrose

bingeing behavior enhances well-being in mice. In contrast, females from the CA group showed a decrease digging ability over time, suggesting a higher sensitivity to develop well-being alterations. Interestingly, we observed a sex effect, independently of the group, in the burrowing test, with female displacing less clay marbles than male mice. This difference may not depend on the weight of the marbles as some females reached ceiling levels of marble removal after a 15h period. Such sex effect was not previously reported with excessive sucrose intake, and no differences could be detected in a study investigating food restriction stress using this test (Pond et al., 2021). Our results therefore highlight the importance of assessing well-being in both sexes, as diet exposure may differentially impact these behaviors.

We also evaluated anxiety-like behavior, using two classical tests, the open field (Zhu et al., 2014) and the EPM (Walf and Frye, 2007). The open field test with bright illumination is well-known to measure anxiety-like behavior, in the context of chronic restrain stress and unpredictable chronic mild stress in mice, which induce decrease time spend in the center (Zhu et al., 2014). Moreover, anxiolytic treatments decrease anxiety-like behavior in this test (Choleris, 2001; Birkett et al., 2011). In our study, the open field test was conducted before sucrose access to obtain a baseline measure of anxiety-like behavior. As expected, no difference of time spent in the center of the arena was observed between groups, indicating equivalent levels of anxiety between groups before the beginning of the diet. To determine the impact of prolonged sucrose exposure, we then conducted the EPM test at the end of the 8-week paradigm, a test that is usually not repeated to avoid any habituation on subsequent exposures (Lee and Rodgers, 1990; Treit et al., 1993). Our results indicate that no effect of sucrose bingeing behavior was observed in the EPM, with bingeing mice spending the same amount of time in the open arms, compared to the two other groups. In previous rodent studies investigating the effect of excessive palatable food intake on anxiety, results have been mixed. In a paradigm using oreo cookies (2h/alternate days/4 weeks), no anxiety was detected in the bingeing female rats with either the EPM or the open field test (Hussain and Krishnamurthy, 2018), with the test being repeated 4 times throughout the 4-week access. In other paradigms, alteration of the behavior was only observed when it was assessed following forced abstinence. Male mice submitted to HFD (2h/d, 6 weeks) spent less time in the open arms following 2 weeks forced abstinence in comparison to animals without a period of abstinence (tested at the end

of the 6th week of access), and to controls fed with a standard diet (Blanco-Gandía et al., 2019). However, this anxiogenic effect was not specific to the bingeing behavior, as a similar effect was obtained in the continuous access group. In another study conducted in rat, a period of 36h fasting following bingeing 10% sucrose, (12h access/12h food-deprived), reduced the time spent in the open arms compared with control animals fed with a standard diet (Avena et al., 2008a). This experimental procedure appears stressful to the animals, with multiple and prolonged periods of food deprivation, and may exacerbate the anxiety-like behavior. Interestingly, similar anxiogenic results were seen in bingeing mice (10% sucrose, 2h/d, 2 weeks), with the EPM being conducted just before the daily access, so following 20h forced abstinence (Xu and Reichelt, 2018). Moreover, an open field test conducted just after the 2h sucrose access period, indicated equivalent time spent in the center as the control group. These results suggest that the intermittent access enhanced anxiety-like behavior probably due to repeated forced abstinence periods, whereas exposure to sucrose could alleviate this effect. Altogether, these results suggest that excessive palatable food consumption followed by forced abstinence rather than bingeing behavior induces increased anxiety-like behavior. In our conditions, the EPM was conducted just after the IA group sucrose session, in a time window of 1h to 5h, and we did not observe altered anxiety-like behavior.

Concerning the impact of continuous sucrose access on anxiety, and in accordance with other studies with high-carbohydrate diet in male mice for either 5 (Teegarden and Bale, 2007), 11 (Pyndt Jørgensen et al., 2014), 12 (Santos et al., 2018) or 25 (Cao et al., 2007) weeks, we did not observe altered anxiety-like behavior. Other studies using sucrose, fructose or honey with continuous access for 1 month or 1 year did not reveal any anxiety using the EPM or the zero-maze tests (Chepulis et al., 2009; Hsu et al., 2015). Nevertheless, in a recent study investigating the effect of sugar-sweetened beverage (bubble tea, 30 days) in male mice, increased anxiety was observed when the test was performed 2 days after the last session (Yao et al., 2022). It is also possible that the nature of nutrients can differentially alter anxiety-like behavior, as a 8-week access of a saturated, but not an unsaturated HFD, decreased time spent in the open arms in both male and female mice (Décarie-Spain et al., 2018, 2021). This is in contrast to the absence of anxiety phenotype in mice exposed to a 6-week HFD, a phenotype that was revealed following 2 weeks of forced abstinence

(Blanco-Gandía et al., 2019). In this particular case, it is possible that 6 weeks of HFD was not sufficient to alter anxiety-like behavior, or that the ratio between saturated and unsaturated fat was not deleterious in this diet, which could explain discrepancies between these studies. To our knowledge, our study is the first to investigate the effect of high-sucrose consumption on anxiety-like behavior in female mice, and no sex difference was highlighted.

Using nesting, splash and UST tests, we evaluated daily-life alterations in rodents, aspects that are generally affected in patients with depressive disorders, characterized by loss of pleasure and interest, that affect goal-directed behavior. Depressive-like behaviors in these tests are restored by antidepressant treatments (Yalcin et al., 2005; Malkesman et al., 2010; Farooq et al., 2018). In our conditions, sucrose bingeing did not alter nesting, grooming or urine scent behaviors suggesting no impact on depressive-like behavior. Interestingly, we observed a sex effect independently of the group in the nesting test, with males showing greater scores. Some studies using the same scoring scale found similar scores in male and female mice (Hohlbaum et al., 2018; Xiong et al., 2018; Jacobson et al., 2020), whereas another study highlighted a sex effect specifically in C57BL/6J mice (Gaskill et al., 2013), probably due to difference in thermoregulatory processes, a parameter that was not assessed in our protocol. Interestingly, our results suggest a potential effect of sucrose access on depressive-like behavior following continuous access, with significantly lower scores in the nesting test compared to controls, and less grooming in the splash test, an effect specifically attributed to females (cohort E). The latter effect was not observed in both cohorts, underlining a lightweight effect. In both nesting and splash tests, decreased ability was not time dependent, suggesting that alteration of depressive-like behavior induced by CA to sucrose did not worsen with prolonged access. Finally, the UST was not impacted by CA to sucrose. This test was originally set up in males following a learned helplessness paradigm (Malkesman et al., 2010), and we found that females also displayed a difference in time spent sniffing male vs female urine, independently of the group. Altogether, our results suggest a slight alteration of depressive-like behavior induced by CA to sucrose, with females being more prone to these alterations than males.

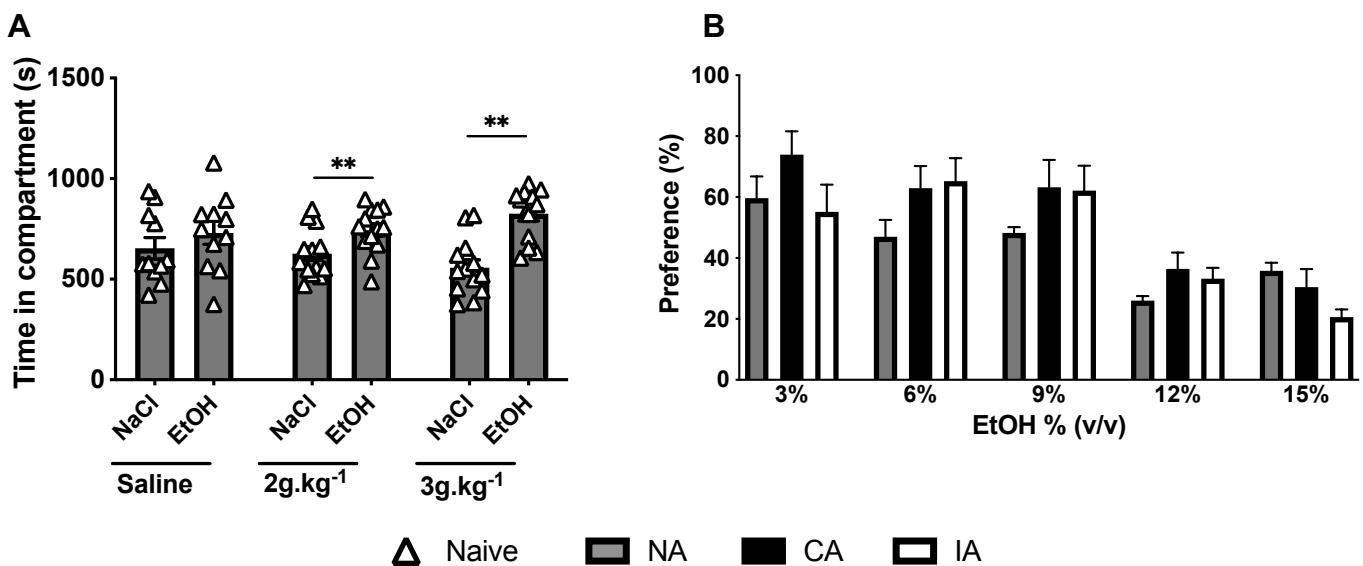
In conclusion, results of this study provide new insights into the impact of sucrose bingeing behavior on alcohol reward and emotional states, in male and female

mice. Sucrose bingeing blocks EtOH CPP in both sexes, without marked changes in emotional state. Interestingly, prolonging sucrose access triggers some signs of emotional state alterations, especially in females. Further studies will explore which specific mechanisms are involved in these processes for each sex, which could open new strategies for the treatment of BED and associated comorbidities.

Acknowledgments:

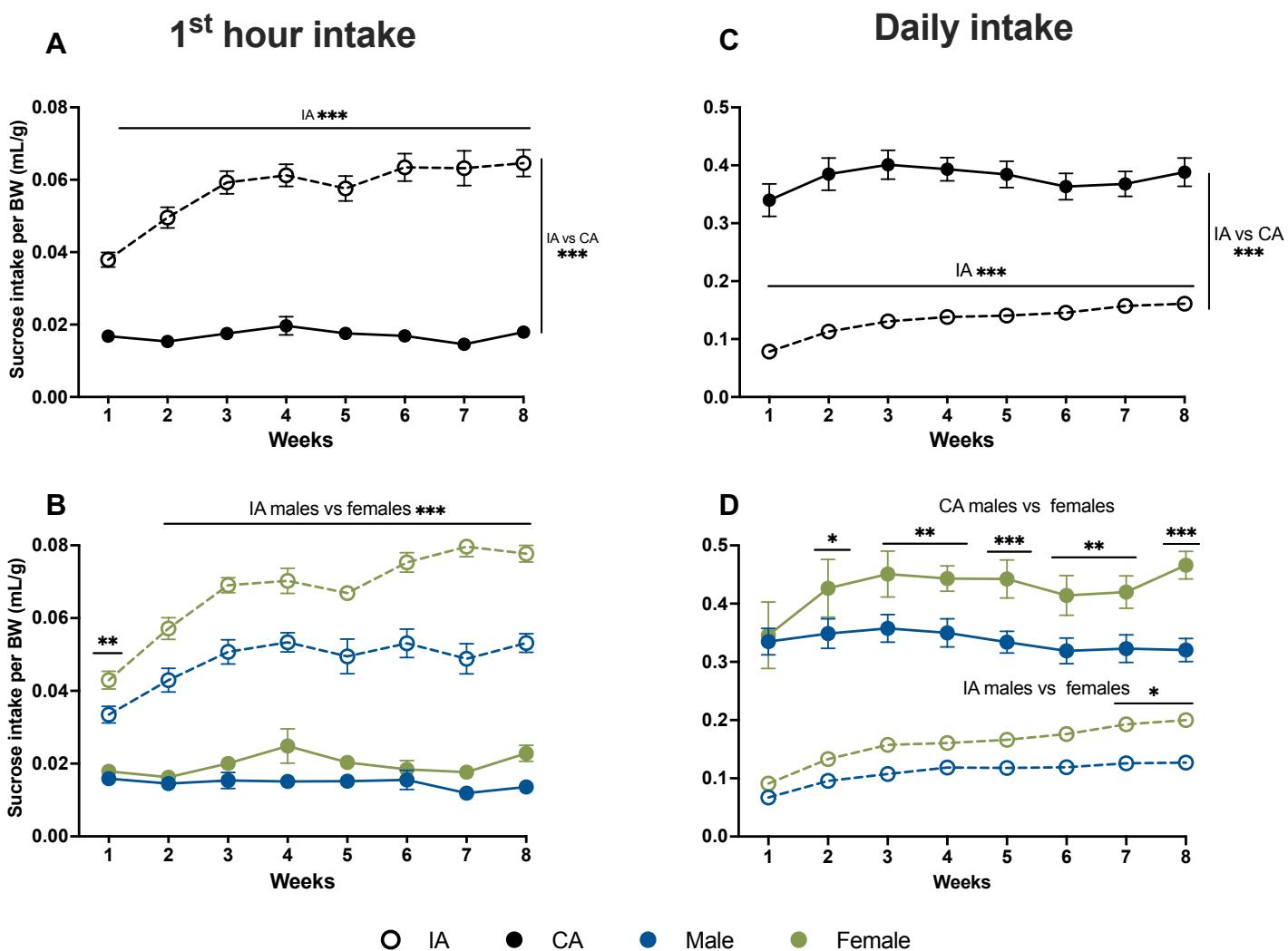
This project was supported by the Université de Strasbourg, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Programme International de Cooperation Scientifique (PICS CNRS), the French National Research Agency (ANR) through the Programme d'Investissement d'Avenir (ANR- 17-EURE-0022, Euridol, Graduate school of pain), IRESP (Institut pour la recherche en santé publique, IReSP/INCa-21-Addiction), and the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC). Gaëlle Awad received a PhD fellowship from the French Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche. Anne-Sophie Aubry received a PhD fellowship from Euridol, Graduate school of pain. We are thankful to Audrey Faesser for her help in setting behavioral tests and to Victor Mathis for fruitful discussions.

Supplementaries



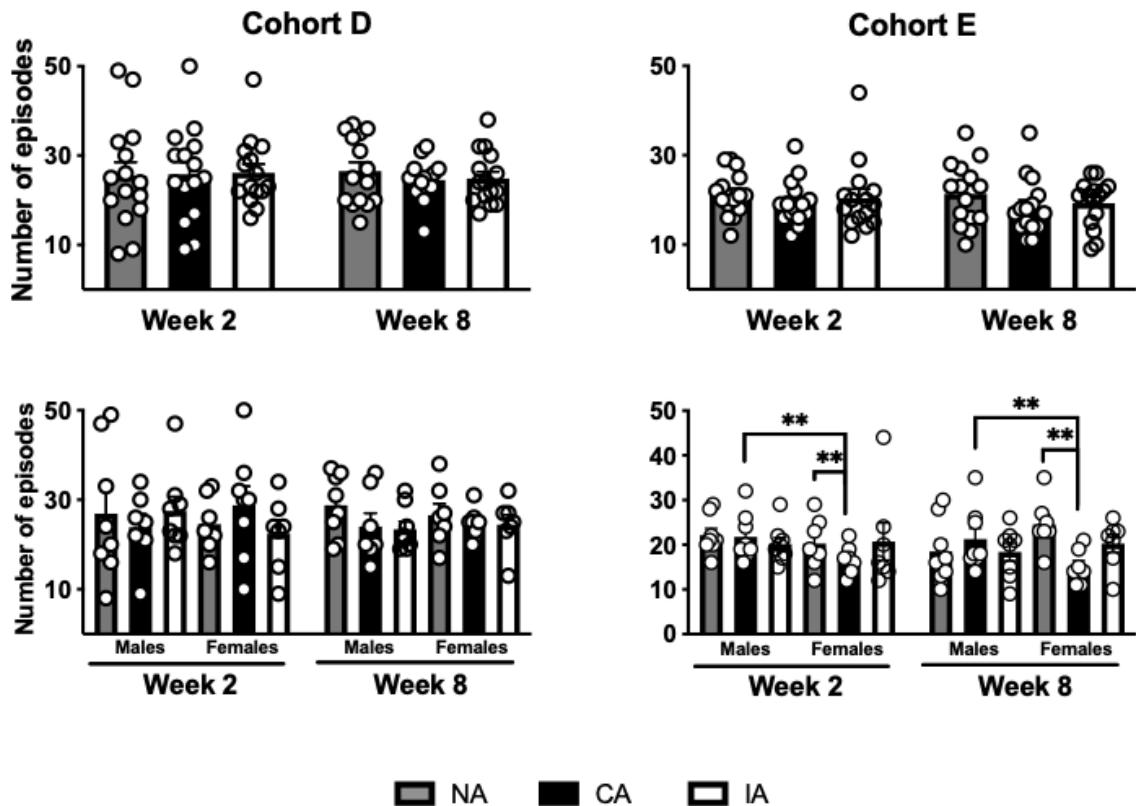
Supplementary Figure 24. Pilot CPP test and Ethanol preference

(A) A pilot CPP experiment was conducted in naïve mice exposed to either saline or two doses of EtOH (2 and 3g.kg⁻¹). Results indicated an EtOH-CPP at 2 and 3g.kg⁻¹, with mice spending more time in the EtOH paired compartment compared to the NaCl paired one (2 g.kg: $t=2.948$; $p=0.008$; 3 g.kg: $t=5.230$; $p<0.0001$), respectively. (B) Following the bingeing paradigm, mice were evaluated in an EtOH preference test with 4 days access to distinct EtOH concentrations. All groups preferred lower concentrations (3%, 6% and 9%) than higher ones (12% and 15%), without group*concentration or group effect.



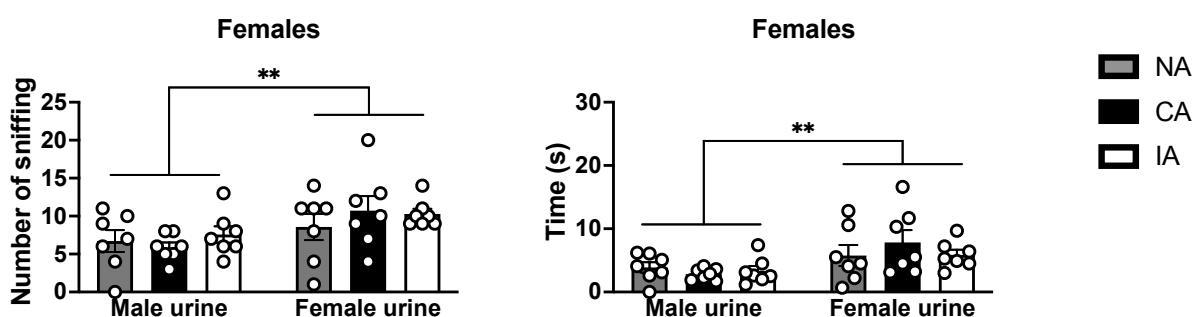
Supplementary Figure 25. Sucrose intake during 8 weeks of sucrose bingeing paradigm

producing similar results as for cohort D (Figure 4) were obtained. (A) Mice from the IA group (open circles) significantly escalated their sucrose intake over 8 weeks, compared to the CA group (dark circles) during the first hour. (B) During the 1st hour of sucrose access, the IA female mice (open green) consumed significantly more sucrose than their male counterparts (open blue), with no sex difference for the CA groups. (C) Daily access was significantly higher in the CA group compared to the IA group. The IA group showed an increase of daily sucrose intake over the 8 weeks. (D) The IA female mice showed a significantly higher daily intake than males, starting at week 7. The CA female mice showed a significantly higher daily sucrose intake starting at week 2. (IA: intermittent access; CA: continuous access; NA : No access; BW: bodyweight). Data presented as group mean per week \pm SEM. ***:p< 0.001; **:p<0.01



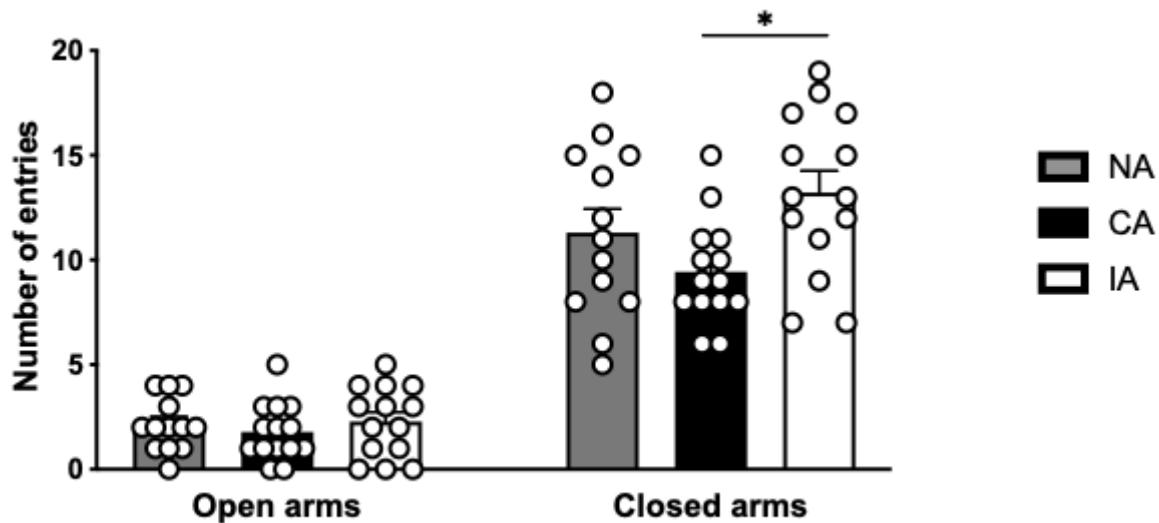
Supplementary Figure 26. Number of grooming episodes during the splash test

In cohort D number of grooming episodes during splash test was similar between groups and sexes. In cohort E number of grooming episodes was lower in CA females compared to males of the same group and to females of the NA group. (IA: intermittent access; CA: continuous access; NA : No access). Data presented as group mean per week \pm SEM. **:p<0.01



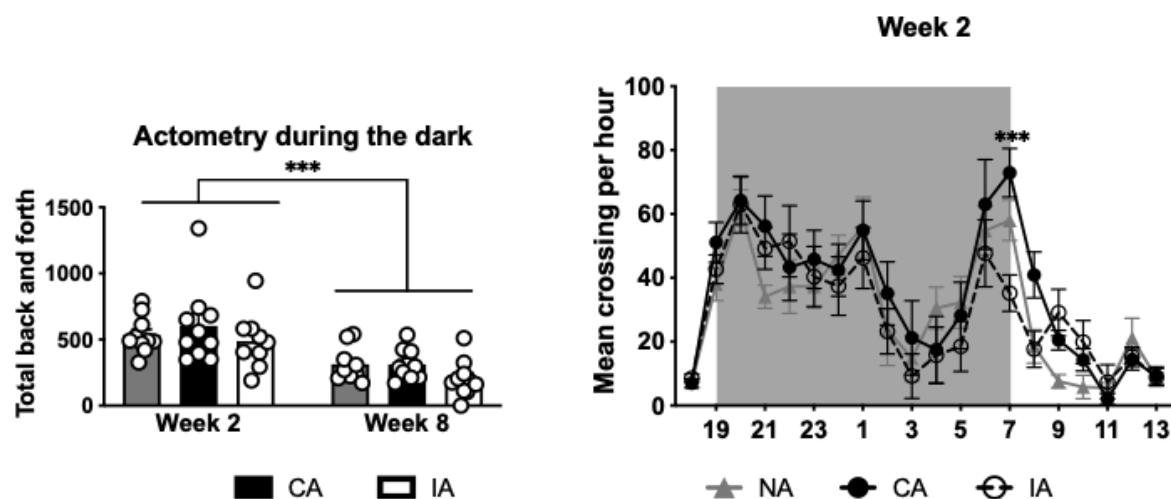
Supplementary Figure 27. UST test in female mice

Females scented less male urine compared to female urine during the UST, attested by lower number and time spent sniffing. (IA: intermittent access; CA: continuous access; NA : No access; BW: bodyweight). Data presented as group mean per week \pm SEM. ***:p< 0.001; **:p<0.01



Supplementary Figure 28. Number of entries in arms during the EPM

Number of entries in open arms was similar between groups. Whereas mice in the CA entered less in the closed arms compared to IA group. (IA: intermittent access; CA: continuous access; NA : No access; BW: bodyweight). Data presented as group mean per week \pm SEM. *: $p<0.05$



Supplementary Figure 29. Actometry

Total back and forth during the night period (from 7 p.m to 7 a.m) was reduced in week 8 compared to week 2 ($F_{(1,23)}=27.83$; $p<0.001$) in all groups. Spontaneous locomotor activity measured during week 2 of sucrose access A decreased activity at the time of switch from dark to light (7 a.m) was observed in the animals of the IA group compared to the CA group ($t_{(68.6130)}=2.035$; $p= 0.0457$). Data presented as group mean per week \pm SEM. ***: $p< 0.001$

B. Résultats supplémentaires

1. Mise au point d'un test de light/dark

Afin de mieux caractériser les comportements de types anxieux lors du protocole de BS nous avons mis au point un test de light/dark (protocole détaillé p. 89), d'après des expériences précédentes menées au laboratoire (Roeckel et al., 2018). La mise au point de ce test est faite chez des souris C57BL/6J âgées de 13 mois, et comme attendu ces animaux passent plus de temps dans le compartiment sombre que dans le compartiment éclairé (**Figure 30 A,B**), le temps passé dans la zone centrale étant inférieur au temps passé dans les deux autres compartiments. Le test traditionnel du light/dark ne comprenant pas de compartiment intermédiaire entre les zones sombre et éclairée, nous avons analysé nos données en excluant cette zone, en calculant le pourcentage de temps passé dans chacun des compartiments (sombre ou éclairé) par rapport au temps total passé dans les compartiments sombre et éclairé (soit le temps total moins le temps passé dans la zone centrale) (**Figure 30C**). Les conditions de cette mise au point sont validées par des résultats similaires à ceux reportés dans la littérature avec 40% du temps passé dans le compartiment éclairé (Simon et al., 2013).

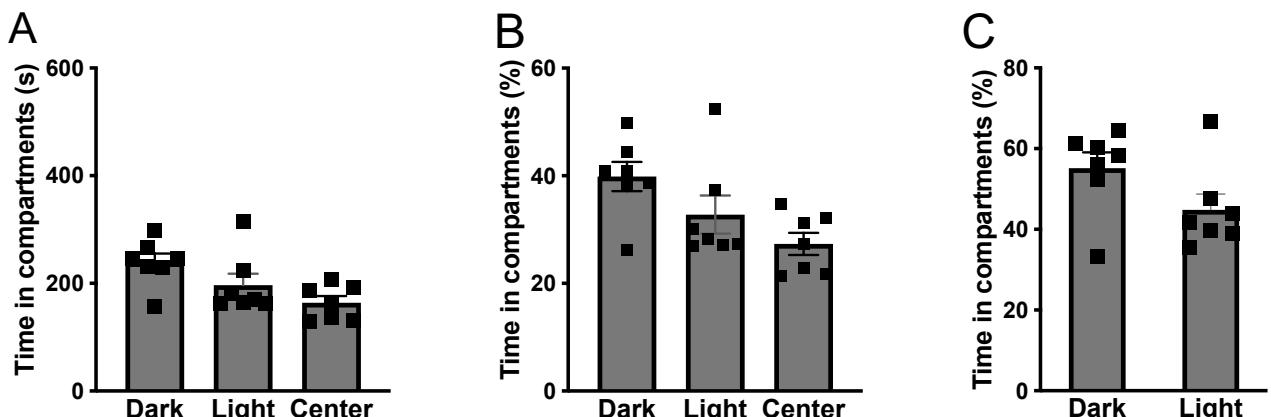


Figure 30. Mise au point du test du light/dark chez des souris C57BL/6J

(A) Temps passé dans les compartiments sombre (dark), éclairé (light) et la zone centrale (center), en secondes, pour un test de 10 min chez des souris C57BL/6J de 13 mois. (B) Pourcentage de temps passé dans les différents compartiments, rapporté à la durée totale du test. (C) Pourcentage de temps passé dans les compartiments sombre et éclairé en excluant le temps passé dans la zone centrale. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.x

Le test du light/dark est réalisé dans la cohorte D après 2 (données non montrées) et 8 semaines (**Figure 31**) d'accès au sucre. Malgré des paramètres utilisés identiques à ceux de la mise au point, les résultats obtenus ne permettent pas de

conclure sur l'effet du BS sur l'état émotionnel. En effet, les animaux des trois groupes passent plus de temps dans le compartiment lumineux comparé au sombre (**Figure 31A, B**). Le temps passé dans la zone centrale est bien inférieur au temps passé dans les 2 autres compartiments. L'analyse réalisée sans prendre en compte le temps passé dans la zone centrale révèle un pourcentage de temps passé dans les compartiments sombre et éclairé pratiquement identique (**Figure 31C**). De plus, le temps passé dans les différents compartiments est similaire entre les trois groupes d'accès. Les résultats sont similaires à 2 et 8 semaines d'accès au sucre.

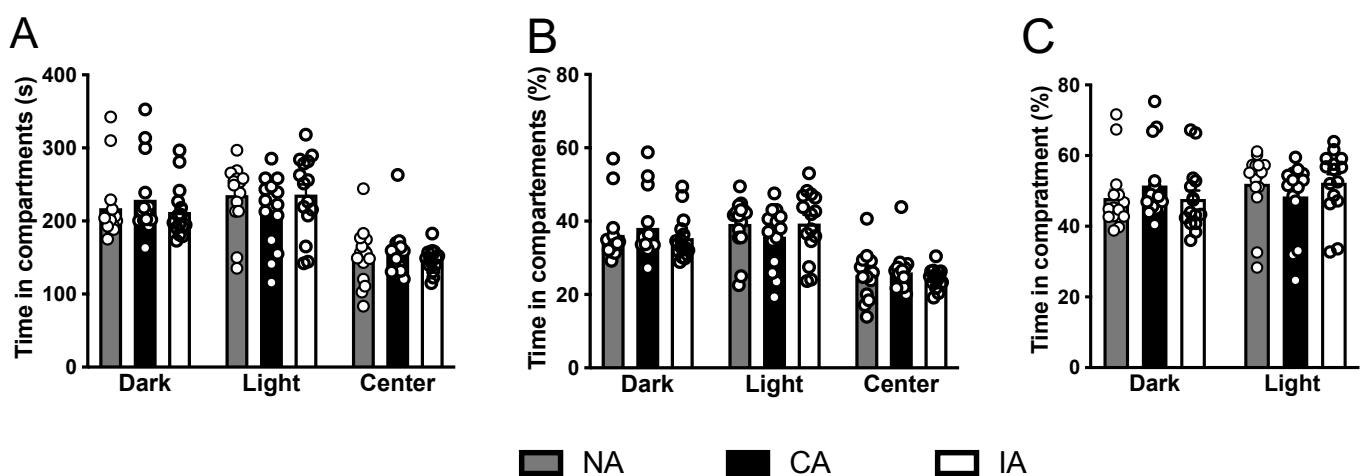


Figure 31. Test du light/dark après 8 semaines de binge saccharose

(A) Temps passé dans les compartiments sombre (dark), éclairé (light) et la zone centrale (center), en secondes, pour un test de 10 min durant la 8^{ème} semaine du paradigme de binge saccharose. (B) Pourcentage de temps passé dans les différents compartiments, rapporté à la durée totale du test. (C) Pourcentage de temps passé dans les compartiments sombre et éclairé en excluant le temps passé dans la zone centrale. NA : non accès ; CA : accès continu ; IA : accès intermittent. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.

Ainsi, les résultats obtenus dans la cohorte D lors du test du light/dark ne nous permettent pas de conclure sur le comportement de type anxieux lors d'un protocole de BS. La luminosité utilisée dans le compartiment éclairé (>3000 Lux) est normalement aversive pour ces animaux nocturnes. L'âge pourrait être un facteur limitant dans nos conditions, les souris utilisées pour la mise au point étant beaucoup plus âgées (13 mois), que celles utilisées dans nos conditions expérimentales (4 mois à la fin du protocole de BS).

2. Impact du protocole de binge saccharose sur les seuils de sensibilité mécaniques et thermiques

Dans le but d'évaluer l'impact du comportement de binge sur la sensibilité mécanique et thermique des tests de nociception sont réalisés lors des 2^{ème}, 4^{ème} et 8^{ème} semaines d'accès au sucre dans la cohorte D (**Figure 18**). Les valeurs de référence (baseline) sont mesurées avant le début du protocole de BS (**Figure 18**). Les protocoles des tests sont détaillés dans la partie « Matériels et Méthodes général » de ce manuscrit (p. 82).

La mesure de la sensibilité mécanique par le test du filament de Von Frey ne révèle pas de différence du seuil de retrait de la patte entre les groupes. Une diminution de seuil est observée au cours du temps dans les trois groupes indépendamment des conditions d'accès au saccharose ($F_{(6,252)}=12.8$; $p<0.001$) (**Figure 32**).

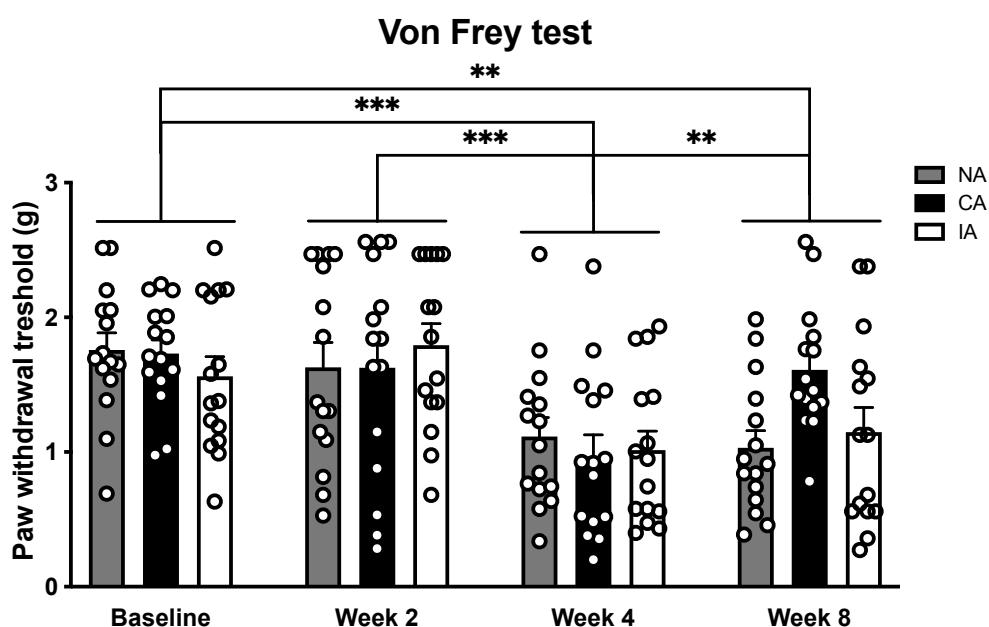


Figure 32. Mesure de la sensibilité mécanique durant le protocole de binge saccharose

Le seuil de retrait de la patte diminue au cours du temps dans les trois groupes d'accès. Les seuils nociceptifs sont inférieurs lors des semaines 4 et 8 en comparaison des seuils de références (baseline) ($p<0.0001$; $p=0.0019$) et de la deuxième semaine d'accès au saccharose ($p<0.0001$; $p=0.0128$) indépendamment des conditions d'accès au saccharose. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. NA : non accès ; CA : accès continu ; IA : accès intermittent. ** $p<0.001$; *** $p<0.0001$.

La sensibilité thermique est évaluée par le test du plantar. Pour des raisons techniques ce test n'a pas pu être réalisé lors de la 2^{ème} semaine d'accès au saccharose. La latency de retrait de la patte est similaire entre les trois groupes d'accès avant le début de l'accès à la solution de saccharose, ainsi que lors de la 4^{ème} et 8^{ème} semaine d'accès (**Figure 33**). La latency de retrait de la patte lors d'un stimulus chaud diminue au cours du temps indépendamment du groupe d'accès à la solution ($F_{(5,210)}=4.27$; $p=0.001$), avec une diminution significative lors de la semaine 4 en comparaison de la BL ($t=3.228$; $p=0.0273$).

Plantar test

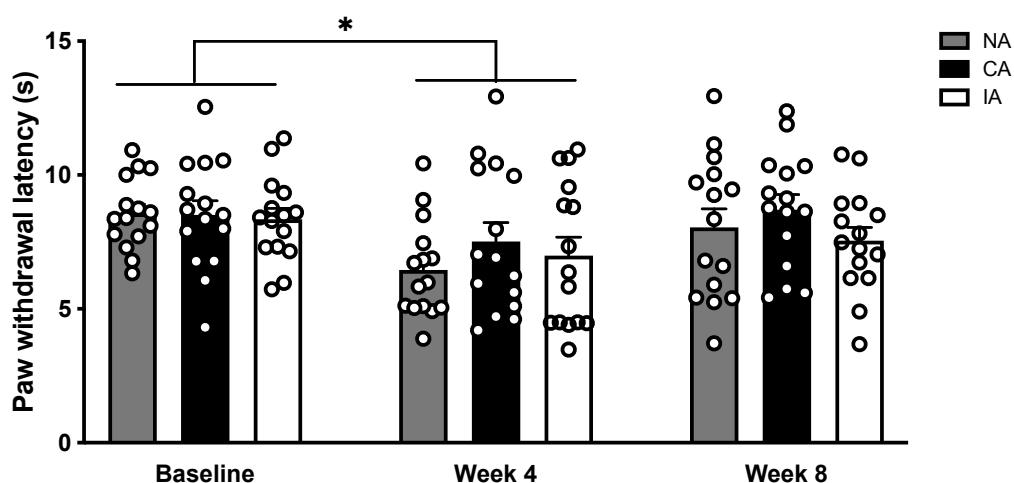


Figure 33. Mesure de la sensibilité thermique au chaud durant le protocole de binge saccharose

La latency de retrait de la patte diminue au cours du temps dans les trois groupes d'accès. Les seuils nociceptifs sont inférieurs lors de la semaine 4 en comparaison des seuils de références (baseline) ($p=0.0273$) indépendamment des conditions d'accès au saccharose. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. NA : non accès ; CA : accès continu ; IA : accès intermittent. * $p<0.05$.

Le test de la plaque froide permet de mesurer la sensibilité mécanique au froid par la mesure de la latency d'une réponse nociceptive. Les latences sont équivalentes entre les trois groupes d'accès avant le début de l'accès à la solution sucrée (**Figure 34**). Malgré l'utilisation de paramètres classiquement utilisés dans la littérature avec une température de 2°C et un temps d'exposition de 20 s maximum un effet plateau est observé avec une majorité de souris ne présentant pas de comportements nociceptifs dans cet intervalle de temps. Une diminution de la latency de réponse nociceptive au cours du temps est observée indépendamment du groupe d'accès ($F_{(6,246)}=7.32$; $p<0.001$).

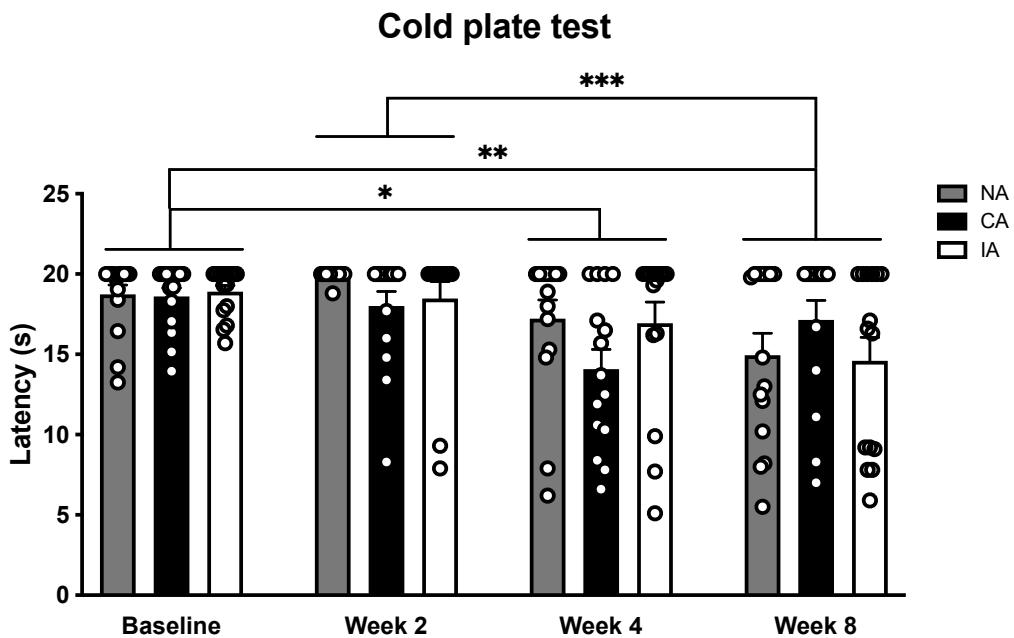


Figure 34. Mesure de la sensibilité thermique au froid durant le protocole de binge saccharose

La latence de réponse nociceptive diminue au cours du temps dans les trois groupes d'accès. Les seuils nociceptifs sont inférieurs lors des semaines 4 et 8 en comparaison des seuils de références (baseline) ($p=0.0320$; $p=0.007$) indépendamment des conditions d'accès au saccharose. Ainsi qu'entre la 2^{ème} semaine d'accès à la solution de saccharose et la 8^{ème} semaine d'accès ($p=0.0007$). Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. NA : non accès ; CA : accès continu ; IA : accès intermittent. * $p<0.05$; ** $p<0.001$; *** $p<0.0001$.

Dans nos conditions expérimentales le comportement de binge saccharose ne modifie pas les seuils nociceptifs mécaniques ou thermiques.

Ces données seront intégrées à un article en préparation intitulé : *Increased mechanical sensitivity following alcohol or sucrose forced abstinence in mice* (Awad G, Aubry AS, Chu Sin Chung P, Décosterd I, Olmstead MC, Befort K).

3. Comportement de binge saccharose chez des souris groupées

Le protocole de BS a été initialement mis au point chez des souris isolées afin d'obtenir des mesures de consommation précises pour chaque individu. Cependant, la réglementation européenne exige de respecter la règle des 3R (remplacer, raffiner, réduire) en expérimentation animale, il nous a donc semblé pertinent de tester ce protocole chez des animaux groupés, l'isolement constituant une source de stress pour les souris (Berry et al., 2012). Ce travail a été réalisé par Audrey Faesser, étudiante en M2 que j'ai encadrée en 2022. En parallèle de la cohorte D, une cohorte

de 48 souris mâles et femelles, où les animaux sont hébergés par 4 par cage est soumise au protocole de BS durant 8 semaines. Afin d'éviter des comportements agressifs entre les animaux pour l'accès aux différents items, 2 pipettes d'eau et 2 pipettes de solution sucrée sont disposées dans chaque cage. La consommation de nourriture et de liquides des animaux, ainsi que leur poids sont mesurés comme décrit dans le protocole (voir p. 79). La consommation mesurée pour chaque cage est ensuite divisée par le nombre d'animaux par cage, et rapportée au poids de chaque animal.

De façon intéressante un profil de consommation de solution sucrée similaire à celui des souris isolées est observé lors de la première heure d'accès à la solution sucrée. En effet, chez les animaux groupés les animaux du groupe IA consomment plus de solution de saccharose que les animaux du groupe CA ($t_{(41,8)}=6.094$; $p=2.96.10^{-7}$) (**Figure 35A**). La consommation augmente au cours du temps dans le groupe IA ($t_{(224)}=16.125$; $p<2.10^{-16}$). De plus, les femelles consomment des quantités plus importantes de solution sucrée comparées aux mâles dans le groupe IA ($t_{(224)}=7.313$; $p=4.59.10^{-12}$) (**Figure 35B**). Malgré un profil similaire aux souris isolées, certains paramètres mesurés présentent des différences dans le groupe CA. En effet, chez les animaux groupés une augmentation de la consommation de solution sucrée au cours du temps est observée dans le groupe CA ($t_{(224)}=5.986$; $p=8.45.10^{-9}$) (**Figure 35A**), ce qui n'est pas le cas chez les animaux isolés, ainsi qu'un effet du sexe sur la consommation avec des femelles consommant plus que les mâles dans le même groupe ($t_{(224)}=2.456$; $p=0.0148$) (**Figure 35B**).

La consommation journalière de solution sucrée présente également un profile similaire à celui observé chez les animaux isolés. En effet, la consommation est plus importante chez les animaux du groupe CA en comparaison du groupe IA ($t_{(42)}=12.130$; $p=2.28.10^{-15}$) (**Figure 35C**). De plus, le groupe IA présente une augmentation de la consommation de solution sucrée au cours du temps ($t_{(224)}=8.086$; $p=3.85.10^{-14}$). Une différence de consommation est observée entre les sexes avec une consommation plus importante au cours du temps chez les femelles en comparaison des mâles (IA : $t_{(224)}=3.178$; $p=0.00169$; CA : $t_{(224)}=5.042$; $p=9.51.10^{-7}$) (**Figure 35D**). Contrairement aux souris isolées la consommation de solution sucrée augmente au cours du temps dans le groupe CA chez les individus groupés ($t_{(224)}=7.032$; $p=2.44.10^{-11}$) (**Figure 35C**).

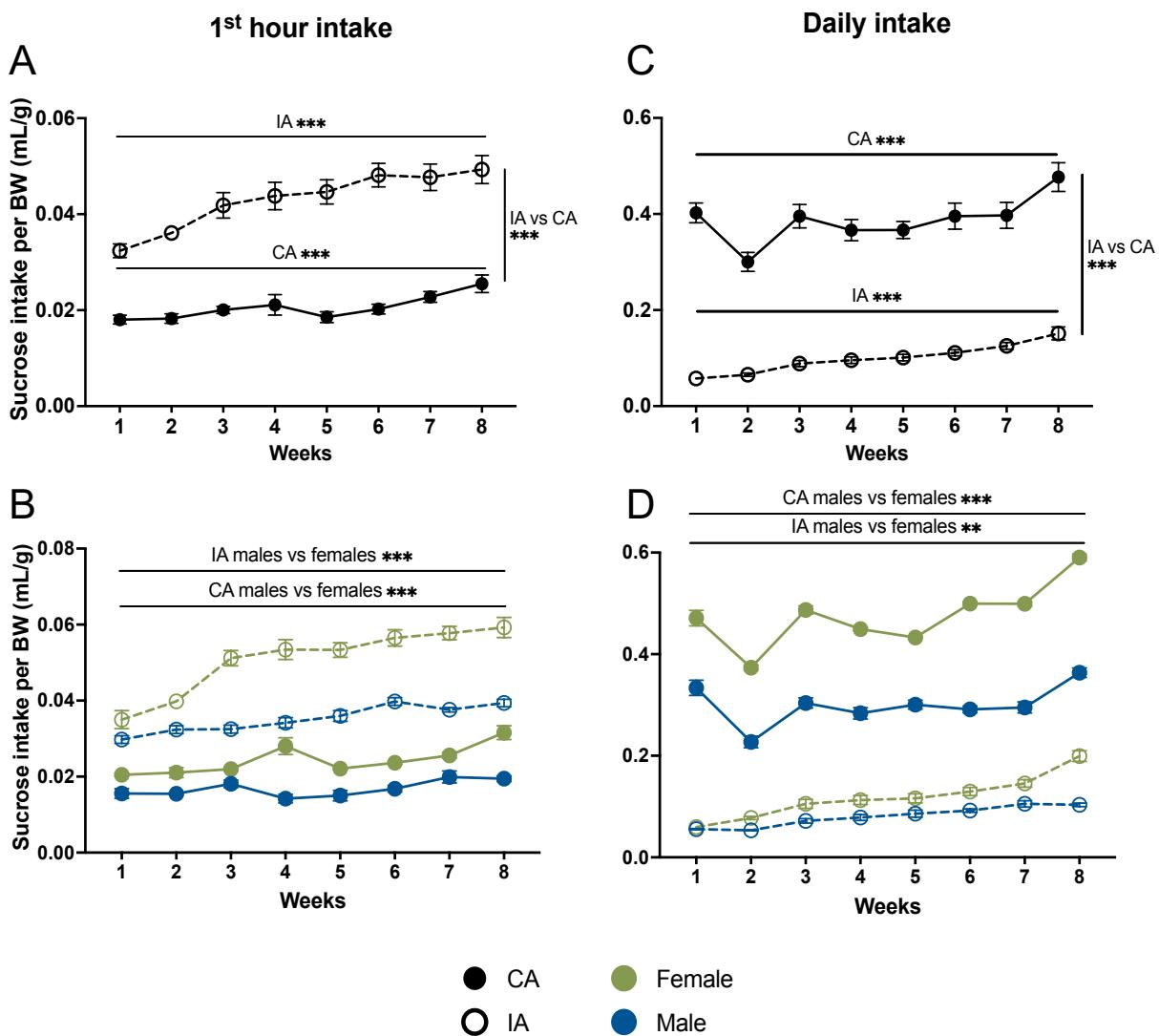


Figure 35. Consommation de solution sucrée lors du protocole de binge saccharose chez des souris groupées

(A) Chez des souris hébergées à 4 par cage, la consommation de solution sucrée durant la première heure d'accès est plus importante chez des individus ayant un accès intermittent (IA) en comparaison des individus ayant un accès continu (CA) à la solution. (B) Durant la première heure d'accès les femelles des groupes IA et CA consomment plus de solution de saccharose que les mâles des mêmes groupes. (C) La consommation de saccharose journalière est plus importante chez les animaux du groupe CA en comparaison du groupe IA. (D) Les femelles consomment une quantité plus importante de solution sucrée en comparaison des mâles dans les groupes CA et IA. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. **p<0.001 ; ***p<0.0001.

Malgré des profils de consommation globalement similaires entre les animaux groupés et isolés, avec une consommation de solution sucrée totale supérieure dans le groupe IA en comparaison du groupe CA comme le montre le pourcentage de calories totales imputables au saccharose ($F_{(1,58)}=453.1959$; p<2.10⁻¹⁶) (Figure 36) ; et la consommation de saccharose durant la 1^{ère}h d'accès plus importante dans le groupe IA en comparaison au groupe CA indépendamment des conditions

d'hébergement ($F_{(1,58)}=316.9744$; $p<2.2.10^{-16}$). Cependant, on observe que le taux de calories consommées provenant de la solution de saccharose est supérieur chez les souris isolées comparées aux groupées indépendamment du groupe d'accès ($F_{(1,58)}=8.7668$; $p=0.0044$) (Figure 36). L'analyse statistique de la consommation durant la 1^{ère} h d'accès ne montre pas d'effet des conditions d'hébergement ; mais révèle un effet dépendant du groupe et des conditions d'hébergement ($F_{(1,58)}=12.6005$; $p=0.0008$). L'analyse post-hoc de comparaisons par paire montre que cet effet vient d'une consommation plus importante lors de la première heure d'accès chez les souris isolées du groupe IA, en comparaison des souris ayant les mêmes conditions d'accès au saccharose ($t=1.042$; $p=0.0018$) (Figure 36).

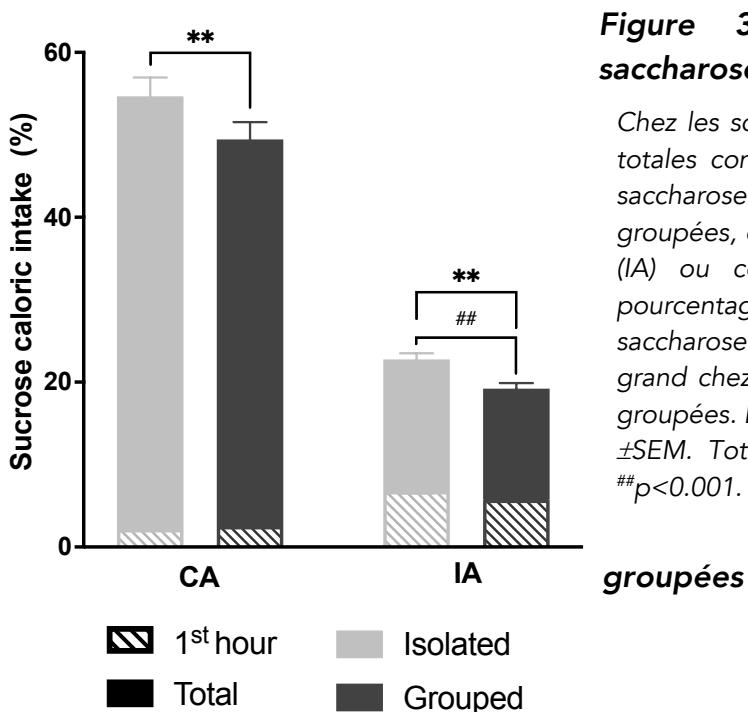


Figure 36. Calories imputables au saccharose chez des souris isolées et

Chez les souris isolées, le pourcentage de calories totales consommées provenant de la solution de saccharose est plus élevé que chez les souris groupées, que l'accès à la solution soit intermittent (IA) ou continu (CA). Dans le groupe IA le pourcentage de calories provenant de la solution de saccharose durant la 1^{ère} heure d'accès est plus grand chez les souris isolées, en comparaison des groupées. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM. Total intake : ** $p<0.001$; 1st hour intake : ## $p<0.001$.

Les conditions d'hébergement n'ont pas impacté la prise de poids des animaux durant les 8 semaines de protocole de BS (Figure 37). En effet, l'analyse statistique montre seulement un effet groupe ($F_{(2,81)}=14.2301$; $p=4.501 \cdot 10^{-6}$) avec une prise de poids significativement plus importante chez les individus du groupe CA en comparaison du groupe IA ($t=7.8228$; $p=2.10^{-5}$) et du groupe NA ($t=8.365$; $p=7.10^{-5}$).

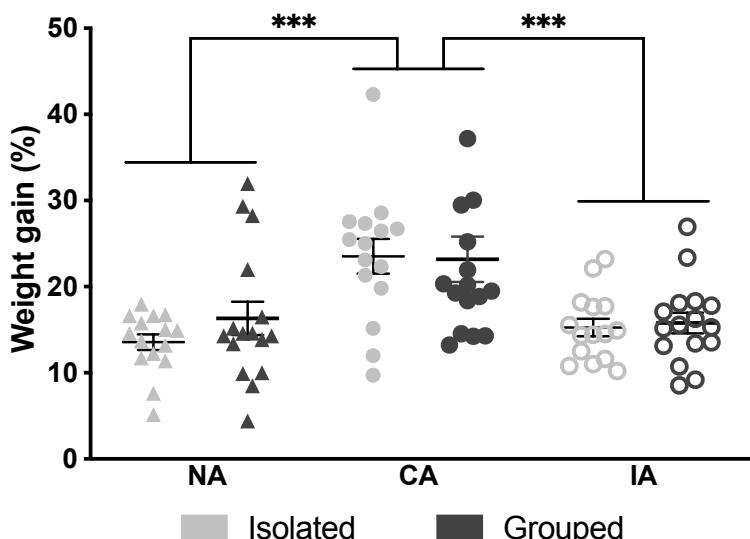


Figure 37. Gain de poids après 8 semaines de binge saccharose chez des souris isolées et groupées

Les souris ayant un accès continu (CA) à la solution de saccharose, présentent une prise de poids plus importante à l'issu des 8 semaines d'accès, en comparaison des souris ayant un accès intermittent (IA) ou pas d'accès (NA) à la solution. La prise de poids est similaire chez les souris hébergées en cages individuelles ou groupées (4/cage). Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.
*** $p<0.0001$.

En conclusion, l'expérience menée chez des souris groupées a également permis de modéliser un comportement de type binge, avec des profils de consommation ressemblant à ceux observés chez les souris isolées. Cependant la consommation de solution sucrée est inférieure chez les souris groupées en comparaison des souris isolées, notamment la consommation durant la première heure d'accès dans le groupe intermittent. Il semble donc que l'isolement favorise le comportement de binge par une consommation de solution sucrée plus importante. De façon intéressante, une étude modélisant le comportement de binge par une accès intermittent de 2h, 3 jours par semaine à de la nourriture enrichie en gras (60%), chez des souris femelles isolées ou hébergées par cage de deux montrent que la quantité totale de nourriture consommée est identique durant les 2h d'accès, indiquant une comportement de binge chez les souris isolées et groupées (Kry and Cordeira, 2018). Cependant, les souris isolées consomment une plus grande proportion de nourriture durant les 15 premières minutes d'accès, suggérant une augmentation de l'anticipation chez ces souris isolées. La réalisation du TST après 4 semaines d'isolement induit une plus longue immobilité, ainsi qu'une latence de première immobilisation inférieure en comparaisons des souris groupées, synonyme d'un comportement de type dépressif induit par l'isolement. Il semble probable que cela contribue à l'exacerbation de la consommation compulsive de nourriture palatable durant les premières minutes d'accès. Les tests comportementaux de bien-être et d'anxiété n'ont pas été réalisés chez les animaux groupés dans notre étude, ne nous permettant pas de conclure sur

ce point. De plus, en accord avec les mesures de poids dans notre étude, la prise de poids est identique entre les conditions d'hébergement.

L'utilisation d'animaux groupés dans notre protocole diminue la précision des mesures de consommation, et ne nous permettent pas de faire des analyses de corrélations avec les donnée biochimiques ou moléculaires, nous avons donc décidé de poursuivre nos expériences chez des animaux isolés. En effet, les équipements dont nous disposons permettent une mesure de la consommation par cage. Des liquomètres couplés à un système de puce permettraient de monitorer la consommation de solution sucrée de chaque animal.

V. Binge saccharose : inflammation centrale et systémique et modulations de l'ECS

A. Article 2 (manuscrit en préparation): Central and peripheric inflammation in a prolonged model of excessive sucrose intake in male and female mice

Cet article résulte d'une collaboration avec Gaëlle Awad, qui concernait l'étude de l'impact d'une consommation excessive de sucre sur les processus de neuroinflammation. Gaëlle Awad a conduit les expériences de BS 2-semaines sur les cohortes A et C, ainsi que les PCR sur tissus cérébraux suite à ce paradigme court. J'ai pour ma part réalisé les expériences de BS 8-semaines, sur les cohortes D et E qui sont les mêmes que celles présentées dans l'article 1 (**Figure 18**). J'ai également réalisé les analyses PCR sur tissus cérébraux suite à ce paradigme prolongé, avec l'aide de Lise Schmitt étudiante de BTS. Lise a également contribué aux expériences sur les tissus hépatiques, pour lesquelles Anouk Charlot, doctorante au CRBS, a apporté son expertise. J'ai contribué aux expériences, à l'analyse des données et leur représentation graphique et à la rédaction de l'article.

Central and peripheric inflammation in a prolonged model of excessive sucrose intake in male and female mice

Anne-Sophie Aubry¹, Gaëlle Awad¹, Lise Schmitt¹, Anouk Charlot², Joffrey Zoll², Romain Bourdy¹, Mary C. Olmstead³, Katia Befort¹

¹Université de Strasbourg, Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives (LNCA), Centre de la Recherche Nationale Scientifique, 12 rue Goethe, F-67000, Strasbourg France

²Université de Strasbourg, Centre de recherche en biomédecine (CRBS), 1 rue Eugène Boeckel, F-67000, Strasbourg France

³Department of Psychology, Center for Neuroscience Studies, Queen's University, Kingston, Ontario K7L 3N6, Canada

Introduction

Binge eating disorder (BED), the most prevalent eating disorder in both men and women concerning approximately 2% of the general population (Kessler et al., 2013; Guerdjikova et al., 2019; Qian et al., 2022), is defined by an excessive food intake in a short period of time associated with a sense of loss of control (American Psychiatric Association, 2013a). Bingeing behavior is mainly directed toward highly palatable food rich in fat and/or sugar (Bartholome et al., 2006; Forney et al., 2015; Moraes et al., 2023). This excessive high caloric food intake explains the high comorbidity between BED and obesity, with approximately 30% of BED patients diagnosed as obese, according to body mass index ≥ 30 (Agüera et al., 2021). Neuroimaging studies in patients with BED point towards an implication of the reward pathway in this disorder (Leenaerts et al., 2022). However, comprehensive understanding of mechanisms involved in the development and maintenance of this pathology is still needed.

The endocannabinoid system (ECS) is a neuromodulator system which is involved in both physiologic and pathologic food intake (Di Marzo et al., 2001). First observations of its implication in humans come from *Cannabis* consumers reporting hyperphagia (Cota et al., 2003). In addition, rodent studies have shown that activation of the cannabinoid receptor (CB) 1 by systemic injection of an agonist (either endogenous or phytocannabinoid) increases food intake (Williams et al., 1998; Williams and Kirkham, 1999), whereas its inhibition with an antagonist decreases food intake (Colombo et al., 1998; Simiand et al., 1998; Rowland et al., 2001; de Sa Nogueira et al., 2021). Moreover, intracerebral injections of endocannabinoids in structures involved in homeostatic food intake (ventro-medial hypothalamus) and in the reward pathway (nucleus accumbens; NAc) also result in increased food consumption (Jamshidi and Taylor, 2001; Kirkham et al., 2002), showing a central regulation of food intake by the ECS. Our team shows that diet-induced obesity, with a 6-week high-fat high-sugar diet, modulates ECS gene expression in rat NAc (Bourdy et al., 2021). Indeed, NAPE and FAAH coding for anandamide (AEA) synthesis and degradation enzymes are respectively up- and down-regulated. Moreover, cluster analysis reveals increased CB2 expression in NAc in high sucrose consumer rats. There are growing evidences of the implication of the ECS in pathological conditions, including obesity (Schulz et al., 2021) and BED (Bourdy and Befort, 2023). First of all,

in patients with BED and obesity, dosage of endocannabinoids in plasma reveals an increase levels of AEA and 2-arachydonylglycerol (2-AG), the two main endogenous lipid ligands of the ECS, in comparison to patients with obesity without BED (Monteleone et al., 2005; Yagin et al., 2020). Increased 2-AG is also observed in male mouse plasma following bingeing episodes compared to levels before palatable food access (Berland et al., 2022). Moreover, modifications of ECS gene expression have been shown following binge eating behavior in brain reward related structures in rodent models. Indeed, 28 days of sucrose bingeing in rats increased CB1 gene expression in the NAc and AEA levels in the prefrontal cortex (PFC) (de Sa Nogueira et al., 2021). In contrast, decreased CB1 relative gene expression has been described in the NAc following 40 days of high fat bingeing rats (Blanco-Gandía et al., 2017). These preclinical findings suggest opposite effects of sucrose and fat bingeing on central ECS regulation.

Recent studies reveal a worse inflammatory profile, attested by higher levels of pro-inflammatory markers in the plasma of obese patients with BED, in comparison to obese patients without BED (Succurro et al., 2015; Caldas et al., 2022). Low-grade systemic inflammation is already known to contribute to obesity physiopathology (Khanna et al., 2022), and seems also implicated in BED. Interestingly, both high-fat (HFD) and high-sugar (HS) diets are known to induce inflammatory response, which propagate to the brain through blood or nerve signals known as the gut-brain axis (Jamar et al., 2021). Most studies examining neuroinflammatory responses focus on the effect of HFD in the hypothalamus considered as the feeding center of the brain (De Souza et al., 2005; Waise et al., 2015; Gao et al., 2017; Cavaliere et al., 2018; Daly et al., 2020). Recently, studies in mice reveal an increase of neuroinflammatory markers expression in the reward system (NAc) following 8-week HFD (Décarie-Spain et al., 2018, 2021). Interestingly, a preclinical study using a 12-week binge sucrose paradigm, shows higher number of inflammatory cells in the plasma, associated with higher number of microglial cells in the brain of sucrose bingeing rats in comparison to rat fed with a standard diet (Patkar et al., 2021). All these data taken together indicate that excessive intake of palatable food can lead to a low-grade inflammatory state in the periphery and brain regions involved in food intake, and the reward pathway, which could contribute to maladaptive eating patterns.

Studies on feeding habits show that free sugar – defined as monosaccharides and disaccharides added to food and beverages by the manufacturer, cook or consumer, and sugars naturally present in honey, syrups, fruit juices and fruit juice concentrates - consumption exceeds WHO guidelines in numerous countries (Azaïs-Braesco et al., 2017; Walton et al., 2023), with sugar sweetened beverages (SSB) mainly contributing to this sugar overconsumption (Azaïs-Braesco et al., 2017; Marriott et al., 2019). Growing evidence indicate positive correlation between SSB consumption and development of metabolic diseases such as obesity (Malik and Hu, 2022) or non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) (Chen et al., 2019; Sekkarie et al., 2021). Moreover, SSB are regularly consumed during bingeing episodes in BED patients (Yousefi et al., 2022; Moraes et al., 2023). Together, these findings suggest that excessive sucrose intake observed in bingeing may alter liver metabolism.

The primary aim of this study was to study the impact of excessive sucrose intake following either continuous (CA) or intermittent (IA) access, over a short (2-week) or long (8-week) period, on neuroinflammation and ECS gene expression in the brain. We measured relative expression of genes involved in neuroinflammatory response, and genes for the ECS in the PFC and NAc, two reward-related brain structures. The second aim was to investigate the impact of excessive sucrose intake in our paradigm on the liver, using histological and qPCR analysis. Our study reveals an inflammatory profile following 8 weeks of continuous sucrose access in both the brain and the liver.

Materials and methods

Subjects

Male and female C57BL/6J mice were either from Charles River Laboratories, 4 weeks old upon arrival, or bred in the laboratory. They were housed 3 or 4 animals/cage under a 12-hour light dark cycle and standard temperature and humidity conditions ($22\pm2^\circ\text{C}$, $55\pm10\%$). One week before the beginning of sucrose access, animals were isolated in standard cages (11.5 x 29.5 x 13 cm) and habituated to a two-bottle choice paradigm with access to water only. All procedures in this report were conducted in accordance with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and approved by the Comité Régional d'Ethique en

Matière d'Expérimentation Animale de Strasbourg CREMEAS
(APAFIS#2018100414319951 and #2021091410585920).

High sucrose diet

Mice from 5 distinct cohorts were exposed to sucrose solution to explore consequences on central and peripheric inflammatory response, as well as on the ECS expression (**Table 5**). Caster sugar (Erstein, France) was dissolved in tap water, measured as weight per volume (17.1% g/L), and delivered in 50 mL bottles in a two-bottle choice protocol as previously (**Supplementary figure 42**) (Awad et al., 2020). Briefly, all groups had access to water and standard food A04 (SAFE®, Augy, France) (lipids : 8.4% ; carbohydrates : 72.4% ; sucrose : 4.4% ; proteins : 19.3%) *ad libitum*. For the following 2 or 8 weeks, the intermittent access (IA) group received access to sucrose for 4 h/day (**Supplementary figure 42**). The continuous access (CA) to sucrose group was exposed 24h/d, and a control group had no access (NA) to sucrose. Sucrose intake, divided by body weight (mL/g), was measured 1h, 4h, and 24h after exposure. To avoid side preference, the placement (left or right) of the water and sucrose bottles was alternated each session. Cohorts D and E were also submitted to behavioral tests to measure emotional state (published in Awad et al, 2023). According to the 3Rs policy for ethical animal used in research molecular analysis were also conducted on the same animals.

Table 5 – Cohort informations

Sucrose access	Cohort	n	Molecular analysis
2 weeks	A	M=13 F=12	qPCR PFC, NAc
	B	M=12 F=18	
	C	M=12 F=11	Liver red oil staining and qPCR
8 weeks	D	M=21 F= 24	qPCR PFC, NAc Liver red oil staining and qPCR Cytokine array serum (F)
	E	M=24 F=21	Cytokine array PFC (F)

Tissue collection

Following the last session of access, mice were killed to perform brain extraction. Coronal brain slices, 1 mm thick, were cut using a brain matrix chilled on ice (Harvard apparatus, Holliston, MA, USA). Structures of interest were collected according to the mouse brain stereotaxic atlas (Franklin and Paxinos, 2008) using punches (PFC 2.8 to 1.78 mm from bregma, 1 punch/2 slices; NAc 1.78 to 0.86 mm from bregma, bilateral punch/2 slices). Samples were immediately frozen on dry ice and kept at -80°C until use.

Blood was collected in heparin coated tubes (BD Microtainer, PST LH tubes) after decapitation (cohort D) and serum isolated following centrifugation (10min, 6000 rcf) ($\pm 100\mu\text{L}/\text{mice}$), and then stored at -80°C. During the diet a drop of blood was collected on a test strip for glycemia detection with a glucometer (One touch, Select Plus) from the tip of the tail, after local application of anesthetic cream (Lidocaïne/prilocaine 5%, Biogaran), after the 4h sucrose access session of the IA group, on weeks 2, 4 and 8

Livers were weighted and harvested for further analysis. A 3 mm² piece taken from the right lobule was frozen in liquid nitrogen to conduct histological analysis. Samples were also collected for qPCR analysis and kept at -80°C (Cohorts D and E).

Right gonadal adipose fat was dissected and weighted (Cohort E).

Brain and liver gene expression following sucrose bingeing paradigm

Gene expression in two brain structures (PFC and NAc) was measured following 2-week sucrose access (cohorts A, B) and 8-week (cohort D). Total RNA was extracted using Trizol (TR118, MRC) and chloroform (ratio 2/10) according to the manufacturer's instructions. RNA quality and quantity were measured with a NanoVue™ spectrophotometer (GE healthcare). Reverse transcription was performed on 750 ng of total RNA with iScript Reverse Transcription Supermix (iScript™ cDNA Synthesis Kit, Biorad, France, #1708841). Real-time PCR was performed in triplicate using a CFX96 Touch™ apparatus (Biorad, France) and Sso Advanced™ Universal SYBR Green supermix (Biorad, France). Thermal cycling parameters were 30 s at 95 °C followed by 40 amplification cycles of 5 s at 95 °C and 45 s at 60 °C. For liver, total RNA was extracted using commercial kit MagMaxTM mirVanaTM (#A27828). RNA

quality and quantity were measured with Qubit (Invitrogen) fluorometer. Reverse transcription and real-time PCR were performed as described previously for brain tissues, starting with 1µg RNA. Primer sequences for all tested genes are provided in **Table 6**. Expression levels were normalized to *Rplp0* (36B4) gene levels, classically used for brain or food related studies (Silberberg et al., 2009; Li et al., 2014) and compared between controls (NA) and sucrose-exposed samples using the $2\Delta\Delta Ct$ method (Livak and Schmittgen, 2001). Cq \geq 33 was used as a cut-off.

Table 6 - Primer sequences

Target	Forward primer	Reverse primer
36B4 (NM_007475.5)	TTCAATGGTGCCTCTGGAGAT	TGAGATTGGATATGCTGTTG
CB1 (XM_036163626.1)	GGGCAAATTCCCTTAGCA	CAGGCTAACGTGACTGAGA
CB2 (NM_001305278.1)	AACGGTGGCTGGAGTTCAA	TAGAGCACGCCATGTTCTC
FAAH (NM_010173.6)	CCCCAGAAGCTGTGCTCTT	TCAGTCAGATAGGAGGTCACA
GFAP (XM_030245571.2)	CAACTGCAGGCCTTGACCT	TCTTCCTGTTCGCGCATTG
Iba1 (NM_001409899.1)	GTCCTTGAAGCGAATGCTGG	CATTCTCAAGATGGCAGATC
TNFα (NM_001278601.1)	CCGATGGGTTGTACCTTGCT	GTGGGTGAGGAGCACGTAGT
CCL2 (NM_011333.3)	CCAACTCTCACTGAAGCCAGC	CAGGCCAGAACATGACA
CCL5 (NM_013653.3)	TTTGCCTACCTCTCCCTCG	CGACTGCAAGATTGGAGCACT
IL1β (XM_006498795.5)	CGCAGCAGCACATCAACAAGAGC	TGTCCTCATCCTGGAAGGTCCACG

Red oil and hematoxyline-eosin staining

Liver sections (n=4/group/sex) were cut to 10 µm (Cryostat Leica, CM3050 S) and stained with red oil powder (Sigma-Aldrich) diluted in isopropanol 99%, and hematoxylin (DiaPath) to highlight nuclei or hematoxylin (DiaPath) and eosin (Sigma-Aldrich). Following red oil staining, 6 images per mouse were obtained at a 20X objective (Leica, DM5500). Positive red pixels were quantified using Qupath 0.3.0 software, by automatic counting after setting a detection threshold. Inflammatory infiltrates, steatosis and ballooning were scored as present or absent on hematoxylin-eosin labelled slices at 20X magnification (Leica, DM5500).

Proteome profiler cytokine array

Mouse XL cytokine array kit (ARY028; Biotechne) was used based on the manufacturer's instruction, on female serum (pooled 6 mice, cohort D) and female PFC (pooled 4 mice, cohort E) samples. PFC tissues were homogenized in PBS with

protease inhibitor (cOmpleteTM, Merck) and triton, then centrifuged 5 min at 10 000 rcf to isolate proteins. Serum samples were defrosted and used as is. Briefly, capture antibodies have been spotted in duplicate on nitrocellulose membranes. Membranes were first incubated with biological samples (2-8°C, overnight), followed by biotinylated detection antibodies (room temperature, 1h), then streptavidin-HRP (room temperature, 30min) and chemiluminescent detection reagents. Array signals were visualized by Chemidoc (Biorad) chemiluminescent imaging system, the signal produce is proportional to the amount of protein bound. Pixel density of each spot was analyzed using protein array analyzer plugin of ImageJ 1.53j software. Mean of 2 spots is calculated for each target, and data are normalized according to reference spots. List of cytokines screened is furnished in **supplementary table 7**.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using RStudio (Version v1.3.1093). Sucrose intake over weeks was analyzed with a linear mixed model with group*sex*cohort*time as fixed effects. Mixed analysis of variance (ANOVA) was used for total consumption analysis with fixed effects group*sex*time*cohort. Weight gain and qPCR were analyzed by 2-way ANOVA with group*sex as fixed effect. For both mixed and 2-way ANOVA post hoc analysis were conducted by multiple comparisons using the Bonferroni correction method. Non-parametric Kruskal-Wallis test was run for the analysis of red oil positive pixels, followed by Dunn test with Bonferroni correction, for multiple pair comparison.

Results

Continuous sucrose access for 2 weeks increases total caloric intake

Three independent cohorts were pooled (cohorts A, B and C, **supplementary figure 43; Table 5**) as the global intake pattern was similar. Comparison of total caloric intake displays a significant sex ($F_{(1,82)}=59.1274$; $p=2.871.10^{-11}$) and group ($F_{(2,82)}=36.9269$; $p=3.673.10^{-12}$) effects. Independently of the group of access, females consume more calories than males (**Figure 38A**), for all items (chow: $F_{(1,82)}=13.72$; $p=0.0004$; sucrose: $F_{(1,54)}=35.4838$; $p=2.10^{-7}$). Moreover, animals in the CA group consume significantly more calories than those in the two other groups (NA: $t=3.704$; $p<0.0011$; IA: $t=2.916$; $p=0.0126$), without difference between NA and IA total caloric intake. Interestingly, animals in both CA and IA access groups consume less chow

than controls ($F_{(2,82)}=594.51$; $p=2.2.10^{-16}$) (CA: $t=31.296$; $p<0.0001$; IA: $t=8.062$; $p<0.0001$), and CA group even less than the IA group ($t=23.234$; $p<0.0001$). There is a significant group effect on total caloric intake from sucrose ($F_{(1,54)}=1144.8055$; $p<2.2.10^{-16}$) (**Figure 38A**), with animals in the CA group consuming more sucrose solution than animals in the IA group. Independently of the group of access, females show a higher rate of calories coming from sucrose (CA= 69%; IA=19%) than males (CA=64%; IA=18%) ($F_{(1,54)}=11.6747$; $p=0.0012$) (**Figure 38B, supplementary figure 46A**).

Total liquid intake over 2 weeks shows a group effect ($F_{(2,82)}=383.7275$; $p<2.2.10^{-16}$) with mice in the CA group drinking more than those in the IA ($t=27.318$; $p<0.0001$) and NA ($t=35.292$; $p<0.001$) groups, and IA group drinking more than the control group ($t=7.974$; $p<0.001$). A significant sex effect is highlighted for total liquid ($F_{(1,82)}=34.8963$; $p=7.609.10^{-8}$), water ($F_{(1,82)}=4.8247$; $p=0.0309$) and sucrose ($F_{(1,54)}=39.2787$; $p=6.338.10^{-8}$) intake, with females consuming higher quantity than males when data are report to animal body weight. Interestingly, group effect is also seen for water ($F_{(2,82)}=24.7176$; $p=3.974.10^{-9}$) and sucrose ($F_{(1,54)}=1227.2268$; $p<2.2.10^{-16}$) intake respectively (**Figure 38B**). CA mice decrease water consumption in comparison to NA ($t=7.199$; $p<0.0001$) and IA ($t=5.172$; $p<0.0001$) groups. Overall, CA mice drink about 3 times more than NA mice, and 1.7 times more than IA mice, because they have a higher sucrose intake ($t=32.898$; $p<0.0001$). Water intake is equivalent between IA and NA groups ($t=2.028$; $p=0.1120$).

Daily sucrose solution intake is higher in CA group compared to IA group ($t_{(112)}=18.261$; $p<2.10^{-16}$) (**Figure 38C**). Daily sucrose intake is higher in females of the CA group in comparison to males ($t_{(333)}= -5.184$; $p=3.77.10^{-7}$), whereas there is no significant difference between sexes in the IA group. Daily consumption increases over time in the IA group ($t_{(847)}= 6.565$; $p=9.02.10^{-11}$), whereas it is stable in the CA group.

Statistical analyses of the weight gain after 2 weeks of sucrose diet reveals a group effect ($F_{(2,81)}=3.4806$; $p=0.035468$), but the post-hoc test does not point at specific groups. Weight gain is similar between sexes ($F_{(1,81)}=3.8492$; $p=0.0532$), but there is significant group x sex effect ($F_{(2,81)}=3.3996$; $p=0.038217$) showing that in the IA group females gained less weight compared to males ($t=2.441$; $p=0.0168$) (**Figure 38D**). Moreover, females of the CA groups gain more weight in comparison to females of the IA group ($t=2.855$; $p=0.015$).

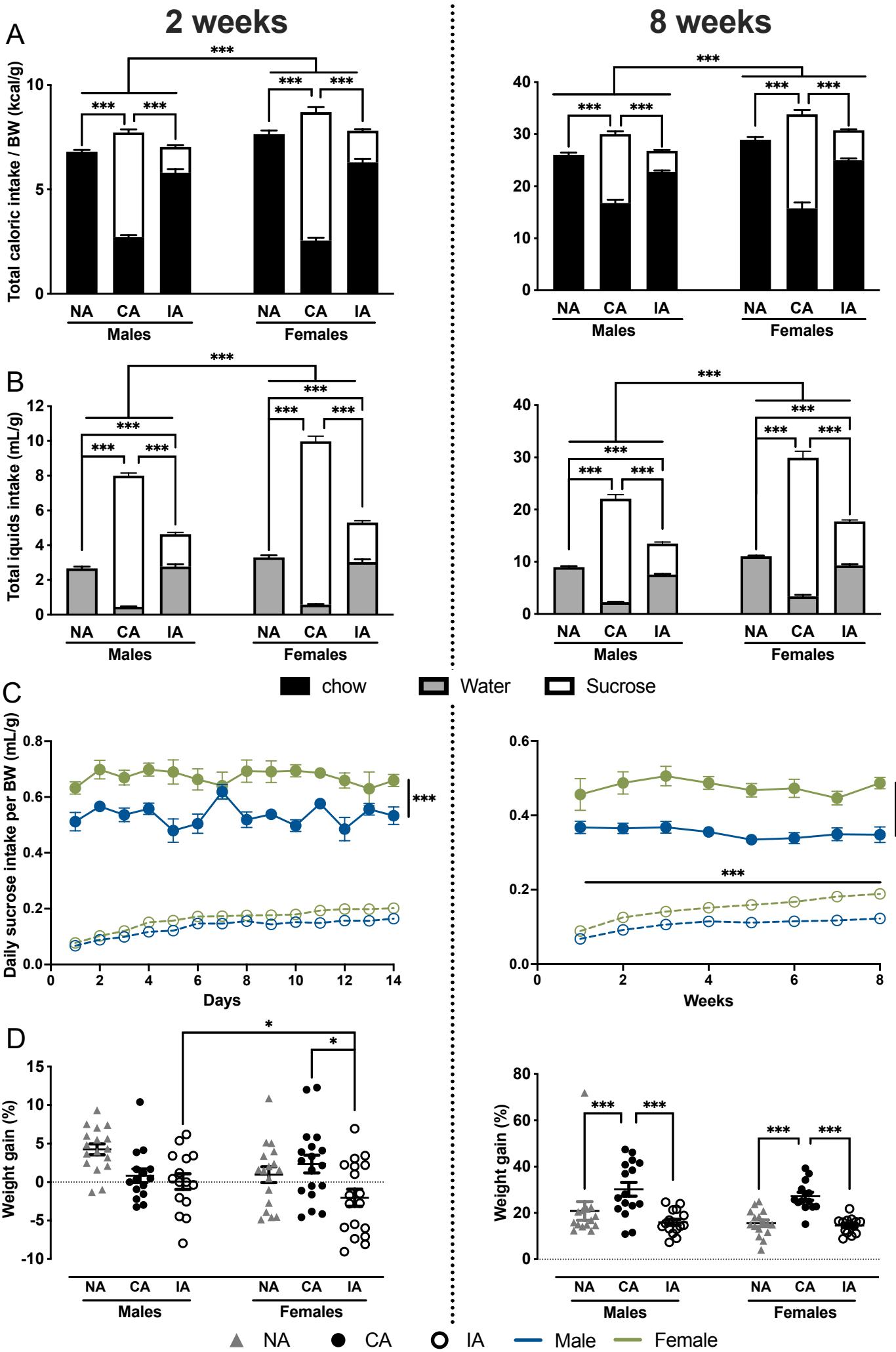


Figure 38. Impact of 2-week and 8-week sucrose access on caloric intake and weight gain

(A) 2- and 8-week sucrose consumption induce a higher total caloric intake in animals with a continuous access (CA) to the sucrose solution, in comparison to those with either an intermittent access (IA) or no access (NA). Mice of the CA group consume more calories from sucrose in comparison to IA group. (B) Total liquids intake is increased by sucrose access (CA and IA) in comparison to controls, with an overall liquid intake higher in CA mice due to excessive sucrose intake. (C) Daily sucrose solution intake is higher in CA group compared to IA group. In the CA group females consume more sucrose solution than males. During the prolonged paradigm (8-weeks) IA females have an increased escalation rate compared to males. (D) 2 weeks sucrose access either continuous or intermittent do not induce weight gain in comparison to NA mice. In females CA mice gain more weight than those in the IA group. Moreover, females in the IA group gain less weight in comparison to males. After 8 weeks, weight gain is significantly higher in the CA compared to both IA and NA groups. Caloric and liquid intake are normalized by animal body weight. Data are expressed in mean \pm SEM. ** $p<0.001$; *** $p<0.0001$.

Continuous sucrose access for 8 weeks increases total caloric intake

Results from 2 cohorts were pooled as the intake pattern was similar (**supplementary figure 44; Table 5**).

Interestingly, pattern of total caloric intake, when the paradigm is extended to 8 weeks, replicates the one at 2 weeks. Indeed, the group effect ($F_{(1,78)}=57.3063$; $p=4.886.10^{-16}$) shows that mice of the CA group consume more calories than those of the NA ($t=9.920$; $p<0.001$) and IA groups ($t=4.952$; $p<0.001$), without difference between NA and IA groups ($t=1.656$; $p=0.2284$) (**Figure 38A**). There is also a sex effect ($F_{(1,78)}=113.8431$; $p=2.2.10^{-16}$) on the total caloric intake, with females consuming more calories than males independently of the group. Looking at specific items this sex effect is also observed (chow: $F_{(1,78)}=10.2713$; $p=0.0019$; sucrose: $F_{(1,52)}=55.8438$; $p=8.729.10^{-10}$). Both CA and IA groups show lower calorie intake from chow in comparison to animals without access to sucrose (CA: $t=17.630$; $p<0.001$; IA: $t=5.906$; $p<0.0001$). Animals in the CA group consume more sucrose solution ($F_{(1,52)}=271.5101$; $p<2.10^{-16}$). In both groups, sucrose consumption is higher in females (CA= 54%; IA=19%) compared to males (CA=44%; IA=15%) ($F_{(1,52)}=20.7435$; $p=3.202.10^{-05}$) (**supplementary figure 46A**).

Total liquid consumption also displays a similar pattern between 2 and 8 weeks of sucrose access, with a significant group effect ($F_{(2,78)}=580.0986$; $p=2.2.10^{-16}$) indicating higher liquids intake in groups with sucrose access in comparison to the NA (CA: $t=33.945$; $p<0.001$; IA: $t=11.848$; $p<0.0001$), which is increased in CA group in comparison to IA group ($t=22.199$; $p<0.001$) (**Figure 38B**).

Daily sucrose solution intake averaged by week is higher in CA group compared to IA group ($t_{(88)}= 18.954$; $p<2.10^{-16}$) (**Figure 38C**). Daily consumption increases over time in the IA group ($t_{(420)}= 9.363$; $p<2.10^{-16}$), whereas it is stable in the CA group. Daily sucrose intake is higher in females of the CA group in comparison to males ($t_{(88)}=-5.603$; $p=2.39.10^{-7}$), whereas in the IA group females have a higher escalation rate than males ($t_{(420)}=-3.401$; $p=0.007$).

Prolonged sucrose access reveals a distinct pattern of weight gain with a group effect ($F_{(2,78)}=24.3893$; $p=5.928.10^{-9}$), indicating that CA group increases weight gain more in comparison to IA or NA (IA: $t=6.559$; $p<0.0001$; NA: $t=5.192$; $p<0.0001$) (**Figure 38D**).

Excessive sucrose intake induces up-regulation of neuroinflammatory marker gene expression in the reward system

In the PFC, 2-week sucrose access increases GFAP relative gene expression ($F_{(2,44)}=3.805$; $p=0.0294$) in the IA group compared to NA ($t=2.7511$; $p=0.02254$) (**Figure 39A**). After 8-week sucrose access, Iba1 relative gene expression is enhanced in the PFC of CA group mice ($F_{(2,31)}=4.029$; $p=0.0278$) in comparison to the IA group ($t=2.893$; $p=0.0185$), without difference between CA and NA or NA and IA groups (**Figure 39A**). Both CCL2 and TNF α genes have a tendency to be more expressed in CA and IA mice in comparison to NA group. TNF α is more expressed in the NAc ($F_{(2,41)}=3.195$; $p=0.0514$) of CA group compared to NA group after 2 weeks ($t=2.397$; $p=0.0541$), whereas no significant regulations are observed for CCL2 and TNF α at 8 weeks in this region (**Figure 39B**). Finally, Iba1 is also significantly up regulated in the NAc ($F_{(2,22)}=3.487$; $p=0.0484$), only in the CA group compared to control mice ($t=1.891$; $p=0.0228$) (**Figure 39B**). No sex effect is highlighted for any of the genes analyzed here.

None of the ECS genes that were tested show significant regulation of expression (**supplementary Figure 47A, B**), in both the PFC and NAc.

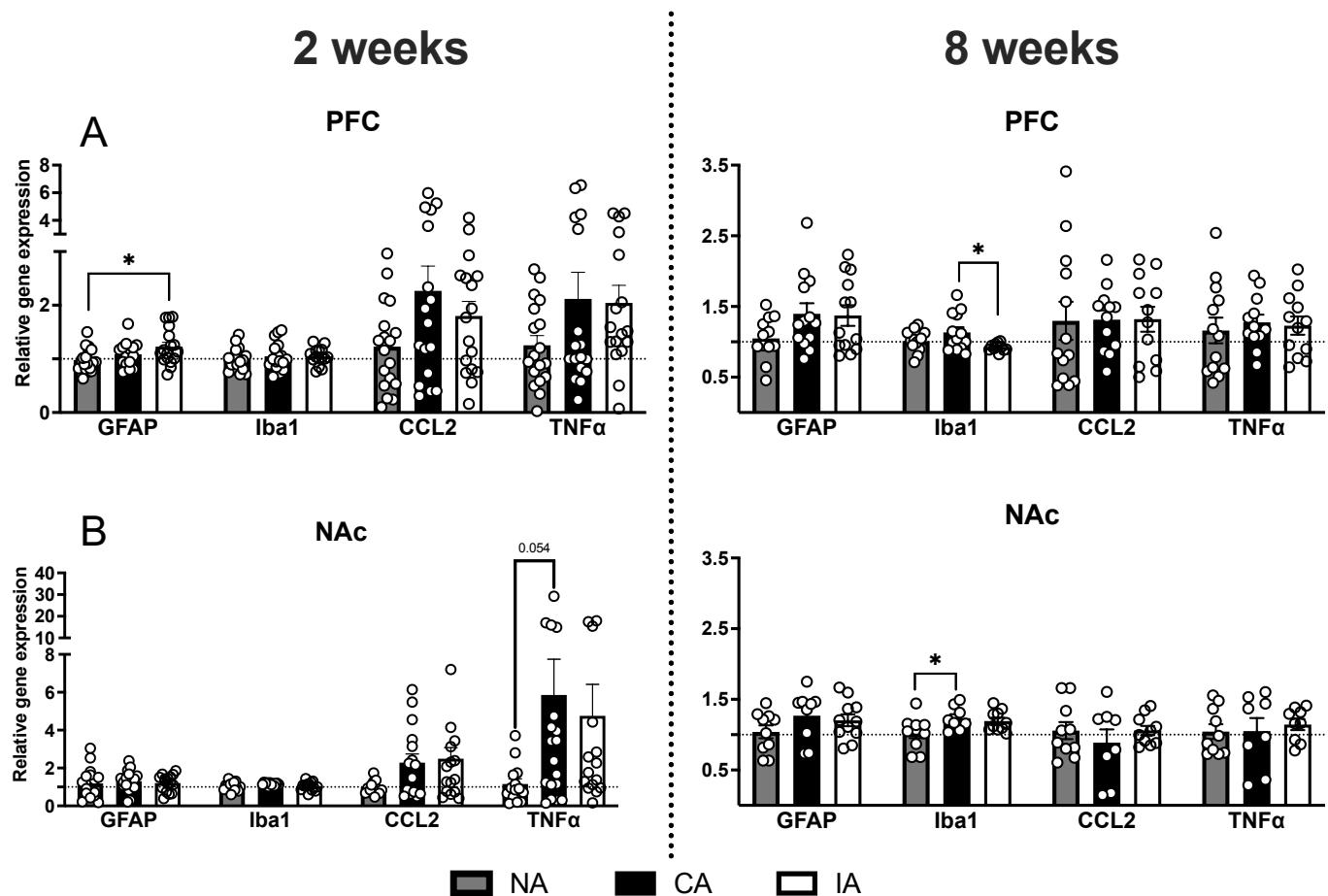


Figure 39. Neuroinflammatory gene expression in PFC and NAc following 2- and 8-week sucrose access

(A) GFAP relative gene expression is increase in the PFC of mice having intermittent access (IA) to the sucrose solution for 2 weeks compared to mice without sucrose access (NA). After prolonged 8-week paradigm Iba1 relative gene expression is enhanced in PFC of mice with continuous access (CA) to sucrose compared to IA. (B) 2-week CA increase TNF α expression in the NAc of CA mice compared to NA. Data are expressed in mean \pm SEM. PFC: prefrontal cortex; NAc: nucleus accumbens; GFAP: glial fibrillary acidic protein; Iba1: ionized calcium-binding adapter molecule 1; CCL2: chemokine ligand 2; TNF α : Tumor necrosis factor α ; * p <0.05.

Excessive sucrose intake induces liver steatosis and an inflammatory status

Post hoc analysis of liver weight at the end of the 2-week paradigm reveals lower liver weights ($F_{(2,39)}=7.0438$; $p=0.0024$) in the IA group compared to CA ($t=2.681$; $p=0.0282$) and NA ($t=3.19$; $p=0.0078$) groups. After a prolonged sucrose access ($F_{(2,42)}=2.9584$; $p=0.0024$), only IA mice display lower liver weight compared to CA group ($t=2.779$; $p=0.0222$). Males have overall heavier livers than females at both time points (2-week: $F_{(1,39)}=42.1460$; $p=1.075 \cdot 10^{-7}$; 8-week: $F_{(1,42)}=17.5997$; $p=0.0001$), as expected for same aged animals (Figure 40A).

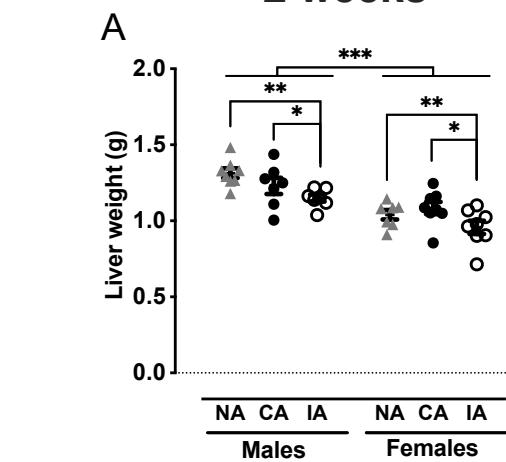
Liver histological analysis with red oil staining shows a clear triglyceride accumulation in CA mice after 2 and 8 weeks of paradigms, assessed by more and bigger red droplets in these animals compared to the two other groups (**Figure 40B**). Moreover, this hepatic steatosis phenotype seems stronger in females than males. Considering these observations, added to sexual dimorphism of liver weight, statistical analysis of pixel quantification was conducted independently in each sex. Kruskal-Wallis test shows a group effect on pixel detection after 2-week sucrose paradigm in both males ($\chi^2_{(2)}=6.5769$; $p=0.04$) and females ($\chi^2_{(2)}=7.4231$; $p=0.0244$). Post-hoc analysis show higher rate of positive pixels in CA compared to IA mice in both males ($p=0.0279$) and females ($p=0.0362$). In females CA group displays significantly higher rate of positive pixel than NA ($p=0.0213$), and in males this is close to significance ($p=0.0592$) (**Figure 40C**). A similar pattern is retrieved after prolonged paradigm with significant group effect in males ($\chi^2_{(2)}=6.0956$; $p=0.0475$) and females ($\chi^2_{(2)}=7.7308$; $p=0.0209$) (**Figure 40C**). In both sexes, CA have significant increase positive pixels in comparison to NA (males: $p=0.0396$; females: $p=0.0122$) group, and close to significance when compared with IA (males: $p=0.0552$; females: $p=0.0592$) group. Hematoxylin-eosin staining of liver slices allows detection of inflammatory infiltrates, steatosis and ballooning, which appeared equally in the 3 groups (**Supplementary figure 48**).

After 2-week sucrose access none of the inflammatory marker gene expression in the liver is statistically different between the 3 groups of access (**Figure 40D**). Interestingly, prolonged access to sucrose induces a significant group effect on TNF α ($F_{(2,31)}=6.431$; $p=0.0046$) and CCL2 ($F_{(2,29)}=12.481$; $p=0.0001$) relative expression, with post-hoc analysis revealing increase expression in CA group compared to NA (TNF α : $t=3.249$; $p=0.0072$; CCL2: $t=3.356$; $p=0.0009$) and IA (TNF α : $t=3.064$; $p=0.0156$;

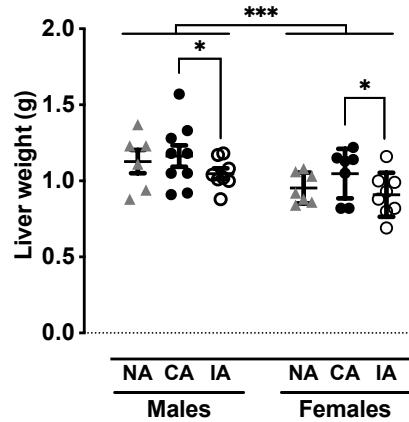
Figure 40. Impact of 2- and 8-week sucrose access on liver

(A) Males have heavier liver than females. Intermittent access (IA) group has lighter liver than continuous access (CA) and non-access (NA) groups after 2-week diet. When the diet is prolonged for 8 weeks, liver weight is lower in IA group in comparison to CA. (B) Representative pictures of red oil staining in the liver of male and female mice following 2- and 8-week sucrose access paradigm. Triglycerides appear as red droplets. (C) 2- and 8-week CA to sucrose increases red oil positive pixel detection in the liver of both males and females. (D) 8-week CA to sucrose increase TNF α and CCL2 gene expression in the liver in comparison to IA and NA mice. Data are expressed in mean \pm SEM. TNF α : Tumor necrosis factor α ; IL1 β : Interleukine 1 β ; CCL2/5: chemokine ligand 2/5; * $p<0.05$; ** $p<0.001$; *** $p<0.0001$.

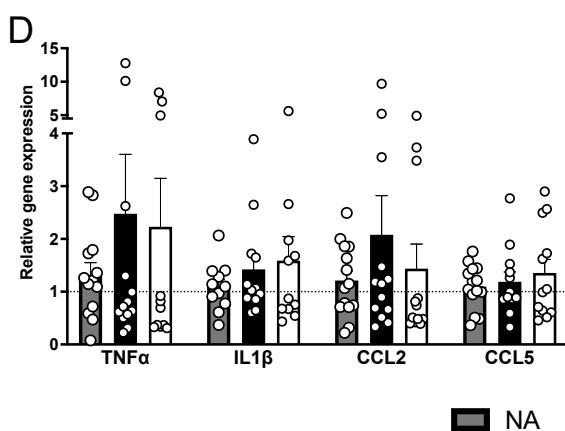
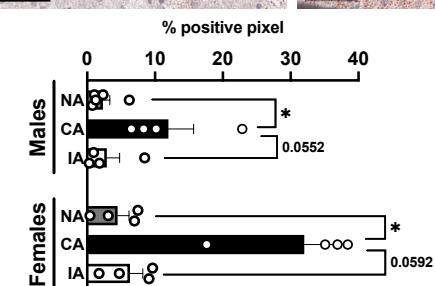
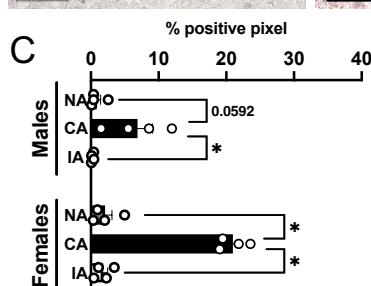
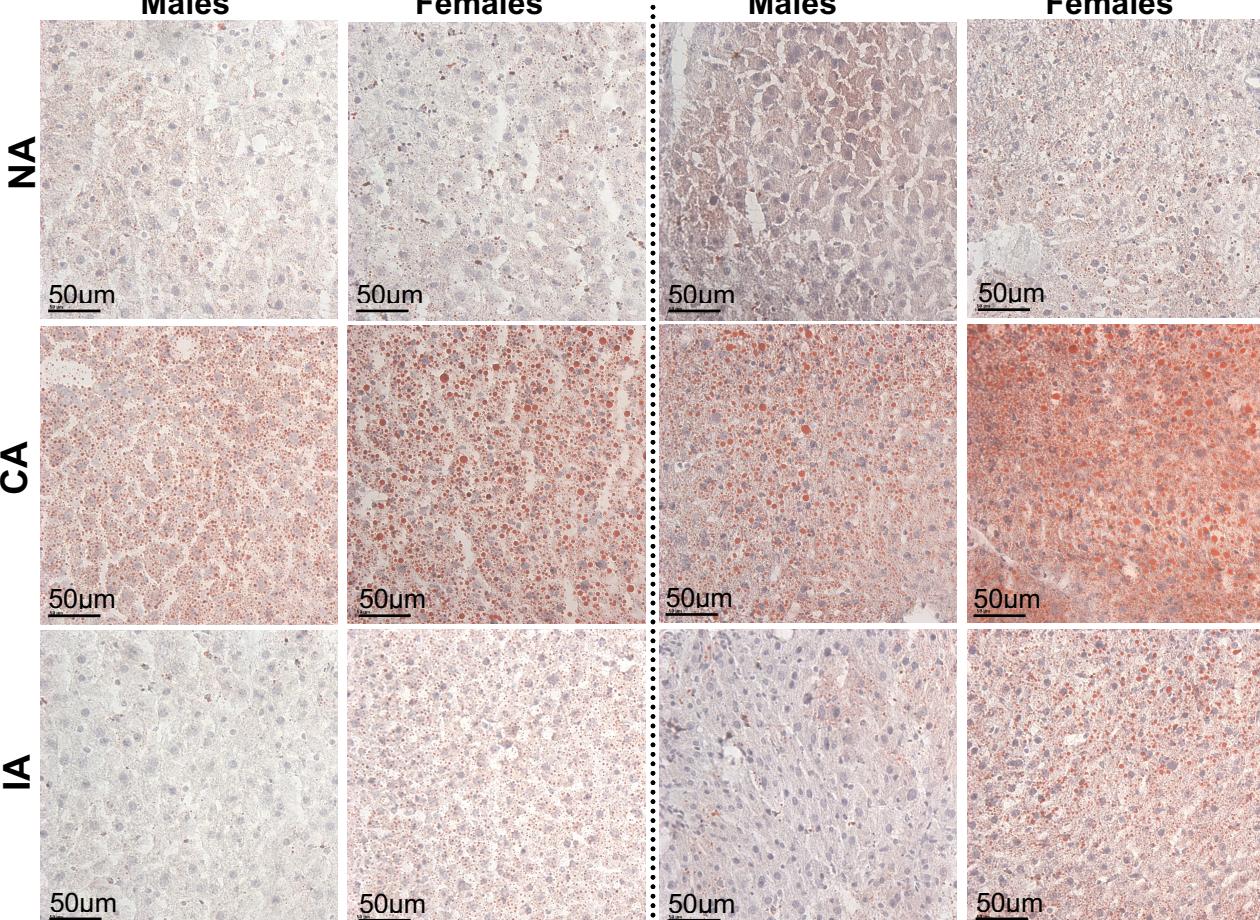
2 weeks



8 weeks



B Males Females



■ NA ■ CA ■ IA

CCL2: $t=3.681$; $p=0.0003$) groups (**Figure 40D**). Interestingly, independently of the groups, females express significantly more IL1 β ($F_{(1,33)}=13.804$; $p=0.007$), CCL2 ($F_{(1,29)}=14.280$; $p=0.0007$) and CCL5 ($F_{(1,31)}=12.988$; $p=0.0011$) than males in the liver in the prolonged paradigm (**supplementary figure 51B**). CCL5 expression is also enhanced in females compared to males after 2 weeks ($F_{(1,32)}=7.13$; $p=0.0118$) (**supplementary figure 51A**).

No change in ECS gene expression is observed after 2- or 8-weeks sucrose access (**supplementary figure 47C**). Both CB1 ($F_{(1,26)}=17.071$; $p=0.0003$) and CB2 ($F_{(1,33)}=10.254$; $p=0.0003$) expression is higher in females compare to males following 2-week paradigm (**supplementary figure 51A**).

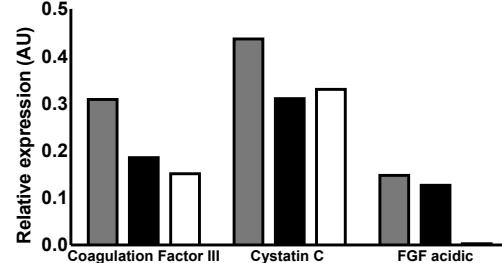
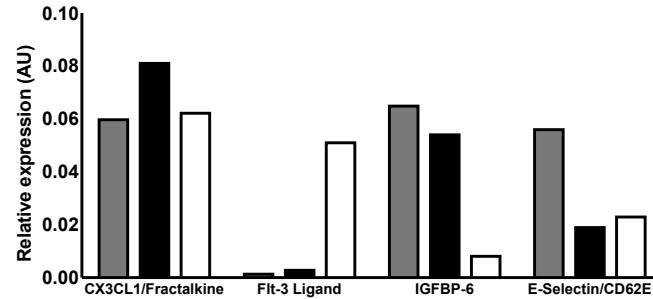
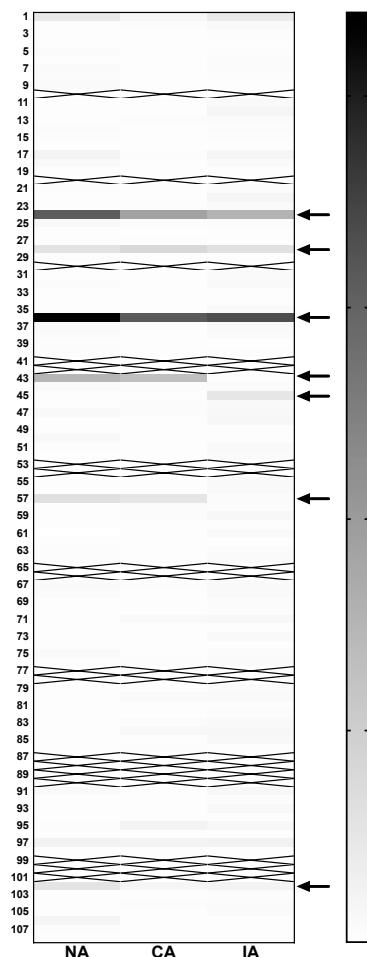
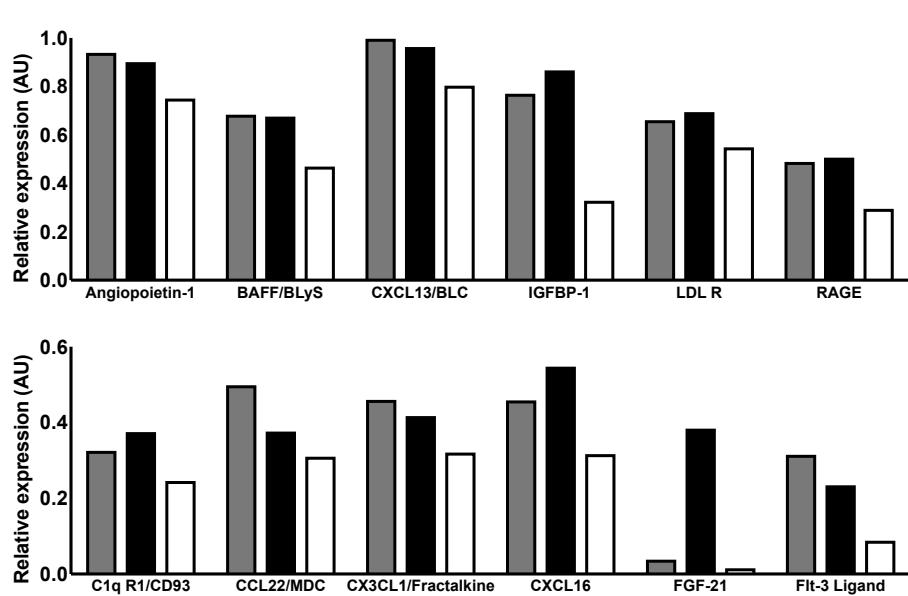
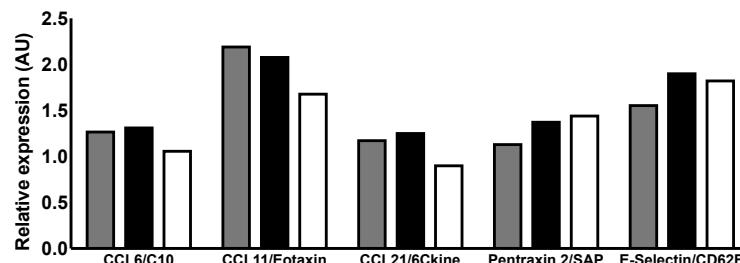
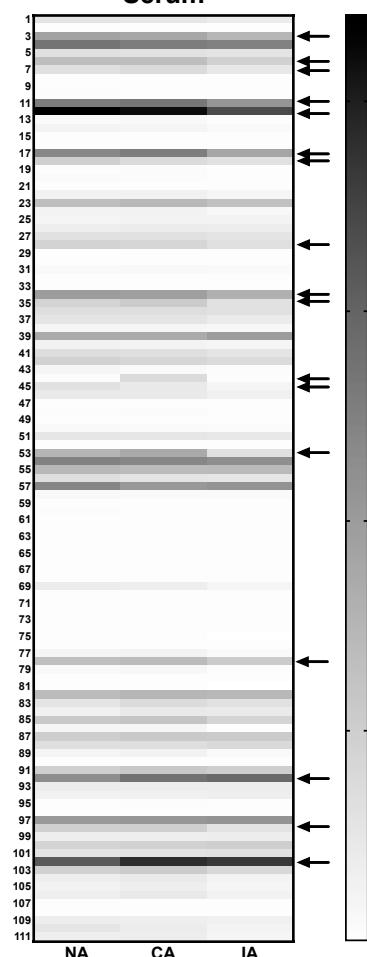
Glycemia measures and cytokine array analysis

No effect of sucrose consumption was seen on glycemia measures (**Supplementary figure 50**).

In order to go further in the analysis of the inflammatory phenotype observed after 8-week CA to sucrose we used a commercial kit to study cytokine protein expression in the PFC and the serum (**Figure 41**). This analysis was first conducted on females. Visual analysis shows that more cytokines are present in the serum than the PFC (**Figure 41A, B; supplementary figure 51**). For the PFC, a technical problem arises and hybridization of the bottom and left part of the membrane was not optimal (**supplementary figure 51A**), so data corresponding to array coordinates A-J 21-24 and H-J17-20 were excluded from the analysis (**supplementary figure 51C**). Preliminary results show some modification of cytokine expression in the PFC between the 3 conditions (**Figure 41A**), with for instance a specific increase CX3CL1 in CA mice and increase flt-3 ligand in IA mice. Interestingly, IGFBP-6, E-Selectin, coagulation

Figure 41. Cytokine array in the PFC and the serum in female mice after 8-week sucrose access paradigm

(A) Heatmap representing relative inflammatory markers proteic expression in the PFC, in grey scale. Cross represent data excluded. Arrows point markers showing differential expression between groups (detailed in histograms) : row 24: coagulation factor III; row 28: CX3CL1/Fractalkine; row 36: cystatin C; row 43: FGF acidic; row 45: Flt-3 ligand; row 57: IGFBP-6; row 102: E-selectin/CD62E. (B) Heatmap representing relative inflammatory markers proteic expression in the serum, in grey scale. Arrows point markers showing differential expression between groups (detailed in histograms) : row 3: angiopoietin-1; row 6: BAFF/BLyS; row 7: C1qR1/CD93; row 11: CCL6/C10; row 12 : CCL11/Eotaxin; row 17: CCL21/6Ckine; row 18: CCL22/MDC; row 28: CX3CL1/Fractalkine; row 34: CXCL13/BLC; row 35: CXCL16; row 44: FGF-21; row 45: Flt-3 ligand; row 53: IGFBP-1; row 78: LDL R; row 92: Pentraxin 2/SAP; row 98: RAGE; row 102: E-selectin/CD62E. Membranes for PFC, $n=4$ female mice; membrane for serum: $n=6$ female mice. AU: arbitrary unit; PFC: prefrontal cortex

A**PFC****B****Serum**

factor III and cystatin C expression are less express in sucrose access mice (CA and IA). In the serum (**Figure 41B**), FGF-21 and CXCL16 are specifically increased in CA mice. Pentraxin2/SAP and E-selectin expression is enhanced in both sucrose access groups. CCL6, CCL21, BAFF/BLyS, CXCL13, IGFBP-1, LDL R, RAGE, C1qR1/CD93, CXCL16 expression is specifically decreased in IA mice. Whereas CCL22/MDC, CX3CL1/fractalkine, Flt-3 ligand, angiopoietin-1, CCL11 expression is lower in both IA and CA compared to NA mice.

Discussion

In this study, we used a high sucrose diet paradigm ([Awad et al., 2020](#)) with an intermittent sucrose access, resulting in higher sucrose intake during the 1st hour sucrose access compared to a continuous sucrose access group defined as a bingeing behavior ([Awad et al., 2023](#)). We compared the impact of 2- and 8-week access on intake behaviors as well as the consequences on central and peripheric inflammation. Interestingly, our analysis of caloric intake reveals that mice in the IA group compensate high sucrose calories by reducing chow intake, as total caloric intake is not different from mice of the NA group following 2- or 8-week paradigm. On the other hand, because of excessive sugar intake, caloric regulation is not effective anymore in the CA group despite a strong reduction of chow intake, as total caloric intake is much higher in this group compared to NA and IA groups. This excessive sucrose consumption in the CA group results in an increase weight gain at the end of the 8-week paradigm compared to the two other groups. Most rodent studies use HFD to induce obesity, with high total calories and weight gain, so our results indicate that continuous sucrose solution access also leads to obese phenotype. This is in line with studies using CA to 30% sucrose solution during 12 weeks ([Burke et al., 2018](#)), or 50% sucrose solution during 9 weeks ([Togo et al., 2019](#)) inducing increased weight gain in male mice. Interestingly, the latter shows that this effect is observed in mice with or without water access beside sucrose solution. Moreover, females are commonly described as resistant to weight gain when fed a HFD ([Maric et al., 2022](#)), whereas our results show that liquid sucrose intake for 8 weeks induces equivalent weight gain in both sexes. Similar findings were reported with a 8-week 5% sucrose solution CA, with similar weight gain in male and female mice ([Wei et al., 2021](#)).

An interesting finding is the sex effect observed on caloric and liquid intake, with female mice consuming more calories and liquids per body weight than males. Similar observations were made in rats (Wang, 1925) and mice (Oraha et al., 2022) fed with a standard diet, with females consuming more calories per body weight than males. When mouse metabolism is evaluated through metabolic cages, females display a higher energy expenditure per body weight compared to males. This difference in metabolism could be due to sexual dimorphism, as it is known that female mice have lower fat mass compared to male (Rathod and Di Fulvio, 2021). Adipose tissues contribute to thermoregulatory mechanisms. Interestingly, despite lower body fat, female mice body temperature is higher (Sanchez-Alavez et al., 2011), so it could be possible that higher energy intake in females serve as a substrate to maintain body temperature, explaining no sex difference on weight gain in our study. A recent study in mice exposed to 4-month standard diet or HFD, energy intake adjusted per body weight shows that females consumed more calories than males in both diet (Guerra-Cantera et al., 2023). They also show a higher relative gene expression of NPY and AgRP, two orexigenic neuropeptides, in female hypothalamus compared to males under standard diet. These results suggest that sex difference in caloric intake is regulated at the central level. Concerning hydric consumption, sex differences have also been reported, with female drinking higher water volume per body weight both in rats (McGivern, 1996; Grimm et al., 2022) and mice (Rakov et al., 2016; Rivera-Irizarry et al., 2023). It has been hypothesized that this difference is due to higher levels of circulating vasopressin, an anti-diuretic hormone, and increased sensitivity in males. However, rate of sucrose intake over water is similar between males and females (**Supplementary figure 46A**). Our data therefore suggest that this difference comes from energetic and hydric sexual dimorphisms.

The HS paradigm conducted here shows that females consume more sucrose solution than males in both CA and IA groups, assessed by total caloric and liquid intake. Another hypothesis to explain this sex difference is a sexual dimorphism of hedonic food intake. A recent study shows sex differences in addictive like behaviors toward sucrose in mice (Wei et al., 2021). First relapse-like sugar intake measured following 2-week sucrose forced abstinence, shown higher sugar intake compared to the baseline, which last longer in females. Sugar deprivation effect increased locomotor activity only in females. Moreover, operant conditioning tasks, during which

mice must press a lever to obtain sugar delivery, reveal enhanced persistence - as mice continue to press lever during time-out period where it does not induce sugar release - and motivation - with number of lever press to obtain sugar increasing progressively - in females compared to males. Even if we did not test comparable parameters in our study, sex effect on sucrose consumption is in accordance with results describe by Wei team. Indeed, they observe higher sucrose intake in females with 8-week CA to 5% solution, and with a 4-day drinking in the dark sucrose (5%) binge paradigm. It was shown using a 2-bottle choice paradigm with 1% and 8% sucrose solution for 34 days that 8% sucrose consumption is higher in females compared to males ([Ren et al., 2020](#)). Moreover, increased expression of D1 and D2 in the NAc was only seen in females, suggesting differential neuroadaptive mechanisms induced by sugar intake in the reward pathway. Altogether, we hypothesize that females have a biological vulnerability for excessive sugar consumption sustained by the dopaminergic system involved in reward process.

Our initial hypothesis was that sucrose bingeing would induce neuroinflammation, our qPCR analysis did not show modification of neuroinflammatory markers expression either in the NAc or the PFC of the IA group. In a longer binge sucrose paradigm (5% sucrose, 3 d/week, 12 weeks) in male rats ([Patkar et al., 2021](#)), PET/MRI scanning and immunohistochemistry revealed microgliosis in the cortex, the amygdala, the hypothalamus and the hippocampus, attested by higher number of microglial cell in bingeing rats compared to rats fed a standard diet. This central inflammation was associated with a higher number of inflammatory cells in the blood, but no abnormal fat deposition or inflammatory infiltration in the liver of these animals. In our conditions, cytokine array analysis did not show a pro-inflammatory phenotype in the PFC of females of the IA group, probably due to a shorter sucrose access (8 weeks). In accordance with Patkar observations, liver analysis in our model did not show modifications of the inflammatory state in the IA compared to NA group.

Interestingly, we showed for the first time that prolonged continuous access (CA, 8 weeks) to sucrose induced an increase of Iba1 gene expression both in the NAc and the PFC, suggesting that prolonged excessive sucrose intake can induce microgliosis in the brain reward pathway. Further experiments will be conducted in a future cohort to confirm this at the protein level. Very few studies investigated the effect of a HS in the brain. One study investigating the effect of 2-week 20% sucrose solution access in

rats showed an increase of neuroinflammatory markers by qPCR in the hippocampus in comparison to rat fed a standard diet or a high-fat high sugar diet (Beilharz et al., 2016). In our conditions, a 2-week sucrose exposure was not enough to induce detectable changes, but we did not investigate modifications in the hippocampus. Interestingly, our cytokine array analysis in female PFC reveals increase CX3CL1 expression in the CA group. This chemokine also known as fractaline, is released by neurons, binds to a specific receptor (CX3CR1) present on microglial cells and contributes to neuroinflammatory process. Increased expression of CX3CL1 was observed in the hypothalamus of mice fed with a diet-induced obesity, enriched in fat (35%), for either 1 day, or 2- and 8-week (Morari et al., 2014). Injection of small-interfering RNA against CX3CL1 in the hypothalamus also reduced diet-induced inflammation in this brain structure, and diet-induced adiposity. Therefore, similar CX3CL1 pathway could contribute to both fat- and sugar-induced obesity.

We could not detect any expression changes for CB1 and CB2 receptors, and FAAH enzyme in our conditions. We have previously shown that CB1 was up-regulated in the NAc of bingeing rats submitted to 12h our intermittent access to a 10% sucrose solution for 28 days (de Sa Nogueira et al., 2021). Both the protocols (sucrose concentration and duration of access) and the species were distinct, which may account for these differences. In a study where bingeing is induced by food restriction and frustration stress (rats can smell palatable food but cannot reach it), increased expression of CB1 and FAAH was observed in the hypothalamus (Pucci et al., 2019). This suggest that binge-induced stress is necessary for these ECS gene regulations in the brain of bingeing animals. In our bingeing conditions, we have recently shown that there is no anxiety or depressive-like behaviors in our bingeing mice (Awad et al., 2023), which could explain these differences in ECS gene regulation. Previous results in our team shown increased CB2 gene expression in the NAc of high-sucrose consumers rats after 6-week free access to a high-fat high-sugar diet (Bourdy et al., 2021). As CB2 is mainly expressed by microglial glial cells in the brain and up-regulated in activated microglia (Cabral, 2005; Benito et al., 2008), it was hypothesized that this could be a sign of neuroinflammation. Whereas, in our study we did not observe modification of CB2 expression despite signs of neuroinflammation in the CA group, but no. CB2 contributes to reduce neuroinflammatory response by limiting pro-inflammatory cytokine release, and increasing anti-inflammatory marker secretion

(Komorowska-Müller and Schmöle, 2020). Thus, it could be possible that absence of CB2 up-regulation in our model contribute to pro-inflammatory response.

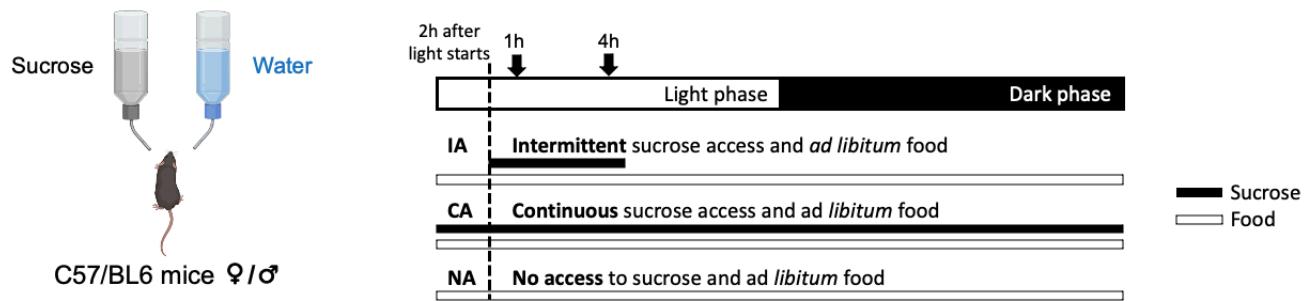
In the periphery, we investigated the effect of excessive sucrose intake on the liver, revealing an excessive fat accumulation in the CA group, already detectable after 2-week exposure. This is enhanced after 8-week access and associated with an increased pro-inflammatory gene expression (TNF α , CCL2). Liver abnormal triglycerides accumulation, also called steatosis, is a sign of NAFLD when increased >5% associate or no with inflammation (Sanyal, 2019). Our results are in accordance with reports indicating that consumption of SSB in humans is strongly associated with NAFLD (Asgari-Taee et al., 2019). In addition, we observed that the abnormal fat accumulation was exacerbated in females compared to males, corroborating previous data with sex differences in hepatic triglycerides accumulation detected by biochemical dosage in a 12-week paradigm of exposure to 10% sucrose solution (Stephenson et al., 2022). In this study, the authors hypothesized that these sexual dysmorphism could come from lower capacity in females to store lipids in adipose tissues, resulting in higher storage in the liver. We indeed show that there was no difference between the 3 groups of sucrose access in the weight of gonadal fat in females, whereas a specific increase was detected specifically in the CA male group, which coincides with this hypothesis.

Conclusion

In conclusion, this study shows that prolonged excessive sucrose intake in a continuous access paradigm leads to higher weight gain, associated with neuroinflammation in structures of the reward pathway in both males and females. Moreover, in these conditions females are more prone to fatty liver disease than males. In contrast, bingeing mice (IA group) compensate their caloric intake over the 8-week paradigm and show no metabolic impairments or neuroinflammation signs. Moreover, our results show a main sex effect on caloric and liquid intake with females having an overall higher consumption than males. According to higher prevalence of eating disorders in women than men (Udo and Grilo, 2018), this sexual dimorphism should be investigated more carefully in order to understand underlying mechanisms and propose adapted treatments.

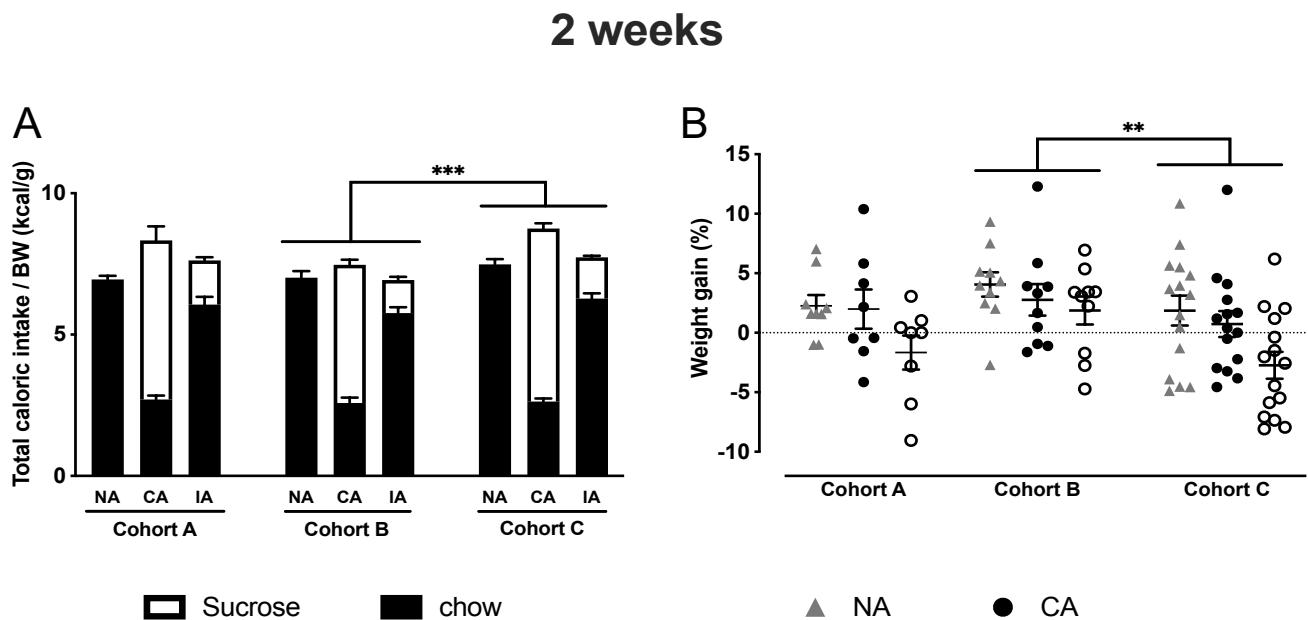
Acknowledgments

This project was supported by the Université de Strasbourg, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Programme International de Cooperation Scientifique (PICS CNRS), the French National Research Agency (ANR) through the Programme d'Investissement d'Avenir (ANR- 17-EURE-0022, Euridol, Graduate school of pain), IRESP (Institut pour la recherche en santé publique, IReSP/INCa-21-Addiction), and the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC). Gaëlle Awad received a PhD fellowship from the French Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche. Anne-Sophie Aubry received a PhD fellowship from Euridol, Graduate school of pain.



Supplementary Figure 42. Experimental design

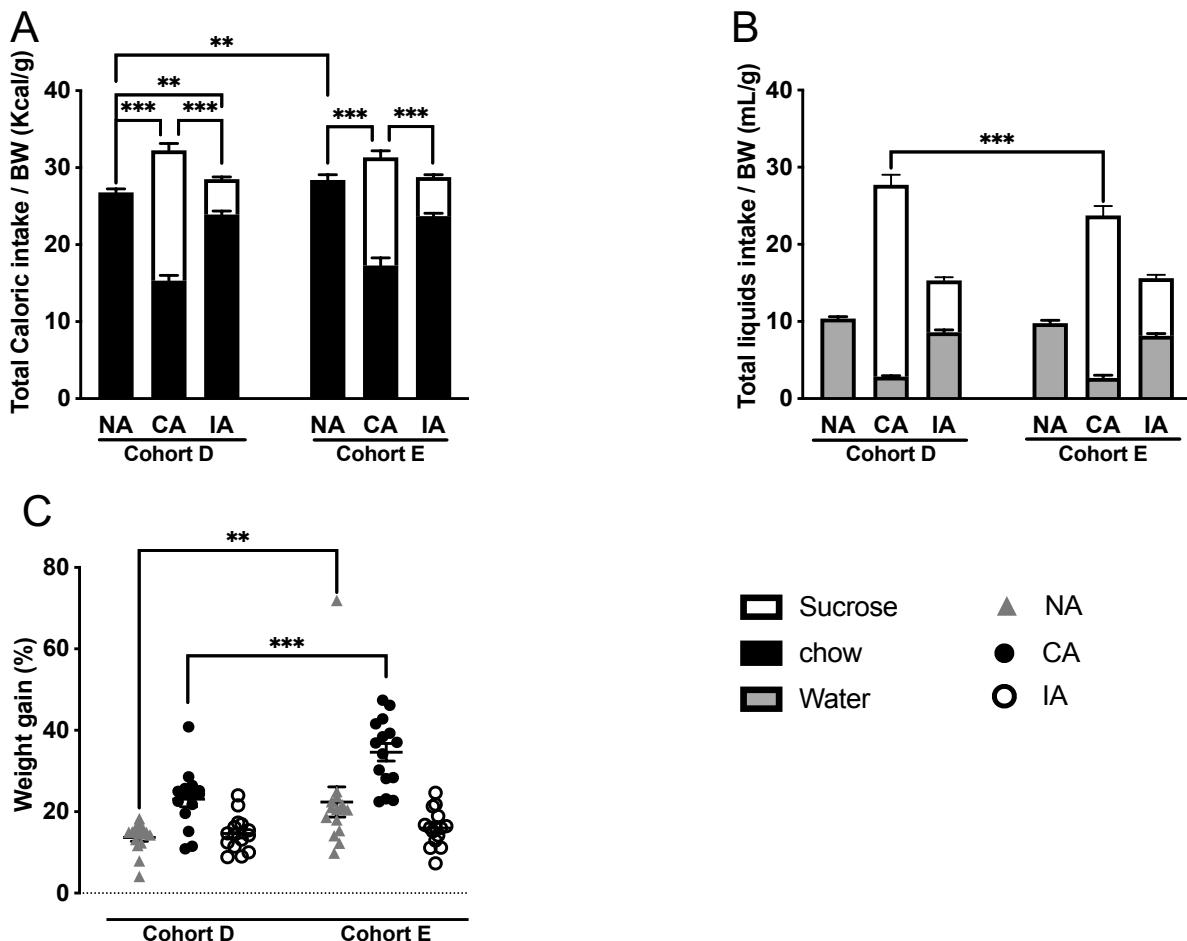
Mice had access to a two-bottle choice set up, with sucrose and water, and *ad libitum* access to water and chow. The experimental group had intermittent access (IA) to sucrose for 4 h, starting 2 h after the start of light cycle. The CA group received continuous access to sucrose and the NA group had no access to sucrose.



Supplementary Figure 43. 2-week BS cohort effect

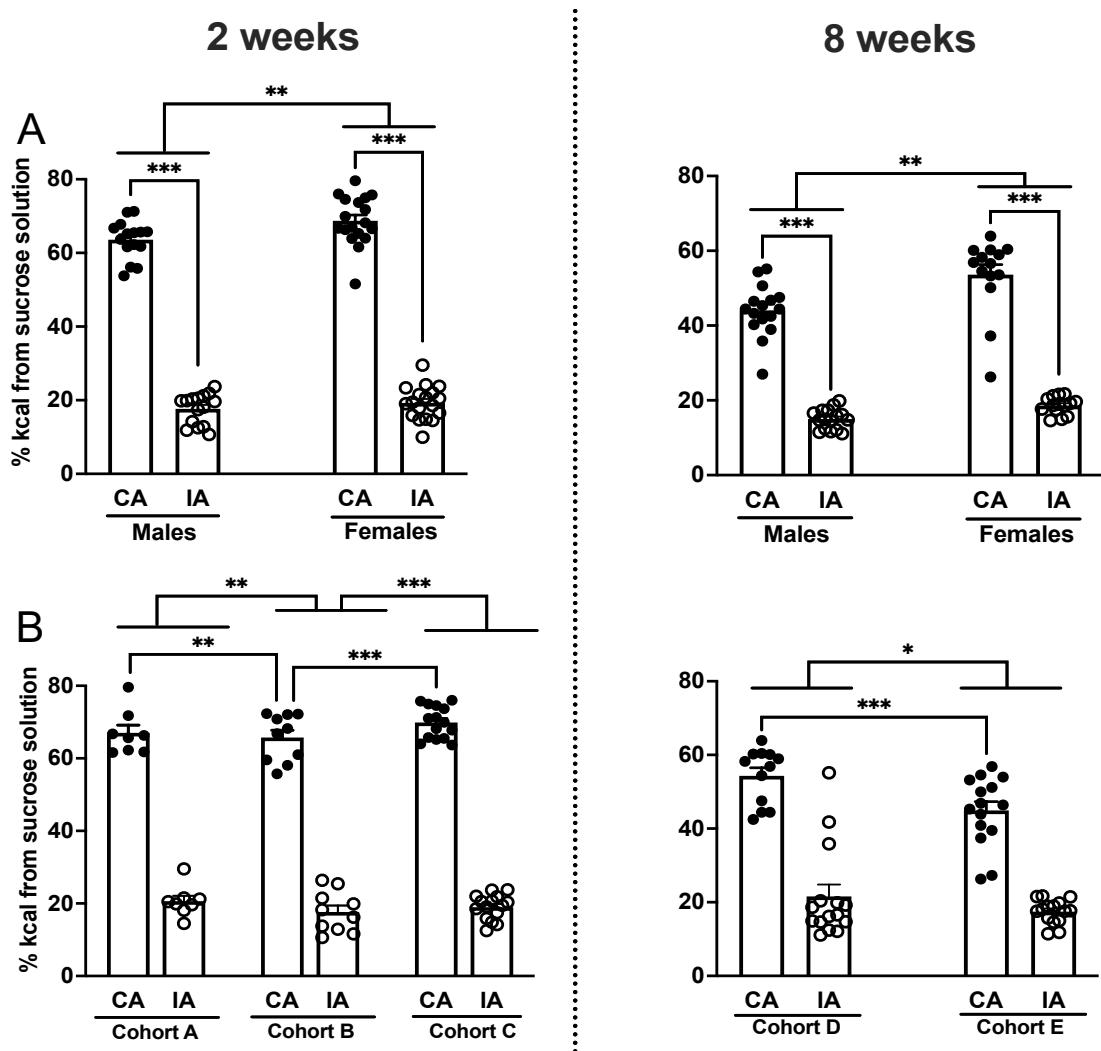
The global intake pattern is similar between cohorts, with slight differences highlighted here (A) Total caloric intake per body weight over 2 weeks ($F_{(2,82)}=8.097$; $p=0.0006$) is lower in cohort B compared to cohort C ($t=4.307$; $p=0.0001$) whereas no difference is seen between cohort B and cohort A, as well as cohort C and cohort A. (B) Weight gain is low and variable, and shows significant differences between cohorts ($F_{(2,51)}=4.9082$; $p=0.0097$), with lower weight gain in cohort C compared to cohort B ($t=3.162$; $p=0.0062$). Caloric intake is normalized by animal body weight. Data are expressed in mean \pm SEM. ** $p<0.001$; *** $p<0.0001$

8 weeks



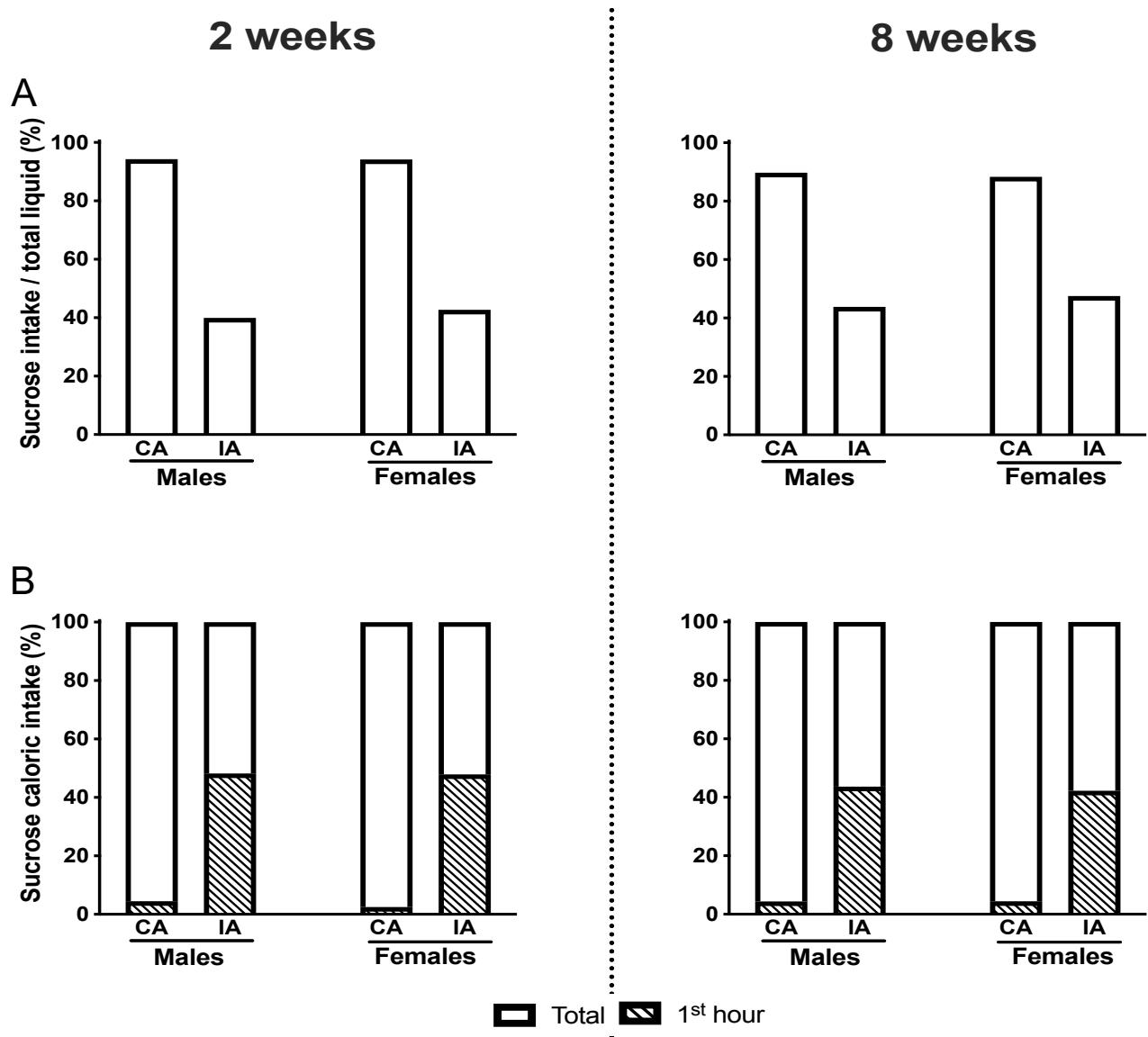
Supplementary Figure 44. 8-week BS cohort effect

The global intake pattern is similar between cohorts, with slight differences highlighted here. (A) Even if no cohort effect is highlighted ($F_{(1,84)}=0.9528$; $p=0.3320$), total caloric intake shows a group x cohort interaction effect ($F_{(2,84)}=6.9146$; $p=0.0017$). Post-hoc analyses shows that this effect is due to higher intake in the NA groups in cohort E compared to cohort D ($t=3.413$; $p<0.001$), and a higher caloric intake in IA group compared to controls only in D ($t=3.625$; $p=0.0015$). (B) Significant cohort x group interaction ($F_{(1,56)}=9.4788$; $p=0.0033$) on sucrose caloric consumption is explained by a higher intake in cohort D CA group in comparison to the same group in cohort E ($t=4.811$; $p<0.0001$). (C) Mice with CA to sucrose consume more liquids in cohort D compared to cohort E ($t=6.168$; $p<0.001$) attested by a significant group x cohort effect ($F_{(2,78)}=13.0030$; $p=1.338 \cdot 10^{-5}$). This is due to a higher intake of sucrose solution ($F_{(1,52)}=12.4184$; $p=0.0009$) in cohort D CA ($t=4.333$; $p<0.0001$) animals in comparison to the other cohort. (D) Despite similar pattern on weight gain in both cohort, group x cohort effect ($F_{(2,78)}=3.2261$; $p=0.0451$) shows that animals of NA ($t=2.835$; $p=0.0058$) and CA ($t=3.871$; $p=0.0002$) groups gain more weight in cohort E compared to cohort D. Caloric and liquid intake are normalized by animal body weight. Data are expressed in mean \pm SEM. ** $p<0.001$; *** $p<0.0001$.



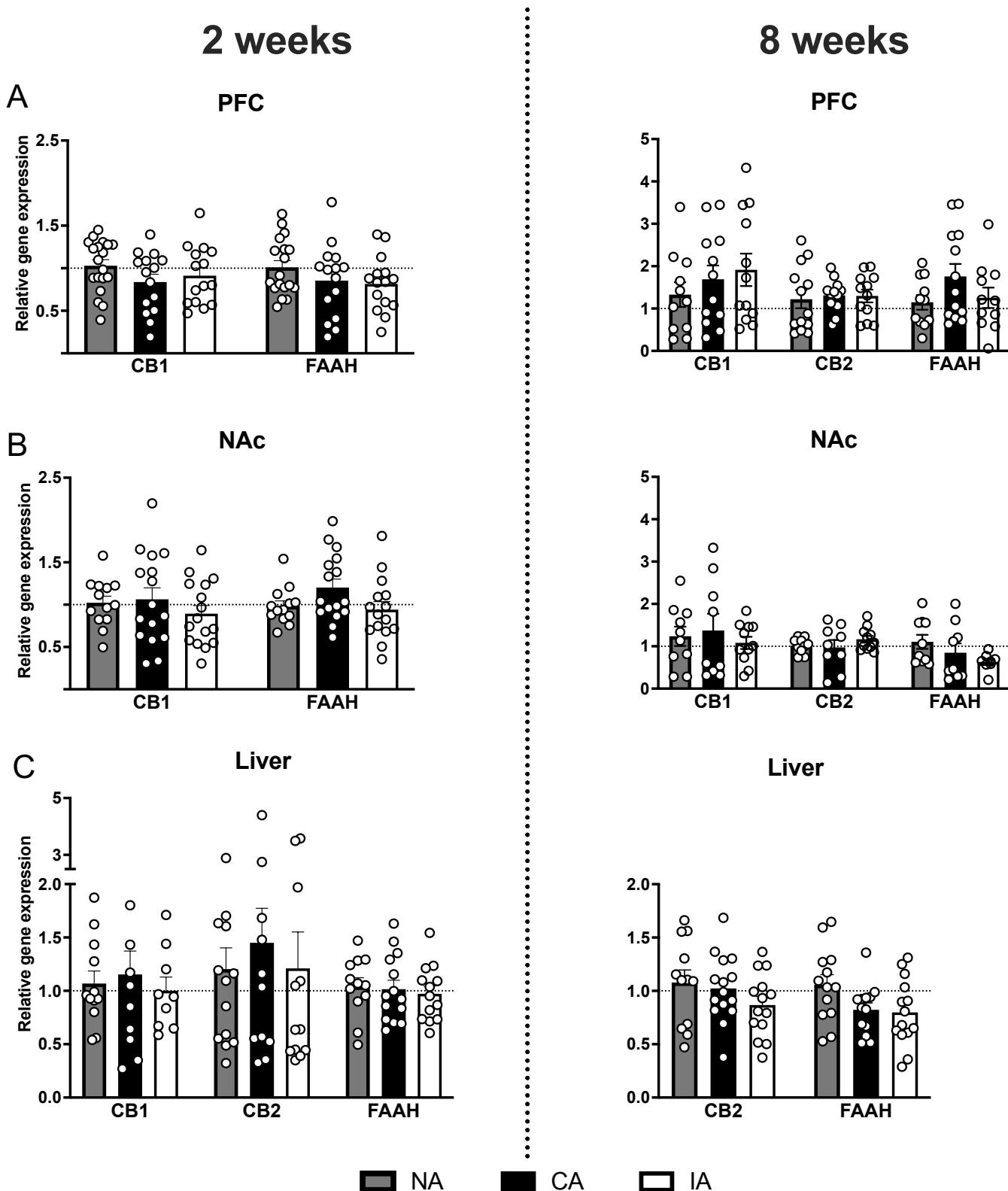
Supplementary Figure 45. Calories imputable to sucrose

(A) During the 2-week sucrose access paradigm rate of caloric intake from sucrose solution is higher in mice of the continuous access (CA) group ($F_{(1,54)}=1907$; $p<2.10^{-16}$). Females consume more calories from sucrose per bodyweight than males independently of the group of access ($F_{(1,54)}=11.6747$; $p=0.0012$). (B) Cohort effect ($F_{(2,54)}=11.4624$; $p=0.0177$) shows lower consumption of calories from sucrose solution per body weight in cohort B compared to cohort A ($t=3.857$; $p=0.0009$) and C ($t=4.866$; $p<0.0001$), without difference between cohort A and C. Group x cohort effect reveals lower intake in CA group from cohort B compared the same group in cohort A ($t=3.189$; $p=0.0066$) and C ($t=5.150$; $p<0.0001$). (C) During the 8-week sucrose access paradigm rate of caloric intake from sucrose solution is higher in mice of the continuous access (CA) group ($F_{(1,56)}=490.0124$; $p<2.10^{-16}$). Females consume more calories from sucrose per bodyweight than males independently of the group of access ($F_{(1,56)}=20.5465$; $p=3.447.10^5$). (D) A cohort effect is observed with higher rate of calories consumed from sucrose solution in cohort D compared to cohort E ($F_{(1,56)}=6.0034$; $p=0.0177$). Group x cohort effect ($F_{(1,56)}=10.3191$; $p=0.0023$) reveals higher rate of sucrose intake in CA group in cohort D (54%) in comparison to the same group in cohort E (44%) ($t=3.009$; $p=0.0016$). Caloric and liquid intake are normalized by animal body weight. Data are expressed in mean \pm SEM. BW: body weight. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.0001$.



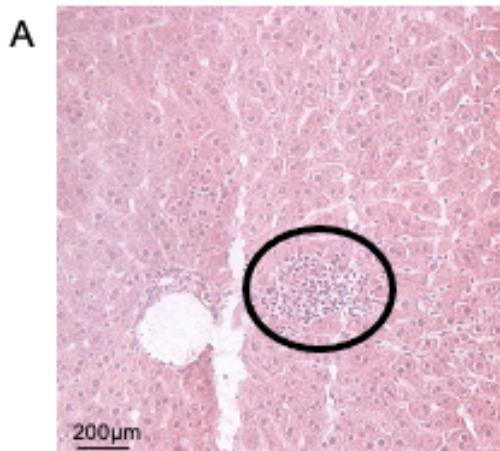
Supplementary Figure 46. Sucrose intake

(A) Rate of sucrose intake over total liquid intake is higher in continuous access (CA) group, and equivalent between sexes. (B) Mice in the intermittent access group (IA) consume a higher proportion of their total sucrose caloric intake during the 1sth of access compared to mice with CA to sucrose solution.

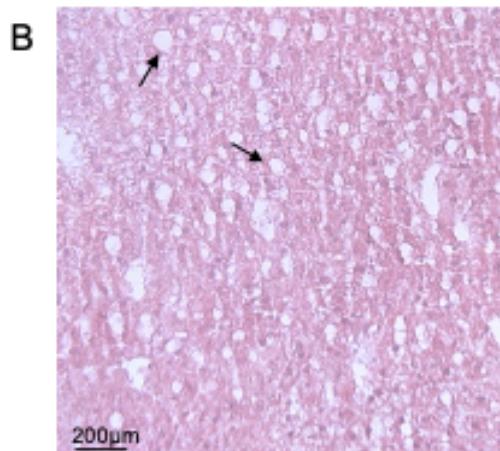


Supplementary Figure 47. ECS gene expression in PFC, NAc and liver following sucrose access

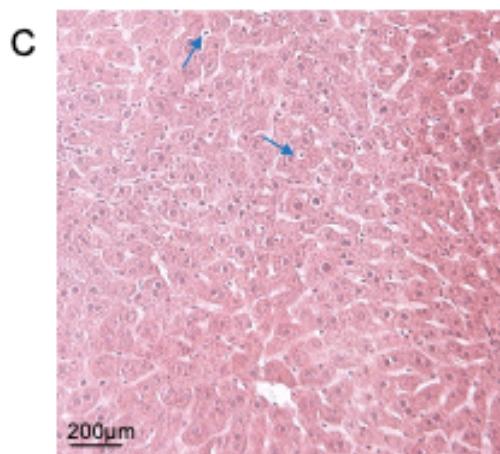
(A) Endocannabinoid system gene expression is not modified in mice following 2- and 8-week sucrose access in comparison to controls neither in the PFC, the NAc (B), or the liver (C). CB2 gene expression in the brain after the 2 weeks paradigm, and CB1 expression in the liver after 8-week paradigm are not assessed because of Cq above the threshold of 33 cycles use as a cut-off. Data are expressed in mean \pm SEM. PFC: prefrontal cortex; NAc: nucleus accumbens; CB1/2: cannabinoid receptor 1/2; FAAH: fatty acid amide hydrolase.



	2-week		8-week	
	M	F	M	F
NA	4/4	2/4	4/4	4/5
CA	4/4	2/4	3/4	4/4
IA	4/4	1/4	4/4	4/4



	2-week		8-week	
	M	F	M	F
NA	1/4	2/4	2/5	3/5
CA	2/4	3/4	1/4	1/4
IA	3/4	3/4	1/4	1/4

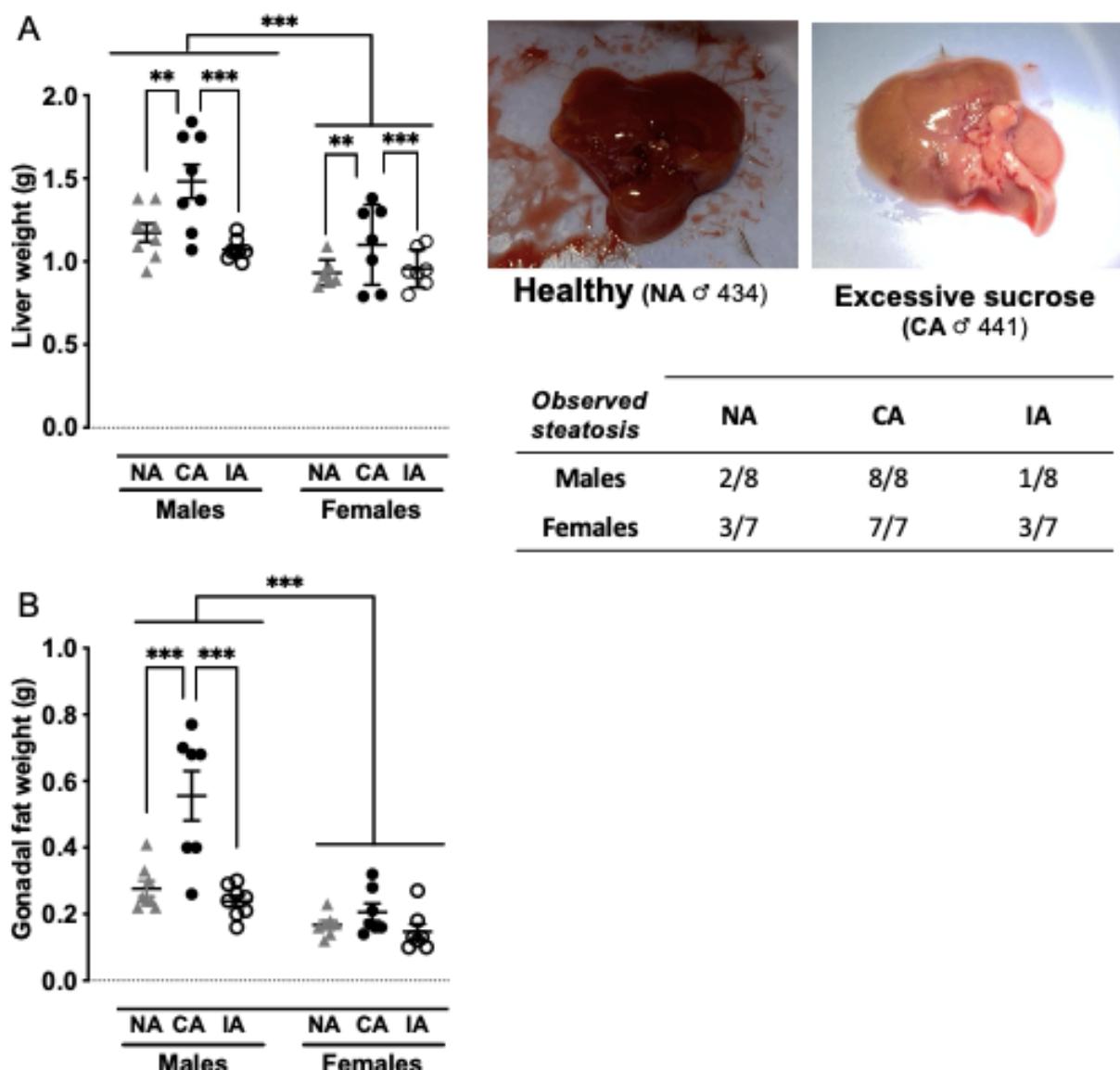


	2-week		8-week	
	M	F	M	F
NA	3/4	4/4	3/4	3/5
CA	4/4	4/4	2/4	4/4
IA	4/4	4/4	3/4	3/4

Supplementary Figure 48. Hematoxyline-eosine scores of NAFLD features

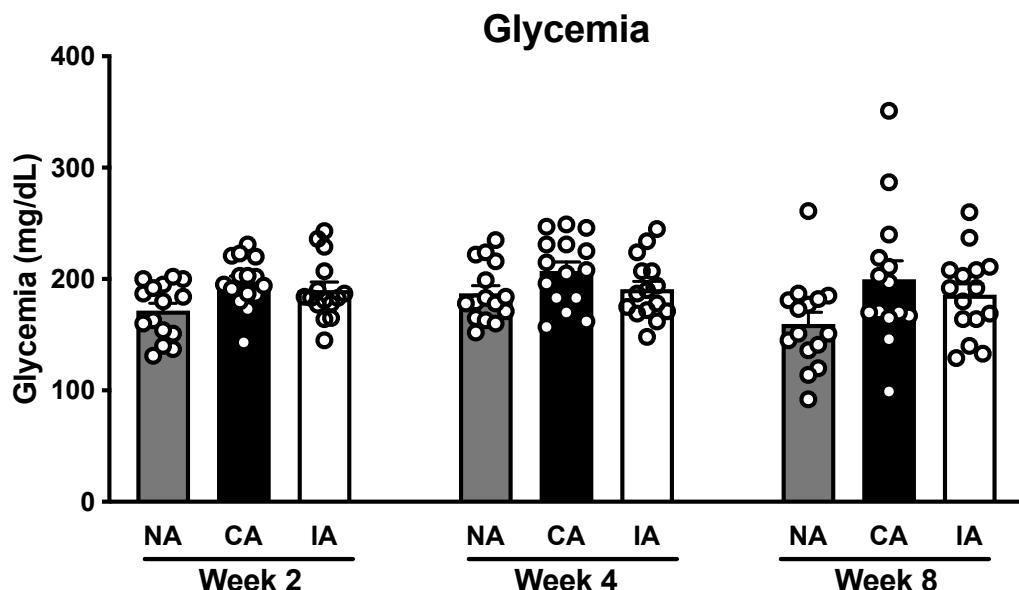
Features of NAFLD were scored on cohort C and D. (A) Inflammatory infiltrates: small nuclei aggregation. (B) Steatosis: round white vesicles corresponding to lipid droplet. (C) Ballooning: cells with clear cytoplasm and round nuclei in the middle.

8 weeks (Cohort E)



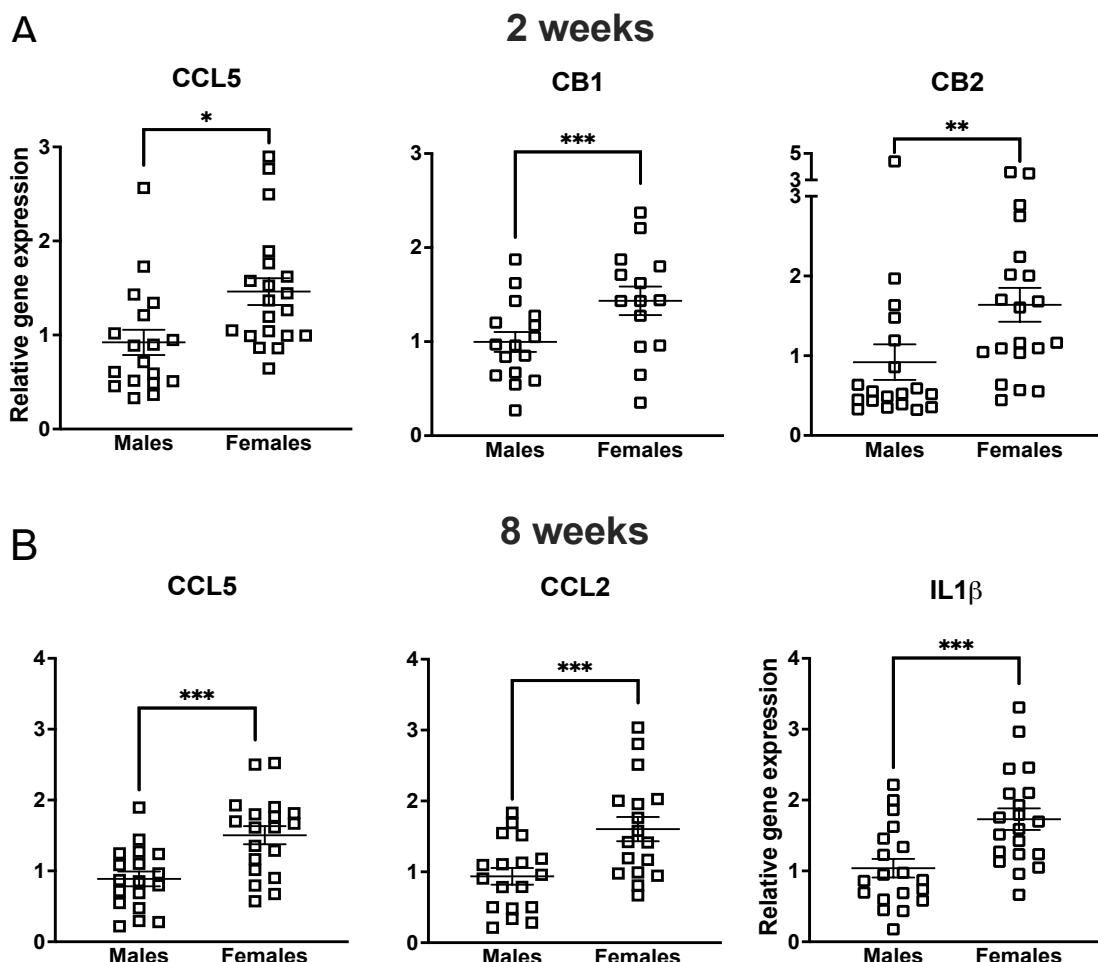
Supplementary Figure 49. Cohort E metabolic observations

(A) In cohort E, 8-week paradigm induces higher liver weight in mice from the continuous access (CA) group ($F_{(2,39)}=11.2218$; $p=0.0001$) compared to non-access (NA) ($t=0.2433$; $p=0.0017$) and intermittent access (IA) ($t=0.2853$; $p=0.0028$). Males have heavier liver than females ($F_{(1,39)}=21.2754$; $p=4.218 \cdot 10^{-5}$). During dissection steatosis was assessed by a lighter liver color due to fat accumulation, in all mice from the CA group. (B) Group x sex effect ($F_{(2,38)}=8.3927$; $p=0.0009$) reveals heavier gonadal fat in males from the CA group in comparison to males in NA and IA groups. Males have more gonadal fat than females ($F_{(1,38)}=40.091$; $p=2.034 \cdot 10^{-7}$). Data are expressed in mean \pm SEM. BW: body weight. ** $p<0.001$; *** $p<0.0001$.



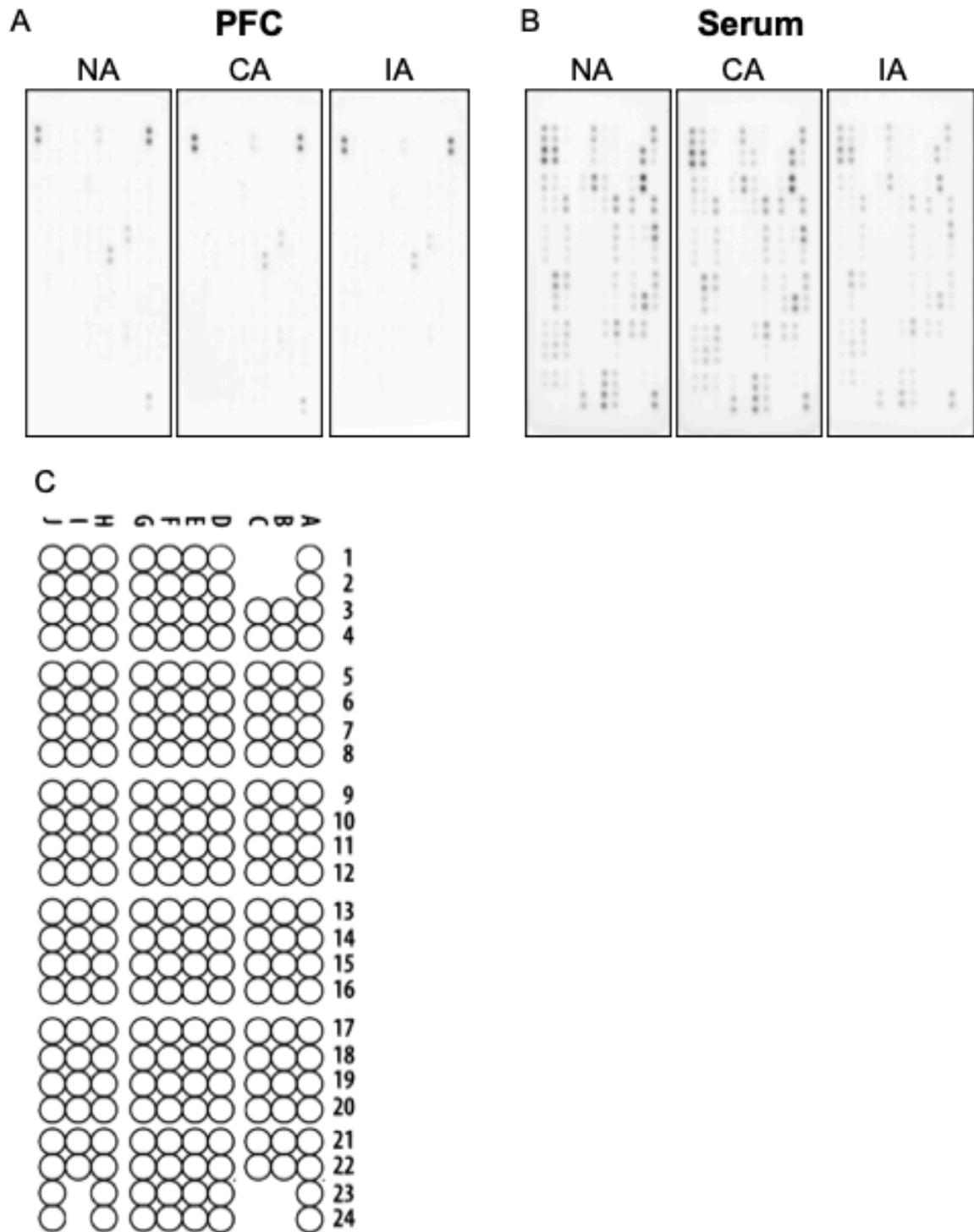
Supplementary Figure 50. Glycemia measures

In cohort D glycemia was measured on week 2 and 4 after the IA group session of sucrose access. On week 8 measure was done during sacrifice, so before IA group sucrose access. No group difference is highlighted at any time point.



Supplementary Figure 51. Sexe difference in inflammatory gene expression in the liver

(A) Relative gene expression analysis after 2-week sucrose access paradigm reveals a sex effect independent of the group of access, with higher expression of CCL5 ($F_{(1,32)}=7.13$; $p=0.0118$), CB1 ($F_{(1,26)}=17.071$; $p=0.0003$) and CB2 ($F_{(1,33)}=10.254$; $p=0.003$) in females compared to males. (B) Relative gene expression analysis after 8-week sucrose access paradigm reveals a sex effect independent of the group of access, with higher expression of CCL5 ($F_{(1,31)}=12.988$; $p=0.0011$), CCL2 ($F_{(1,22)}=14.280$; $p=0.0007$) and IL1 β ($F_{(1,33)}=13.804$; $p=0.0007$) in females compared to males. Data are expressed in mean \pm SEM. * $p<0.05$; ** $p<0.001$; *** $p<0.0001$.



Supplementary Figure 52. Cytokine array

(A) Membranes of cytokine array showing inflammatory markers expression in the PFC of female mice from cohort E following 8-week sucrose access paradigm. (B) Membranes cytokine array showing inflammatory markers expression in the serum of female mice from cohort D following 8-week sucrose access paradigm. (C) Mouse cytokine array coordinates. PFC: prefrontal cortex; NA: non-access; CA: continuous access; IA: intermittent access.

Supplementary Table 7 - List of cytokines screened by cytokine array

Row number	Cytokine	Row number	Cytokine
1	Adiponectin/Acrp30	57	IGFBP-6
2	Amphiregulin	58	IL-1 α /IL-1F1
3	Angiopoietin-1	59	IL-1 β /IL-1F2
4	Angiopoietin-2	60	IL-1ra/IL-1F3
5	Angiopoietin-like 3	61	IL-2
6	BAFF/BLyS/TNFSF13B	62	IL-3
7	C1q R1/CD93	63	IL-4
8	CCL2/JE/MCP-1	64	IL-5
9	CCL3/CCL4/MIP-1 α / β	65	IL-6
10	CCL5/RANTES	66	IL-7
11	CCL6/C10	67	IL-10
12	CCL11/Eotaxin	68	IL-11
13	CCL12/MCP-5	69	IL-12 p40
14	CCL17/TARC	70	IL-13
15	CCL19/MIP-3 β	71	IL-15
16	CCL20/MIP-3 α	72	IL-17A
17	CCL21/6Ckine	73	IL-22
18	CCL22/MDC	74	IL-23
19	CD14	75	IL-27 p28
20	CD40/TNFRSF5	76	IL-28A/B
21	CD160	77	IL-33
22	Chemerin	78	LDL R
23	Chitinase 3-like 1	79	Leptin
24	Coagulation Factor III/Tissue Factor	80	LIF
25	Complement Component C5/C5a	81	Lipocalin-2/NGAL
26	Complement Factor D	82	LIX
27	C-Reactive Protein/CRP	83	M-CSF
28	CX3CL1/Fractalkine	84	MMP-2
29	CXCL1/KC	85	MMP-3
30	CXCL2/MIP-2	86	MMP-9
31	CXCL9/MIG	87	Myeloperoxidase
32	CXCL10/IP-10	88	Osteopontin (OPN)
33	CXCL11/I-TAC	89	Osteoprotegerin/TNFRSF11B
34	CXCL13/BLC/BCA-1	90	PD-ECGF/Thymidine phosphorylase
35	CXCL16	91	PDGF-BB
36	Cystatin C	92	Pentraxin 2/SAP
37	DKK-1	93	Pentraxin 3/TSG-14
38	DPP4/CD26	94	Periostin/OSF-2
39	EGF	95	Pref-1/DLK-1/FA1
40	Endoglin/CD105	96	Proliferin
41	Endostatin	97	Proprotein Convertase 9/PCSK9
42	Fetuin A/AHSG	98	RAGE
43	FGF acidic	99	RBP4
44	FGF-21	100	Reg3G
45	Fit-3 Ligand	101	Resistin
46	Gas 6	102	E-Selectin/CD62E
47	G-CSF	103	P-Selectin/CD62P
48	GDF-15	104	Serpin E1/PAI-1
49	GM-CSF	105	Serpin F1/PEDF
50	HGF	106	Thrombopoietin
51	ICAM-1/CD54	107	TIM-1/KIM-1/HAVCR
52	IFN- γ	108	TNF- α
53	IGFBP-1	109	VCAM-1/CD106
54	IGFBP-2	110	VEGF
55	IGFBP-3	111	WISP-1/CCN4
56	IGFBP-5		

B. Perspectives : mieux caractériser l'inflammation dans le modèle de BS

Nous avons choisi de discuter uniquement le marqueur CX3CL1 dans cet article, parmi les marqueurs révélés comme modulés dans l'analyse cytokine array. D'autres marqueurs sont discutés dans la partie « Discussion générale de ce manuscrit ».

Avant de soumettre cet article, des expériences complémentaires seront réalisées. Il nous paraît primordial de valider nos résultats de qPCR au niveau cérébral par une analyse protéique. En effet la surexpression d'un gène ne garantit pas que la protéine correspondante est également surexprimée, des régulations post-transcriptionnelles ou post-traductionnelles peuvent moduler son expression. De ce fait une expérience d'immunofluorescence pour les marqueurs microgliaux (Iba1, CD68) et astrocytaires (GFAP, Sox9) permettra de quantifier ces cellules gliales dans le NAc et le PFC après 8 semaines d'accès au saccharose. Des tests de marquage sur coupe de cerveau de souris naïves ont été réalisés avec les anticorps GFAP, Sox9, Iba1 et CD68 (non montrés) et ont permis de mettre en évidence les astrocytes et les cellules microgliales. Sox9 est un facteur de transcription exprimé de façon constitutive par les astrocytes ([Sun et al., 2017](#)), dont la localisation nucléaire permet une quantification plus aisée. GFAP est un marqueur cytoplasmique permettant une analyse morphologique des astrocytes. Iba1 et CD68 sont tous deux des marqueurs de la microglie activée et des processus de phagocytose, respectivement cytoplasmique pour une analyse morphologique, et transmembranaire dont le marquage par point permet une analyse de quantification par détection automatisée ([Jurga et al., 2020](#)). Nous pourrons ainsi attester ou non d'une réponse inflammatoire dans ces régions cérébrales. De plus, l'immunomarquage présente l'avantage d'être réalisé sur des coupes de cerveaux et pourrait donc permettre de mettre en évidence d'autres régions impactées par une consommation excessive de saccharose.

Les analyses par cytokine array devraient également être réalisées sur des individus mâles. Il serait également intéressant de réaliser cette expérience dans le NAc afin de mettre en évidence des marqueurs inflammatoires régulés par un accès prolongé au saccharose dans cette région cérébrale. Afin de confirmer ces résultats nous pourrions faire une analyse semi-quantitative de l'expression protéique par western blot. Ces marqueurs pourraient représenter des cibles d'intérêt pour l'investigation des mécanismes moléculaires impliqués dans le BED ou l'obésité.

Des dosages sanguins de l'insuline ou de la leptine permettraient de mieux caractériser l'influence de la consommation excessive de saccharose sur ces hormones. Nous pourrions ainsi déceler si les individus du groupes CA présentent des altérations métaboliques supplémentaires associées à la prise de poids et l'accumulation de triglycérides hépatiques.

Il semblerait également pertinent de poursuivre les analyses sur les foies, l'analyse par hématoxyline-éosine n'étant pas concluante. Un marquage au trichrome de Masson qui colore les fibres de collagène, et permet donc d'évaluer la fibrose hépatique, un des marqueurs prédominant dans cette pathologie, permettrait de mieux caractériser le phénotype de NAFLD. De plus, nous pourrions également étudier les voies métaboliques hépatiques lipidique et glucidique par qPCR afin de comprendre l'origine de cette accumulation de triglycérides. En effet, une augmentation de l'expression des enzymes limitantes de la glycolyse (hexokinase (HK), phosphofructokinase (PFK), pyruvate kinase (PK)) sont observées dans un modèle de NAFLD induit par un HFD (12 semaines) ([Liu et al., 2018](#)), suggérant une hyperactivation de cette voie métabolique. De plus, les enzymes impliquées dans la régulation de la synthèse lipidique (fatty acid synthase (FAS), acetyl-CoA carboxylase (ACC)) ([Kohjima et al., 2007](#)) sont également augmentées chez des patients atteints de NAFLD signe d'une augmentation de la synthèse d'acide gras *de novo*. L'analyse de ces gènes par qPCR nous permettrait de savoir si la consommation de saccharose altère préférentiellement un de ces voies. De plus, cela pourrait nous permettre de comprendre les mécanismes impliqués dans l'accumulation exacerbée de lipides hépatiques chez les femelles ([Stephenson et al., 2022](#)).

De plus, une analyse par qPCR de marqueurs inflammatoires tels que TNF α , CCL2 et IL-6, généralement augmentés lors d'une inflammation systémique de bas grade ([Khanna et al., 2022](#)), dans les tissus adipeux prélevés dans la cohorte E permettrait de mieux caractériser l'inflammation périphérique due à une consommation excessive de saccharose.

VI. Étude de comportements nociceptifs dans un modèle de binge drinking

A. Le binge drinking

1. Définition du binge drinking

Décrit pour la première fois dans les années 1990 par Weschler et ses collaborateurs ([Wechsler, 1992](#)) , le binge drinking (BD), traduit par « alcoolisation ponctuelle importante » en français, est défini par The National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA), comme une consommation excessive d'alcool en une courte période de temps, induisant une concentration d'alcool dans le sang supérieure à 0,08% (g/dL) ([White et al., 2018](#)). Cela correspond pour les hommes à une consommation d'au moins 5 verres d'alcool, et 4 verres pour les femmes en 2 heures, conduisant à un état d'ébriété associé à des effets indésirables (overdose, trou de mémoire, vomissements...) et une augmentation des comportements à risque (comportements sexuels à risque, violence...), pouvant conduire dans le pire des scénarii à la mort de l'individu alcoolisé ou d'autrui. L'alcool est la deuxième cause de décès évitable, après le tabac. Au-delà des effets induits par la consommation aigue d'alcool, le BD peut également avoir des conséquences sur le long-terme, en augmentant le risque de développer certaines pathologies métaboliques (cancer, troubles hépatiques...), et psychiatriques telles que les troubles liés à la consommation d'alcool et les comorbidités associées ([Rehm, 2011; Castillo-Carniglia et al., 2019](#)).

D'après l'OMS, ce comportement à risque touche une grande partie de la population. Par exemple en 2016 en France, 36% de la population de plus de 15 ans rapporte avoir eu un comportement de BD au cours du dernier mois, et 29% aux Etats-Unis ([OMS, 2016](#)). Dans ces deux cas l'étude révèle une prévalence de ce comportement plus importante chez les hommes (France : 53.7% ; USA : 44.7%), en comparaison des femmes (France : 18.7% ; USA : 13.1%). Cet écart pourrait s'expliquer par une différence dans la prise de décision et une tendance à la prise de risque plus importante chez les hommes. Les rapports épidémiologiques montrent également une proportion plus élevée de ce comportement chez les individus jeunes, également connus pour leurs comportements de prise de risque exacerbés, par rapport à des individus plus âgés, avec par exemple en France 54.1% des individus entre 18 et 24 ans ayant expérimenté au moins un épisode de binge au cours des 12

derniers mois, contre 48.8% des 24-34 ans, ou encore 32% des 45-54 ans (Richard, 2019). Ces différences de prévalence peuvent s'expliquer par le contexte social dans lequel intervient ce comportement. En effet, les « happy hour » durant lesquelles les boissons alcoolisées sont proposées à un moindre tarif durant 1 ou 2h, ou encore les soirées étudiantes lors desquelles les jeux ou défis alcoolisés sont courants favorisent le comportement de BD.

La prévalence élevée du BD, associée aux conséquences négatives qu'il engendre, en font un problème de santé public majeur, ayant un coût important pour la société. En effet, en France la consommation d'alcool engendre le décès de 49 000 personnes par an, associé à un coût social de 120 milliards d'euros (Kopp, 2015). Pour lutter contre ce fléau des plans d'action sont mis en place à l'échelle nationale, par la MILDECA (mission interministérielle de lutte contre les drogues et les conduites addictives), visant à développer la prévention, les mesures dissuasives, et favoriser la recherche et l'innovation sur cette thématique, afin de réduire le coût humain et économique.

2. Altération de la nociception lors d'une consommation excessive d'alcool

a) Données épidémiologiques

Produit par les Hommes depuis l'Antiquité, l'alcool était alors considéré comme un remède utilisé pour traiter différentes pathologies, dont les épisodes douloureux par ses effets analgésiques (Cucinello-Ragland and Edwards, 2021). De nos jours, les boissons alcoolisées sont à la fois considérées comme une drogue aux effets indésirables multiples, bien que sa consommation reste socialement acceptée et largement répandues.

En plus de ses effets analgésiques, avec aujourd'hui encore 25% des personnes déclarant consommer de l'alcool en automédication pour soulager des douleurs récurrentes (Riley III and King, 2009), la consommation d'alcool peut également exacerber la sensibilité nociceptive (Robins et al., 2019). Ainsi, plus de la moitié (53%) des individus souffrant de troubles liés à la consommation d'alcool rapportent éprouver des douleurs chroniques (Boissoneault et al., 2019). Il est

notamment démontré qu'une consommation chronique d'alcool peut engendrer le développement de neuropathies alcooliques périphériques (Mellion et al., 2013).

Des études ont montré qu'une consommation excessive d'alcool, associée à un comportement de type binge peut entraîner une diminution des seuils nociceptifs mécaniques et thermiques chez les rongeurs (Dina et al., 2000; Bergeson et al., 2016). Des résultats similaires sont retrouvés chez l'humain, avec une sensibilité accrue dans le test de pression musculaire chez des individus présentant une tendance au comportement de BD, en comparaison à des personnes consommant de l'alcool de façon modérée (You et al., 2020). Ces données suggèrent que les altérations des seuils nociceptifs induits par la consommation d'alcool n'interviennent pas exclusivement dans le cadre d'une consommation sur le long terme et de troubles liés à la consommation d'alcool, et que d'autres types de consommations problématiques, telles que le BD pourraient également engendrer une exacerbation du ressenti dououreux.

b) Mécanismes sous-jacents

Les neuropathies alcooliques périphériques sont caractérisées par une dégénérescence axonale, et une diminution de la densité des fibres nerveuses périphériques (Koike et al., 2001). Il a initialement été proposé que ces altérations sont la conséquence secondaire de carences alimentaires notamment de thiamine (Chopra and Tiwari, 2012). Cependant, des études chez l'humain et chez les rongeurs montrent le développement de neuropathies chez des individus présentant des taux de thiamine physiologiques (Juntunen et al., 1979; Poupon et al., 1990; Koike et al., 2003). Une deuxième hypothèse d'un effet neurotoxique direct de l'alcool a donc été creusée (Chopra and Tiwari, 2012). L'alcool ingéré passe dans le sang et est dégradé majoritairement au niveau du foie par l'alcool déshydrogénase en acétaldéhyde. Ce composé connu pour ses effets toxiques, par l'altération de l'activité mitochondriale résultant en un stress oxydatif, serait responsable de la dégénérescence des fibres nerveuses périphériques (Guo and Ren, 2010; Zeng et al., 2017). De plus, l'analyse post-mortem de cerveaux humains par immunohistochimie montre un taux plus important de Iba1 (marqueur microglial) et de marqueurs pro-inflammatoires chez des patients alcooliques en comparaison de sujets contrôles (He and Crews, 2008). Des souris traitées par gavage avec de l'éthanol durant 5 à 10 jours montrent des

caractéristiques similaires (Qin et al., 2008; Qin and Crews, 2012; Drew et al., 2015). Ces résultats suggèrent que la consommation d'alcool induit une réponse neuroinflammatoire associée à une activation microgliale dans le cerveau (Henriques et al., 2018). Plus récemment, une étude a montré une augmentation de l'expression de marqueurs microgliaux et pro-inflammatoires dans la moelle épinière de souris ayant développées des signes de neuropathie alcoolique suite à une protocole de consommation libre d'alcool (Borgonetti et al., 2023). De façon intéressante, une réponse inflammatoire dans le SNC est largement décrite dans le développement de douleurs neuropathiques (pour revue détaillées voir: Meacham et al., 2017) (**Figure 53**). De plus, l'injection intra-péritonéale de rolipram, un composé diminuant les taux de cytokines pro-inflammatoires, diminue l'allodynie mécanique induite par l'exposition à l'alcool chez des rats (Han et al., 2012). Ces données suggèrent que les neuropathies alcooliques sont induites par le développement d'une réponse pro-inflammatoire due à la consommation d'alcool.

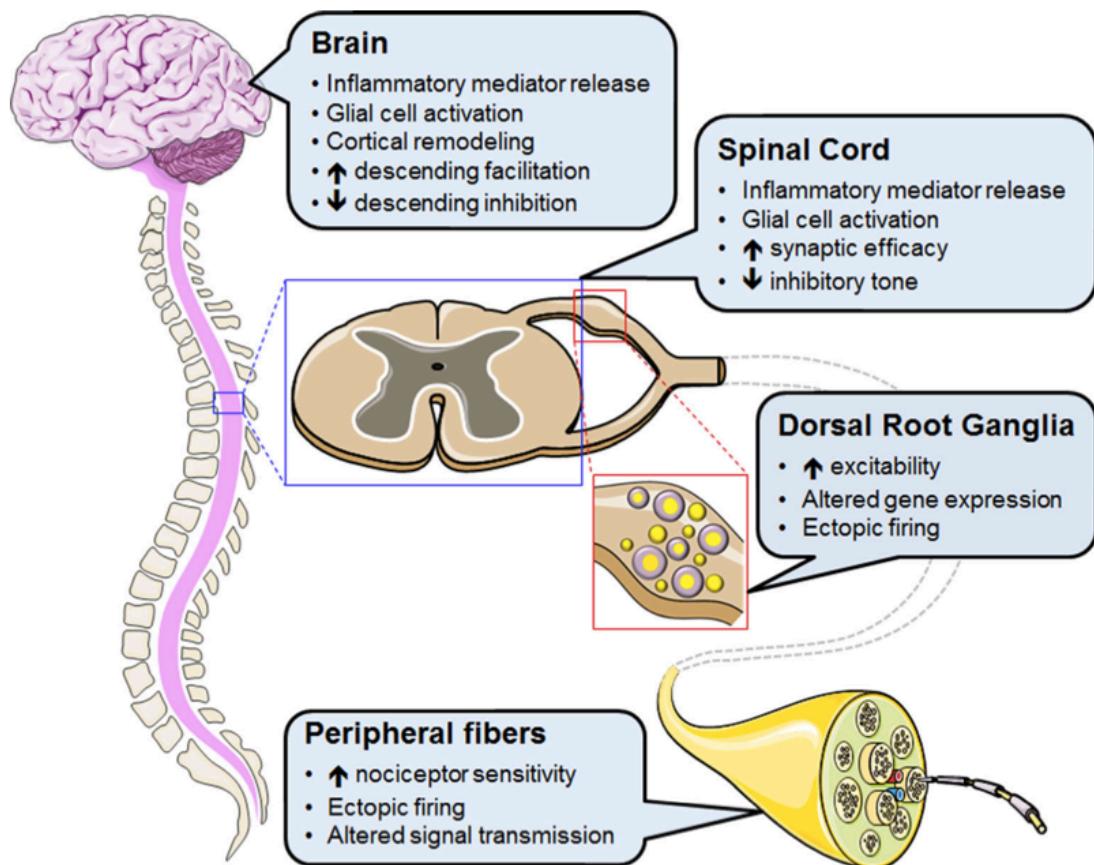


Figure 53. Mécanismes périphériques et centraux impliqués dans développement de douleurs neuropathiques

Les douleurs neuropathiques, dans desquelles les fibres périphériques montrent une réponse accrue aux stimuli due à une hypersensibilité des nocicepteurs et une activation ectopique, sont sous-tendues par une réponse inflammatoire dans le SNC, au niveau du cerveau et de la moelle épinière. Cette inflammation attestée par une activation des cellules gliales altère l'activité neuronale au sein des voies nociceptives facilitatrices et inhibitrices résultant en une persistance de la réponse nociceptive sur le long terme. D'après

B. Résultats préliminaires

Dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe du Dr Décosterd à Lausanne, j'ai eu l'opportunité de participer à un projet qui s'intéressait à l'impact d'une consommation excessive d'alcool lors d'un comportement de binge sur la sensibilité aux stimuli thermiques et mécaniques. Notre hypothèse était qu'une telle consommation pouvait augmenter cette sensibilité.

1. Comportement de binge

Afin de tester cette hypothèse, Gaëlle Awad a développé durant son doctorat un modèle de BD, qui sera décrit par la suite (cf. matériels et méthodes, p. 183), basé sur une consommation libre et intermittente d'éthanol (20% V/V) chez les souris C57BL/6J mâles et femelles. Selon leur groupe, les souris ont un accès continu (CA), intermittent (IA) 3 jours par semaine, ou pas d'accès (NA) à la solution d'alcool (**Figure 58**).

Le comportement de binge est défini, par un taux d'augmentation de la consommation d'alcool durant les 2 premières heures d'accès plus important chez les individus du groupe IA ($t_{(608.19)}= 7.038$; $p=5.27.10^{-12}$), en comparaison du groupe CA ($t_{(609.13)}=2.11$; $p=0.035$) (**Figure 54A**). Après 4h d'accès cette augmentation de la consommation d'éthanol est retrouvée uniquement chez le groupe IA ($t_{(607.82)}= 7.68$; $p= 6.49.10^{-14}$) (**Figure 54B**). La consommation journalière est augmentée dans les deux groupes (IA : $t_{(607.33)}=10.68$; $p<2.10^{-16}$; CA : $t_{(607.67)}=6.43$; $p=2.56.10^{-10}$) (**Figure 54C**), et les femelles consomment plus que les mâles (IA : $t_{(303.26)}=-2.54$; $p= 0.012$; CA : $t_{(302.71)}=-2.14$; $p= 0.033$) (**Figure 54C**). Aucune différence sexe n'est observée après 2h et 4h d'accès à l'éthanol (données non montrées).

De plus, un prélèvement sanguin réalisé à la fin de la session d'accès à l'éthanol du groupe IA, soit après 4h d'accès, la veille de la dernière session, montre une concentration d'alcool dans le sang plus importante pour les animaux des groupes IA et CA en comparaison au groupe NA ($F_{(2,34)}=5.146$; $p=0.011$) (**Figure 54D**). Cependant le dosage de la concentration d'alcool dans le sang n'a pas montré de différence entre les groupes CA et IA, malgré une consommation plus importante chez ces derniers. L'analyse statistique révèle également un effet du sexe ($F_{(1,34)} =11.859$; $p=0.0015$), ainsi qu'un interaction entre les deux variables (sexe*groupe : $F_{(2,34)} =9.719$; $p=0.0005$), montrant une concentration d'alcool dans le sang plus importante chez les

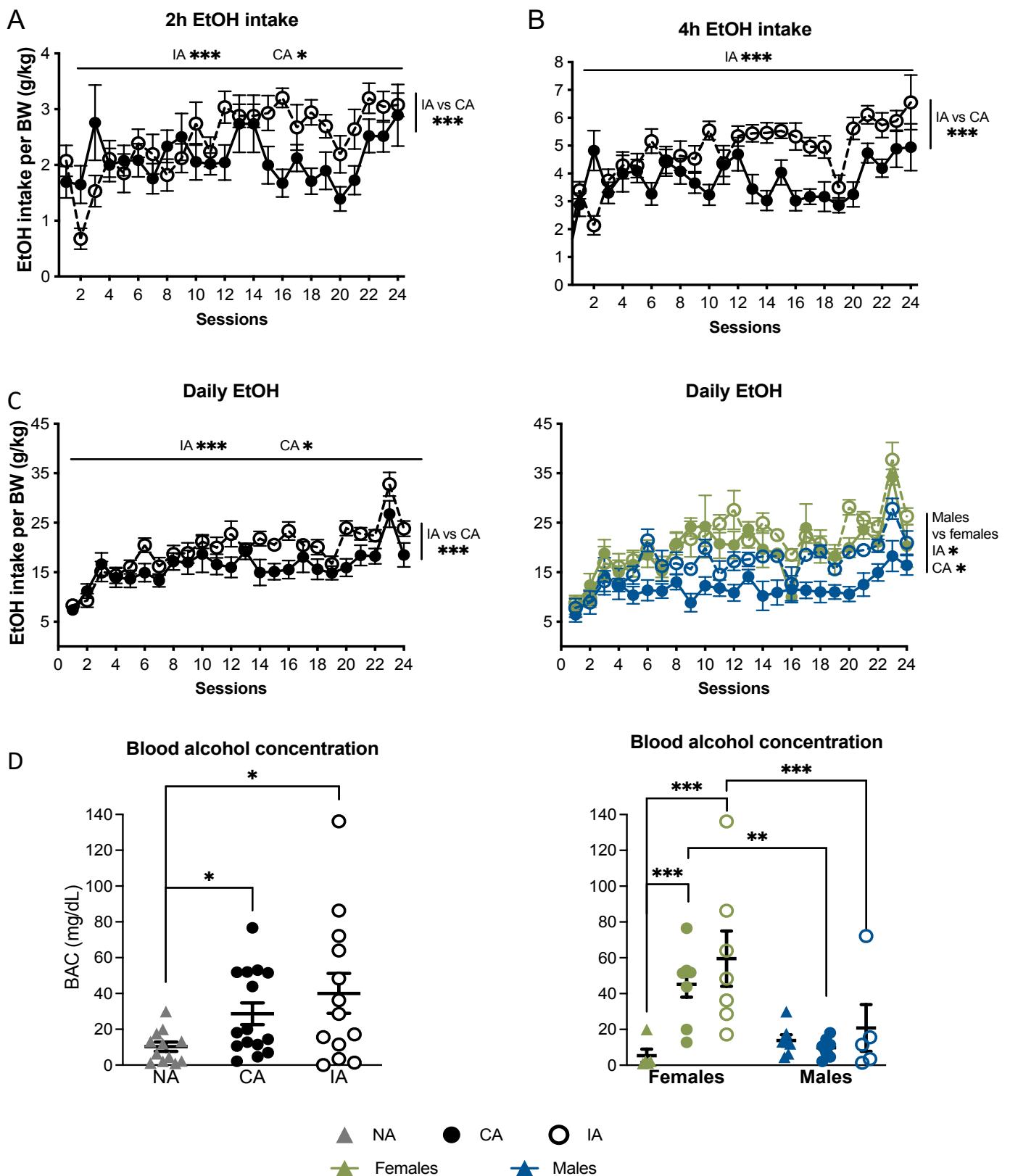


Figure 54. Comportement de binge drinking chez des souris mâles et femelles

(A) Consommation d'éthanol en g/kg de poids corporel durant les 2 premières heures d'accès des sessions de binge. Les animaux ayant accès continu (CA) et intermittent (IA) à la solution d'éthanol augmentent leur consommation au fil des sessions, le groupe IA consommant plus d'éthanol que le CA. (B) Seul le groupe IA augmente significativement sa consommation d'éthanol au cours du temps durant les 4 premières heures d'accès. (C) La consommation journalière d'éthanol augmente au cours du paradigme de binge drinking chez les groupes CA et IA. Les femelles des groupes IA et CA consomment plus d'éthanol que les mâles. (D) La concentration d'alcool dans le sang après 8 semaines d'accès à la solution d'éthanol est significativement plus importante chez les groupes CA et IA en comparaison du groupe n'ayant pas eu d'accès (NA) à la solution d'éthanol. Cette différence est retrouvée uniquement chez les femelles, la concentration d'alcool dans le sang étant équivalente entre les trois groupes d'accès chez les mâles. (BW : body weight ; EtOH : ethanol; CA: continuous access; IA: Intermittent access; NA: No access; BAC: blood alcohol concentration). Les données sont présentées comme la moyenne par groupe \pm SEM. *: $p<0.05$; **: $p<0.01$; ***: $p<0.001$. Awad, données non publiées

femelles, dans les deux groupes ayant eu accès à la solution d'alcool, en comparaison des mâles de ces mêmes groupes (IA : $p=0.0034$; CA : $p=0.019$) (**Figure 54D**). Chez les femelles la concentration d'alcool dans le sang est significativement plus importante dans les groupes IA ($p=0.0004$) et CA ($p=0.0015$) en comparaison au groupe NA.

Dans ces conditions, les critères retenus pour le comportement de binge dans le groupe IA sont :

- une consommation excessive d'éthanol en 2h en comparaison du groupe CA
- un taux d'augmentation de la consommation d'éthanol à 2h plus important, dans le groupe IA en comparaison au groupe CA.

Ces données montrent qu'il est possible d'induire un comportement de BD, chez les souris C57BL6/J mâles et femelles, par un accès intermittent à la solution d'alcool, et une consommation non forcée (accès *ad libitum* à l'eau).

2. Seuils nociceptifs

Afin de mesurer la sensibilité mécanique et thermique des animaux, les tests du filament de Von Frey et du plantar, sont réalisés une fois par semaine durant les 8 semaines du protocole de BD (semaines 2 à 9), et durant les 5 semaines suivantes (semaines 10 à 14) où les animaux n'ont plus accès à la solution d'éthanol afin d'évaluer l'effet du sevrage (**Figure 55**). Les valeurs de références (baselines) sont mesurées avant le début du protocole de BD.

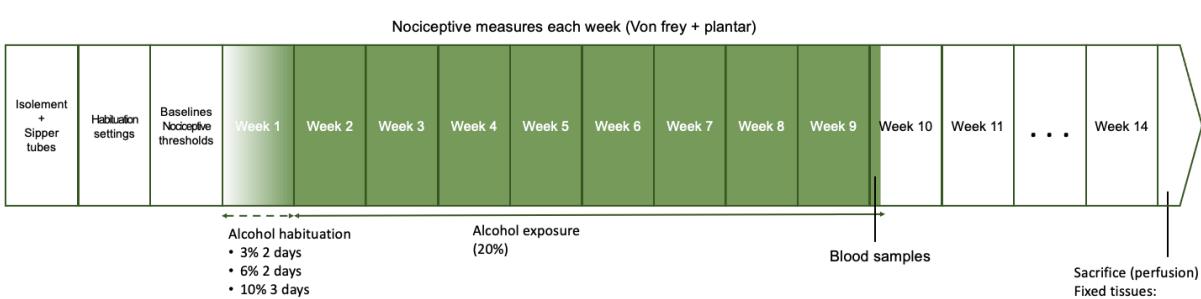


Figure 55. Design expérimental de l'expérience préliminaire de binge drinking

Avant le début du protocole les animaux sont isolés et habitués à l'expérimentateur, ainsi qu'aux différents dispositifs nécessaires aux tests comportementaux. La première semaine (week1), l'accès à la solution d'alcool est progressif les souris ayant accès durant 2 jours consécutifs à une solution à 3%, puis 6%, et 3 jours à 10%. A partir de la deuxième semaine et durant 8 semaines (fin week9) les animaux ont un accès continu ou intermittent, durant 24h les lundis, mercredis et vendredis à une solution concentrée à 20% en alcool (voir description plus détaillée en Materiels et Méthodes). S'en suit une période d'abstinence forcée, sans accès à l'alcool durant 5 semaines (week 10 à 14). Des tests comportementaux, visant à mesurer les seuils nociceptifs mécanique (test du filament de Von Frey) et thermique au chaud (test du plantar) sont réalisés chaque semaine durant la période d'accès et d'abstinence à l'alcool. Les cerveaux, la moelle épinière ainsi que les ganglions rachidiens dorsaux (DRG) sont prélevés à l'issu du protocole. Awad, données non publiées

Les seuils de sensibilité mécanique et thermique ne varient pas durant la période d'accès à l'alcool. Les seuils de sensibilité mécanique sont significativement diminués entre la dernière semaine d'accès à l'éthanol, et la dernière semaine d'abstinence forcée chez les groupes ayant eu accès à l'alcool (IA : $t_{(2,41)} = 3.501$; $p=0.0094$; CA : $t_{(41)} = 3.019$; $p=0.033$) (**Figure 56A**). La sensibilité thermique au chaud et spécifiquement augmentée dans le groupe CA, avec une diminution significative des seuils nociceptifs entre les valeurs de référence et la dernière semaine d'abstinence forcée ($t_{(42)} = 3.32$; $p=0.015$), et la semaine 2 et la semaine 14 ($t_{(2,42)} = 3.233$; $p=0.019$) (**Figure 56B**).

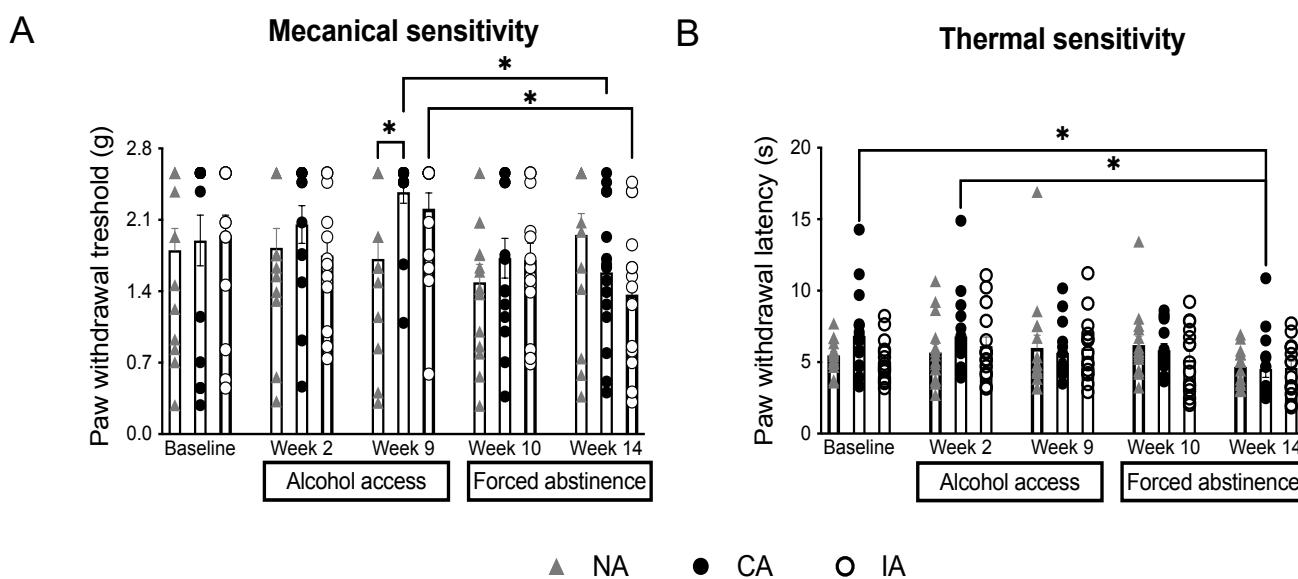


Figure 56. Seuils de sensibilité mécanique et thermique durant un protocole de binge drinking de 8 semaines

(A) Le seuil de retrait de la patte lors du test du filament de Von Frey, diminue chez les animaux ayant eu accès à la solution d'éthanol de façon continue (CA) ou intermittente (IA), entre la dernière semaine d'accès (semaine 9) et la cinquième semaine d'abstinence forcée (semaine 14). (B) La latence de retrait de la patte, diminue uniquement chez les animaux du groupe CA, dans le test du plantar, lors de la dernière semaine d'abstinence forcée (semaine 14) en comparaison aux valeurs seuils (baseline, prise avant le début du protocole de binge drinking) et la première semaine d'accès à la solution d'éthanol 20% (semaine 2). (CA: continuous access; IA: Intermittent access; NA: No access). Les données sont présentées comme la moyenne par groupe \pm SEM. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$

Ces résultats suggèrent qu'une abstinence forcée de 5 semaines à l'alcool engendre une diminution des seuils nociceptifs mécanique et thermique au chaud. Le comportement de BD semble affecter spécifiquement la sensibilité mécanique, en effet, aucun changement n'est observé chez le groupe IA lors du test du plantar.

3. BD : nociception et neuroinflammation

Suite à cette expérience, et afin de s'assurer de la reproductibilité de ce modèle, nous avons décidé de reproduire cette expérience dans une deuxième cohorte. J'ai réalisé cette nouvelle expérience en modifiant certaines mesures détaillées ci-dessous.

Nous avons décidé de nous concentrer dans un premier temps sur les mâles, afin d'augmenter les effectifs par groupe, une expérience similaire devant être réalisée chez des femelles ultérieurement. En dépit de l'absence d'effet statistique du sexe sur le comportement de binge, la différence de consommation entre le groupe IA et CA, durant les deux premières heures d'accès à l'éthanol, semble plus importante chez les mâles que chez les femelles (**figure 57**). Cette observation, associée aux prévalences de BD plus importantes chez les hommes que chez les femmes a guidé notre choix de réitérer dans un premier temps cette expérience chez des souris mâles.

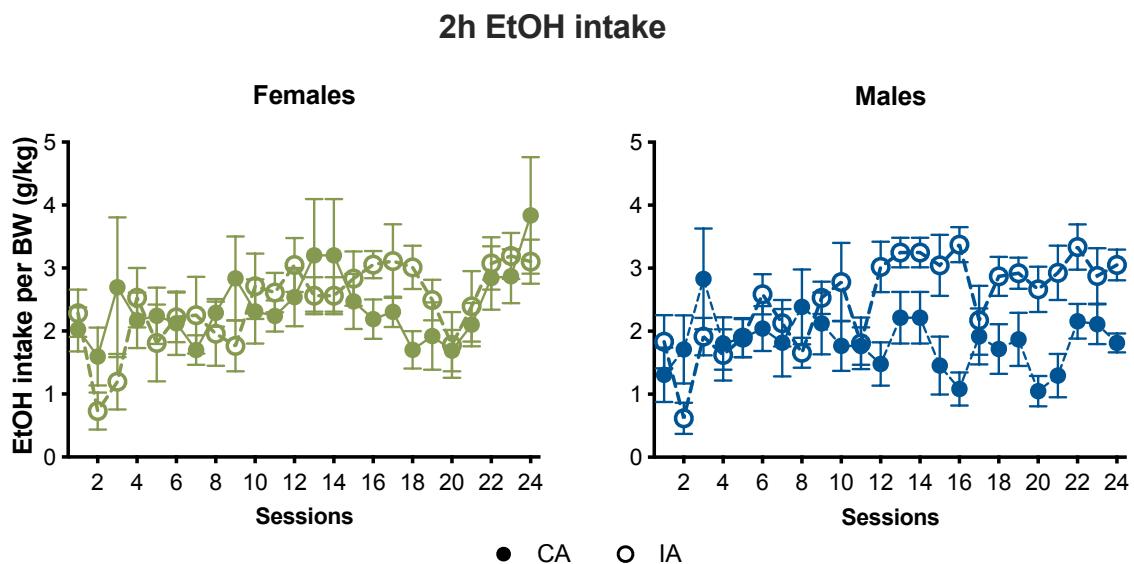


Figure 57. Consommation d'éthanol durant les deux premières heures d'accès, chez les souris mâles et femelles

Les souris appartenant au groupe IA consomment plus de solution d'éthanol (20%) durant les deux premières heures d'accès, en comparaison de celle du groupe CA, indépendamment du sexe. Les données sont normalisées par rapport au poids des animaux. (CA : continuous access; IA: Intermittent access ; EtOH : éthanol ; BW : body weight). Les données sont présentées comme la moyenne par groupe \pm SEM.

Les tests nociceptifs sont réitérés, et implémentés avec le test de la plaque froide permettant d'évaluer la sensibilité thermique au froid. Concernant le test du plantar, les latences de retrait de la patte étant courtes (<8 secondes lors des

baselines), cela peut rendre difficile l'observation d'une augmentation de la sensibilité associée à une latence de retrait diminuée. Nous avons optimisé nos conditions expérimentales pour trouver l'intensité d'irradiation lumineuse permettant d'avoir des valeurs de référence de latence d'au moins 8 secondes (voir « Matériels et Méthodes général», p. 84).

De plus, nous voulons nous assurer que les effets observés sur les seuils nociceptifs ne soient pas dus à un déficit locomoteur induit par l'alcool. L'activité locomotrice des animaux est évaluée grâce à un système d'actimétrie, permettant de mesurer les déplacements au sein des cages d'hébergement (voir « Matériels et Méthodes général», p. 81).

Enfin, des tests de bien être (nesting, burrowing, splash tests) sont également réalisés (voir « Matériels et Méthodes général», p. 84). En effet, des rapports épidémiologiques montrent une occurrence commune importante entre les troubles liés à la consommation d'alcool, et les troubles de l'humeur ([Lai et al., 2015](#)). De plus, plusieurs études rapportent également une altération du bien-être, par l'utilisation de questionnaires spécifiques, chez des individus ayant une consommation d'alcool non pathologique, mais une consommation à risque tel que le BD ([Blank et al., 2016](#); [Fuentes et al., 2017](#)). Les recherches précliniques chez les rongeurs montrent parfois des divergences sur les résultats obtenus, dépendant vraisemblablement des modalités d'accès à l'alcool (consommation libre ou forcée, durée de l'exposition ...) ([Holleran and Winder, 2017](#); [Xu et al., 2017](#); [Bloch et al., 2020](#)), et des tests comportementaux réalisés (pour revue voir : [Holleran and Winder, 2017](#)). Nous posons l'hypothèse qu'une consommation excessive d'alcool induite par un comportement de binge, dans un modèle murin avec une consommation libre, induit une altération du bien-être.

Les objectifs de ce projet sont donc i) de s'assurer de la reproductibilité du modèle de BD établit dans l'équipe, ii) d'évaluer au cours du temps l'impact du comportement de BD et de l'abstinence forcée sur la sensibilité mécanique, et thermique au chaud et au froid, iii) ainsi que sur le bien-être.

C. Matériels et Méthodes

1. Conditions d'hébergement des animaux

Des souris C57BL/6J mâles ($n=45$), origine Charles River (France), sont arrivées au laboratoire à l'âge de 4 semaines. Durant les 2 semaines d'habituation aux locaux, les animaux sont hébergés à 3 ou 4 par cage, dans une salle à température régulée (22 ± 2 °C), avec un cycle jour/nuit de 12 heures. Ils sont ensuite isolés dans des cages individuelles (11.5 x 29.5 x 13 cm ; 339 cm²) transparentes et ouvertes, afin de garder un contact visuel et olfactif avec leurs congénères, durant toute la période des expériences. L'isolement des animaux est nécessaire pour réaliser des mesures de consommation précises pour chaque individu. Les procédures ont été évaluées et approuvées par le comité d'éthique pour l'expérimentation animale de Strasbourg (CREMEAS) et validées par le ministère avec le numéro d'agrément APAFIS #22688-2019110512492230.

2. Protocole de binge drinking (BD)

Après l'isolement, les biberons sont remplacés par deux tubes Falcon de 50 mL remplis d'eau, afin que les animaux s'habituent à ce dispositif durant au moins 5 jours. En effet, ce protocole repose sur le paradigme du choix entre deux bouteilles (**Figure 58A**), permettant une consommation libre des animaux entre de l'eau et une solution contenant de l'alcool (éthanol 99.9%, Carlo Erba reagents, dilué dans de l'eau), afin de se rapprocher des modalités de consommation chez l'Homme ([Rhodes et al., 2005](#)).

Les animaux sont répartis en 3 groupes ($n=15/\text{groupe}$) (**Figure 58B**) selon leurs poids, afin que le poids moyen des animaux soient équivalents entre les groupes. Le protocole a été adapté d'une étude réalisée par Hwa et ses collaborateurs ([Hwa et al., 2011](#)). Le groupe test ayant un accès intermittent (IA) à la solution alcoolisée (20%, v/v) 3 jours par semaine, les lundis, mercredis et vendredis, commençant 2h après le début de la phase lumineuse, un deuxième groupe ayant un accès continu (CA) à la solution d'alcool. Le groupe contrôle (NA) n'ayant pas d'accès à l'alcool. La position de l'eau et l'alcool est intervertis à chaque début d'accès (tous les jours pour le groupe CA, à chaque session pour le groupe IA) pour éviter un biais de consommation dû à une préférence de place. Ce protocole est réalisé en l'absence de déprivation

alimentaire. Afin de pallier l'aversion des souris pour le goût amer de l'alcool (Kiefer et al., 1998), naturellement assimilé à une substance toxique, les animaux des groupes IA et CA sont progressivement habitués à cette substance, à l'âge de 9 semaines. Durant la première semaine, les animaux sont exposés à des solutions alcoolisées, dont la concentration est progressivement augmentée tous les deux jours (3%, 6%, 10%, v/v) comme fait lors de l'expérience initiale (données préliminaires). Seulement ensuite les souris ont accès à une solution concentrée à 20% durant 8 semaines, soit 26 sessions pour les animaux IA. La consommation d'eau et de solution alcoolisée est mesurée, en pesant les tubes Falcons, 2h, 4h et 24h après le début de l'accès. La consommation alimentaire des croquettes a également été mesurée quotidiennement.

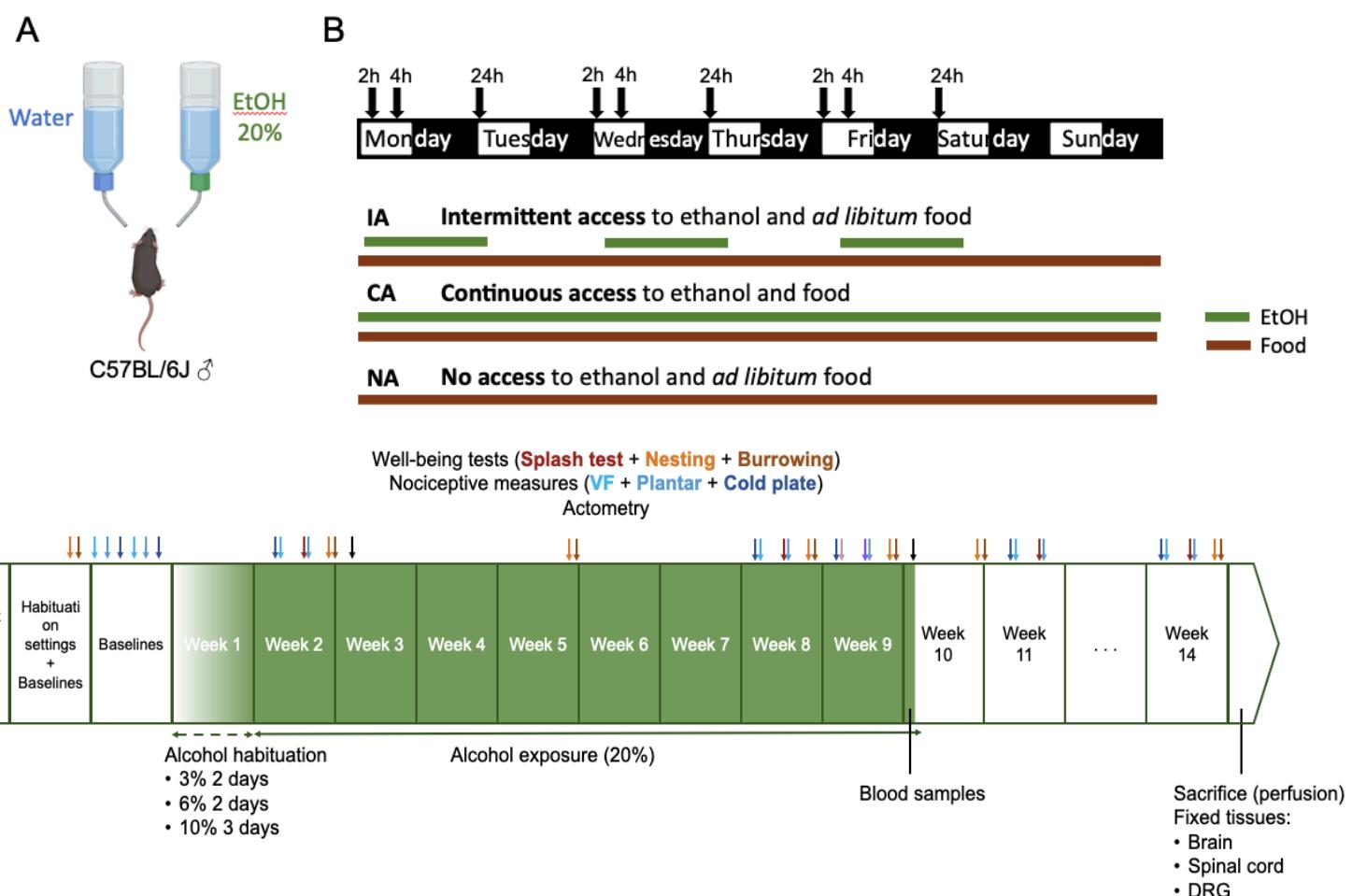


Figure 58. Conception expérimentale du protocole de binge drinking

(A) Ce paradigme a été réalisé chez des souris C57BL/6J mâles ($n=45$). Les animaux des groupes CA et IA ont un accès libre à une solution d'éthanol et de l'eau. (B) Le groupe IA a accès à la solution d'éthanol les lundi, mercredi et vendredi. La consommation hydrique est mesurée 2h, 4h et 24h après le début de l'accès à l'alcool. (C) La première semaine (week 1), l'accès est progressif avec 2 jours d'accès à une solution concentrée à 3% (V/V), puis 6%, et enfin 3 jours à 10% d'alcool. Les souris ont ensuite accès à une solution d'éthanol 20% durant 8 semaines (week 2 à 9), selon les modalités de chacun des groupes. S'en suit 5 semaines d'abstinence forcée sans accès à l'alcool (week 10 à 14). Durant le protocole de binge drinking, des tests comportementaux, visant à mesurer le bien-être, les seuils nociceptifs, ainsi que l'activité locomotrice des animaux, ont été réalisés. Les cerveaux, la moelle épinière ainsi que les ganglions rachidiens dorsaux (DRG) sont prélevés à l'issu du protocole, pour de futures analyses moléculaires. (CA: 184 continuous access; IA: Intermittent access; NA: No access ; EtOH : ethanol; DRG: ganglions rachidiens dorsaux)

A l'issu de ces 9 semaines d'accès à la solution d'éthanol, les souris sont soumises à 5 semaines d'abstinence forcée, durant lesquelles elles n'ont plus accès à l'alcool. Cela permet de déterminer l'impact de l'abstinence sur les comportements de nociception et de bien-être.

3. Tests comportementaux

Au cours de ce paradigme de BD des tests comportementaux visant à mesurer les seuils nociceptifs (Von Frey, Plantar, plaque froide) et le bien-être (nesting, burrowing, splash test) (protocoles détaillés voir p. 84) des animaux, sont réalisés les semaines 2 et 8 du protocole (**Figure 58C**), en dehors des périodes d'accès à l'alcool du groupe IA, c'est-à-dire les mardis, jeudis, samedis et dimanches afin de ne pas perturber la consommation des animaux (**Figure 58A**). Ces expériences sont réalisées aussi les semaines 11 et 14 durant lesquels les animaux n'ont plus accès à l'alcool.

4. Prélèvements de tissus

Lors de la dernière session, 4h après le début de l'accès à la solution d'alcool, du sang est collecté par prélèvement sanguin à la queue (voir p. 91 pour protocole détaillé), afin de mesurer la concentration d'alcool dans le sang avec le NAD-ADH reagent multiple test vial (N7160, Sigma-Aldrich). Les échantillons sont prélevés grâce à des capillaires héparinés, centrifugés 6min à 6 000 rpm pour récupérer le sérum, et conservés à -80°C jusqu'à leur utilisation.

A l'issu des 5 semaines d'abstinence forcée, les souris sont mises à mort par perfusion intra-cardiaque ([Wu et al., 2021](#)) afin de récupérer les cerveaux, la moelle épinière, ainsi que les ganglions rachidiens dorsaux fixés. Les animaux sont profondément anesthésiés par injection intrapéritonéale d'une dose léthale (10mL/kg) d'une solution de Kétamine (Imalgène 1000, 200 mg/kg) Xylazine (Rompun 2%, 30 mg/kg). Lorsqu'ils ne présentent plus de réflexes moteurs, le thorax est incisé afin d'exposer le cœur. Une aiguille reliée à une pompe péristaltique, permettant de faire passer des fluides avec un débit constant (19 mL/min), est insérée au niveau de l'apex gauche du cœur, permettant le passage des solutions à travers tout le système vasculaire. Dans un premier temps une solution saline (NaCl 0,9%) permet de rincer tout le sang présent, ensuite une solution de paraformaldéhyde (PFA) 4% permet de

fixer les tissus en inhibant les réactions enzymatiques et métaboliques, et en permettant la création de liaisons covalentes entre les acides aminés.

Les cerveaux sont retirés de la boîte crânienne, les moelles épinières et les ganglions rachidiens dorsaux (DRG) sont également prélevés et conservés (24h ; 3h ; 1h30) à 4°C dans du PFA 4%, avant d'être transférés durant maximum 72h pour les cerveaux et 24h pour les moelles épinières et les DRG dans une solution de D-glucose 30%, permettant de maintenir l'intégrité cellulaire, et d'éviter la formation de cristaux de glace lors de la congélation. Les cerveaux sont ensuite plongés 1 minute dans de l'isopentane refroidi à -45°C, puis congelés au -80°C. Les moelles épinières et les DRG sont placés dans des cupules avec du cryoprotectant et congelés à -80°C. Cette technique de fixation permet de préserver la morphologie de l'échantillon, ainsi que la structure secondaire et tertiaire des protéines.

5. Analyse statistique

Les analyses statistiques sont similaires à celles utilisées lors du protocole de BS et explicitées dans le « Matériels et Méthodes » général de ce manuscrit (voir p. 95).

D. Résultats

1. L'accès intermittent à l'éthanol n'a pas induit de comportement de binge dans cette cohorte

Durant la période d'habituatation à des doses croissantes d'éthanol (3%, 6%, 10%), les animaux des groupes CA et IA consomment des quantités équivalentes d'alcool, les deux groupes ayant accès 24h/24h à un biberon d'alcool et d'eau durant cette période (**Figure 59A**). On observe une diminution significative de la consommation d'alcool après le premier jour d'accès à une solution de même concentration, et ce comportement est observé à chaque augmentation de concentration (3% : $F_{(1)}=46.5772$; $p=1.24 \cdot 10^{-8}$; 6% : $F_{(1)}=56.7723$; $p=5.018 \cdot 10^{-10}$; 10% : $F_{(1)}=88.5951$; $p<2 \cdot 10^{-16}$). Les souris ayant accès à la solution d'alcool consomment moins d'eau que le groupe n'y ayant pas accès (NA vs CA : $t_{(222.1159)}=-9.288$; $p<2 \cdot 10^{-16}$; NA vs IA : $t_{(222.3662)}=-8.966$; $p<2 \cdot 10^{-16}$) (**Figure 59B**). Cependant la

consommation de liquide, eau et alcool confondus est similaire entre les groupes et au cours du temps durant cette semaine d'habituation.

Durant cette expérience la consommation d'alcool, durant les deux premières heures d'accès et journalière, est identique entre les animaux des groupes CA et IA (**Figure 59C, D**). L'analyse statistique révèle une diminution significative de la consommation d'éthanol au cours des sessions à 2h, 4h et 24h chez les groupes CA (2h : $t_{(750)}=-3.420$; $p=0.0007$; 4h : $t_{(750)}=-2.515$; $p=0.0121$; 24h : $t_{(750)}=-2.159$; $p=0.0312$) et IA (2h : $t_{(750)}=-4.136$; $p=3.94.10^{-5}$; 4h : $t_{(750)}=-4.248$; $p=2.43.10^{-5}$; 24h : $t_{(750)}=-3.669$; $p=0.0003$), probablement due à la prise de boisson importante lors de la première session, qui diminue dès la deuxième session et se stabilise ensuite. Ainsi, de façon surprenante, l'accès 3 jours/semaine n'a pas induit de comportement de binge chez le groupe IA, selon les critères établis précédemment (données préliminaires), la consommation étant similaire entre les groupes IA et CA.

La consommation totale d'éthanol durant les 8 semaines d'accès à la solution 20% est significativement plus importante chez le groupe CA, ayant eu accès tous les jours, en comparaison au groupe IA ($F_{(1)}=13.72$; $p=2.125.10^{-12}$), ayant eu accès 3 jours/semaine à la solution alcoolisée (**Figure 59E**). La comparaison de la prise de liquides totale (eau + EtOH) lors des sessions d'accès à l'éthanol montre que les animaux des groupes CA et IA boivent significativement plus que ceux du groupe NA (CA : $t_{(287)}=4.980$; $p=1.1.10^{-6}$; IA : $t_{(287)}=4.026$; $p=7.27.10^{-5}$) (**Figure 59F**). De façon surprenante, le dosage de la concentration d'alcool dans le sang est similaire entre les trois groupes ($p=0.5178$) (**Figure 59G**).

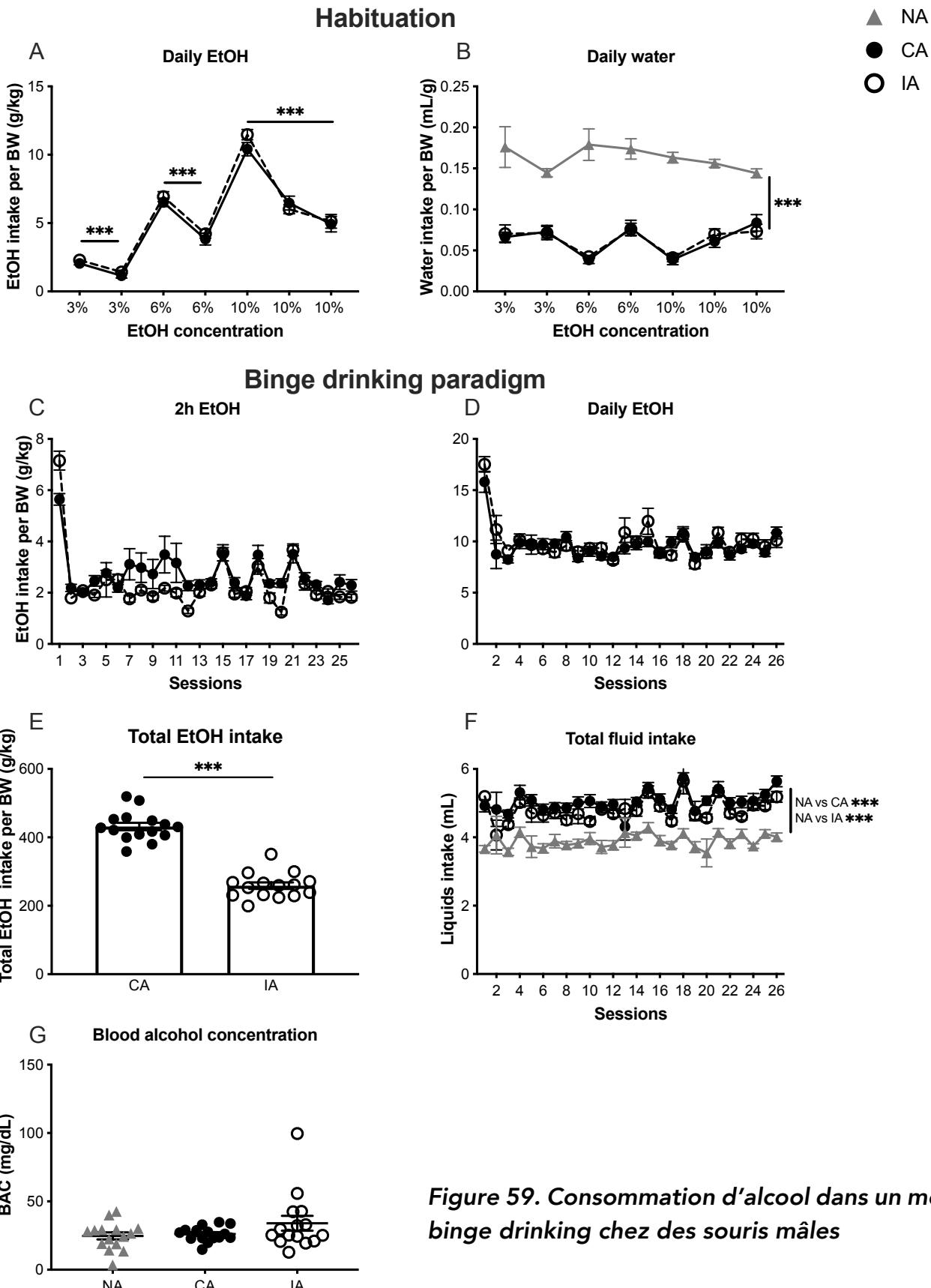


Figure 59. Consommation d'alcool dans un modèle de binge drinking chez des souris mâles

(A) Consommation journalière d'éthanol en g/kg de poids corporel lors de la semaine d'habituation à des concentrations croissantes (3%, 6%, 10%) (B) Durant la semaine d'habituation à l'alcool, les animaux du groupe n'ayant pas accès à la solution d'éthanol (NA) consomment plus d'eau que ceux y ayant accès (CA ; IA). (C) Les animaux ayant un accès continu (CA) et intermittent (IA) à l'éthanol consomment la même quantité durant les deux premières heures d'accès des sessions de binge, seuls les jours d'accès du groupe IA sont représentés ici, ainsi que (D) sur 24h. (E) La consommation cumulées durant les 8 semaines d'accès à la solution d'éthanol 20% est significativement plus importante pour les animaux du groupe CA en comparaison au IA. (F) Les animaux du groupe contrôle (NA) ont une prise de liquides totale (eau + éthanol) moins importante que les animaux des groupes CA et IA. (G) Le dosage de la concentration d'alcool dans le sang est similaire entre les animaux ayant eu accès à la solution d'éthanol (CA ; IA) et le groupe n'ayant pas eu d'accès (NA). (BW : body weight ; EtOH : ethanol; CA: continuous access; IA: Intermittent access; NA: No access; BAC: blood alcohol concentration). Les données sont présentées comme la moyenne par groupe \pm SEM. *: $p<0.05$; **: $p<0.01$; ***: $p<0.001$

2. La consommation d'alcool altère la sensibilité mécanique

Les seuils de sensibilité mécanique et thermique au chaud et au froid ont été mesurés avant le début du protocole de BD afin d'obtenir les valeurs de référence (baselines), puis durant la première et la dernière semaine d'accès à l'alcool (semaines 2 et 9), et d'abstinence forcée (semaines 11 et 14) (**Figure 60C**).

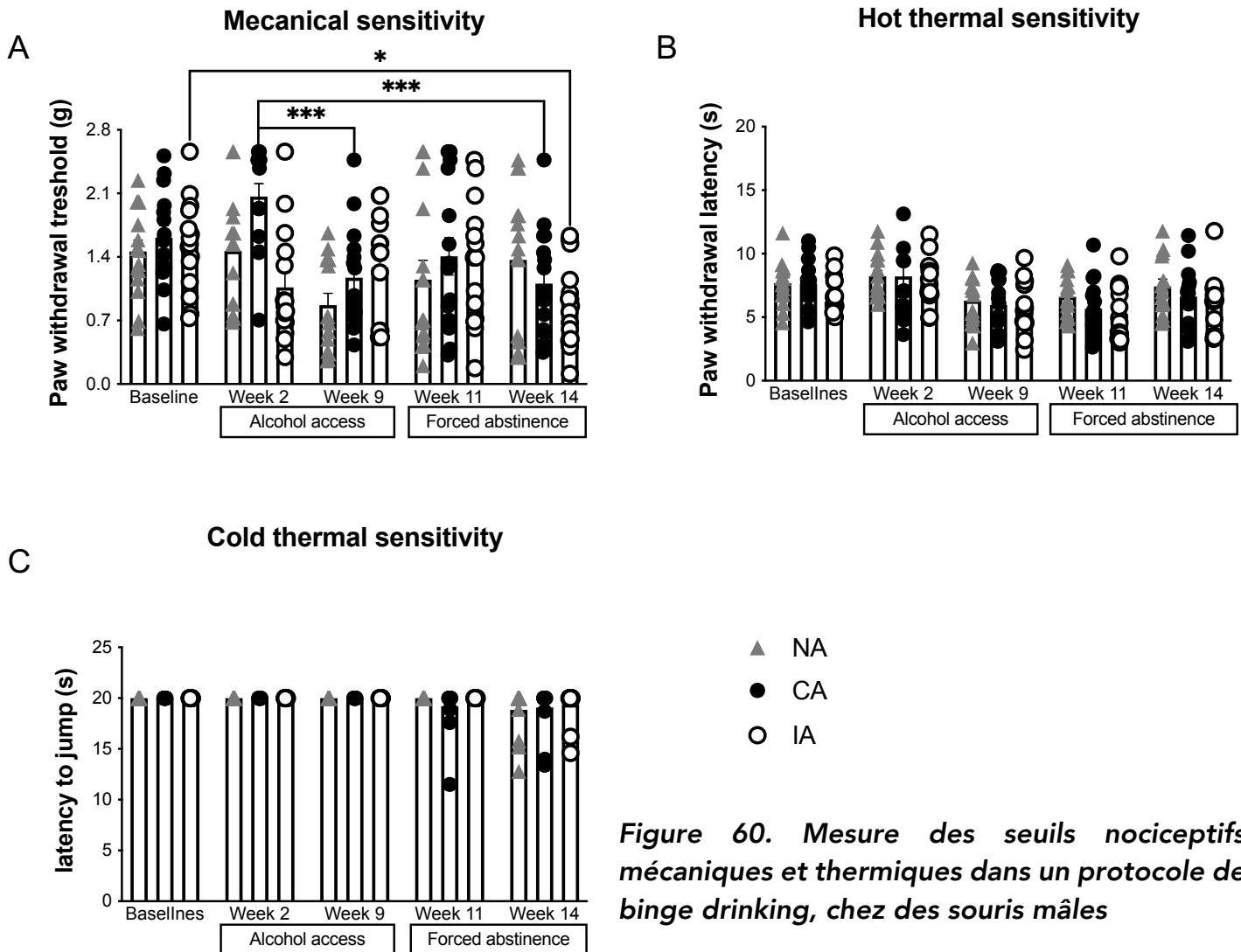


Figure 60. Mesure des seuils nociceptifs mécaniques et thermiques dans un protocole de binge drinking, chez des souris mâles

(A) Le seuil de retrait de la patte lors du test du filament de Von Frey, est diminué chez les animaux ayant eu accès à la solution d'éthanol de façon continue (CA) ou intermittente (IA), lors de la dernière semaine d'abstinence forcée (semaine 14). (B) La consommation d'alcool, ou l'abstinence forcée, ne modifie pas la latency de retrait de la patte chez des souris mâles lors d'une stimulation thermique chaude. (C) La latency de saut dans le test de la plaque froide n'est pas modifiée par la consommation d'alcool de façon continue ou intermittente, ni suite à l'abstinence forcée. (CA: continuous access; IA: Intermittent access; NA: No access). Les données sont présentées comme la moyenne par groupe \pm SEM. *: $p<0.05$; **: $p<0.01$; ***: $p<0.001$

L'accès continu à l'éthanol induit une diminution du seuil de retrait de la patte au cours du temps lors du test du filament de Von Frey ($F_{(14,294)}=1.92$; $p=0.024$), entre

la première et la dernière semaine d'accès ($t_{(42)}=4.616$; $p=0.0009$) (**Figure 60A**). De plus, l'abstinence forcée engendre une diminution des seuils de sensibilité mécanique entre la première semaine d'accès à l'alcool et la dernière semaine d'abstinence chez les animaux du groupe CA ($t_{(42)}=5.512$; $p=0.0001$), et entre les valeurs de référence et la dernière semaine d'abstinence forcée pour les individus du groupe IA ($t_{(42)}=3.221$; $p=0.0462$).

Concernant les seuils de sensibilité thermique au chaud (**Figure 60B**) et au froid (**Figure 60C**) aucune modification induite par la consommation d'alcool durant la période d'accès ou d'abstinence forcée n'a été observée. De plus, un effet seuil est observé lors du test de la plaque froide, avec des souris ne sautant pas dans les 20s d'exposition au stimulus froid. Cette limite ayant été définie au préalable pour éviter toute lésion des tissus.

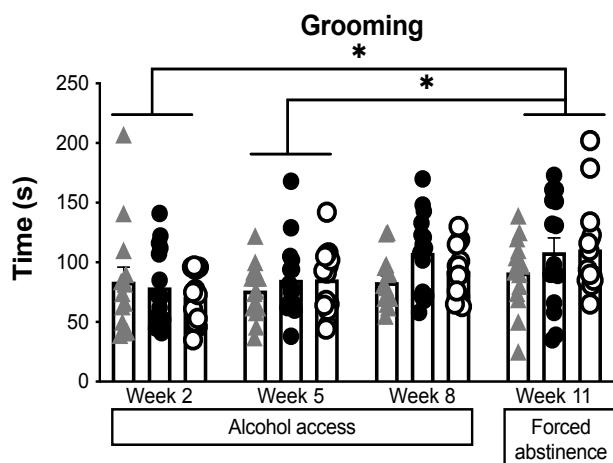
3. La consommation d'alcool n'altère pas le bien-être

L'analyse statistique du temps passé à se toiletter durant le splash test révèle un effet du temps ($F_{(2,100)}=5.74$; $p=0.002$), indépendant du groupe (**Figure 61A**). Les animaux passent plus de temps à se toiletter la semaine 11 (première semaine d'abstinence forcée), en comparaison aux semaines 2 ($t_{(40)}=-3.015$; $p=0.0222$) et 5 ($t_{(40)}=-2.861$; $p=0.0325$).

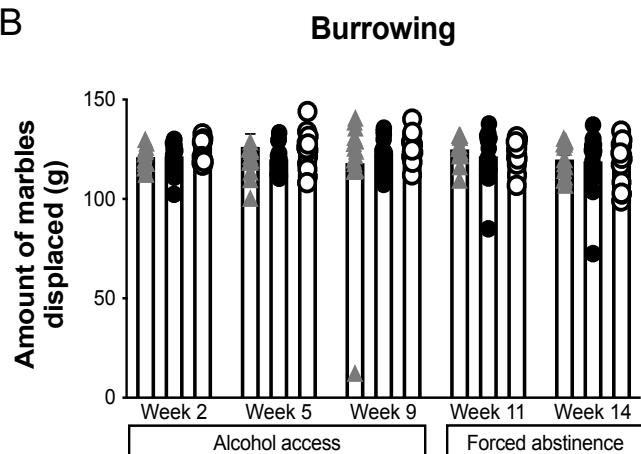
La quantité de billes déplacées durant le test du burrowing est stable au cours du temps ($F_{(3,106)}=1.05$; $p=0.372$), et entre les groupes ($F_{(2,38)}=0.48$; $p=0.621$) (**Figure 61B**).

Les scores attribués lors du test du nesting ne diffèrent pas significativement entre les groupes ($\chi^2_{(2)}=0.8928$; $p=0.6399$). La proportion de scores élevés augmente au cours du temps indépendamment du groupe d'accès ($\chi^2_{(1)}=5.4606$; $p=0.0194$) (**Figure 60C**).

A



B



C

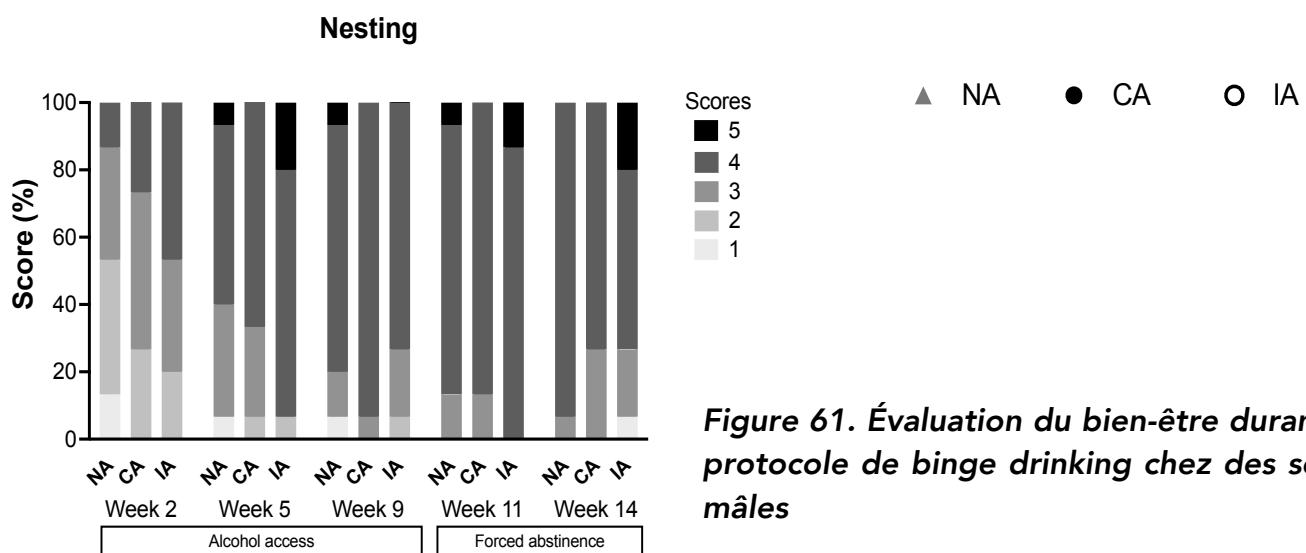


Figure 61. Évaluation du bien-être durant un protocole de binge drinking chez des souris mâles

(A) Le temps passé à se toiletter à augmenter dans les trois groupes au cours du temps. (B) La quantité de billes déplacées lors du test de burrowing est stable durant tout le paradigme de binge drinking, et identique entre les groupes. (C) Les scores attribués lors du test du nesting, ne diffère pas entre les groupes. (CA: continuous access; IA: Intermittent access; NA: No access). Les données sont présentées comme la moyenne par groupe \pm SEM. *: $p<0.05$; **: $p<0.01$; ***: $p<0.001$

4. Activité locomotrice

Les mesures de l'activité locomotrice des animaux, par actimétrie, durant les phases lumineuses et nocturnes, ne montrent pas de différence entre les groupes, avant le début du protocole de BD, ainsi que pendant les périodes d'accès à l'alcool ou d'abstinence forcée (**Figure 62**).

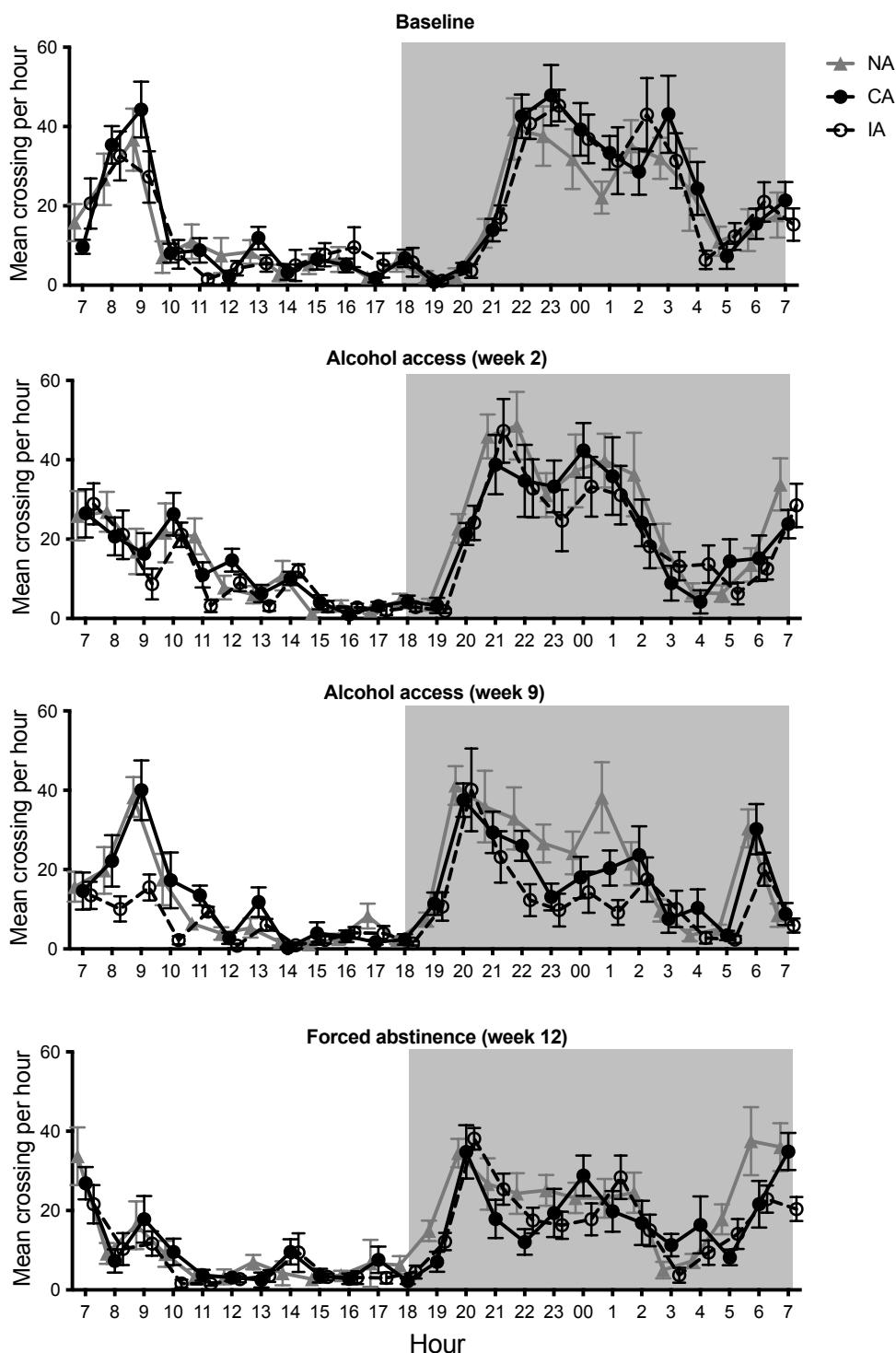


Figure 62. Mesure de l'activité locomotrice spontanée

Les mesures d'actimétrie sur 24h, réalisées avant le début du paradigme de binge drinking (baseline), durant la période d'accès à l'éthanol (semaine 2 et 9), et lors de la période d'abstinence forcée (semaine 12), montre un comportement similaire entre les 3 groupes. (CA : continuous access; IA: Intermittent access; NA: No access). Les données sont présentées comme la moyenne par groupe \pm SEM.

E. Discussion

1. Comportement de binge drinking non reproduit

De façon surprenante la répétition du protocole de binge drinking précédemment établi dans le laboratoire, ne nous a pas permis de reproduire le comportement de binge induit par un accès intermittent à la solution d'éthanol chez le groupe IA, c'est-à-dire une consommation plus importante d'alcool les deux premières heures d'accès en comparaison du groupe CA. Les souris de la lignée C57BL/6J ont été spécifiquement choisies pour réaliser cette étude, car elles sont largement décrites dans la littérature pour consommer des quantités importantes d'alcool, et présenter une préférence pour l'éthanol (Yoneyama et al., 2008). De plus, la lignée, l'origine (Charles River), l'âge des souris utilisées, ainsi que la période de l'année à laquelle ont été réalisées les expériences sont identiques entre les deux expériences. Dans une étude récente, où les auteurs n'ont pas réussi à atteindre des quantités d'alcool consommées par les souris équivalentes aux données précédemment publiées, ils ont cherché à comprendre ce qui pouvait expliquer ces différences (Lee et al., 2017; Szumlinski et al., 2019). Ils ont notamment montré que l'origine des souris (reproduite en laboratoire ou venant d'un fournisseur agréé) n'impacte pas le comportement de binge (Szumlinski et al., 2019). Ils concluent que les différences trouvées dans leur étude résultent d'une période d'habituation au nouvel environnement où a lieu l'accès à l'alcool, trop courte, et recommandent au moins 45 min d'habituation pour optimiser la consommation d'alcool. Ce critère ne peut pas être considéré dans notre étude, car les animaux restent dans leur cage d'hébergement lors des sessions d'accès à l'alcool.

Lors de l'expérience préliminaire les quantités d'alcool consommées journalièrement sont équivalentes à celles rapportées par Hwa et ses collaborateurs, pour les animaux des groupes CA et IA (Hwa et al., 2011). Une autre étude (Crabbe et al., 2012) montre une consommation d'éthanol journalière moins importante, chez des individus mâles, et cette fois-ci comparable aux quantités obtenus lors de notre deuxième expérience. Cependant, dans cette étude l'accès intermittent à l'éthanol 20% 3 jours par semaine engendre une augmentation de la consommation, comme dans le papier initial de Hwa. De plus, en réduisant la durée de l'accès intermittent, à 4h durant la phase nocturne, le comportement de binge n'est plus observé, avec dans ce cas une consommation équivalente aux animaux ayant un accès continu. Ces études illustrent bien la variabilité des résultats obtenus avec un même protocole, qui

pourrait s'expliquer par une variabilité laboratoire ou expérimentateur dépendante. Par exemple, les tubes utilisés pour donner l'accès aux différentes boissons diffèrent entre ces papiers, ainsi que la façon de mesurer la consommation, l'équipe de Hwa ayant pesé les tubes, alors que l'équipe de Crabbe s'est servi des graduations sur le tube. Notre équipe a également adapté le protocole entre l'expérience préliminaire où la consommation est mesurée visuellement à l'aide des graduations présentes sur les tubes, et la seconde expérience où les tubes sont pesés. Ce changement technique ne semble pas avoir impacté les mesures de consommation en effet les valeurs relevées après 2h d'accès sont relativement proches avec respectivement dans l'expérience préliminaire une consommation moyenne d'éthanol sur toute la durée du protocole de 2.46 g.kg dans le groupe IA et 2.12 g.kg dans le groupe CA, et dans la seconde expérience 2.33 g.kg chez les IA et 2.71 g.kg chez les CA. En revanche la consommation journalière est largement plus élevée lors de l'expérience préliminaire (IA= 19.52 g.kg ; CA= 16.16 g.kg) en comparaison de la seconde expérience (IA=9.95 g.kg ; CA= 9.62 g.kg). Il nous semble important de souligner ici que ces consommations exprimées en g.kg reflètent en réalité des volumes bruts relativement faibles. En effet, dans la seconde cohorte la consommation d'alcool moyenne en groupes CA et IA confondus en 2h est de 0.41 mL et journalière 1.6 mL. De plus, Henry Odent, doctorant dans notre équipe, a récemment mesuré la déperdition d'eau en 1h et 24h dans nos conditions expérimentales, qui sont en moyenne respectivement de 0.198 mL et 0.709 mL. Cela suggère qu'environ la moitié des valeurs mesurées durant cette seconde expérience pourrait en réalité être due à la déperdition et non à la consommation des animaux. Dans nos conditions expérimentales, il semblerait donc judicieux d'utiliser des concentrations d'alcool plus faibles qui permettraient aux souris de consommer des volumes plus importants et donc diminuer les biais de mesure dus à la déperdition. En effet, nous savons d'après nos expériences de BS que les souris C57BL/6J peuvent consommer jusqu'à 1.11 mL en 1h (valeur moyenne de solution sucrée consommée par les animaux bingeurs durant la 1^{ère} h d'accès) et 9.96 mL en 24h (volume moyen de solution sucrée consommée par le groupe CA dans le protocole de BS).

Il est à noter que lors de l'habituat à des doses croissantes d'éthanol (3%, 6%, 10%) dans notre deuxième cohorte, la consommation est maximale lors du premier jour d'exposition et diminue dès le deuxième jour, ce phénomène se répétant

à chaque changement de concentration. Ce profil n'est pas vu dans notre étude préliminaire (données non montrées), ni dans les études précédentes (Hwa et al., 2011; Crabbe et al., 2012), où la consommation est stable au fil des jours pour une même concentration. Il semble donc possible qu'une consommation trop importante lors du changement de concentration ait pu induire une intoxication chez les souris, et donc une aversion à cette solution résultant en une consommation moindre d'éthanol les jours suivants. Cet effet pourrait aussi influencer la consommation ultérieure d'alcool dans le protocole. Une aversion conditionnée au goût de l'éthanol est montrée suite à une injection intrapéritonéale d'éthanol à forte concentration (2.5 g.kg) couplée à la présentation d'une solution d'éthanol (10%), résultant en une diminution de la consommation d'alcool (Sinclair, 1984).

Un autre facteur important à noter est que la nourriture des animaux a changée de façon indépendante de notre volonté entre nos deux expériences. Les croquettes Mucedola (RF421) ont été remplacées par la marque Safe (A04). Cette dernière ayant une valeur nutritionnelle légèrement plus élevée (**Tableau 8**). Nous savons qu'une augmentation de l'apport calorique peut diminuer la consommation d'alcool (Dole et al., 1985), ce changement aurait donc aussi pu influer sur la différence de consommation entre nos deux cohortes. Cependant, la prise de poids ainsi que la prise calorique durant les 8 semaines d'accès à l'éthanol sont similaires entre nos deux expériences, suggérant que le changement de nourriture n'est pas responsable de la diminution de consommation d'alcool dans cette expérience.

Tableau 8 – Valeurs nutritionnelles des aliments RF421 et A04

	RF421	A04
Protéines	18.5%	16.1%
Lipides	3%	3.1%
Carbohydrates	53.5%	60.4%
Saccharose	3.68%	3.2%
Energie métabolisée	3.15 kcal.kg	3.339 kcal.kg

2. Analyse du bien-être lors d'un protocole de consommation d'alcool : points critiques

Les études précédentes se sont concentrées sur l'impact d'une consommation d'alcool durant une période d'abstinence (Bloch et al., 2022). En effet, les rechutes sont fréquentes chez les personnes souffrant d'alcoolisme, généralement induites par une sensation exacerbée de mal-être lors du sevrage, appelée « hyperkatifeia » (Koob, 2021). L'alcool permettrait de soulager transitoirement cette sensation, par son effet anxiolytique (Knight et al., 2020), engendrant un cercle vicieux dont il est difficile de s'extirper. Contrairement à ces études précédentes, avec ou sans comportement de binge (Lee et al., 2017; Rath et al., 2021; Van Hees et al., 2022; Xu et al., 2022), où une altération du bien-être a pu être observée (voir revue voir (Holleran and Winder, 2017)), nous n'avons pas mis en évidence d'altération du bien-être des animaux à la suite d'une consommation chronique d'alcool dans nos conditions. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette différence de résultats, le premier étant le type de tests utilisés. En effet, nous avons décidé de nous intéresser dans cette étude à l'impact d'une consommation d'alcool sur des comportements innés (nidification, creusage, toilettage), alors que les recherches antérieures ont utilisé des tests initialement conçus pour mesurer l'anxiété des animaux, tels que le light-dark , l'EPM, le labyrinthe en zéro déjà décrits dans l'introduction de ce manuscrit (p. 35), ou le novelty suppressed feeding test (NSFT) lors duquel on mesure la latence pour récupérer de la nourriture placée au centre d'un champ ouvert, chez des animaux précédemment privés de nourriture, ou encore les comportements de type dépressifs avec le FST. En comparaison des tests conventionnellement utilisés dans ce domaine de recherche, les tests de bien-être présentent l'avantage de pouvoir être répétés au cours du temps, donc de suivre l'évolution du phénotype comportemental au cours de la période d'accès et d'abstinence. Nous n'avons pas observé d'altération du bien-être général des animaux dans nos conditions expérimentales. Il semble que l'absence d'effet observée dans notre procédure puisse être due aux modalités d'accès à la solution d'éthanol (libre accès, continu ou intermittent), ainsi que la quantité consommée (relativement faible) par les animaux. Récemment, dans un protocole similaire (accès 3 jours/semaines à la solution d'alcool), aucun effet n'a été observé dans le NSFT et le labyrinthe en zéro après 1 ou 28 jours d'abstinence (Bloch et al., 2020). A l'instar de nos résultats, les quantités d'éthanol consommées par les souris, sont peu élevées

dans cette étude d'accès intermittent, environ 430 g.kg au total sur les 7 semaines d'accès, équivalent à la quantité totale d'éthanol consommée par le groupe CA dans notre étude (431 g.kg), le groupe IA ayant consommé au total 261 g.kg sur les 8 semaines d'accès (**Figure 59E**). Au contraire, dans une étude avec un accès continu durant 4 semaines à la solution d'éthanol engendrant une consommation totale d'alcool d'environ 800g.kg, les animaux présentent des comportement de type anxieux dès 1 jour d'abstinence ([Vranjkovic et al., 2018](#)). Il semble donc que la quantité totale d'alcool consommée avant la période d'abstinence forcée joue un rôle prépondérant dans le développement de comportements de type anxieux. Nous supposons qu'il en est de même pour l'état émotionnel global des animaux et donc que la quantité d'alcool consommée durant notre protocole de binge drinking soit insuffisante pour induire une altération comportementale lors de la période d'abstinence.

Un modèle de drinking-in-the-dark lors duquel les souris ont accès à la solution d'alcool 3h chaque jour durant la phase nocturne montre une altération des comportement de type dépressif dans le FST après 7 semaines d'accès ([Lee et al., 2017](#)). Il semble important de noter que ces souris consomment 4 g.kg d'éthanol durant chaque session, soit la moitié de la consommation journalière observée dans notre paradigme, en seulement 3h. De nouveau il semble probable que la quantité d'alcool consommée durant les épisodes de binge joue un rôle majeur dans l'altération du bien-être. L'absence de comportement de binge lors de notre expérience peut expliquer que nous n'ayons pas observé de changement de l'état émotionnel des animaux durant la période d'accès à l'alcool. Il semble également possible que les tests que nous avons réalisés ici usuellement utilisés dans des modèles engendrant des phénotypes forts comme des modèles de douleurs neuropathiques ([Kremer et al., 2021](#)) ne soient pas assez sensibles pour révéler les effets de la consommation d'alcool.

L'ensembles de ces données nous laissent supposer que la consommation d'alcool durant notre procédure soit insuffisante à l'apparition d'un déficit émotionnel.

3. La consommation d'alcool altère différemment la sensibilité mécanique et thermique

Concernant la sensibilité thermique au chaud, les résultats initiaux n'ont pas été reproduits, venant s'ajouter aux données de la littérature montrant des résultats variés.

La latence de retrait de la patte lors d'un stimuli chaud, n'est pas modifiée par la consommation d'alcool, ni l'abstinence forcée, en accord avec certaines publications (Gatch and Lal, 1999; Gatch, 2009; Li et al., 2019; Han et al., 2020). Au contraire, d'autres articles montrent une diminution de la sensibilité thermique au chaud durant une abstinence forcée à l'alcool (Dina et al., 2000; Fu et al., 2015; Roltsch Hellard et al., 2017; Avegno et al., 2018; Kang et al., 2019; Kelley et al., 2022; Brandner et al., 2023). Trois phénomènes semblent pouvoir expliquer ces dissimilarités : l'espèces et le sexe des animaux testés, ainsi que les quantités d'alcool ingurgitées. En effet, plusieurs études menées chez le rat mâle rapportent une diminution de la sensibilité thermique au chaud (Dina et al., 2000; Fu et al., 2015; Roltsch Hellard et al., 2017; Avegno et al., 2018; Kang et al., 2019). Des résultats similaires sont reproduits chez les mâles dans une expérience regardant les deux sexes, et ne sont pas retrouvés chez les femelles (Kelley et al., 2022). Néanmoins, des effets opposés à cette étude sont observés chez la souris, avec une augmentation de la sensibilité thermique au chaud uniquement chez les femelles (Brandner et al., 2023). Dans les deux études s'intéressant à l'impact du sexe (Kelley et al., 2022; Brandner et al., 2023), l'exposition à l'alcool provient de vapeurs d'alcool, et non d'un régime liquide comme dans notre procédure. De façon intéressante, l'induction de l'hyperalgésie thermique mesurée par le test de la plaque chaude s'est faite chez le sexe présentant les concentrations d'alcool dans le sang les plus élevées. Chez les souris, cet effet est observé uniquement après l'injection de pyrazole, un composé inhibant l'alcool déshydrogénase et augmentant donc la concentration d'alcool dans le sang. Il semble donc que la diminution des seuils de sensibilité thermique dépende du degré d'intoxication à l'alcool, attesté par la concentration d'alcool dans le sang, plus que du sexe des individus. La mesure de la concentration d'alcool dans le sang dans notre paradigme n'ayant pas révélé de différence entre nos groupes avec et sans accès à l'alcool, il est probable que les animaux n'aient pas consommé de quantités suffisantes de solution alcoolisée pour induire une hyperalgésie thermique au chaud.

Nous avons observé un effet plateau lors du test de la plaque froide avec la majorité des animaux ne montrant pas de réponse dans les 20 s du test. Il semble donc que les paramètres utilisés comme témoin d'une réponse nociceptive au froid ne soient pas les plus adaptés. En effet, seulement les sauts ont été dénombrés, cette réponse étant une tentative d'échappement donc l'ultime recours mis en place par les

animaux (Deuis et al., 2017), elle n'est pas systématique ou peut nécessiter un temps limite plus long pour être observée. Le scorage de réponses aversives, telles que l'observation de la position de la patte, ou son léchage, auraient pu permettre une analyse plus précise de la sensibilité au froid.

Conformément à la littérature, et à nos résultats préliminaires, l'abstinence forcée à l'alcool (dans les groupes CA et IA) induit une diminution des seuils de sensibilité mécanique (Dina et al., 2006; Bergeson et al., 2016; Han et al., 2020; Kelley et al., 2022; Brandner et al., 2023). Cela suggère que contrairement à la sensibilité thermique l'hyperalgésie mécanique ne dépend pas des quantités d'alcool consommées en amont.

F. Conclusion

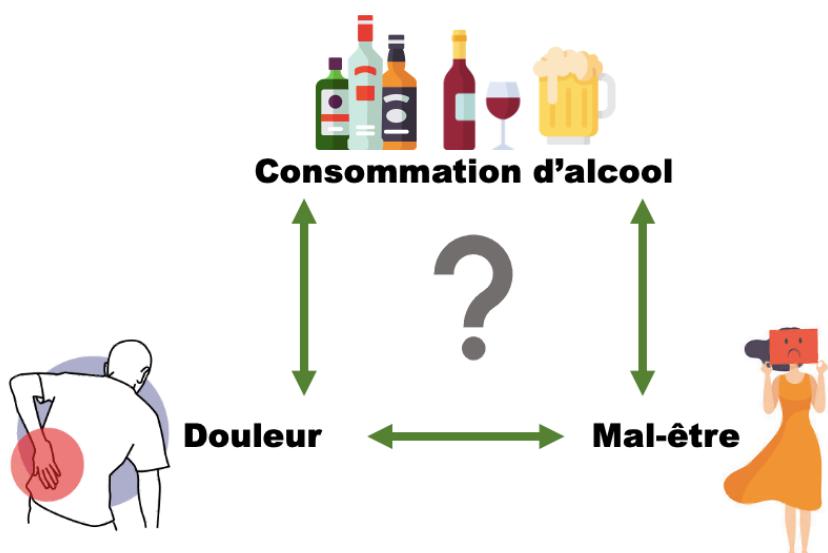


Figure 63 Relations entre : consommation d'alcool, douleur et mal-être ?

Durant ce projet nous nous sommes intéressés aux relations entre la consommation d'alcool, la douleur et les altérations du bien-être, qui sont encore mal comprises. Notre hypothèse initiale étant qu'une consommation de type binge drinking peut induire des altérations des seuils nociceptifs, associées à une diminution du bien-être. Cependant, nous nous sommes confrontés à certaines limites techniques liées à l'utilisation de modèles animaux. En effet, en choisissant d'utiliser un modèle de consommation libre d'alcool, nous n'avons pas pu reproduire le comportement de binge précédemment obtenu. De plus, ce projet permet de mettre en avant des points critiques à considérer dans ce type d'étude, au-delà du modèle de consommation choisi, les quantités d'alcool consommées semblent être un paramètre essentiel à

prendre en compte dans le développement des troubles associés à une consommation à risque d'alcool. Par exemple, l'hyperalgésie thermique précédemment observée durant la période d'abstinence forcée n'a pas été retrouvée ici, cela pourrait venir des quantités d'alcool consommées trop faibles. Les modèles de consommation libre se rapprochant le plus de la consommation humaine il paraît judicieux de poursuivre les études sur ce type de modèle, même s'ils ne permettent pas d'obtenir une consommation standardisée entre les animaux. Il semble important d'adapter les concentrations d'alcool utilisées selon le matériel de mesure disponible au laboratoire. En effet, nous avons vu ici que les volumes de solution de 20% d'éthanol consommés par les souris sont relativement faibles la déperdition due à l'évaporation et à la manipulation des biberons pouvant constituer un biais majeur dans les mesures. Nous supposons que les souris consommeraient des volumes plus importants si la concentration en alcool était moins élevée, diminuant ainsi les biais de déperdition. De plus, nous n'avons réalisé cette étude que sur des individus mâles car nous pensions renouveler cette expérience chez des souris femelles une fois notre modèle validé. Il nous paraît primordial d'inclure les deux sexes dans les protocoles de recherches. En effet, ces études restent encore minoritaires, or il semblerait que les effets induits par la consommation d'alcool ne soient pas homogènes entre les individus mâles et femelles. Face aux résultats comportementaux obtenus nous n'avons pas poursuivi l'étude moléculaire dont le but était d'analyser par immunohistochimie des marqueurs inflammatoires (Iba1, GFAP) au niveau cérébral, de la moelle épinière et des DRG afin de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents impliqués dans le développement de douleurs induites par une consommation d'alcool. Il apparaît donc important de poursuivre les recherches sur cette thématique, pour comprendre les mécanismes impliqués et trouver des remèdes afin d'éviter le développement de complications liées à la consommation d'alcool, ainsi que les rechutes.



Discussion générale

VII. Discussion générale

Plusieurs éléments sont déjà discutés dans la partie résultats de ce manuscrit, dans les discussions des articles, comme par exemple l'impact du sucre sur la CPP et l'état émotionnel. Nous allons développer ici certains points qui nous paraissent pertinents afin d'intégrer les résultats obtenus durant ce projet dans le contexte actuel des connaissances. Dans un premier temps nous allons aborder la sous-représentation des individus de sexe féminin dans la recherche, et pourquoi leur inclusion semble indispensable afin de mieux caractériser les processus physiopathologiques impliqués dans le BED. Dans un deuxième temps nous ferons un point sur les conséquences d'une consommation excessive de sucre au niveau moléculaire et comportemental.

A. Le sexe, une variable à prendre en compte dans les études précliniques de binge

1. Le cycle œstral induit-il plus de variabilité dans les mesures comportementales ?

En 2016, le NIH (national institut of health) et l'EASE (European association of scientific editors) ont publié des directives pour l'inclusion à part égal des individus mâles et femelles dans les recherches cliniques et pré-cliniques sous le nom de : SABV (sex as a biological variable) ([National Institutes of Health \(NIH\), 2016](#)) et SAGER (sex and gender equity in research) ([Heidari et al., 2016](#)). Ces recommandations se basent sur la sous-représentation des femelles dans les recherches scientifiques. Environ 40% des études précliniques publiées en 2019 intègrent des individus des deux sexes, et plus de 40% comptent uniquement des mâles contre moins de 5% pour les femelles ([Zucker et al., 2021](#)). Le sexe est une variable biologique génétiquement encodée par les chromosomes XX chez les femelles et XY chez les mâles, pouvant influencer les processus biologiques.

L'un des arguments les plus utilisés pour ne pas inclure de femelles dans les expériences précliniques est la variabilité induite par le cycle œstral sur les résultats. Ce dernier durant 4 jours chez les rongeurs, certains suggèrent qu'il devrait être suivi quotidiennement pour pouvoir interpréter les résultats ([Wald and Wu, 2010](#)). L'une des premières études à avoir questionné ce sujet s'est intéressée à la variabilité induite

par le sexe dans des tests nociceptifs (de retrait de la queue, et d'injection de formaline), montrant que des femelles testées aléatoirement au cours du cycle hormonal ne présentent pas plus de variabilité dans ces tests que les mâles ([Mogil and Chanda, 2005](#)). Des méta-analyses menées chez les souris ([Prendergast et al., 2014](#)) et chez les rats ([Becker et al., 2016](#)) regroupant tous types de domaines de recherche ont d'ailleurs mis fin à ce mythe, en démontrant que les mesures réalisées chez les femelles ne présentent pas plus de variabilité que les mâles. Nous nous sommes intéressés aux deux sexes durant nos recherches sur le BS, mais le cycle œstral des animaux n'a pas été suivi au cours de ces expériences. Conformément aux études précédentes, nos observations comportementales de consommation alimentaire montrent une variabilité similaire entre les mâles et les femelles. De plus, les mesures de consommation de nourriture et de liquides sont prises quotidiennement durant ce protocole, aucun effet entre les jours n'a été observé chez les femelles, qui supposerait un effet du cycle hormonal. Ces observations sont en accord avec les résultats obtenus dans des mesures d'acquisition de prise de nourriture chez des souris placées 23h par jour dans des boîtes opérantes, où l'insertion du nez de l'animal (nose poke) dans un orifice induit la distribution d'un pellet de nourriture standard ([Smarr et al., 2019](#)). Des FR, lors desquels un même nombre de nose poke (2, 5, 10, 25 ou 50) induit la délivrance d'un pellet sont utilisés durant 4 jours consécutifs. Les femelles ne montrent pas plus de variabilité intra-individuelle que les mâles au cours d'une même séquence de 4 jours de ratio fixe. Ces résultats suggèrent que la consommation alimentaire et hydrique ne varie pas de façon significative au cours du cycle œstral chez les femelles.

2. Les femelles sont-elles plus vulnérables aux comportements de binge ?

Nous avons mis en évidence une consommation plus importante de solution sucrée chez les femelles IA en comparaison des individus mâles durant la première heure d'accès à la solution de saccharose lors d'un protocole prolongé à 8 semaines (**Figure 22B**), suggérant un comportement de binge accru chez les femelles. Cependant, les femelles du groupe CA présentent une consommation journalière de solution sucrée plus importante que les mâles (**Figure 22D**), et les femelles consomment globalement plus de calories et de liquides que les mâles (**Figure 38**). Notre analyse est faite en normalisant les données par le poids des animaux afin de

diminuer le biais induit par le dimorphisme sexuel, les individus femelles étant plus petits que les mâles. Ces observations nous amènent à nous demander si la différence sexe sur le comportement de binge est en réalité sous-tendue par des mécanismes dépendant du métabolisme physiologique des animaux. Des études ont précédemment montré des résultats similaires avec une consommation calorique plus importante chez les femelles que chez les mâles, chez des rats (Wang, 1925) et des souris (Oraha et al., 2022) nourris avec un régime standard. La consommation hydrique semble également dépendante du sexe, les femelles buvant des volumes d'eau plus importants que les mâles, lorsque les données sont ramenées au poids du corps des individus, chez le rat (McGivern, 1996; Grimm et al., 2022) et la souris (Rakov et al., 2016; Rivera-Irizarry et al., 2023). Ainsi, il existe donc une différence physiologique qu'il faudrait prendre en compte.

Néanmoins, nous ne sommes pas les premiers à observer un comportement de binge accru chez les femelles (Babbs et al., 2011; Klump et al., 2013; Wei et al., 2021). Une des études montre une consommation de glaçage à la vanille plus importante chez les rats femelles, lors d'un accès 3 jours par semaine durant 5 semaines (Klump et al., 2013). Les mâles soumis au même régime consomment plus de nourriture standard (normalisée par la masse corporelle) les jours d'accès et de non-accès à la nourriture palatable, contrairement à nos observations où les femelles consomment également plus de nourriture standard. Il faut noter que les deux autres études n'ont pas regardé la consommation de nourriture standard durant un protocole de binge à de la graisse alimentaire (20 min, 3 j/ semaine, 5 semaines) (Babbs et al., 2011), ou une procédure de « drinking in the dark » pour du saccharose 5% (4 j)(Wei et al., 2021). De plus, aucune de ces 3 études n'a analysé la consommation hydrique. Ainsi, à l'heure actuelle, nous ne pouvons pas exclure que cette différence de consommation que nous observons entre les mâles et les femelles soit au moins en partie due à des différences métaboliques entre les deux sexes.

Cependant, le BED est un comportement pathologique qui présentent des caractéristiques communes avec les comportements addictifs comme la sensation de perte de contrôle et la persistance de ce comportement malgré les conséquences négatives (honte, prise de poids...) (Cassin and Von Ranson, 2007). Ceci explique que les patients souffrant de BED reportent des scores plus élevés sur la YFAS (cf annexe p. 224), et qu'un taux plus élevé d'entre eux répondent aux critères de l'addiction

à la nourriture en comparaison de personnes sans antécédent de TCA (Carter et al., 2019). Il est montré que les femmes avec ou sans BED montrent des scores plus élevés sur la YFAS que les hommes (Levallius et al., 2022), ce qui pourrait expliquer la plus forte prévalence de ce trouble chez les femmes. De façon intéressante, les recherches menées sur l'addiction à diverses drogues montrent également une plus grande vulnérabilité chez les femmes (Becker et al., 2017). Ces dernières augmentent leur consommation de drogue plus rapidement que les hommes, et présentent une évolution plus rapide entre la première utilisation et le diagnostic d'addiction. Ce phénomène appelé « telescoping » est observé notamment pour l'alcool, les opioïdes et le cannabis (Hernandez-Avila et al., 2004; Khan et al., 2013). Les études précliniques montrent également des différences de comportement dépendantes du sexe face aux substances addictives, avec par exemple une consommation accrue d'alcool chez les individus femelles dans des protocoles de consommation libre (2-bottle choice) (Satta et al., 2018; Sneddon et al., 2019). Un protocole d'auto-administration de cocaïne (iv) par activation d'un levier montre que les femelles acquièrent plus rapidement les critères d'auto-administration que les mâles (Lynch, 2008). De plus, lors d'une expérience de PR, lors de laquelle le nombre d'activation du levier nécessaire pour obtenir une récompense augmente progressivement au cours de la séance, les femelles obtiennent un plus grand nombre d'infusions de cocaïne, suggérant une motivation accrue pour obtenir de la cocaïne. Ainsi, ces observations pointent des différences liées au sexe dans les processus biologiques d'addiction (Becker and Koob, 2016). Des études montrent également une motivation accrue lors du test de PR chez des femelles comparées aux mâles, lorsque la récompense correspond soit à des pellets de saccharose (Freund et al., 2015; Tapia et al., 2019) soit à une solution de saccharose 10% (Wei et al., 2021). Lorsque ce test est réalisé chez des souris préalablement privées de nourriture durant 24h, les animaux des deux sexes fournissent un effort plus important pour obtenir la récompense, en comparaison d'animaux non soumis à une restriction alimentaire, et les femelles atteignent des points de rupture (breaking point) plus élevés dans les deux cas (Tapia et al., 2019). Ces résultats montrent bien que la motivation pour le saccharose est en partie régulée par des mécanismes homéostatiques et hédoniques, les femelles présentant une motivation accrue comparées aux mâles. Une expression supérieure du marqueur d'activation c-Fos est montrée par immunohistochimie dans le NAc et le PFC chez des femelles en comparaison des mâles suite à une exposition

de 1h à du glaçage à la vanille (Sinclair et al., 2017). Nous pensons donc que l'exacerbation du comportement de binge chez les femelles est sous tendue par un dimorphisme sexuel dans les comportements motivés régis par le circuit de la récompense. Il serait donc pertinent de mener plus de recherches à ce sujet afin d'en comprendre les mécanismes sous-jacents.

3. Perspectives : altération de la motivation par le comportement de BS

Gaëlle Awad a montré que notre modèle de BS altère la perception des propriétés renforçantes de l'alcool après seulement 2 semaines dans les 2 sexes (cf article 1), suggérant une altération des mécanismes de récompenses. L'équipe aimeraient maintenant investiguer les conséquences de ce comportement de BS sur la motivation. Durant les stages de master (M1 et M2) de Henry Odent, j'ai participé à la mise au point d'un protocole de conditionnement opérant avec des pellets de saccharose chez les souris C57BL/6J mâles et femelles. Durant son stage de M2, la motivation des souris mâles à obtenir une récompense avec un test de PR après un protocole court ou prolongé de BS a été testée. Il est évidemment prévu de réitérer ce protocole chez des individus femelles, le nombre de boîtes opérantes disponibles au laboratoire ne nous permettant pas de tester les deux sexes simultanément. Les résultats préliminaires chez les individus mâles indiquent une diminution de la motivation, attestée par moins de nose poke lors du PR chez les animaux des groupes IA et CA après le protocole de BS de 8 semaines (expérience à confirmer). Les cerveaux des animaux ont été prélevés 1h30 après le PR afin de réaliser une quantification du marqueur d'activation c-Fos par immunohistochimie. La quantification des données préliminaires ne montre de différence entre les groupes dans le NAc. Henry Odent ayant débuté sa thèse au LNCA au mois d'octobre 2023, ses objectifs sont i) d'augmenter les effectifs afin de confirmer ses résultats préliminaires, ii) d'affiner la quantification dans les sous-regions du NAc et de poursuivre la quantification dans d'autres structures cérébrales telles que le PFC ou la VTA, iii) de mener des expériences similaires chez les femelles.

Ces expériences permettront de mieux caractériser l'impact du sexe sur l'altération des processus motivationnels suite à une consommation excessive de saccharose, ainsi que sur les mécanismes neuroadaptatifs au sein du circuit de la récompense. De plus, ce paradigme pourrait également être testé avec des pellets de

nourriture standard, la mise en place ayant été faite durant le stage de Cody Bowen, afin de définir si ces altérations sont spécifiques à la nourriture palatable.

B. Le sucre est-il vraiment néfaste pour notre santé ?

1. Une consommation excessive de sucre induit une neuroinflammation

Dans nos conditions le comportement de BS induit une augmentation transitoire de l'expression du marqueur astrocytaire GFAP dans le PFC après 2 semaines de régime mesurée par qPCR (**Figure 39A**). Celle-ci n'est pas associée à l'augmentation d'autres marqueurs pro-inflammatoires et n'est pas retrouvée après 8 semaines de binge. Lors d'une réponse inflammatoire les astrocytes interviennent après l'activation des cellules microgliales et au relargage de marqueurs pro-inflammatoires par celle-ci, or ni l'expression du marqueur microglial Iba1, ou des cytokines pro-inflammatoires (CCL2, CCL5, TNF α) ne sont augmentées dans le groupe IA. Il semble donc possible que l'augmentation de GFAP lors du protocole de 2 semaines résulte d'une régulation en réponse à la consommation excessive de saccharose, les astrocytes intervenant également dans le métabolisme énergétique du cerveau en convertissant le glucose en lactate servant de substrat énergétique aux neurones ([Zhang et al., 2023](#)). Par ailleurs, nos résultats de qPCR à 8 semaines dans le groupe IA concordent avec une étude réalisée chez le rat ne montrant pas d'augmentation du nombre d'astrocytes en immunohistochimie dans le cortex après 12 semaines de binge saccharose ([Patkar et al., 2021](#)). Cependant, dans ce même papier les auteurs montrent des signes de neuro-inflammation chez les rats bingeurs, notamment par une augmentation du nombre de cellules microgliales par marquage avec un anticorps anti-Iba1. Nous n'avons pas encore mené les expériences d'IHC qui nous permettraient de vérifier les niveaux protéiques de nos marqueurs. Néanmoins, les résultats obtenus par cytokine array dans le PFC des souris femelles, après 8 semaines de binge, pointent une augmentation de Flt-3 ligand dans le groupe IA en comparaison des groupes NA et CA. Flt-3 ligand participe à la différenciation et au recrutement des cellules dendritiques ([Waskow et al., 2008](#)) impliqués dans l'activation de la réponse immunitaire adaptative par présentation de l'antigène aux lymphocytes T. De plus, l'injection de Flt-3 ligand dans le striatum chez la souris augmente le nombre de cellules dendritiques dans cette structure, suggérant que cette molécule a la capacité d'outrepasser le privilège immunitaire du cerveau ([Larocque et al., 2010](#)). Dans le

cerveau Flt-3 ligand est principalement exprimé par les astrocytes, l'expression de ce gène étant plus importante dans ce type cellulaire comparé aux cellules microgliales et endothéliales chez des animaux contrôles et dans un modèle d'ischémie cérébrale (Gallizoli et al., 2020). Ainsi, l'augmentation de ce marqueur dans nos conditions laisse penser que des mécanismes neuro-inflammatoires par recrutement du système immunitaire périphérique peuvent être induits par le comportement de binge au sein du système de la récompense. Cette réponse neuro-inflammatoire dans le PFC pourrait contribuer au maintien du comportement de binge, et notamment de la prise compulsive de nourriture, cette structure étant impliquée dans les mécanismes d'attention, de prise de décision et les contrôles inhibiteurs.

En effet, l'implication du PFC dans les comportements associés au BED a déjà été montrée. Chez l'humain une diminution de l'activité du PFC est observée chez des patients atteints de BED en comparaison de sujets contrôles minces ou obèses sans diagnostic de BED, lors du test de Stroop mesurant l'attention sélective, lors de laquelle il faut dire la couleur de l'encre alors que le mot écrit renvoie à une autre couleur (exemple : **jaune** la réponse attendue est « rouge ») (Balodis et al., 2013). Des observations similaires sont faites lors d'une tâche de go-nogo (avec des images alimentaires) (Hege et al., 2015; Veit et al., 2021). L'activité du PFC est augmentée après 2 mois de thérapie cognitivo-comportementale, associée à une diminution de l'impulsivité lors de la tâche de go-nogo chez les patients atteints de BED (Veit et al., 2021). Ces résultats suggèrent une plus grande impulsivité due à une diminution de l'activité du PFC chez les individus souffrant de BED. L'injection d'agonistes GABAergiques dans le PFC de rats soumis à un protocole de binge (grasse végétale pendant 1h, 3 x/ semaine) augmente la consommation de nourriture grasse (Corwin et al., 2016). Nous supposons donc que le comportement de binge induit des mécanismes neuroinflammatoires dans le PFC conduisant à une diminution de son activité, résultant en une prise compulsive de nourriture. De façon intéressante, Flt-3 ligand apparaît comme moins exprimé dans le sérum des animaux du groupe IA en comparaison des deux autres groupes d'accès dans notre paradigme, résultat opposé à celui observé dans le PFC. Cela pourrait être le signe d'un outrepassement du recrutement de cellules immunitaires par le SNC par rapport à la périphérie suite à un comportement de binge. L'analyse de l'expression des cytokines dans le plasma après 8 semaines de protocole de BS montre une diminution de plusieurs facteurs pro-

inflammatoires (CCL6, IGFBP-1, CXCL16...) chez le groupe IA en comparaison des contrôles (**Figure 41**). Ces résultats nous laissent penser que la neuroinflammation induite par le comportement de binge n'est pas sous-tendue par une inflammation systémique. D'ailleurs, notre étude sur le foie des animaux IA ne révèle pas non plus d'augmentation de signes pro-inflammatoires dans cet organe.

Comme développé dans la discussion du second article présenté dans ce manuscrit (cf p. 154) une consommation excessive de saccharose induite par un accès continu (CA) durant 8 semaines à la solution induit une inflammation systémique associée à une neuroinflammation. En effet, nos analyses révèlent l'augmentation de l'expression génique de marqueurs inflammatoires (TNF α , CCL2) dans le foie (**Figure 40D**), ainsi que du marqueur microglial Iba1 dans le PFC et le NAc (**Figure 39**) dans le groupe CA. L'analyse par cytokine array montre aussi une augmentation de l'expression de marqueurs inflammatoires dans le PFC (tel que CX3CL1 discuté p. 157), et le sérum (CXCL16), ainsi que de marqueurs impliqués dans le métabolisme glucidique (FGF-21, IGFBP-1). FGF-21, hormone endocrine produite par le foie, est également plus exprimée dans le sérum du groupe CA en comparaison des groupes IA et NA. Chez l'humain FGF-21 est sur-exprimée dans le sérum de patients souffrant d'obésité ([Zhang et al., 2008](#)) et de NAFLD ([Li et al., 2010](#)). De plus, l'ingestion d'un régime hypercalorique enrichi en carbohydrates (19% sucres libres) durant 3 jours par des sujets sains induit des niveaux de FGF-21 circulants 8-fois plus importants en comparaison d'individus soumis à un régime contrôle ou hypercalorique enrichi en gras ([Lundsgaard et al., 2017](#)). Chez la souris, la consommation de sucres libres (fructose, glucose et saccharose) augmente l'expression génique de FGF-21 dans le foie et le sérum ([von Holstein-Rathlou et al., 2016](#)). De surcroit, des souris génétiquement modifiées déficientes en FGF-21 (KO) de façon constitutive ou uniquement dans le foie, consomment des quantités plus importantes de ces mêmes sucres en comparaison d'individus sauvages, alors qu'une surexpression de FGF-21 diminue la consommation de saccharose (non testé avec les autres sucres). Lorsque ces mêmes expériences sont réalisées avec une solution de saccharine aucune différence n'est observée entre les groupes suggérant que l'effet de FGF-21 ne dépend pas du goût sucré mais de la valeur nutritionnelle. L'injection intra-cérébrale de FGF-21 réduit également la consommation de solution sucrée ([von Holstein-Rathlou et al., 2016](#)). Ces résultats suggèrent qu'en condition physiologiques la libération de FGF-21

par le foie contribue à la régulation de la consommation de sucre en agissant au niveau cérébral. Nous avons observé chez les animaux du groupe CA une augmentation de FGF-21 en périphérie, mais pas au niveau central (PFC) cela suggère une dérégulation de ce circuit chez ces animaux.

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées, qui expliqueraient la perte d'effet de cette hormone lors d'un accès continu au saccharose, soit FGF-21 a perdu sa capacité à passer la BHE, le passage de la BHE par FGF-21 ayant déjà été montré ([Hsueh et al., 2007](#)), soit une désensibilisation des récepteurs centraux à FGF-21 est survenue. Des essais cliniques et pré-cliniques chez des patients obèses ou dans des modèles d'obésité montrent les effets bénéfiques du traitement avec une molécule analogue de FGF-21, induisant notamment une diminution du poids, du taux de glucose et de lipides sanguins ([BonDurant and Potthoff, 2018](#)). Il est probable que le phénotype de prise de poids du groupe CA provienne d'une communication altérée entre FGF-21 au niveau périphérique et central. Il serait donc particulièrement intéressant de poursuivre les investigations sur cette cible, par exemple dans des modèles de souris transgéniques surexprimant ou sous-exprimant FGF-21 spécifiquement dans le PFC, afin de voir l'impact sur la prise alimentaire homéostatique et hédonique, et les conséquences métaboliques associées.

Nous avons également constaté une augmentation de IGFBP-1 et CXCL16 dans le plasma des femelles du groupe CA. De façon intéressante, il a été montré que l'expression de ces deux molécules est amplifiée dans le foie et le sérum de patients souffrant de NAFLD ([Jiang et al., 2018; Pan et al., 2021](#)). Ces résultats sont cohérents avec l'accumulation de lipides hépatiques dans le groupe CA observée suite au marquage red oil, suggérant une perturbation massive au niveau du foie induite par une consommation excessive de saccharose. Tous ces éléments nous laissent penser que l'augmentation du marqueur microglial (Iba1) dans le PFC et le NAc des souris du groupe CA est due, au moins en partie, à des altérations métaboliques associées à une inflammation systémique.

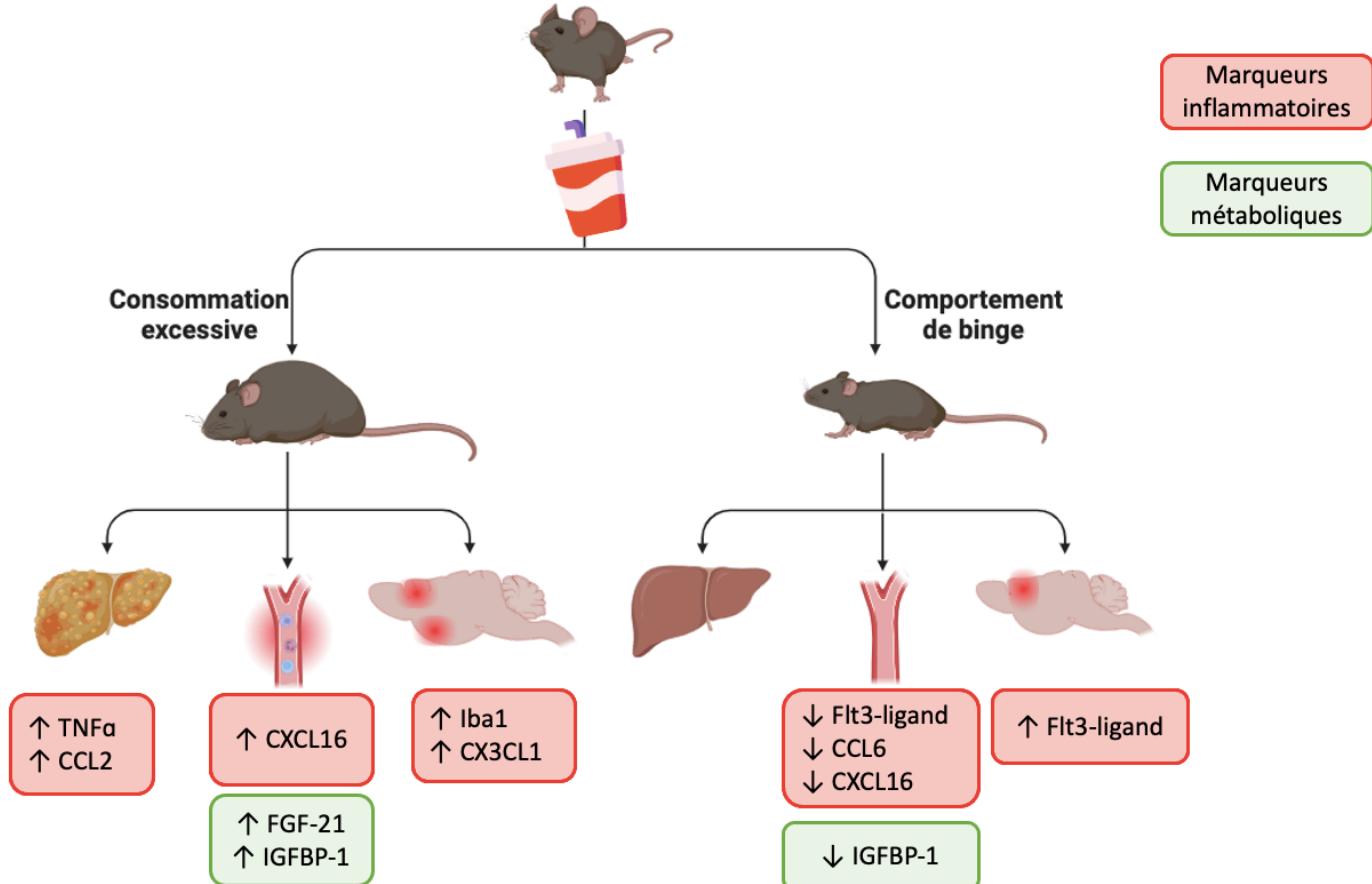


Figure 64. Conséquences métaboliques et inflammatoires d'une consommation excessive de saccharoses

Ce projet de thèse nous a permis de mettre en évidence des marqueurs inflammatoires et métaboliques impactés par une consommation excessive de sucre induisant un comportement de binge (accès intermittent) ou obésogène (CA).

2. Une consommation excessive de saccharose altère-t-elle d'autres comportements ?

Au cours de ce projet de thèse nous avons examiné les effets d'une consommation excessive de sucre par un comportement de binge ou *via* un accès continu à la solution, sur l'état émotionnel et la nociception. Les résultats des tests mesurant l'état émotionnel des souris sont discutés dans la discussion du premier article présenté dans ce manuscrit (cf p. 117). Nos résultats montrent que le comportement de binge saccharose n'altère pas le bien être général des animaux. Dans le groupe CA les femelles montrent des signes d'altération du bien-être dans le test du burrowing et des comportements de type dépressif lors du splash test. Ces données suggèrent que les femelles sont plus vulnérables au développement de troubles émotionnels induits par une consommation excessive de saccharose.

Concernant les seuils nociceptifs, nos résultats ne montrent pas d'impact de l'accès intermittent ou continu au saccharose sur la sensibilité mécanique ou thermique. Des résultats similaires dans les tests du filament de Von Frey et du plantar sont obtenus après 20 semaines d'accès *ad libitum* à un régime solide enrichi en saccharose ([Obrosov et al., 2022](#)). Les auteurs de cet article s'intéressent aux neuropathies périphériques induites par le diabète en comparaison avec un régime riche en sucre (HS). Ils montrent que contrairement au HS, un HFD, HFHS ou un régime « diabétique » (HFD avec injection de streptozotocine) diminuent les seuils de sensibilité mécanique et augmentent la latence de retrait de la pâte dans le test du plantar. Dans ces mêmes régimes la vitesse des fibres sensorielles et leur densité sont diminuées, ce qui est un signe du développement d'une neuropathie périphérique. Les souris soumises au HS ne présentent pas d'altérations sensorielles et métaboliques, par exemple leur poids à la fin de l'étude, la glycémie ou le taux de cholestérol dans le sang ne sont pas différents de ceux des souris contrôles nourries avec un régime standard. La littérature montre que les neuropathies périphériques induites par le diabète sont dues à un état prolongé d'hyperglycémie et de dyslipidémie induisant une accumulation de métabolites toxiques conduisant à un stress métabolique et oxydatif et une dégénération axonale. Ces altérations métaboliques engendrent des dommages au niveau des vaisseaux sanguins, notamment ceux irriguant les terminaisons nerveuses, entraînant une hypoxie et *in fine* une perte de la fonction nerveuse ([Sloan et al., 2021](#)). Dans notre paradigme, la glycémie mesurée chez les animaux non à jeun ne montre pas de différence entre nos groupes. Cela suggère que les animaux du groupe CA ne présentent pas d'hyperglycémie en comparaison du groupe contrôle, malgré une prise de poids importante après 8 semaines, associée à une accumulation de lipides hépatiques. Chez des rats l'accès à une solution de fructose (15%) durant 16 semaines induit une augmentation des taux de glucose, insuline et lipide sanguins ([García et al., 2019](#)). Dans ces conditions, les tests du filament de Von Frey et de la formaline montrent une allodynie et une hyperalgesie mécanique chez ces animaux. D'après ces données de la littérature il semble possible que nos conditions, 8 semaines d'accès à une solution de sucrose (17%), ne suffisent pas à induire les altérations métaboliques nécessaires à l'induction de lésions nerveuses.

Un régime de 12 semaines de WD chez des souris engendre un phénotype obésogène, une allodynies mécanique (Von Frey) et une hyperalgésie thermique (plantar) associée à une diminution de la densité des nerfs du derme (Bonomo et al., 2020). Dans cette étude, ils ont également analysé la composition du microbiote, faisant l'hypothèse qu'une dysbiose induite par un régime riche en gras et en sucre pourrait contribuer au développement de neuropathies périphériques. En effet, ces animaux présentent une altération de la diversité du microbiote. La restauration du microbiote par transplantation de matières fécales provenant d'animaux contrôles améliore le phénotype de neuropathie périphérique, en ramenant les seuils de sensibilité à des valeurs normales, et rétablit la densité des nerfs. Cette étude suggère que cette amélioration est due à un changement dans le phénotype inflammatoire, avec une augmentation du taux de macrophages M2 (anti-inflammatoires) dans les DRG après la transplantation fécale. Le butyrate, un composé produit physiologiquement par certaines bactéries (*Lactobacillus* and *Lachnospiraceae*) présentes dans le microbiote, contribuerait à ces mécanismes. En effet, une corrélation entre les taux de butyrate circulant et l'amélioration de la sensibilité mécanique a été montrée. Pour compléter ces résultats, une étude chez des patients obèses souffrant de neuropathie montre une corrélation négative entre l'intensité des douleurs ressenties et les taux de butyrates circulants (Bonomo et al., 2020). Il semble donc que le microbiote joue également un rôle dans le développement de douleurs chroniques induites par le régime alimentaire.

D'autres études ont manipulé le microbiote et exposé les animaux à différents régimes. De façon intéressante, une étude menée chez des souris dont le microbiote intestinal est appauvri par traitement antibiotique, montre une augmentation de la consommation de solution sucrée, ainsi que d'autres types de nourritures palatables (HF et Ensure considéré comme du HFHS), en comparaison de souris avec un microbiote intestinal intact (Ousey et al., 2023). Les auteurs montrent que la déplétion du microbiote augmente la motivation pour obtenir des pellets de saccharose lors d'un test de PR, ces animaux réalisant un nombre plus important de nose-pokes. Ces souris présentent une expression exacerbée de c-Fos dans le NAc et la VTA mais pas le LH, après une session d'accès libre d'1h à des pellets de saccharose, en comparaison au groupe contrôle, suggérant qu'en conditions physiologiques le microbiote intestinal limite la consommation de nourriture palatable en régulant l'activité neuronale au sein

du circuit de la récompense. Lors d'un test de binge mesurant la consommation de pellets de saccharose durant 1h d'accès libre, il est montré que la transplantation de bactéries de la famille S24-7 ainsi que *Lactobacillus johnsonii* est suffisante pour réduire le comportement de binge chez des souris avec un microbiote intestinal appauvri. Ces résultats suggèrent que le microbiote intestinal contribue à la prise de nourriture incontrôlée dans le BED par son action sur le système de la récompense.

Chez l'humain, seule une étude a analysé le microbiote de patients obèses atteints de BED montrant des changements significatifs dans l'expression de certaines bactéries (par exemple une diminution de *Akkermansia*) comparés à des patients atteints d'obésité sans diagnostic de BED ([Leyrolle et al., 2021](#)). Le profil métabolique (poids, glycémie, enzymes circulantes) est similaire entre les deux groupes, en revanche les patients atteints de BED ont plus d'émotions négatives, des performances d'inhibition moindre et une plus faible capacité d'auto-régulation, associés à une plus forte tendance à l'alimentation émotionnelle. Il paraît intéressant de mentionner ici qu'il existe une littérature importante défendant l'hypothèse qu'une dysbiose du microbiote intestinale contribue à la pathophysiologie des troubles émotionnels et anxieux ([Simpson et al., 2021](#)). Les altérations du microbiote observées chez les patients souffrant de binge pourraient donc également contribuer à l'altération de la santé mentale de ces patients. Enfin, un projet nommé BEGIN (pour binge eating genetic initiative), dont les résultats ne sont pas encore parus, a pour objectif d'analyser les interactions entre les facteurs génomiques, comportementaux et le microbiote intestinal chez des patients atteints de BED et de boulimie nerveuse, afin de mieux identifier les facteurs de risques de ces troubles, et caractériser leur développement ([Bulik et al., 2020](#)). Ainsi, le microbiote intestinal semble donc être une cible intéressante dans la recherche sur le BED, qui permettrait de mieux caractériser les mécanismes impliqués dans ce TCA, et éventuellement les comorbidités qui y sont associées.

3. Perspectives : identifier de nouvelles cibles moléculaires impliquées dans la consommation excessive de saccharose

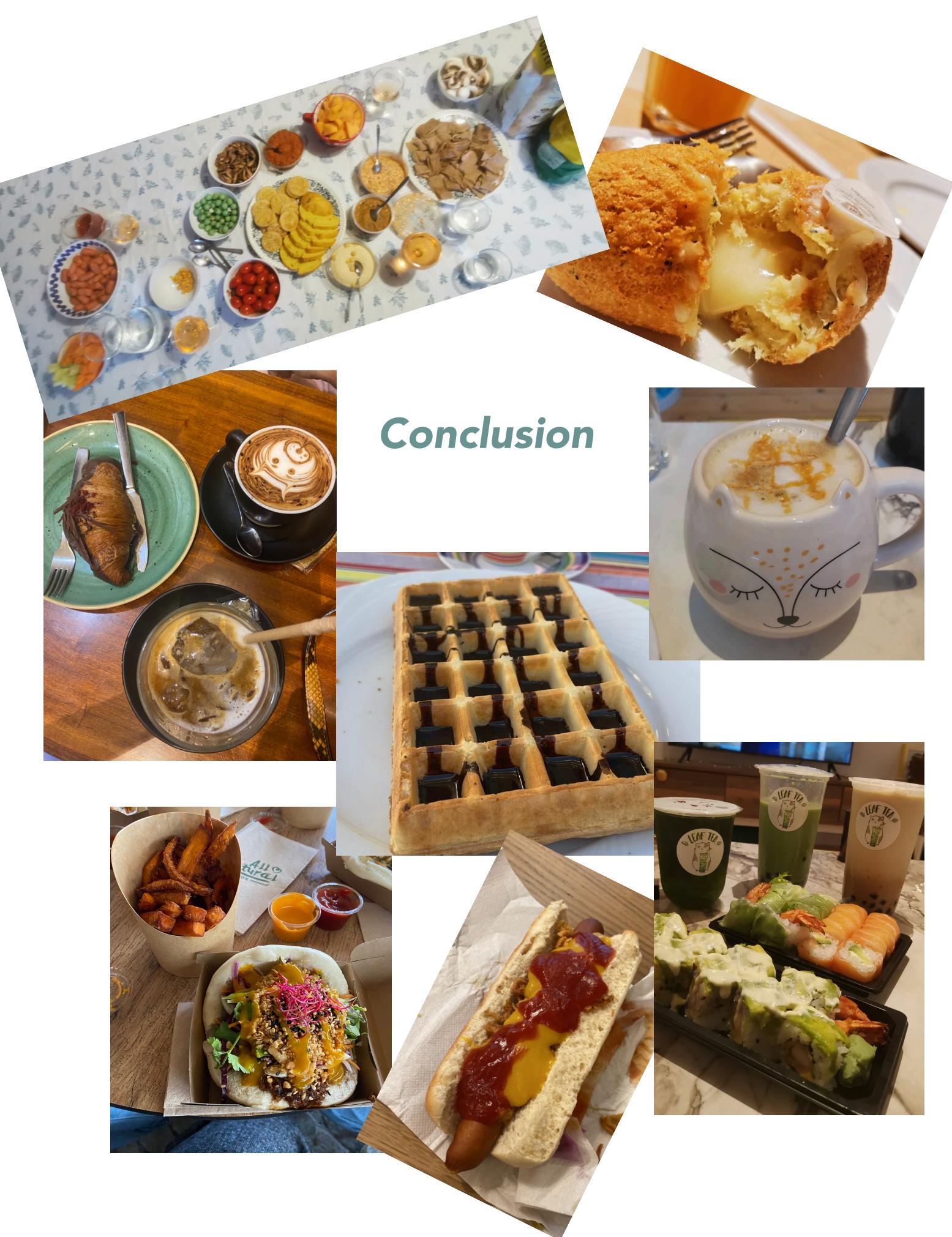
Certaines perspectives sont déjà explicitées dans la partie V.B (p. 170) de ce manuscrit, concernant notamment la poursuite de l'investigation de la réponse inflammatoire périphérique et centrale par des approches d'immunohistochimie.

Une analyse du microbiote intestinal des souris au cours du protocole de BS permettrait de voir l'évolution de la diversité et de la quantité des souches bactériennes dans nos conditions et éventuellement mettre à jour une dysbiose induite par la consommation excessive de saccharose ou le comportement de binge. L'identification de telles souches permettrait par la suite de réaliser des expériences de transplantations fécales ou bactériennes et d'en mesurer les bénéfices sur la prise alimentaire. En effet, les traitements par probiotiques ou transplantations fécales sont déjà recommandés dans le traitement de certaines pathologies telles que la dépression, où la maladie de Crohn (inflammation du colon), et pourraient être une piste d'étude intéressante dans le cadre du BED. Une autre expérience intéressante serait de faire une transplantation du microbiote intestinal des souris CA ou IA (8 semaines) chez des souris naïves. Nous pourrions ainsi voir si cette transplantation modifie le comportement de prise alimentaire et le profil métabolique chez ces animaux. Nous supposons par exemple que le microbiote des souris CA pourrait induire un profil hyperphagique caractérisé par une consommation exacerbée de nourriture standard, suggérant son implication dans le comportement de prise alimentaire. Une autre hypothèse est une prise de poids plus importante sans modification de la consommation alimentaire suggérant un rôle du microbiote dans les altérations métaboliques, comme cela a déjà été montré chez des souris obèses ([Turnbaugh et al., 2006](#)). L'utilisation de liquomètres permettant de quantifier le nombre de gorgées bues (lick) par les animaux, pourraient mettre en évidence un comportement de binge suite à la transplantation du microbiote des souris IA. En effet, le nombre de lick est augmenté chez les animaux bingeurs ([Berland et al., 2022](#)). Enfin, réaliser un protocole de conditionnement opérant après la transplantation fécale permettrait de déterminer l'impact du microbiote sur la motivation à obtenir une récompense. Dans ce cas il serait également pertinent de faire une transplantation du microbiote de souris naïves chez des souris des groupes CA ou IA afin de déterminer si une telle manipulation serait suffisante pour rétablir le nombre de nose-pokes réalisés par ces animaux au même niveau que celui des contrôles.

Par ailleurs, une analyse par séquençage à haut débit (RNAseq) permettrait d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans le comportement de binge. Il serait intéressant de réaliser cette approche sans à priori dans le LH et le NAc. En effet, ces deux structures contribuent respectivement à la régulation de la prise alimentaire

homéostatique et hédonique. Jusque-là aucune expérience de ce type n'a été conduite dans le cadre du BED. Cependant certaines recherches par séquençage se sont focalisées sur des modèles d'obésité ou de HFD. Par exemple une étude post-mortem chez des humains en situation d'obésité a spécifiquement ciblé l'hypothalamus et le NAc ([Wake et al., 2022](#)). L'analyse révèle une augmentation de l'expression d'ARN messagers codant des marqueurs inflammatoires (SLAMF8, C1QTNF4, MUC16, FCGBP, CXCL8, CXCL65) dans l'hypothalamus. Dans le NAc ce profil pro-inflammatoire est attesté par une augmentation des micro-ARN impliqués dans l'angiogenèse, signe d'une inflammation chronique. De plus, des régulations de marqueurs métaboliques en particulier lipidiques (CES1, APOB) sont également observés dans l'hypothalamus de patients obèses. L'analyse de l'enrichissement en groupe de gènes dans le NAc montre une forte régulation du système opioïde. Ce dernier est connu pour son rôle majeur dans les comportements de type addictif ([Contet et al., 2004; Charbogne et al., 2014](#)). Face à ces résultats suggérant des neuroadaptations de systèmes impliqués dans le métabolisme énergétique et les comportements addictifs en condition d'obésité, nous supposons que notre modèle de consommation excessive de saccharose pourrait révéler des adaptations spécifiquement liées au comportement de binge. En effet, nous supposons que le groupe IA présenterait majoritairement des régulations géniques dans le NAc, région fortement impliquée dans les comportements addictifs et pour laquelle un grand nombre d'études transcriptomiques (et épigénétiques) ont été décrites dans le cadre de la prise de drogues (pour revue voir [De Sa Nogueira et al., 2019](#)). Le groupe CA par son profil de type obésogène pourrait présenter des adaptations de marqueurs métaboliques impliqués dans la régulation de la prise alimentaire et le métabolisme glucidique. Par la suite les régulations de ces marqueurs pourraient être confirmées par analyse qPCR, et pourraient à plus long-terme mener à des nouvelles pistes pharmacologiques pour le traitement du BED.

Conclusion



Exemples de nourritures palatables issus d'archives personnelles

VIII. Conclusion

Ce projet de thèse éclectique a permis d'étudier les conséquences d'une consommation excessive de sucre chez la souris à la fois du point de vue comportemental et moléculaire.

D'après nos résultats le comportement de binge saccharose a peu d'impact au niveau comportemental sur l'état émotionnel et la nociception chez la souris. Il semble cependant que les femelles présentent une vulnérabilité à la fragilisation de la santé mentale suite à une consommation excessive de saccharose.

Les analyses moléculaires n'ont pas montré d'implication directe de l'ECS dans nos conditions expérimentales contrairement à nos suppositions initiales. Nous avons néanmoins montré que le sucre est suffisant pour induire un phénotype pro-inflammatoire, les études précédentes sur la prise alimentaire s'étant principalement focalisées sur le rôle du gras dans ces processus.

Alors que notre projet était initialement tourné vers l'étude du BED, nous avons réalisé que le groupe CA, initialement pensé comme un groupe contrôle permettant de distinguer les effets du comportement de binge et ceux de la consommation de saccharose, ouvre lui aussi des perspectives intéressantes dans l'investigation d'une consommation excessive de sucre. En effet, ce groupe présente des perturbations métaboliques assimilables à un modèle obésogène. Ces derniers étant conventionnellement induit par des modèles de HFD. Ces résultats montrent le rôle indéniable des sucres ajoutés dans les problématiques de santé publique actuelle.

Notre travail s'intègre dans les connaissances actuelles sur le comportement de prise alimentaire. En effet, ce dernier est régulé par de nombreux facteurs endogènes et exogènes pouvant mener à des comportements pathologiques. Les sucres ajoutés omniprésents dans notre environnement contribuent à la consommation alimentaire incontrôlée impliquée dans le BED ainsi que l'épidémie d'obésité actuelle.

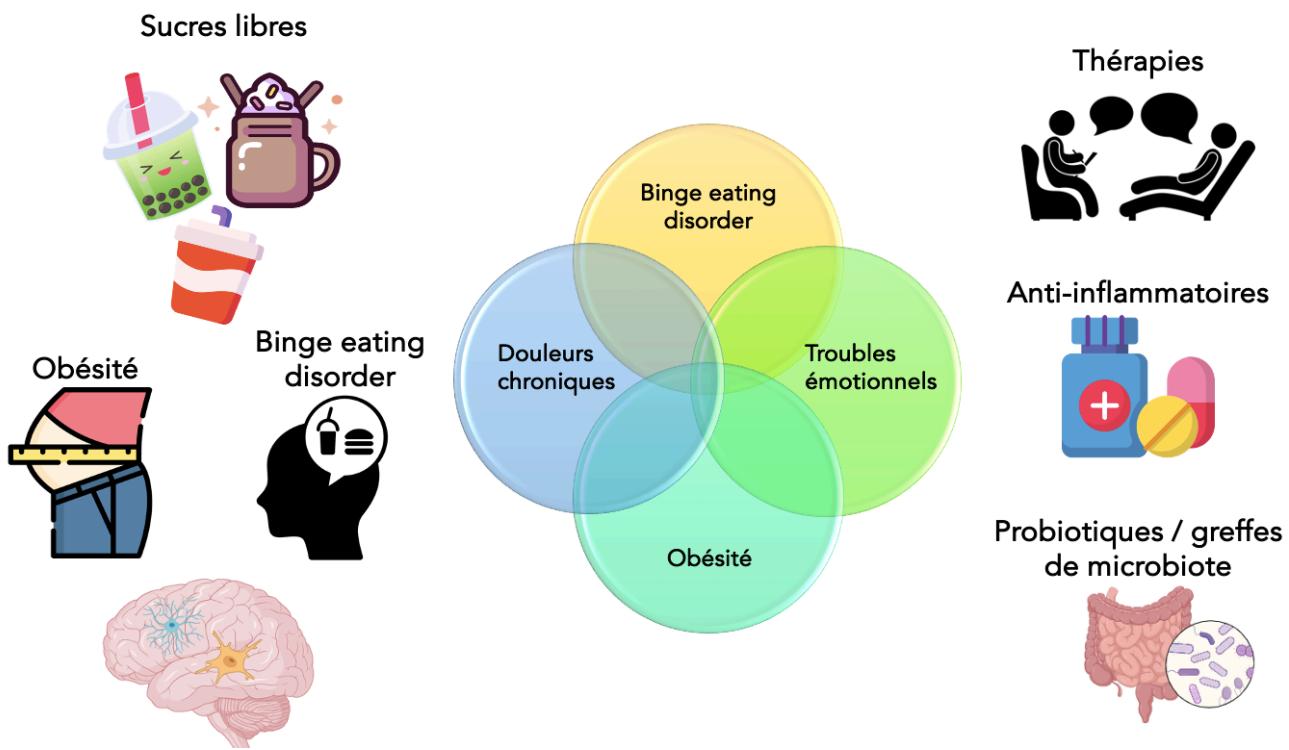


Figure 65. Contribution des sucres libres dans les problématiques de santé publique actuelles et pistes thérapeutiques

La consommation excessive de sucre induit une réponse neuroinflammatoire qui semble contribuer à l'altération de la prise alimentaire pouvant mener au développement d'un phénotype obésogène ou de binge eating disorder. Chez l'humain ces troubles de la consommation alimentaire sont associés à des comorbidités telles que des maladies douloureuses chroniques et des troubles émotionnels. Les thérapies comportementales contribuent à diminuer la prise compulsive de nourriture chez les patients souffrant de BED, sans être suffisante pour les mener à la guérison. D'après les résultats de nos travaux nous proposons de nouvelles pistes de traitements médicamenteux, par l'utilisation de molécules anti-inflammatoires, ou l'utilisation de probiotiques ou des transplantations de microbiotes.

IX. Annexe

French version of the Yale Food Addiction Scale 2.0 (Brunault et al., 2017)

Consignes pour remplir le questionnaire:

Ce questionnaire porte sur vos habitudes alimentaires de l'année passée. Pour chaque question, merci d'entourer le chiffre (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 7) qui correspond le mieux à vos habitudes alimentaires des 12 derniers mois. Les gens ont parfois du mal à contrôler la quantité de nourriture qu'ils peuvent manger, comme par exemple:

- Les aliments sucrés comme les glaces ou les crèmes glacées, le chocolat, les beignets, les biscuits, les gâteaux et les bonbons.
- Les féculents comme le pain, le pain de mie, les sandwichs, les pâtes et le riz.
- Les aliments salés comme les chips, les bretzels et les biscuits apéritifs.
- Les aliments gras comme le steak, les charcuteries, le bacon, les hamburgers, les cheeseburgers, les fromages, les pizzas et les frites.
- Les boissons sucrées comme le soda, la limonade et les boissons énergétiques.

Pour les questions suivantes, l'expression « CERTAINS ALIMENTS » sera utilisée. Dans ce cas, merci de penser à TOUT aliment ou boisson indiqué(e) dans la liste ci-dessus ou à TOUT AUTRE(S) aliment(s) qui vous a (ont) posé un problème au cours de l'année passée.

AU COURS DES 12 DERNIERS MOIS:	Moins		Une fois par mois	2 à 3	Une fois	2 à 3	4 à 6	Tous
	Jamais	d'une fois par mois		fois par mois	par semaine	fois par semaine	fois par semaine	les jours
1. Lorsque j'ai commencé à manger certains aliments, j'en ai mangé beaucoup plus que prévu.	0	1	2	3	4	5	6	7
2. Il m'est arrivé(e) de continuer à manger certains aliments même lorsque je n'avais plus faim.	0	1	2	3	4	5	6	7
3. J'ai mangé jusqu'à me sentir « mal » physiquement.	0	1	2	3	4	5	6	7
4. J'ai été très inquiet(e) à l'idée de diminuer ma consommation de certains types d'aliments, mais j'en continué à en manger.	0	1	2	3	4	5	6	7
5. J'ai passé beaucoup de temps à me sentir endormi(e) ou fatigué(e) après avoir trop mangé.	0	1	2	3	4	5	6	7

6. J'ai passé beaucoup de temps à manger certains aliments au cours de la journée.	0	1	2	3	4	5	6	7
7. Lorsque je n'avais pas certains aliments à ma disposition, j'ai fait des efforts pour en acheter. Par exemple, je suis allé(e) dans un magasin pour acheter ces aliments alors que j'avais d'autres aliments à la maison.	0	1	2	3	4	5	6	7
8. J'ai mangé certains aliments si souvent ou en si grande quantité que j'ai arrêté de faire d'autres choses importantes, comme par exemple travailler ou passer du temps avec ma famille ou mes amis.	0	1	2	3	4	5	6	7
9. J'ai eu des problèmes avec ma famille ou mes amis à cause de la quantité de nourriture que je mange.	0	1	2	3	4	5	6	7
10. J'ai évité certaines activités au travail, à l'école ou certaines activités sociales par peur de manger trop dans ces situations.	0	1	2	3	4	5	6	7
11. Lorsque j'ai diminué ou arrêté ma consommation de certains aliments, je me suis senti(e) irritable, stressé(e) ou triste.	0	1	2	3	4	5	6	7
12. Lorsque j'ai diminué ou arrêté ma consommation de certains aliments et que j'ai eu des symptômes physiques, j'ai mangé ces aliments pour me sentir mieux.	0	1	2	3	4	5	6	7
13. Lorsque j'ai diminué ou arrêté ma consommation de certains aliments et que je me suis senti(e) irritable, stressé(e)	0	1	2	3	4	5	6	7

ou triste, j'ai mangé ces aliments pour me sentir mieux.

14. Lorsque j'ai diminué ou arrêté ma consommation de certains aliments, j'ai eu des symptômes physiques comme par exemple des maux de tête ou de la fatigue.

0 1 2 3 4 5 6 7

15. Lorsque j'ai diminué ou arrêté ma consommation de certains aliments, j'ai constaté que j'avais un besoin plus important ou une envie irrésistible de manger ces aliments.

0 1 2 3 4 5 6 7

16. Mon comportement vis-à-vis de la nourriture et de l'alimentation a été source de souffrance.

0 1 2 3 4 5 6 7

17. J'ai eu beaucoup de problèmes dans ma vie à cause de la nourriture et de l'alimentation, comme par exemple des problèmes pour gérer le quotidien, des problèmes au travail, à l'école, avec la famille ou encore des problèmes de santé.

0 1 2 3 4 5 6 7

18. Des fois, je me suis senti(e) si mal à cause de mon alimentation excessive que cela m'a empêché de faire des choses importantes, comme travailler ou passer du temps avec mes amis ou ma famille.

0 1 2 3 4 5 6 7

19. Mon alimentation excessive m'a empêché(e) de m'occuper correctement de ma famille ou de faire des tâches ménagères.

0 1 2 3 4 5 6 7

20. J'ai évité des opportunités professionnelles ou relationnelles parce que je ne

0 1 2 3 4 5 6 7

pouvais pas manger certains aliments dans ces situations.

21. J'ai évité certaines activités sociales car dans ces situations, certaines personnes n'étaient pas d'accord avec la quantité de nourriture que je pouvais manger.

0 1 2 3 4 5 6 7

22. J'ai continué à manger le(s) même(s) type(s) d'aliment(s) ou la même quantité de nourriture bien que cela ait été responsable de problèmes psychologiques.

0 1 2 3 4 5 6 7

23. J'ai continué à manger le(s) même(s) type(s) d'aliment(s) ou la même quantité de nourriture bien que cela ait été responsable de problèmes physiques.

0 1 2 3 4 5 6 7

24. Le fait de manger la même quantité de nourriture qu'avant ne me donne plus le même plaisir qu'avant.

0 1 2 3 4 5 6 7

25. J'ai vraiment voulu diminuer ou arrêter ma consommation de certains aliments, mais je n'y suis pas arrivé.

0 1 2 3 4 5 6 7

26. J'ai eu besoin de manger de plus en plus pour avoir le même effet qu'avant, comme par exemple avoir moins de stress, avoir moins de tristesse ou avoir plus de plaisir.

0 1 2 3 4 5 6 7

27. Je n'ai pas réussi correctement au travail ou à l'école car je mangeais trop.

0 1 2 3 4 5 6 7

28. J'ai continué à manger certains aliments même si je savais que c'était dangereux pour ma santé physique. Par exemple, j'ai continué à manger des bonbons alors que je savais

0 1 2 3 4 5 6 7

que j'avais du diabète, ou j'ai continué à manger des aliments gras alors que je savais que j'avais des problèmes cardiaques.

29. J'ai eu des envies si fortes pour certains aliments que je ne pouvais plus penser à autre chose.

0 1 2 3 4 5 6 7

30. J'ai eu des envies si fortes pour certains aliments que c'était comme si je devais absolument les manger tout de suite.

0 1 2 3 4 5 6 7

31. J'ai essayé de diminuer ou d'arrêter ma consommation de certains aliments, mais je n'ai pas réussi.

0 1 2 3 4 5 6 7

32. J'ai essayé mais n'ai pas réussi à diminuer ou à arrêter de manger certains aliments.

0 1 2 3 4 5 6 7

33. En mangeant, il m'est arrivé(e) d'être tellement inattentif (inattentive) que j'aurai pu être blessé(e) (par exemple en conduisant une voiture, en traversant la rue ou en utilisant une machine ou un instrument dangereux).

0 1 2 3 4 5 6 7

34. En pensant à la nourriture et à l'alimentation, il m'est arrivé(e) d'être tellement inattentif (inattentive) que j'aurai pu être blessé(e) (par exemple en conduisant une voiture, en traversant la rue ou en utilisant une machine ou un instrument dangereux).

0 1 2 3 4 5 6 7

35. Mes amis et ma famille ont été inquiets de la quantité de nourriture que je pouvais manger.

0 1 2 3 4 5 6 7

Item optionnel n°1. Merci d'entourer TOUS les aliments pour lesquels vous avez eu des problèmes (c'est-à-dire des difficultés à en contrôler la consommation).

Glaces/Crèmes glacées	Chocolat	Pommes	Beignets	Brocolis	Biscuits
Gâteaux	Bonbons	Pain	Pain de mie	Sandwichs	Laitues
Pâtes	Fraises	Riz	Chips	Bretzels	Biscuits apéritifs
Carottes	Steak	Charcuteries	Bananes	Bacon	Hamburgers
Cheeseburgers	Fromages	Pizzas	Frites	Sodas	Aucun de ces aliments

Item optionnel n°2. Merci d'indiquer ici s'il y a d'autre(s) aliment(s) pour lesquels vous avez eu des problèmes (c'est-à-dire des difficultés à en contrôler la consommation). Merci d'indiquer uniquement les aliments qui ne sont pas dans la liste ci-dessus.

Items 1 and 2 are optional and are not present in the US version of the YFAS 2.0. These 2 items are not used in the determination of the food addiction diagnosis nor in the calculation of the number of food addiction symptoms endorsed, but we included them here because they were included in the original YFAS and they help to determine which types of foods are problematic.

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier les membres de ce comité de thèse : Dr Virginie Mansuy-Aubert, Dr Xavier Fioramonti et Dr Etienne Challet. Je vous remercie d'avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse, et pour le temps investi dans cet exercice, car je sais combien le temps est précieux pour chaque chercheur.

Merci à Euridol d'avoir financé ce projet de thèse. Merci à Karine Merienne et Mélanie Kremer de m'avoir aidé à optimiser ce projet à travers les CST.

Je remercie tout particulièrement Jean-Christophe Cassel, en sa qualité de directeur du LNCA, pour m'avoir accueilli dans ce laboratoire. En dépit du fait que durant mon examen de Master j'ai écrit « hypothalamus » à la place de « hippocampe » dans une rédaction sur les processus mnésiques, peut être un signe du destin sur mon futur projet de thèse. En plus, de l'art de poser des questions pertinentes, vous avez également ajouté quelques mots à mon champ lexical (tel que « gougnafiers ») à travers vos mails.

Le plus grand des mercis à Katia Befort sans qui ce projet n'aurait pas pu voir le jour. Merci de m'avoir fait confiance dès le début, malgré quelques boulettes de ma part, mais aussi de m'avoir toujours guidée et aidée à progresser dans la bienveillance. Grâce à toi, à ton écoute et tes conseils j'ai pu m'épanouir dans ce projet, gagner en compétences et également murir sur le plan personnel. Merci pour ton aide sur les manips, grâce à nos discussions les souvenirs du splash test dans la petite S26 sont plus joyeux. Je te remercie aussi de m'avoir embarquée dans la médiation scientifique, puis de m'avoir suivie lors de différents projets proposés par le jardin des sciences c'était toujours un plaisir de partager ces moments avec toi.

Merci également à celle qui m'a précédée sur ce projet : Gaëlle Awad. Je n'aurai pas pu souhaiter une meilleure formatrice à mon arrivée au laboratoire. J'espère avoir été à la hauteur pour poursuivre ce projet, mais également dans les échanges que nous avons eu à ce sujet. J'ai toujours pu compter sur toi du début jusqu'à la fin de cette thèse. Mais bien sûre il n'y a pas que le travail et c'est toujours un grand plaisir d'aller boire une bière avec toi pour rigoler un bon coup !

Merci à l'équipe 3 « ADN », pas la plus grande mais pour sûre la meilleure équipe du LNCA. Merci à chacun d'entre vous pour votre bonne humeur et les

échanges enrichissants durant nos réunions d'équipe. Merci à Romain de m'avoir aidée plus d'une fois pour les analyses, tu m'as fait gagner un temps précieux ! Merci à Pascal pour ta jovialité, et de nous avoir plus d'une fois rappelé que le sens des mots compte.

Merci également aux différents stagiaires que j'ai pu encadrer : Lise, Henry, Cody et Audrey. Grâce à vous j'ai pu obtenir plus de données, et avancer plus vite sur mon projet.

Merci au Totally Spies du labo Karin, Brigitte et Aminé d'avoir toujours répondu présentes lorsque j'ai eu besoin d'aide mais aussi pour tous vos conseils et petites astuces qui peuvent grandement faciliter une manip. Karin tu es un vrai rayon de soleil pour le labo, toujours souriante et là pour nous encourager. Bibi tu es d'une bienveillance sans limite. Aminé merci pour ta gentillesse et ton aide dans toutes sortes de tâches, et pour les beaux et bons gâteaux que tu nous as préparé.

Merci Catherine de toujours nous accueillir au labo avec un sourire, et pour nous aider à résoudre les problèmes les plus complexes : l'administration.

Merci à nos collaborateurs qui chacun selon leur spécialité nous ont aidé à faire avancer et évoluer ce projet. Merci à l'équipe de Lausanne : Isabelle, Paul et Guylène pour le projet « binge drinking ». C'était un plaisir de vous voir à Strasbourg, et de faire ces quelques manips avec vous.

Thank you Cella it was always a pleasure to see you and to exchange with you. Thank you for all your advice and your help for articles and posters.

Merci à Joffrey et Anouk du CRBS, de nous avoir poussé à regarder plus loin que le cerveau. Merci Anouk d'être venue nous aider au LNCA et de nous avoir accueilli au CRBS pour les expériences, j'en garde de très bons souvenirs de rigolade.

Merci à l'équipe du Jardin des Sciences et tout particulièrement à Émeline avec qui c'était toujours un plaisir de partir à la découverte de l'Alsace.

Merci à celles avec qui j'ai partagé ce bureau, que dis-je ? Cette tour, ce nid douillet : Lolo et Elolo, ou le trio infernal comme certains ont pu nous surnommer. Merci pour toutes ces discussions et ces fous rires, je souhaite aux prochains qui investiront ce bureau d'y passer des aussi bons moments (et continuez à compléter le mur des souvenirs). Merci pour vos encouragements et votre soutien indéfectible. On s'est bien

serré les coudes et les mauvais moments étaient beaucoup plus faciles à aborder après avoir vidé mon sac et discuté avec vous. Je n'oublierai pas non plus les cours chez evae qui nous ont permis de bien nous défouler entre l'aquacombat et le bodycombat. Laurine on a vraiment abordé chaque étape de cette thèse ensembles depuis le M2, où on était reclue dans un coin de la mezzanine jusqu'à la soutenance faite à 1 semaine d'intervalle. Je pense que ça nous a permis de développer une amitié d'autant plus forte, même si on a déjà pas mal d'autres points communs. Tu as été un réel pilier, et je sais qu'on continuera à aller tester de nouveaux restaus ensembles. Elodie merci pour toutes tes petites attentions qui m'ont réchauffé le cœur, tu es la personne la plus généreuse que je connaisse. Et merci de nous avoir supporté même pendant les crises de folies de l'écriture.

Iris thank you to like us even when we didn't make the effort to speak English. More seriously it was always a pleasure to spend time with you, and just talk about everything and nothing. I will for sure not forget our adventures when we rented cars. I really enjoyed the Ultimatum/Love is blind nights with you and Lolo, our kind of girls pyjama party.

Florian j'espère voir encore nombre de tes mêmes et de tes blagues sur la conversation messenger, parce que malgré ton humour noir tu nous as quand même bien fait rire. Cécile peut être que notre nostalgie pour la musique des années 2000/2010 a contribué à ce qu'on soit dans la même équipe, en tous cas je repartagerai avec plaisir un duo Diam's ft Vitaa avec toi. Merci à tous les deux pour votre soutien et vos encouragements lors des présentations et pour les échanges sur le binge qui ont fait avancer les projets.

Matthieu merci pour tes conseils cuisines et tes recettes, et d'avoir contribué aux blagues non-éthiques (mais drôles) de Florian.

Coline merci pour ta bienveillance, j'ai adoré discuter de pleins de sujets différents avec toi. Je continuerai à suivre ta carrière de dessinatrice. Et j'espère encore entendre des histoires rigolotes et improbables sur Baptiste (comme celle du camping). Baptiste je sais maintenant que c'est normal si tu me calcules pas si on se croise dans la rue après la thèse, même si en vrai je sais pas lequel de nous deux y voit le moins.

Marido, j'espère que tu ne m'en voudras pas si je te mets parmi les doctorants, c'était tout comme si tu en étais une. Merci pour les récits de tes péripéties qui ont animé la cafet.

Merci à Noémie d'avoir lancé les tests de nourriture au labo, ça nous a bien occupé. Et aussi de nous avoir ramené des trucs à déguster du Japon.

Merci à tous les autres doctorants, post-Doc et tous les autres d'avoir contribué à me donner envie de venir au labo pour ricaner tous ensembles à la cafet.

Sur le plan personnel, ceux qui me connaissent savent que je ne suis pas très douée pour exprimer mes sentiments, mais là je crois que c'est une bonne occasion de le faire. Je remercie du fond du cœur ma famille pour m'avoir toujours soutenue et encouragée dans mes projets depuis mon rêve de devenir « chanteuse aux cheveux longs à la télé » jusqu'à mon doctorat. Merci Papa et Maman car sans vous c'est sûre que je n'en serai pas là aujourd'hui. Vous avez tout fait pour que je m'épanouisse, et que j'ai confiance en moi, et vous l'avez fait avec brio. Merci à ma sœur Marie-Charlotte de toujours être là pour me faire rire, me changer les idées et me rappeler que la vie n'a pas à être toujours aussi sérieuse. Merci aussi à Eléonore pour « les photos avec les dents pour tata » qui m'ont pour sûre remonté le moral pendant le processus d'écriture.

Merci à mes amies même si je ne suis pas la plus douée en communication, en particulier quand je m'investis dans un projet comme la thèse et malgré la distance les retrouvailles sont toujours chargées de rires. Lorine, Chloé et Alexandra mes copines depuis le lycée et jusqu'à aujourd'hui encore sur qui je peux toujours compter pour passer de bons moments. Laura merci pour ta bonne humeur contagieuse, et tes histoires à mourir de rire, je ne m'en lasse pas. Caca et Poopoo mes copines de Master, merci de m'avoir changé les idées lors de nos petits week-ends avec nos différentes activités manuelles, et promis on continuera à se faire des week-ends à Strasbourg (aka la plus belle ville du monde) même si plus aucune ne nous n'y habite. Un merci tout particulier à Caro pour tes nombreuses visites et tes petites attentions mignonnes qui réchauffent le cœur.

Merci Yannick c'est sans doute toi qui as le plus fait face à mes états d'âme mais ton soutien est resté indéfectible. Tu as été à mes côtés pour m'encourager et me motiver durant ces 3 années de thèse (et même avant). J'ai hâte de vivre la suite de nos aventures en espérant qu'elles soient au moins aussi drôles que celles passées.

Merci à Nikki (Minaj) d'être le chat le plus mimii du monde, de m'avoir accueillie chaque soir à la maison avec tes « Miaou ! », et pour tous tes câlins.

Merci aussi à toutes les petites souris sans qui cette thèse n'aurait pas eu lieu.

RÉFÉRENCES

- Ackerman Z, Oron-Herman M, Grozovski M, Rosenthal T, Pappo O, Link G, Sela B-A (2005) Fructose-Induced Fatty Liver Disease: Hepatic Effects of Blood Pressure and Plasma Triglyceride Reduction. *Hypertension* 45:1012–1018 Available at: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.HYP.0000164570.20420.67>
- Agrawal R, Reno CM, Sharma S, Christensen C, Huang Y, Fisher SJ (2021) Insulin action in the brain regulates both central and peripheral functions. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 321:E156–E163 Available at: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/ajpendo.00642.2020>
- Agudo J, Martin M, Roca C, Molas M, Bura AS, Zimmer A, Bosch F, Maldonado R (2010) Deficiency of CB2 cannabinoid receptor in mice improves insulin sensitivity but increases food intake and obesity with age. *Diabetologia* 53:2629–2640 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-010-1894-6>
- Agüera Z, Lozano-Madrid M, Mallorquí-Bagué N, Jiménez-Murcia S, Menchón JM, Fernández-Aranda F (2021) A review of binge eating disorder and obesity. *Neuropsychiatr* 35:57–67 Available at: <https://link.springer.com/10.1007/s40211-020-00346-w>
- Agustín-Pavón C, Martínez-García F, Lanuza E (2014) Focal lesions within the ventral striato-pallidum abolish attraction for male chemosignals in female mice. *Behavioural Brain Research* 259:292–296 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432813006979>
- Alboni S, Micioni Di Bonaventura MV, Benatti C, Giusepponi ME, Brunello N, Cifani C (2017) Hypothalamic expression of inflammatory mediators in an animal model of binge eating. *Behavioural Brain Research* 320:420–430 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2016.10.044>.
- American Psychiatric Association (2013a) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition. American Psychiatric Association. Available at: <https://psychiatryonline.org/doi/book/10.1176/appi.books.9780890425596>
- American Psychiatric Association (2013b) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. American Psychiatric Association. Available at: <https://psychiatryonline.org/doi/book/10.1176/appi.books.9780890425596>.
- Amy EA, Kozak AT (2012) “The More Pain I Have, the More I Want to Eat”: Obesity in the Context of Chronic Pain. *Obesity* 20:2027–2034 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1038/oby.2012.39>
- Anand BK, Brobeck JR (1951) Localization of a “Feeding Center” in the Hypothalamus of the Rat. *Experimental Biology and Medicine* 77:323–325 Available at: <http://ebm.sagepub.com/lookup/doi/10.3181/00379727-77-18766>
- Anastasio NC, Stutz SJ, Price AE, Davis-Reyes BD, Sholler DJ, Ferguson SM, Neumaier JF, Moeller FG, Hommel JD, Cunningham KA (2019) Convergent neural connectivity in motor impulsivity and high-fat food binge-like eating in male Sprague-Dawley rats. *Neuropsychopharmacol* 44:1752–1761 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41386-019-0394-8>
- Anderson RA, Qin B, Canini F, Poulet L, Roussel AM (2013) Cinnamon Counteracts the Negative Effects of a High Fat/High Fructose Diet on Behavior, Brain Insulin Signaling and Alzheimer-Associated Changes Bassaganya-Riera J, ed. *PLoS ONE* 8:e83243 Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0083243>
- André C, Dinel A-L, Ferreira G, Layé S, Castanon N (2014) Diet-induced obesity progressively alters cognition, anxiety-like behavior and lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior: Focus on brain indoleamine 2,3-dioxygenase activation. *Brain, Behavior, and Immunity* 41:10–21 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159114000786>
- Asgari-Taee F, Zerafati-Shoae N, Dehghani M, Sadeghi M, Baradaran HR, Jazayeri S (2019) Association of sugar sweetened beverages consumption with non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Nutr* 58:1759–1769 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00394-018-1711-4>

- Aucoin M, LaChance L, Naidoo U, Remy D, Shekdar T, Sayar N, Cardozo V, Rawana T, Chan I, Cooley K (2021) Diet and Anxiety: A Scoping Review. *Nutrients* 13:4418 Available at: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/12/4418>
- Avegno EM, Lobell TD, Itoga CA, Baynes BB, Whitaker AM, Weera MM, Edwards S, Middleton JW, Gilpin NW (2018) Central Amygdala Circuits Mediate Hyperalgesia in Alcohol-Dependent Rats. *J Neurosci* 38:7761–7773 Available at: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.0483-18.2018>
- Avena NM (2007) Examining the addictive-like properties of binge eating using an animal model of sugar dependence. *Experimental and Clinical Psychopharmacology* 15:481–491 Available at: <http://doi.apa.org/getdoi.cfm?doi=10.1037/1064-1297.15.5.481>
- Avena NM, Bocarsly ME, Rada P, Kim A, Hoebel BG (2008a) After daily bingeing on a sucrose solution, food deprivation induces anxiety and accumbens dopamine/acetylcholine imbalance. *Physiology & Behavior* 94:309–315 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938408000103>
- Avena NM, Carrillo CA, Needham L, Leibowitz SF, Hoebel BG (2004) Sugar-dependent rats show enhanced intake of unsweetened ethanol. *Alcohol* 34:203–209 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S074183290500025X>
- Avena NM, Rada P, Hoebel BG (2008b) Evidence for sugar addiction: behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neurosci Biobehav Rev* 32:20–39.
- Awad G, Roeckel L-A, Massotte D, Olmstead MC, Befort K (2020) Deletion of mu opioid receptors reduces palatable solution intake in a mouse model of binge eating. *Behavioural pharmacology* 31:249–255 Available at: <http://journals.lww.com/10.1097/FBP.0000000000000496>.
- Azaïs-Braesco V, Sluik D, Maillot M, Kok F, Moreno LA (2017) A review of total & added sugar intakes and dietary sources in Europe. *Nutr J* 16:6 Available at: <http://nutritionj.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12937-016-0225-2>
- Azevedo LDS, De Souza APL, Ferreira IMS, Lima DWDC, Pessa RP (2021) Binge eating and alcohol consumption: an integrative review. *Eat Weight Disord* 26:759–769 Available at: <https://link.springer.com/10.1007/s40519-020-00923-6>
- Babbs RK, Kelliher JC, Scotellaro JL, Luttik KP, Mulligan MK, Bryant CD (2018) Genetic differences in the behavioral organization of binge eating, conditioned food reward, and compulsive-like eating in C57BL/6J and DBA/2J strains. *Physiology & Behavior* 197:51–66 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938418304050>
- Babbs RK, Wojnicki FHE, Corwin RLW (2011) Effect of 2-hydroxyestradiol on binge intake in rats. *Physiology & Behavior* 103:508–512 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003193841100148X>
- Baldo BA, Kelley AE (2007) Discrete neurochemical coding of distinguishable motivational processes: insights from nucleus accumbens control of feeding. *Psychopharmacology* 191:439–459 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00213-007-0741-z>
- Balodis IM, Molina ND, Kober H, Worhunsky PD, White MA, Rajita Sinha, Grilo CM, Potenza MN (2013) Divergent neural substrates of inhibitory control in binge eating disorder relative to other manifestations of obesity. *Obesity* 21:367–377 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/oby.20068>
- Barrot M (2012) Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience* 211:39–50 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.12.041>.
- Bartholome LT, Raymond NC, Lee SS, Peterson CB, Warren CS (2006) Detailed analysis of binges in obese women with binge eating disorder: Comparisons using multiple methods of data collection. *Int J Eat Disord* 39:685–693 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eat.20289>
- Bassareo V, Di Chiara G (1997) Differential Influence of Associative and Nonassociative Learning Mechanisms on the Responsiveness of Prefrontal and Accumbal Dopamine Transmission to Food Stimuli in Rats Fed *Ad Libitum*. *J Neurosci* 17:851–861 Available at: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.17-02-00851.1997>

- Bastías-Pérez M, Serra D, Herrero L (2020) Dietary Options for Rodents in the Study of Obesity. *Nutrients* 12:3234 Available at: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/11/3234>
- Becker JB, Koob GF (2016) Sex Differences in Animal Models: Focus on Addiction Gottesman MM, ed. *Pharmacol Rev* 68:242–263 Available at: <http://pharmrev.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/pr.115.011163>
- Becker JB, McClellan ML, Reed BG (2017) Sex differences, gender and addiction. *J of Neuroscience Research* 95:136–147 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jnr.23963>
- Becker JB, Prendergast BJ, Liang JW (2016) Female rats are not more variable than male rats: a meta-analysis of neuroscience studies. *Biol Sex Differ* 7:34 Available at: <https://bsd.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13293-016-0087-5>
- Becker M, Pinhasov A, Ornoy A (2021) Animal Models of Depression: What Can They Teach Us about the Human Disease? *Diagnostics* 11:123 Available at: <https://www.mdpi.com/2075-4418/11/1/123>
- Beecher K, Alvarez Cooper I, Wang J, Walters SB, Chehrehsa F, Bartlett SE, Belmer A (2021) Long-Term Overconsumption of Sugar Starting at Adolescence Produces Persistent Hyperactivity and Neurocognitive Deficits in Adulthood. *Front Neurosci* 15:670430 Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2021.670430/full>
- Befort K (2015) Interactions of the opioid and cannabinoid systems in reward: Insights from knockout studies. *Front Pharmacol* 6 Available at: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fphar.2015.00006/abstract>
- Beilharz JE, Kaakoush NO, Maniam J, Morris MJ (2018) Cafeteria diet and probiotic therapy: cross talk among memory, neuroplasticity, serotonin receptors and gut microbiota in the rat. *Mol Psychiatry* 23:351–361 Available at: <https://www.nature.com/articles/mp201738>
- Beilharz JE, Maniam J, Morris MJ (2016) Short-term exposure to a diet high in fat and sugar, or liquid sugar, selectively impairs hippocampal-dependent memory, with differential impacts on inflammation. *Behavioural Brain Research* 306:1–7 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432816301437>
- Bekker L, Barnea R, Brauner A, Weller A (2014) Adolescent rats are more prone to binge eating behavior: A study of age and obesity as risk factors. *Behavioural Brain Research* 270:108–111 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432814002794>
- Bello NT, Lucas LR, Hajnal A (2002) Repeated sucrose access influences dopamine D2 receptor density in the striatum. *Neuroreport* 13:1575–1578.
- Belovicova K, Bogi E, Csatlosova K, Dubovicky M (2017) Animal tests for anxiety-like and depression-like behavior in rats. *Interdisciplinary Toxicology* 10:40–43 Available at: <https://www.sciendo.com/article/10.1515/intox-2017-0006>
- Beltt B, Keesey R (1975) Hypothalamic map of stimulation current thresholds for inhibition of feeding in rats. *American Journal of Physiology-Legacy Content* 229:1124–1133 Available at: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajplegacy.1975.229.4.1124>
- Belzung C, Griebel G (2001) Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behavioural Brain Research* 125:141–149 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432801002911>
- Ben Hamida S, Laguesse S, Morisot N, Park J, Phuamluong K, Berger AL, Park KD, Ron D (2019) Mammalian target of rapamycin complex 1 and its downstream effector collapsin response mediator protein-2 drive reinstatement of alcohol reward seeking. *Addiction Biology* 24:908–920 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/adb.12653>
- Benito C, Tolón RM, Pazos MR, Núñez E, Castillo AI, Romero J (2008) Cannabinoid CB₂ receptors in human brain inflammation. *British J Pharmacology* 153:277–285 Available at: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1038/sj.bjp.0707505>
- Bergeson SE, Blanton H, Martinez JM, Curtis DC, Sherfey C, Seegmiller B, Marquardt PC, Groot JA, Allison CL, Bezboruah C, Guindon J (2016) Binge Ethanol Consumption Increases Inflammatory Pain Responses and Mechanical and Cold Sensitivity: Tigecycline Treatment

Efficacy Shows Sex Differences. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 40:2506–2515.

- Berland C, Castel J, Terrasi R, Montalban E, Foppen E, Martin C, Muccioli GG, Luquet S, Gangarossa G (2022) Identification of an endocannabinoid gut-brain vagal mechanism controlling food reward and energy homeostasis. *Mol Psychiatry* 27:2340–2354 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41380-021-01428-z>
- Berner LA, Avena NM, Hoebel BG (2008) Bingeing, Self-restriction, and Increased Body Weight in Rats With Limited Access to a Sweet-fat Diet. *Obesity* 16:1998–2002 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1038/oby.2008.328>
- Berry A, Bellisario V, Capoccia S, Tirassa P, Calza A, Alleva E, Cirulli F (2012) Social deprivation stress is a triggering factor for the emergence of anxiety- and depression-like behaviours and leads to reduced brain BDNF levels in C57BL/6J mice. *Psychoneuroendocrinology* 37:762–772 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453011002770>
- Berthoud H-R (2008) The vagus nerve, food intake and obesity. *Regulatory Peptides* 149:15–25 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167011508000621>
- Berthoz S (2015) Concept d'alimentation émotionnelle : mesure et données expérimentales. *Eur psychiatri* 30:S29–S30 Available at: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0924933800277067/type/journal_article
- Bigand T, Wilson M (2019) Overeating during painful episodes among adults with chronic pain: A preliminary study. *Appetite* 137:99–103 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195666318317021>
- Birkett MA, Shinday NM, Kessler EJ, Meyer JS, Ritchie S, Rowlett JK (2011) Acute anxiogenic-like effects of selective serotonin reuptake inhibitors are attenuated by the benzodiazepine diazepam in BALB/c mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 98:544–551 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091305711000773>
- Blanco-Gandía MC, Cantacorps L, Aracil-Fernández A, Montagud-Romero S, Aguilar MA, Manzanares J, Valverde O, Miñarro J, Rodríguez-Arias M (2017) Effects of bingeing on fat during adolescence on the reinforcing effects of cocaine in adult male mice. *Neuropharmacology* 113:31–44 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0028390816304208>
- Blanco-Gandía MC, Miñarro J, Aguilar MA, Rodríguez-Arias M (2018) Increased ethanol consumption after interruption of fat bingeing Ryabinin AE, ed. *PLoS ONE* 13:e0194431 Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0194431>
- Blanco-Gandía MC, Miñarro J, Rodríguez-Arias M (2019) Behavioral profile of intermittent vs continuous access to a high fat diet during adolescence. *Behavioural Brain Research* 368:111891 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016643281831739X>
- Blanco-Gandía MC, Miñarro J, Rodríguez-Arias M (2020) Common Neural Mechanisms of Palatable Food Intake and Drug Abuse: Knowledge Obtained with Animal Models. *CPD* 26:2372–2384 Available at: <https://www.eurekaselect.com/179342/article>
- Blank M-L, Connor J, Gray A, Tustin K (2016) Alcohol use, mental well-being, self-esteem and general self-efficacy among final-year university students. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 51:431–441 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00127-016-1183-x>
- Blednov YA, Metten P, Finn DA, Rhodes JS, Bergeson SE, Harris RA, Crabbe JC (2005) Hybrid C57BL/6J ?? FVB/NJ Mice Drink More Alcohol than Do C57BL/6J Mice: *Alcoholism: Clinical & Experimental Research* 29:1949–1958 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1097/01.alc.0000187605.91468.17>
- Bloch S, Holleran KM, Kash TL, Vazey EM, Rinker JA, Lebonville CL, O'Hara K, Lopez MF, Jones SR, Grant KA, Becker HC, Mulholland PJ (2022) Assessing negative affect in mice during abstinence from alcohol drinking: Limitations and future challenges. *Alcohol* 100:41–56 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0741832922000131>
- Bloch S, Rinker JA, Marcus MM, Mulholland PJ (2020) Absence of effects of intermittent access to alcohol on negative affective and anxiety-like behaviors in male and female C57BL/6J mice.

Alcohol 88:91–99 Available at:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0741832920302615>

Bocarsly ME, Hoebel BG, Paredes D, Von Loga I, Murray SM, Wang M, Arolfo MP, Yao L, Diamond I, Avena NM (2014) GS 455534 selectively suppresses binge eating of palatable food and attenuates dopamine release in the accumbens of sugar-bingeing rats. Behavioural Pharmacology 25:147–157 Available at: <https://journals.lww.com/00008877-201404000-00006>

Bodell LP, Racine SE (2023) A mechanistic staging model of reward processing alterations in individuals with binge-type eating disorders. Intl J Eating Disorders 56:516–522 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eat.23875>

Boggiano MM, Artiga AI, Pritchett CE, Chandler-Laney PC, Smith ML, Eldridge AJ (2007) High intake of palatable food predicts binge-eating independent of susceptibility to obesity: an animal model of lean vs obese binge-eating and obesity with and without binge-eating. Int J Obes 31:1357–1367 Available at: <https://www.nature.com/articles/0803614>

Boissoneault J, Lewis B, Nixon SJ (2019) Characterizing chronic pain and alcohol use trajectory among treatment-seeking alcoholics. Alcohol 75:47–54 Available at:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0741832918300983>

BonDurant LD, Potthoff MJ (2018) Fibroblast Growth Factor 21: A Versatile Regulator of Metabolic Homeostasis. Annu Rev Nutr 38:173–196 Available at:
<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-nutr-071816-064800>

Bonomo RR, Cook TM, Gavini CK, White CR, Jones JR, Bovo E, Zima AV, Brown IA, Dugas LR, Zakharian E, Aubert G, Alonzo F, Calcutt NA, Mansuy-Aubert V (2020) Fecal transplantation and butyrate improve neuropathic pain, modify immune cell profile, and gene expression in the PNS of obese mice. Proc Natl Acad Sci USA 117:26482–26493 Available at:
<https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.2006065117>

Borgland SL, Storm E, Bonci A (2008) Orexin B/hypocretin 2 increases glutamatergic transmission to ventral tegmental area neurons. European Journal of Neuroscience 28:1545–1556 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1460-9568.2008.06397.x>

Borgonetti V, Roberts AJ, Bajo M, Galeotti N, Roberto M (2023) Chronic alcohol induced mechanical allodynia by promoting neuroinflammation: A mouse model of alcohol-evoked neuropathic pain. British J Pharmacology 180:2377–2392 Available at:
<https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.16091>

Bourdy R, Befort K (2023) The Role of the Endocannabinoid System in Binge Eating Disorder. IJMS 24:9574 Available at: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/11/9574>

Bourdy R, Hertz A, Filliol D, Andry V, Goumon Y, Mendoza J, Olmstead MC, Befort K (2021) The endocannabinoid system is modulated in reward and homeostatic brain regions following diet-induced obesity in rats: a cluster analysis approach. Eur J Nutr 60:4621–4633.

Brandner AJ, Baratta AM, Rathod RS, Ferguson C, Taylor BK, Farris SP (2023) Mechanical and Heat Hyperalgesia upon Withdrawal From Chronic Intermittent Ethanol Vapor Depends on Sex, Exposure Duration, and Blood Alcohol Concentration in Mice. The Journal of Pain 24:1262–1274 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1526590023000573>

Breslin PAS (2013) An Evolutionary Perspective on Food and Human Taste. Current Biology 23:R409–R418 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960982213004181>

Breslin PAS, Spector AC (2008) Mammalian taste perception. Current Biology 18:R148–R155 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960982207023706>

Brown RM, James MH (2023) Binge eating, overeating and food addiction: Approaches for examining food overconsumption in laboratory rodents. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry 123:110717 Available at:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278584623000039>

Brunault P, Courtois R, Gearhardt AN, Gaillard P, Journiac K, Cathelain S, Réveillère C, Ballon N (2017) Validation of the French Version of the DSM-5 Yale Food Addiction Scale in a Nonclinical Sample. Can J Psychiatry 62:199–210 Available at:
<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0706743716673320>

- Bulik CM, Butner JE, Tregarthen J, Thornton LM, Flatt RE, Smith T, Carroll IM, Baucom BRW, Deboeck PR (2020) The Binge Eating Genetics Initiative (BEGIN): study protocol. *BMC Psychiatry* 20:307 Available at: <https://bmcpsychiatry.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12888-020-02698-7>
- Burke SJ, Batdorf HM, Martin TM, Burk DH, Noland RC, Cooley CR, Karlstad MD, Johnson WD, Collier JJ (2018) Liquid Sucrose Consumption Promotes Obesity and Impairs Glucose Tolerance Without Altering Circulating Insulin Levels. *Obesity* 26:1188–1196 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/oby.22217>
- Butler MJ (2021) The role of Western diets and obesity in peripheral immune cell recruitment and inflammation in the central nervous system. *Brain, Behavior, & Immunity - Health* 16:100298 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666354621001010>
- Cabral GA (2005) Cannabinoid receptors in microglia of the central nervous system: immune functional relevance. *Journal of Leukocyte Biology* 78:1192–1197.
- Caldas N do R, Braulio VB, Brasil MAA, Furtado VCS, Carvalho DP de, Cotrik EM, Dantas JR, Zajdenverg L (2022) Binge eating disorder, frequency of depression, and systemic inflammatory state in individuals with obesity – A cross sectional study. *Archives of Endocrinology and Metabolism* Available at: <https://www.aem-sbem.com/article/binge-eating-disorder-frequency-of-depression-and-systemic-inflammatory-state-in-individuals-with-obesity-a-cross-sectional-study/>
- Camilleri GM, Méjean C, Kesse-Guyot E, Andreeva VA, Bellisle F, Hercberg S, Péneau S (2014) The Associations between Emotional Eating and Consumption of Energy-Dense Snack Foods Are Modified by Sex and Depressive Symptomatology. *The Journal of Nutrition* 144:1264–1273 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022316622009646>
- Campos A, Port JD, Acosta A (2022) Integrative Hedonic and Homeostatic Food Intake Regulation by the Central Nervous System: Insights from Neuroimaging. *Brain Sciences* 12:431 Available at: <https://www.mdpi.com/2076-3425/12/4/431>
- Campos VC, Tappy L (2016) Physiological handling of dietary fructose-containing sugars: implications for health. *Int J Obes* 40:S6–S11 Available at: <https://www.nature.com/articles/ijo20168>
- Cao D, Lu H, Lewis TL, Li L (2007) Intake of Sucrose-sweetened Water Induces Insulin Resistance and Exacerbates Memory Deficits and Amyloidosis in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer Disease. *Journal of Biological Chemistry* 282:36275–36282 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925818460796>
- Carson MJ, Cameron Thrash J, Walter B (2006) The cellular response in neuroinflammation: The role of leukocytes, microglia and astrocytes in neuronal death and survival. *Clinical Neuroscience Research* 6:237–245 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1566277206000429>
- Carter JC, Van Wijk M, Rowsell M (2019) Symptoms of ‘food addiction’ in binge eating disorder using the Yale Food Addiction Scale version 2.0. *Appetite* 133:362–369 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195666318309498>
- Cason AM, Aston-Jones G (2013) Attenuation of saccharin-seeking in rats by orexin/hypocretin receptor 1 antagonist. *Psychopharmacology* 228:499–507 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00213-013-3051-7> [Accessed August 15, 2023].
- Cassin SE, Von Ranson KM (2007) Is binge eating experienced as an addiction? *Appetite* 49:687–690 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195666307003169>
- Castillo-Carniglia A, Keyes KM, Hasin DS, Cerdá M (2019) Psychiatric comorbidities in alcohol use disorder. *The Lancet Psychiatry* 6:1068–1080.
- Cavaliere G, Viggiano E, Trinchese G, De Filippo C, Messina A, Monda V, Valenzano A, Cincione RI, Zammit C, Cimmino F, Catapano A, Sessa F, Messina G, Monda M, Crispino M, Mollica MP (2018) Long Feeding High-Fat Diet Induces Hypothalamic Oxidative Stress and Inflammation, and Prolonged Hypothalamic AMPK Activation in Rat Animal Model. *Front Physiol* 9:818 Available at: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2018.00818/full>

- Černelič-Bizjak M, Guiné RPF (2022) Predictors of binge eating: relevance of BMI, emotional eating and sensitivity to environmental food cues. *NFS* 52:171–180 Available at: <https://www.emerald.com/insight/content/doi/10.1108/NFS-02-2021-0062/full/html>
- Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL (1994) Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *Journal of Neuroscience Methods* 53:55–63 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0165027094901449>
- Charbogne P, Kieffer BL, Befort K (2014) 15 years of genetic approaches in vivo for addiction research: Opioid receptor and peptide gene knockout in mouse models of drug abuse. *Neuropharmacology* 76 Pt B:204–217.
- Chen H, Wang J, Li Z, Lam CWK, Xiao Y, Wu Q, Zhang W (2019) Consumption of Sugar-Sweetened Beverages Has a Dose-Dependent Effect on the Risk of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: An Updated Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis. *IJERPH* 16:2192 Available at: <https://www.mdpi.com/1660-4601/16/12/2192>
- Chenaf C, Delorme J, Delage N, Ardid D, Eschalier A, Authier N (2018) Prevalence of chronic pain with or without neuropathic characteristics in France using the capture–recapture method: a population-based study. *Pain* 159:2394–2402 Available at: <https://journals.lww.com/00006396-201811000-00026>
- Chepulis LM, Starkey NJ, Waas JR, Molan PC (2009) The effects of long-term honey, sucrose or sugar-free diets on memory and anxiety in rats. *Physiology & Behavior* 97:359–368 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938409000973>
- Choleris E (2001) A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 25:235–260 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763401000112>
- Chopra K, Tiwari V (2012) Alcoholic neuropathy: Possible mechanisms and future treatment possibilities. *British Journal of Clinical Pharmacology* 73:348–362.
- Christoffel DJ, Walsh JJ, Heifets BD, Hoerbelt P, Neuner S, Sun G, Ravikumar VK, Wu H, Halpern CH, Malenka RC (2021) Input-specific modulation of murine nucleus accumbens differentially regulates hedonic feeding. *Nat Commun* 12:2135 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41467-021-22430-7>
- Chua JL, Touyz S, Hill AJ (2004) Negative mood-induced overeating in obese binge eaters: an experimental study. *Int J Obes* 28:606–610 Available at: <https://www.nature.com/articles/0802595>
- Chung W-S, Allen NJ, Eroglu C (2015) Astrocytes Control Synapse Formation, Function, and Elimination. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7:a020370 Available at: <http://cshperspectives.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/cshperspect.a020370>
- Cifuentes L, Acosta A (2022) Homeostatic regulation of food intake. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 46:101794 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S221074012100173X>
- Cigliano L, Spagnuolo MS, Crescenzo R, Cancelliere R, Iannotta L, Mazzoli A, Liverini G, Iossa S (2018) Short-Term Fructose Feeding Induces Inflammation and Oxidative Stress in the Hippocampus of Young and Adult Rats. *Mol Neurobiol* 55:2869–2883 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s12035-017-0518-2>
- Clarkson JM, Dwyer DM, Flecknell PA, Leach MC, Rowe C (2018) Handling method alters the hedonic value of reward in laboratory mice. *Sci Rep* 8:2448 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-20716-3>.
- Colantuoni C, Rada P, McCarthy J, Patten C, Avena NM, Chadeayne A, Hoebel BG (2002) Evidence That Intermittent, Excessive Sugar Intake Causes Endogenous Opioid Dependence. *Obesity Research* 10:478–488 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1038/oby.2002.66>
- Colantuoni C, Schwenker J, McCarthy J, Rada P, Ladenheim B, Cadet J-L, Schwartz GJ, Moran TH, Hoebel BG (2001) Excessive sugar intake alters binding to dopamine and mu-opioid receptors in the brain: *Neuroreport* 12:3549–3552 Available at: <http://journals.lww.com/00001756-200111160-00035>

- Colombo E, Farina C (2016) Astrocytes: Key Regulators of Neuroinflammation. *Trends in Immunology* 37:608–620 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471490616300722>
- Colombo G, Agabio R, Diaz G, Lobina C, Reali R, Gessa GL (1998) Appetite suppression and weight loss after the cannabinoid antagonist SR 141716. *Life Sciences* 63:PL113–PL117 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320598003221>
- Contet C, Kieffer BL, Befort K (2004) Mu opioid receptor: a gateway to drug addiction. *Curr Opin Neurobiol* 14:370–378.
- Cooper SJ (2008) From Claude Bernard to Walter Cannon. Emergence of the concept of homeostasis. *Appetite* 51:419–427 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195666308005114>
- Corwin RL, Buda-Levin A (2004) Behavioral models of binge-type eating. *Physiology and Behavior* 82:123–130.
- Corwin RL, Wojnicki FH (2006) Binge Eating in Rats with Limited Access. *Current Protocols in Neuroscience* 9.23B.1-9.:1–11.
- Corwin RLW, Wojnicki FHE, Zimmer DJ, Babbs RK, McGrath LE, Olivos DR, Mietlicki-Baase EG, Hayes MR (2016) Binge-type eating disrupts dopaminergic and GABAergic signaling in the prefrontal cortex and ventral tegmental area: Binge-Type Eating Disrupts Mesocortical Signaling. *Obesity* 24:2118–2125 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/oby.21626>
- Cota D, Marsicano G, Lutz B, Vicennati V, Stalla GK, Pasquali R, Pagotto U (2003) Endogenous cannabinoid system as a modulator of food intake. *Int J Obes* 27:289–301 Available at: <https://www.nature.com/articles/0802250>
- Cottone P, Sabino V, Steardo L, Zorrilla EP (2008) Opioid-Dependent Anticipatory Negative Contrast and Binge-Like Eating in Rats with Limited Access to Highly Preferred Food. *Neuropsychopharmacol* 33:524–535 Available at: <https://www.nature.com/articles/1301430>
- Cottone P, Sabino V, Steardo L, Zorrilla EP (2009) Consummatory, anxiety-related and metabolic adaptations in female rats with alternating access to preferred food. *Psychoneuroendocrinology* 34:38–49 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453008002151>
- Crabbe JC, Harkness JH, Spence SE, Huang LC, Metten P (2012) Intermittent Availability of Ethanol Does Not Always Lead to Elevated Drinking in Mice. *Alcohol and Alcoholism* 47:509–517 Available at: <http://academic.oup.com/alc alc/article/47/5/509/99216/Intermittent-Availability-of-Ethanol-Does-Not>
- Crawley J, Goodwin FK (1980) Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 13:167–170 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0091305780900672>
- Crescenzo R, Cigliano L, Mazzoli A, Cancelliere R, Carotenuto R, Tussellino M, Liverini G, Iossa S (2018) Early Effects of a Low Fat, Fructose-Rich Diet on Liver Metabolism, Insulin Signaling, and Oxidative Stress in Young and Adult Rats. *Front Physiol* 9:411 Available at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2018.00411/full>
- Cryan JF, Holmes A (2005) The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nat Rev Drug Discov* 4:775–790 Available at: <https://www.nature.com/articles/nrd1825>
- Cryan JF, Mombereau C, Vassout A (2005) The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29:571–625 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763405000382>
- Cucinello-Ragland JA, Edwards S (2021) Neurobiological aspects of pain in the context of alcohol use disorder. In: International Review of Neurobiology, pp 1–29. Elsevier. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0074774220301392>
- Daly CM, Saxena J, Singh J, Bullard MR, Bondy EO, Saxena A, Buffalino RE, Melville MF, Freeman LR (2020) Sex differences in response to a high fat, high sucrose diet in both the gut

microbiome and hypothalamic astrocytes and microglia. *Nutritional Neuroscience* 0:1–15 Available at: <https://doi.org/10.1080/1028415X.2020.1752996>.

Davies VJ, Bellamy D (1972) The olfactory response of mice to urine and effects of gonadectomy. *Journal of Endocrinology* 55:11–20 Available at: https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/55/1/joe_55_1_002.xml

Davis C, Levitan RD, Yilmaz Z, Kaplan AS, Carter JC, Kennedy JL (2012) Binge eating disorder and the dopamine D2 receptor: Genotypes and sub-phenotypes. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 38:328–335 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278584612001042>

Davis CA, Levitan RD, Reid C, Carter JC, Kaplan AS, Patte KA, King N, Curtis C, Kennedy JL (2009) Dopamine for “Wanting” and Opioids for “Liking”: A Comparison of Obese Adults With and Without Binge Eating. *Obesity* 17:1220–1225 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1038/oby.2009.52>

De Araujo IE, Schatzker M, Small DM (2020) Rethinking Food Reward. *Annu Rev Psychol* 71:139–164 Available at: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-psych-122216-011643>

De Araujo IET, Rolls ET, Kringselbach ML, McGlone F, Phillips N (2003) Taste-olfactory convergence, and the representation of the pleasantness of flavour, in the human brain. *Eur J Neurosci* 18:2059–2068 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1460-9568.2003.02915.x>

De Paula GC, Brunetta HS, Engel DF, Gaspar JM, Velloso LA, Engblom D, De Oliveira J, De Bem AF (2021) Hippocampal Function Is Impaired by a Short-Term High-Fat Diet in Mice: Increased Blood–Brain Barrier Permeability and Neuroinflammation as Triggering Events. *Front Neurosci* 15:734158 Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2021.734158/full>

de Sa Nogueira D, Bourdy R, Filliol D, Awad G, Andry V, Goumon Y, Olmstead MC, Befort K (2021) Binge sucrose-induced neuroadaptations: A focus on the endocannabinoid system. *Appetite* 164:105258 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195666321001653>

De Sa Nogueira D, Merienne K, Befort K (2019) Neuroepigenetics and addictive behaviors: Where do we stand? *Neurosci Biobehav Rev* 106:58–72.

De Souza CT, Araujo EP, Bordin S, Ashimine R, Zollner RL, Boschero AC, Saad MJA, Velloso LA (2005) Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. *Endocrinology* 146:4192–4199.

Deacon R (2012) Assessing Burrowing, Nest Construction, and Hoarding in Mice. *JoVE*:2607 Available at: <http://www.jove.com/details.php?id=2607>

Deacon RM (2006) Assessing nest building in mice. *Nat Protoc* 1:1117–1119 Available at: <http://www.nature.com/articles/nprot.2006.170>

Décarie-Spain L, Hryhorczuk C, Lau D, Jacob-Brassard É, Fisette A, Fulton S (2021) Prolonged saturated, but not monounsaturated, high-fat feeding provokes anxiodepressive-like behaviors in female mice despite similar metabolic consequences. *Brain, Behavior, & Immunity - Health* 16:100324 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666354621001277>

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

Del Rio D, Morales L, Ruiz-Gayo M, Del Olmo N (2016) Effect of high-fat diets on mood and learning performance in adolescent mice. *Behavioural Brain Research* 311:167–172 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432816302571>

Delgado JMR, Anand BK (1952) Increase of Food Intake Induced by Electrical Stimulation of the Lateral Hypothalamus. *American Journal of Physiology-Legacy Content* 172:162–168 Available at: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajplegacy.1952.172.1.162>

Demers G, Roy J, Machuca-Parra AI, Dashtehi Pour Z, Bairamian D, Daneault C, Rosiers CD, Ferreira G, Alquier T, Fulton S, Representative of consortium (2020) Fish oil supplementation alleviates metabolic and anxiodepressive effects of diet-induced obesity and associated

- changes in brain lipid composition in mice. *Int J Obes* 44:1936–1945 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41366-020-0623-6>
- Deuis JR, Dvorakova LS, Vetter I (2017) Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. *Front Mol Neurosci* 10:284 Available at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnmol.2017.00284/full>
- Deveaux V, Cadoudal T, Ichigotani Y, Teixeira-Clerc F, Louvet A, Manin S, Nhieu JT-V, Belot MP, Zimmer A, Even P, Cani PD, Knauf C, Burcelin R, Bertola A, Le Marchand-Brustel Y, Gual P, Mallat A, Lotersztajn S (2009) Cannabinoid CB₂ Receptor Potentiates Obesity-Associated Inflammation, Insulin Resistance and Hepatic Steatosis Polidori C, ed. *PLoS ONE* 4:e5844 Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0005844>
- Di Marzo V, Goparaju SK, Wang L, Liu J, Bátkai S, Járai Z, Fezza F, Miura GI, Palmiter RD, Sugiura T, Kunos G (2001) Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature* 410:822–825.
- Di Marzo V, Matias I (2005) Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nature Neuroscience* 8:585–589.
- Dina OA, Barletta J, Chen X, Mutero A, Martin A, Messing RO, Levine JD (2000) Key Role for the Epsilon Isoform of Protein Kinase C in Painful Alcoholic Neuropathy in the Rat. *J Neurosci* 20:8614–8619 Available at: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.20-22-08614.2000>
- Dina OA, Messing RO, Levine JD (2006) Ethanol withdrawal induces hyperalgesia mediated by PKC ϵ . *European Journal of Neuroscience* 24:197–204 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1460-9568.2006.04886.x>
- Dingemans A, Danner U, Parks M (2017) Emotion Regulation in Binge Eating Disorder: A Review. *Nutrients* 9:1274 Available at: <http://www.mdpi.com/2072-6643/9/11/1274>
- DiPatrizio NV, Simansky KJ (2008) Activating Parabrachial Cannabinoid CB₁ Receptors Selectively Stimulates Feeding of Palatable Foods in Rats. *J Neurosci* 28:9702–9709 Available at: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.1171-08.2008>
- Djordjević A, Bursać B, Veličković N, Vasiljević A, Matić G (2015) The impact of different fructose loads on insulin sensitivity, inflammation, and PSA-NCAM-mediated plasticity in the hippocampus of fructose-fed male rats. *Nutritional Neuroscience* 18:66–75 Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/1476830513Y.0000000098>
- Dole VP, Ho A, Gentry RT (1985) Toward an analogue of alcoholism in mice: criteria for recognition of pharmacologically motivated drinking. *Proc Natl Acad Sci USA* 82:3469–3471 Available at: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.82.10.3469>
- Domingos AI, Vaynshteyn J, Voss HU, Ren X, Gradinaru V, Zang F, Deisseroth K, De Araujo IE, Friedman J (2011) Leptin regulates the reward value of nutrient. *Nat Neurosci* 14:1562–1568 Available at: <https://www.nature.com/articles/nn.2977>
- Donato K, Ceccarini MR, Dhuli K, Bonetti G, Medori MC, Marceddu G, Precone V, Xhufi S, Bushati M, Bozo D, Beccari T, Bertelli M (2022) Gene variants in Eating Disorders. Focus on Anorexia Nervosa Bulimia Nervosa and Binge-eating Disorder. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene* Vol. 63 No. 2S3:E297 Pages Available at: <https://www.jpmh.org/index.php/jpmh/article/view/2772>
- Drew PD, Johnson JW, Douglas JC, Phelan KD, Kane CJM (2015) Pioglitazone Blocks Ethanol Induction of Microglial Activation and Immune Responses in the Hippocampus, Cerebellum, and Cerebral Cortex in a Mouse Model of Fetal Alcohol Spectrum Disorders. *Alcohol Clin Exp Res* 39:445–454 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/acer.12639>
- Duan Y, Zeng L, Zheng C, Song B, Li F, Kong X, Xu K (2018) Inflammatory Links Between High Fat Diets and Diseases. *Front Immunol* 9:2649 Available at: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2018.02649/full>
- Dubljević O, Ković V, Pavković Ž, Mitić M, Pešić V (2022) The Influence of Unlimited Sucrose Intake on Body Weight and Behavior—Findings from a Mouse Model. *Brain Sciences* 12:1332 Available at: <https://www.mdpi.com/2076-3425/12/10/1332>

- Duffy CM, Hofmeister JJ, Nixon JP, Butterick TA (2019) High fat diet increases cognitive decline and neuroinflammation in a model of orexin loss. *Neurobiology of Learning and Memory* 157:41–47 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S107474271830265X>
- Dutheil S, Ota KT, Wohleb ES, Rasmussen K, Duman RS (2016) High-Fat Diet Induced Anxiety and Anhedonia: Impact on Brain Homeostasis and Inflammation. *Neuropsychopharmacology* 41:1874–1887 Available at: <https://www.nature.com/articles/npp2015357>
- Eilander A, Harika RK, Zock PL (2015) Intake and sources of dietary fatty acids in Europe: Are current population intakes of fats aligned with dietary recommendations? *Eur J Lipid Sci Technol* 117:1370–1377 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejlt.201400513>
- Ely AV, Cusack A (2015) The Binge and the Brain. *Cerebrum : the Dana forum on brain science* 2015:1–11.
- Fang X-X, Zhai M-N, Zhu M, He C, Wang H, Wang J, Zhang Z-J (2023) Inflammation in pathogenesis of chronic pain: Foe and friend. *Mol Pain* 19:174480692311781 Available at: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/17448069231178176>
- Farooq RK, Tanti A, Ainouche S, Roger S, Belzung C, Camus V (2018) A P2X7 receptor antagonist reverses behavioural alterations, microglial activation and neuroendocrine dysregulation in an unpredictable chronic mild stress (UCMS) model of depression in mice. *Psychoneuroendocrinology* 97:120–130 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453018302518>
- Ferrario CR, Labouèbe G, Liu S, Nieh EH, Routh VH, Xu S, O'Connor EC (2016) Homeostasis meets motivation in the battle to control food intake. *Journal of Neuroscience* 36:11469–11481.
- Ferreira A, Castro JP, Andrade JP, Dulce Madeira M, Cardoso A (2018) Cafeteria-diet effects on cognitive functions, anxiety, fear response and neurogenesis in the juvenile rat. *Neurobiology of Learning and Memory* 155:197–207 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1074742718301849>
- Firth J, Veronese N, Cotter J, Shivappa N, Hebert JR, Ee C, Smith L, Stubbs B, Jackson SE, Sarris J (2019) What Is the Role of Dietary Inflammation in Severe Mental Illness? A Review of Observational and Experimental Findings. *Front Psychiatry* 10:350 Available at: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpsyg.2019.00350/full>
- Fletcher PC, Kenny PJ (2018) Food addiction: a valid concept? *Neuropsychopharmacology* 43:2506–2513 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41386-018-0203-9>
- Flores-Fuentes N, Hernandez-Cruz C, Bermeo K, Barajas-Martinez A, Hernandez-Serratos VN, Aceves-Rodriguez EM, Martinez-Alonso E, Castro H, Martinez-Huerta MI, Elias-Viñas D, Salazar-Anguiano J, Arenas I, Garcia DE (2021) Motor learning impairment in rats under a high sucrose diet. *Physiology & Behavior* 234:113384 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938421000767>
- Florio L, Lassi DLS, De Azevedo-Marques Perico C, Vignoli NG, Torales J, Ventriglio A, Castaldelli-Maia JM (2022) Food Addiction: A Comprehensive Review. *J Nerv Ment Dis* 210:874–879 Available at: <https://journals.lww.com/10.1097/NMD.0000000000001555>
- Foll BL, Gallo A, Strat YL, Lu L, Gorwood P (2009) Genetics of dopamine receptors and drug addiction: a comprehensive review. *Behavioural Pharmacology* 20:1–17 Available at: <https://journals.lww.com/00008877-200902000-00001>
- Forde CG, De Graaf K (2022) Influence of Sensory Properties in Moderating Eating Behaviors and Food Intake. *Front Nutr* 9:841444 Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2022.841444/full>
- Forney KJ, Holland LA, Joiner TE, Keel PK (2015) Determining Empirical Thresholds for “Definitely Large” Amounts of Food for Defining Binge-Eating Episodes. *Eating Disorders* 23:15–30 Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10640266.2014.931763>
- Franklin KBJ, Paxinos G (2008) The mouse brain in stereotaxic coordinates, 3. ed. Amsterdam: Elsevier, AP.

- Freund N, Thompson BS, Norman KJ, Einhorn P, Andersen SL (2015) Developmental emergence of an obsessive-compulsive phenotype and binge behavior in rats. *Psychopharmacology* 232:3173–3181 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00213-015-3967-1>
- Friedman JM (2019) Leptin and the endocrine control of energy balance. *Nat Metab* 1:754–764 Available at: <https://www.nature.com/articles/s42255-019-0095-y>
- Fu R, Gregor D, Peng Z, Li J, Bekker A, Ye J (2015) Chronic intermittent voluntary alcohol drinking induces hyperalgesia in Sprague-Dawley rats. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 7:136–144.
- Fuente-Martín E, García-Cáceres C, Díaz F, Argente-Arizón P, Granado M, Barrios V, Argente J, Chowen JA (2013) Hypothalamic Inflammation Without Astrogliosis in Response to High Sucrose Intake Is Modulated by Neonatal Nutrition in Male Rats. *Endocrinology* 154:2318–2330 Available at: <https://academic.oup.com/endo/article/154/7/2318/2423198>
- Fuentes S, Bilal U, Galán I, Villalbí JR, Espelt A, Bosque-Prous M, Franco M, Lazo M (2017) Binge drinking and well-being in European older adults: do gender and region matter? *European Journal of Public Health* 27:692–699 Available at: <https://academic.oup.com/eurpub/article/27/4/692/3739762>
- Fulton S, Woodside B, Shizgal P (2000) Modulation of Brain Reward Circuitry by Leptin. *Science* 287:125–128 Available at: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.287.5450.125>
- Gainey SJ, Kwakwa KA, Bray JK, Pillote MM, Tir VL, Towers AE, Freund GG (2016) Short-Term High-Fat Diet (HFD) Induced Anxiety-Like Behaviors and Cognitive Impairment Are Improved with Treatment by Glyburide. *Front Behav Neurosci* 10 Available at: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fnbeh.2016.00156/abstract>
- Galea I, Bechmann I, Perry VH (2007) What is immune privilege (not)? *Trends in Immunology* 28:12–18 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471490606003267>
- Galiegue S, Mary S, Marchand J, Dussossoy D, Carriere D, Carayon P, Bouaboula M, Shire D, Fur G, Casellas P (1995) Expression of Central and Peripheral Cannabinoid Receptors in Human Immune Tissues and Leukocyte Subpopulations. *Eur J Biochem* 232:54–61 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1432-1033.1995.tb20780.x>
- Gallizioli M, Miró-Mur F, Otxoa-de-Amezaga A, Cugota R, Salas-Perdomo A, Justicia C, Brait VH, Ruiz-Jaén F, Arbaizar-Rovirosa M, Pedragosa J, Bonfill-Tejidor E, Gelderblom M, Magnus T, Cano E, Del Fresno C, Sancho D, Planas AM (2020) Dendritic Cells and Microglia Have Non-redundant Functions in the Inflamed Brain with Protective Effects of Type 1 cDCs. *Cell Reports* 33:108291 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211124720312808>
- Gancheva S, Galunska B, Zhelyazkova-Savova M (2017) Diets rich in saturated fat and fructose induce anxiety and depression-like behaviours in the rat: is there a role for lipid peroxidation? *Int J Exp Path* 98:296–306 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/iep.12254>
- Gangwisch JE, Hale L, Garcia L, Malaspina D, Opler MG, Payne ME, Rossom RC, Lane D (2015) High glycemic index diet as a risk factor for depression: analyses from the Women's Health Initiative. *The American Journal of Clinical Nutrition* 102:454–463 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002916523125160>
- Gao Y, Bielohuby M, Fleming T, Grabner GF, Foppen E, Bernhard W, Guzmán-Ruiz M, Layritz C, Legutko B, Zinser E, García-Cáceres C, Buijs RM, Woods SC, Kalsbeek A, Seeley RJ, Nawroth PP, Bidlingmaier M, Tschoöp MH, Yi C-X (2017) Dietary sugars, not lipids, drive hypothalamic inflammation. *Molecular Metabolism* 6:897–908 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877817302399>
- García G, Gutiérrez-Lara EJ, Centurión D, Granados-Soto V, Murbartián J (2019) Fructose-Induced Insulin Resistance as a Model of Neuropathic Pain in Rats. *Neuroscience* 404:233–245 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306452219300909>
- García-Blanco A, Ramírez-López Á, Navarrete F, García-Gutiérrez MS, Manzanares J, Martín-García E, Maldonado R (2023) Role of CB2 cannabinoid receptor in the development of food addiction in male mice. *Neurobiology of Disease* 179:106034 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0969996123000487>

- Gaskill BN, Gordon CJ, Pajor EA, Lucas JR, Davis JK, Garner JP (2013) Impact of nesting material on mouse body temperature and physiology. *Physiology & Behavior* 110–111:87–95 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938413000048>
- Gatch M (2009) Ethanol Withdrawal and Hyperalgesia. *CDAR* 2:41–50 Available at: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1874-4737&volume=2&issue=1&spage=41>
- Gatch MB, Lal H (1999) Effects of ethanol and ethanol withdrawal on nociception in rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 23:328–333.
- Gearhardt AN, Corbin WR, Brownell KD (2009) Preliminary validation of the Yale Food Addiction Scale. *Appetite* 52:430–436.
- Gearhardt AN, Corbin WR, Brownell KD (2016) Development of the Yale Food Addiction Scale Version 2.0. *Psychology of Addictive Behaviors* 30:113–121 Available at: <http://doi.apa.org/getdoi.cfm?doi=10.1037/adb0000136>
- Giel KE, Bulik CM, Fernandez-Aranda F, Hay P, Keski-Rahkonen A, Schag K, Schmidt U, Zipfel S (2022) Binge eating disorder. *Nat Rev Dis Primers* 8:16 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41572-022-00344-y>
- Gillespie KM, Kemps E, White MJ, Bartlett SE (2023) The Impact of Free Sugar on Human Health—A Narrative Review. *Nutrients* 15:889 Available at: <https://www.mdpi.com/2072-6643/15/4/889>
- Goldschmidt AB, Engel SG, Wonderlich SA, Crosby RD, Peterson CB, Le Grange D, Tanofsky-Kraff M, Cao L, Mitchell JE (2012) Momentary Affect Surrounding Loss of Control and Overeating in Obese Adults With and Without Binge Eating Disorder. *Obesity* 20:1206–1211 Available at: <http://doi.wiley.com/10.1038/oby.2011.286>
- Gong JP, Onaivi ES, Ishiguro H, Liu QR, Tagliaferro PA, Brusco A, Uhl GR (2006) Cannabinoid CB2 receptors: Immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Research* 1071:10–23.
- González Olmo BM, Butler MJ, Barrientos RM (2021) Evolution of the Human Diet and Its Impact on Gut Microbiota, Immune Responses, and Brain Health. *Nutrients* 13:196 Available at: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/1/196>
- Goracci A, Di Volo S, Casamassima F, Bolognesi S, Benbow J, Fagiolini A (2015) Pharmacotherapy of Binge-Eating Disorder: A Review. *Journal of Addiction Medicine* 9:1–19 Available at: <https://journals.lww.com/01271255-201501000-00001>
- Greenberg D, St. Peter JV (2021) Sugars and Sweet Taste: Addictive or Rewarding? *IJERPH* 18:9791 Available at: <https://www.mdpi.com/1660-4601/18/18/9791>
- Griffin G, Wray EJ, Tao Q, McAllister SD, Rorrer WK, Aung M, Martin BR, Abood ME (1999) Evaluation of the cannabinoid CB2 receptor-selective antagonist, SR144528: further evidence for cannabinoid CB2 receptor absence in the rat central nervous system. *European Journal of Pharmacology* 377:117–125 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014299999004021>
- Grill HJ, Norgren R (1978) The taste reactivity test. I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats. *Brain Research* 143:263–279 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0006899378905681>
- Grimm JW, North K, Hopkins M, Jiganti K, McCoy A, Šulc J, MacDougall D, Sauter F (2022) Sex differences in sucrose reinforcement in Long-Evans rats. *Biol Sex Differ* 13:3 Available at: <https://bsd.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13293-022-00412-8>
- Gu G, Roland B, Tomaselli K, Dolman CS, Lowe C, Heilig JS (2013) Glucagon-like peptide-1 in the rat brain: Distribution of expression and functional implication. *J Comp Neurol* 521:2235–2261 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cne.23282>
- Guasch-Ferré M, Willett WC (2021) The Mediterranean diet and health: a comprehensive overview. *J Intern Med* 290:549–566 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/joim.13333>
- Guerdjikova AI, Mori N, Casuto LS, McElroy SL (2019) Update on Binge Eating Disorder. *Medical Clinics of North America* 103:669–680 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025712519300069>

- Guerra-Cantera S, Frago LM, Jiménez-Hernaiz M, Collado-Pérez R, Canelles S, Ros P, García-Piqueras J, Pérez-Nadador I, Barrios V, Argente J, Chowen JA (2023) The metabolic effects of resumption of a high fat diet after weight loss are sex dependent in mice. *Sci Rep* 13:13227 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41598-023-40514-w>
- Guillemot-Legris O, Muccioli GG (2017) Obesity-Induced Neuroinflammation: Beyond the Hypothalamus. *Trends in Neurosciences* 40:237–253 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166223617300255>
- Guo B, Zhang M, Hao W, Wang Y, Zhang T, Liu C (2023) Neuroinflammation mechanisms of neuromodulation therapies for anxiety and depression. *Transl Psychiatry* 13:5 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41398-022-02297-y>
- Guo R, Ren J (2010) Alcohol and Acetaldehyde in Public Health: From Marvel to Menace. *IJERPH* 7:1285–1301 Available at: <http://www.mdpi.com/1660-4601/7/4/1285>
- Guo X, Park Y, Freedman ND, Sinha R, Hollenbeck AR, Blair A, Chen H (2014) Sweetened Beverages, Coffee, and Tea and Depression Risk among Older US Adults Matsuoka Y, ed. *PLoS ONE* 9:e94715 Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0094715>
- Haedt-Matt AA, Keel PK (2011) Revisiting the affect regulation model of binge eating: A meta-analysis of studies using ecological momentary assessment. *Psychological Bulletin* 137:660–681 Available at: <http://doi.apa.org/getdoi.cfm?doi=10.1037/a0023660>
- Haim LB, Rowitch DH (2017) Functional diversity of astrocytes in neural circuit regulation. *Nat Rev Neurosci* 18:31–41 Available at: <https://www.nature.com/articles/nrn.2016.159>
- Halpern CH, Tekriwal A, Santollo J, Keating JG, Wolf JA, Daniels D, Bale TL (2013) Amelioration of Binge Eating by Nucleus Accumbens Shell Deep Brain Stimulation in Mice Involves D2 Receptor Modulation. *J Neurosci* 33:7122–7129 Available at: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.3237-12.2013>
- Han K-H, Kim S-H, Jeong IC, Lee Y-H, Chang S-J, Park B-N-R, Kim SW (2012) Electrophysiological and Behavioral Changes by Phosphodiesterase 4 Inhibitor in a Rat Model of Alcoholic Neuropathy. *J Korean Neurosurg Soc* 52:32 Available at: <http://jkns.or.kr/journal/view.php?doi=10.3340/jkns.2012.52.1.32>
- Han X, Ye J-H, Bian E, Ye J-H, Li J, Gajewski M, Shiwalkar N, Fan Q, Mei Q, Fu R, Zuo W (2020) Pain, Anxiety- and Depression-Like Behaviors in Alcohol-Preferring and -NonPreferring Rats. *NNB:1–8* Available at: https://www.sciencerepository.org/pain-anxiety-and-depression-like-behaviors-in-alcohol-preferring_NNB-2020-2-105
- Hargreaves K, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J (1988) A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain* 32:77–88 Available at: <https://journals.lww.com/00006396-198801000-00011>
- Harrell CS, Burgado J, Kelly SD, Johnson ZP, Neigh GN (2015) High-fructose diet during periadolescent development increases depressive-like behavior and remodels the hypothalamic transcriptome in male rats. *Psychoneuroendocrinology* 62:252–264 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453015008987>
- HAS - FAAB (2019) Boulimie et hyperphagie boulimique.
- He J, Crews FT (2008) Increased MCP-1 and microglia in various regions of the human alcoholic brain. *Experimental Neurology* 210:349–358.
- Heal DJ, Smith SL (2022) Prospects for new drugs to treat binge-eating disorder: Insights from psychopathology and neuropharmacology. *J Psychopharmacol* 36:680–703 Available at: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/02698811211032475>
- Heatherton TF, Baumeister RF (1991) Binge eating as escape from self-awareness. *Psychological Bulletin* 110:86–108 Available at: <http://doi.apa.org/getdoi.cfm?doi=10.1037/0033-2909.110.1.86>
- Hebebrand J, Albayrak Ö, Adan R, Antel J, Dieguez C, De Jong J, Leng G, Menzies J, Mercer JG, Murphy M, Van Der Plasse G, Dickson SL (2014) “Eating addiction”, rather than “food addiction”, better captures addictive-like eating behavior. *Neuroscience & Biobehavioral*

- Reviews 47:295–306 Available at:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763414002140>
- Hege MA, Stingl KT, Kullmann S, Schag K, Giel KE, Zipfel S, Preissl H (2015) Attentional impulsivity in binge eating disorder modulates response inhibition performance and frontal brain networks. International journal of obesity (2005) 39:353–360 Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24909828>.
- Heidari S, Babor TF, De Castro P, Tort S, Curno M (2016) Sex and Gender Equity in Research: rationale for the SAGER guidelines and recommended use. Res Integr Peer Rev 1:2 Available at: <http://researchintegrityjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41073-016-0007-6>
- Hellemann U, Tuorila H (1991) Pleasantness ratings and consumption of open sandwiches with varying NaCl and acid contents. Appetite 17:229–238 Available at:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/019566639190025N>
- Henriques JF, Portugal CC, Canedo T, Relvas JB, Summaville T, Socodato R (2018) Microglia and alcohol meet at the crossroads: Microglia as critical modulators of alcohol neurotoxicity. Toxicology Letters 283:21–31 Available at:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378427417314509>
- Hernandez L, Hoebel BG (1988) Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by microdialysis. Life Sciences 42:1705–1712 Available at:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0024320588900367>
- Hernandez-Avila CA, Rounsville BJ, Kranzler HR (2004) Opioid-, cannabis- and alcohol-dependent women show more rapid progression to substance abuse treatment. Drug and Alcohol Dependence 74:265–272 Available at:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376871604000304>
- Hetherington AW, Ranson SW (1940) Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. Anat Rec 78:149–172 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ar.1090780203>
- Hetherington AW, Ranson SW (1942a) The relation of various hypothalamic lesions to adiposity in the rat. J Comp Neurol 76:475–499 Available at:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cne.900760308>
- Hetherington AW, Ranson SW (1942b) THE SPONTANEOUS ACTIVITY AND FOOD INTAKE OF RATS WITH HYPOTHALAMIC LESIONS. American Journal of Physiology-Legacy Content 136:609–617 Available at: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajplegacy.1942.136.4.609>
- Hickman SE, Kingery ND, Ohsumi TK, Borowsky ML, Wang L, Means TK, El Khoury J (2013) The microglial sensome revealed by direct RNA sequencing. Nat Neurosci 16:1896–1905 Available at: <https://www.nature.com/articles/nn.3554>
- Hilbert A, Tuschen-Caffier B (2007) Maintenance of binge eating through negative mood: A naturalistic comparison of binge eating disorder and bulimia nervosa. Int J Eat Disord 40:521–530 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eat.20401>
- Hildebrandt BA, Ahmari SE (2021) Breaking It Down: Investigation of Binge Eating Components in Animal Models to Enhance Translation. Front Psychiatry 12:728535 Available at:
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsyg.2021.728535/full>
- Hillard CJ (2018) Circulating Endocannabinoids: From Whence Do They Come and Where are They Going? Neuropsychopharmacol 43:155–172 Available at:
<https://www.nature.com/articles/npp2017130>
- Hintze KJ, Benninghoff AD, Cho CE, Ward RE (2018) Modeling the Western Diet for Preclinical Investigations. Advances in Nutrition 9:263–271 Available at:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2161831322012327>
- Hoek HW (2016) Review of the worldwide epidemiology of eating disorders. Current Opinion in Psychiatry 29:336–339 Available at: <https://journals.lww.com/00001504-201611000-00004>
- Hohlbaum K, Bert B, Dietze S, Palme R, Fink H, Thöne-Reineke C (2018) Impact of repeated anesthesia with ketamine and xylazine on the well-being of C57BL/6JRj mice Burne THJ, ed. PLoS ONE 13:e0203559 Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0203559>

- Holleran KM, Winder DG (2017) Preclinical voluntary drinking models for alcohol abstinence-induced affective disturbances in mice: Negative affect in alcohol abstinence. *Genes, Brain and Behavior* 16:8–14 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/gbb.12338>
- Hsu JC (1999) Multiple comparisons: theory and methods, 1. ed., 1. CRC Press repr. Boca Raton, Fla.: Chapman & Hall/CRC.
- Hsu TM, Konanur VR, Taing L, Usui R, Kayser BD, Goran MI, Kanoski SE (2015) Effects of sucrose and high fructose corn syrup consumption on spatial memory function and hippocampal neuroinflammation in adolescent rats: Adolescent Sugar Intake Impairs Spatial Memory. *Hippocampus* 25:227–239 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hipo.22368>
- Hsueh H, Pan W, Kastin AJ (2007) The fasting polypeptide FGF21 can enter brain from blood. *Peptides* 28:2382–2386 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196978107004056>
- Hu D, Cheng L, Jiang W (2019) Sugar-sweetened beverages consumption and the risk of depression: A meta-analysis of observational studies. *Journal of Affective Disorders* 245:348–355 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165032718315040>
- Hu SS-J, Mackie K (2015) Distribution of the Endocannabinoid System in the Central Nervous System. In: *Endocannabinoids*, pp 59–93 Available at: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-20825-1_3.
- Hussain Y, Krishnamurthy S (2018) Piracetam attenuates binge eating disorder related symptoms in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 169:35–47 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091305717304884>
- Hwa LS, Chu A, Levinson SA, Kayyali TM, DeBold JF, Miczek KA (2011) Persistent Escalation of Alcohol Drinking in C57BL/6J Mice With Intermittent Access to 20% Ethanol: ESCALATED ALCOHOL AFTER INTERMITTENT ACCESS. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 35:1938–1947 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1530-0277.2011.01545.x>
- Iannotti FA, Di Marzo V, Petrosino S (2016) Endocannabinoids and endocannabinoid-related mediators: Targets, metabolism and role in neurological disorders. *Progress in Lipid Research* 62:107–128 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0163782715300230>
- Iemolo A, Valenza M, Tozier L, Knapp CM, Kornetsky C, Steardo L, Sabino V, Cottone P (2012) Withdrawal from chronic, intermittent access to a highly palatable food induces depressive-like behavior in compulsive eating rats. *Behavioural Pharmacology* 23:593–602 Available at: <https://journals.lww.com/00008877-201209000-00015>
- Imperatori C, Mariantonietta Fabbricatore, Viviana Vumbaca, Marco Innamorati, Anna Contardi, Benedetto Farina (2016) Food Addiction: definition, measurement and prevalence in healthy subjects and in patients with eating disorders. *Rivista di Psichiatria* Available at: <https://doi.org/10.1708/2246.24196>
- Jacka FN (2017) Nutritional Psychiatry: Where to Next? *EBioMedicine* 17:24–29 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352396417300798>
- Jacka FN, O'Neil A, Opie R, Itsopoulos C, Cotton S, Mohebbi M, Castle D, Dash S, Mihalopoulos C, Chatterton ML, Brazionis L, Dean OM, Hodge AM, Berk M (2017) A randomised controlled trial of dietary improvement for adults with major depression (the 'SMILES' trial). *BMC Medicine* 15:23 Available at: <http://bmcmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12916-017-0791-y>
- Jacobson ML, Wulf HA, Tsuda MC, Browne CA, Lucki I (2020) Sex differences in the modulation of mouse nest building behavior by kappa opioid receptor signaling. *Neuropharmacology* 177:108254 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0028390820303221>
- Jacques A, Chaaya N, Beecher K, Ali SA, Belmer A, Bartlett S (2019a) The impact of sugar consumption on stress driven, emotional and addictive behaviors. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 103:178–199 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763418308613>.
- Jacques A, Chaaya N, Beecher K, Ali SA, Belmer A, Bartlett S (2019b) The impact of sugar consumption on stress driven, emotional and addictive behaviors. *Neuroscience &*

- Biobehavioral Reviews 103:178–199 Available at:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763418308613>
- Jamar G, Ribeiro DA, Pisani LP (2021) High-fat or high-sugar diets as trigger inflammation in the microbiota-gut-brain axis. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 61:836–854 Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2020.1747046>.
- Jamshidi N, Taylor DA (2001) Anandamide administration into the ventromedial hypothalamus stimulates appetite in rats. British Journal of Pharmacology 134:1151–1154.
- Jasmin L, Kohan L, Franssen M, Janni G, Goff JR (1998) The cold plate as a test of nociceptive behaviors: description and application to the study of chronic neuropathic and inflammatory pain models: Pain 75:367–382 Available at: <http://journals.lww.com/00006396-199801020-00023>
- Javaras KN, Laird NM, Reichborn-Kjennerud T, Bulik CM, Pope HG, Hudson JI (2008) Familiality and heritability of binge eating disorder: Results of a case-control family study and a twin study. Int J Eat Disord 41:174–179 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eat.20484>
- Jean-Gilles L, Gran B, Constantinescu CS (2010) Interaction between cytokines, cannabinoids and the nervous system. Immunobiology 215:606–610 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.imbio.2009.12.006>.
- Jha MK, Jo M, Kim J-H, Suk K (2019) Microglia-Astrocyte Crosstalk: An Intimate Molecular Conversation. Neuroscientist 25:227–240 Available at: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1073858418783959>
- Ji RR, Berta T, Nedergaard M (2013) Glia and pain: Is chronic pain a gliopathy? Pain 154:S10–S28 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2013.06.022>.
- Jiang L, Yang M, Li X, Wang Y, Zhou G, Zhao J (2018) CXC Motif Ligand 16 Promotes Nonalcoholic Fatty Liver Disease Progression via Hepatocyte–Stellate Cell Crosstalk. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 103:3974–3985 Available at: <https://academic.oup.com/jcem/article/103/11/3974/5055750>
- Jiménez-Maldonado A, Ying Z, Byun HR, Gomez-Pinilla F (2018) Short-term fructose ingestion affects the brain independently from establishment of metabolic syndrome. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease 1864:24–33 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925443917303678>
- Jirkof P (2014) Burrowing and nest building behavior as indicators of well-being in mice. Journal of Neuroscience Methods 234:139–146 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165027014000533>
- Jones DT, Graff-Radford J (2021) Executive Dysfunction and the Prefrontal Cortex. CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology 27:1586–1601 Available at: <https://journals.lww.com/10.1212/CON.0000000000001009>
- Joshi N, Onaivi ES (2019) Endocannabinoid System Components: Overview and Tissue Distribution. In: Recent Advances in Cannabinoid Physiology and Pathology (Bukiya AN, ed), pp 1–12 Advances in Experimental Medicine and Biology. Cham: Springer International Publishing. Available at: http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-21737-2_1
- Juntunen J, Teräväinen H, Eriksson K, Larsen A, Hillbom M (1979) Peripheral neuropathy and myopathy: An experimental study of rats on alcohol and variable dietary thiamine. Virchows Arch A Path Anat and Histol 383:241–252 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/BF00430243>
- Jurga AM, Paleczna M, Kuter KZ (2020) Overview of General and Discriminating Markers of Differential Microglia Phenotypes. Front Cell Neurosci 14:198 Available at: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2020.00198/full>
- Kadel P, Schneider S, Mata J (2020) Soft drink consumption and mental health problems: Longitudinal relations in children and adolescents. Social Science & Medicine 258:113123 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0277953620303427>

- Kalon E, Hong JY, Tobin C, Schulte T (2016) Psychological and Neurobiological Correlates of Food Addiction. In: International Review of Neurobiology, pp 85–110. Elsevier. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0074774216301106>
- Kang S, Li J, Zuo W, Chen P, Gregor D, Fu R, Han X, Bekker A, Ye J-H (2019) Downregulation of M-channels in lateral habenula mediates hyperalgesia during alcohol withdrawal in rats. *Sci Rep* 9:2714 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-38393-7>
- Karhunen LJ, Vanninen EJ, Kuikka JT, Lappalainen RI, Tiihonen J, Uusitupa MIJ (2000) Regional cerebral blood flow during exposure to food in obese binge eating women. *Psychiatry Research: Neuroimaging* 99:29–42 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925492700000536>
- Katz RJ (1982) Animal model of depression: Pharmacological sensitivity of a hedonic deficit. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 16:965–968 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0091305782900533>
- Kawasaki T, Igarashi K, Koeda T, Sugimoto K, Nakagawa K, Hayashi S, Yamaji R, Inui H, Fukusato T, Yamanouchi T (2009) Rats Fed Fructose-Enriched Diets Have Characteristics of Nonalcoholic Hepatic Steatosis. *The Journal of Nutrition* 139:2067–2071 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022316622065865>
- Kelley AE, Berridge KC (2002) The Neuroscience of Natural Rewards: Relevance to Addictive Drugs. *J Neurosci* 22:3306–3311 Available at: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.22-09-03306.2002>
- Kelley AM, Del Valle EJ, Zaman S, Karkhanis AN (2022) Adolescent ethanol exposure promotes mechanical allodynia and alters dopamine transmission in the nucleus accumbens shell. *Neuroscience*. Available at: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2022.09.20.508728>
- Kendig MD (2014) Cognitive and behavioural effects of sugar consumption in rodents. A review. *Appetite* 80:41–54 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195666314002001>
- Keski-Rahkonen A, Mustelin L (2016) Epidemiology of eating disorders in Europe: prevalence, incidence, comorbidity, course, consequences, and risk factors. *Current Opinion in Psychiatry* 29:340–345 Available at: <https://journals.lww.com/00001504-201611000-00005>
- Kessler RC et al. (2013) The Prevalence and Correlates of Binge Eating Disorder in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *Biological Psychiatry* 73:904–914 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322312010281>.
- Kessler RM, Hutson PH, Herman BK, Potenza MN (2016a) The neurobiological basis of binge-eating disorder. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 63:223–238 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763415302542>
- Kessler RM, Hutson PH, Herman BK, Potenza MN (2016b) The neurobiological basis of binge-eating disorder. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 63:223–238 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763415302542>
- Khan SS, Secades-Villa R, Okuda M, Wang S, Pérez-Fuentes G, Kerridge BT, Blanco C (2013) Gender differences in cannabis use disorders: Results from the National Epidemiologic Survey of Alcohol and Related Conditions. *Drug and Alcohol Dependence* 130:101–108 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376871612004152>
- Khanna D, Khanna S, Khanna P, Kahar P, Patel BM (2022) Obesity: A Chronic Low-Grade Inflammation and Its Markers. *Cureus* Available at: <https://www.cureus.com/articles/86626-obesity-a-chronic-low-grade-inflammation-and-its-markers>
- Kiefer SW, Hill KG, Kaczmarek HJ (1998) Taste Reactivity to Alcohol and Basic Tastes in Outbred Mice. *Alcoholism Clin Exp Res* 22:1146–1151 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1530-0277.1998.tb03714.x>
- Kim S, Shou J, Abera S, Ziff EB (2018) Sucrose withdrawal induces depression and anxiety-like behavior by Kir2.1 upregulation in the nucleus accumbens. *Neuropharmacology* 130:10–17 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0028390817305798>

- King SJ, Isaacs AM, O'Farrell E, Abizaid A (2011) Motivation to obtain preferred foods is enhanced by ghrelin in the ventral tegmental area. *Hormones and Behavior* 60:572–580 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0018506X11001887>
- Kirkham TC, Williams CM, Fezza F, Di Marzo V (2002) Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: Stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *British Journal of Pharmacology* 136:550–557.
- Klump KL, Racine S, Hildebrandt B, Sisk CL (2013) Sex differences in binge eating patterns in male and female adult rats: Klump et al. *Int J Eat Disord* 46:729–736 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eat.22139>
- Knight CP, Hauser SR, Waeiss RA, Molosh AI, Johnson PL, Truitt WA, McBride WJ, Bell RL, Shekhar A, Rodd ZA (2020) The Rewarding and Anxiolytic Properties of Ethanol within the Central Nucleus of the Amygdala: Mediated by Genetic Background and Nociceptin. *J Pharmacol Exp Ther* 374:366–375 Available at: <http://jpet.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/jpet.119.262097>
- Knüppel A, Shipley MJ, Llewellyn CH, Brunner EJ (2017) Sugar intake from sweet food and beverages, common mental disorder and depression: prospective findings from the Whitehall II study. *Sci Rep* 7:6287 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-05649-7>
- Koch JE, Matthews SM (2001) Δ^9 -Tetrahydrocannabinol Stimulates Palatable Food Intake in Lewis Rats: Effects of Peripheral and Central Administration. *Nutritional Neuroscience* 4:179–187 Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1028415X.2001.11747361>
- Koehler RC, Gebremedhin D, Harder DR (2006) Role of astrocytes in cerebrovascular regulation. *Journal of Applied Physiology* 100:307–317 Available at: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/japplphysiol.00938.2005>
- Kohjima M, Enjoji M, Higuchi N, Kato M, Kotoh K, Yoshimoto T, Fujino T, Yada M, Yada R, Harada N, Takayanagi R, Nakamura M (2007) Re-evaluation of fatty acid metabolism-related gene expression in nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med* Available at: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijmm.20.3.351>
- Koike H, Iijima M, Sugiura M, Mori K, Hattori N, Ito H, Hirayama M, Sobue G (2003) Alcoholic neuropathy is clinicopathologically distinct from thiamine-deficiency neuropathy. *Annals of Neurology* 54:19–29 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ana.10550>
- Koike H, Mori K, Misu K, Hattori N, Ito H, Hirayama M, Sobue G (2001) Painful alcoholic polyneuropathy with predominant small-fiber loss and normal thiamine status. *Neurology* 56:1727–1732 Available at: <https://www.neurology.org/lookup/doi/10.1212/WNL.56.12.1727>
- Komada M, Takao K, Miyakawa T (2008) Elevated plus maze for mice. *J Vis Exp*:1088.
- Komorowska-Müller JA, Schmöle A-C (2020) CB2 Receptor in Microglia: The Guardian of Self-Control. *IJMS* 22:19 Available at: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/1/19>
- Koob GF (2021) Drug Addiction: Hyperkatifeia/Negative Reinforcement as a Framework for Medications Development Dantzer R, ed. *Pharmacol Rev* 73:163–201 Available at: <http://pharmrev.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/pharmrev.120.000083>
- Kopp P (2015) Le coût social des drogues en France. OFDT:75.
- Kose J, Cheung A, Fezeu LK, Péneau S, Debras C, Touvier M, Hercberg S, Galan P, Andreeva VA (2021) A Comparison of Sugar Intake between Individuals with High and Low Trait Anxiety: Results from the NutriNet-Santé Study. *Nutrients* 13:1526 Available at: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/5/1526>
- Kravitz AV, Tye LD, Kreitzer AC (2012) Distinct roles for direct and indirect pathway striatal neurons in reinforcement. *Nat Neurosci* 15:816–818 Available at: <https://www.nature.com/articles/nn.3100>
- Kreisler AD, Mattock M, Zorrilla EP (2018) The duration of intermittent access to preferred sucrose-rich food affects binge-like intake, fat accumulation, and fasting glucose in male rats. *Appetite* 130:59–69 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195666318304598>

- Kremer M, Becker LJ, Barrot M, Yalcin I (2021) How to study anxiety and depression in rodent models of chronic pain? *Eur J Neurosci* 53:236–270 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ejn.14686>
- Kreutzer C et al. (2017) Hypothalamic Inflammation in Human Obesity Is Mediated by Environmental and Genetic Factors. *Diabetes* 66:2407–2415 Available at: <https://diabetesjournals.org/diabetes/article/66/9/2407/40091/Hypothalamic-Inflammation-in-Human-Obesity-Is>
- Kry J, Cordeira J (2018) Binge-Eating Behavior in Socially-Isolated Female Mice. *Journal of Young Investigators*. Available at: <https://jyi.org/2018-july/2018/6/15/binge-eating-behavior-in-socially-isolated-female-mice>
- Kwon HS, Koh S-H (2020) Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes. *Transl Neurodegener* 9:42 Available at: <https://translationalneurodegeneration.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40035-020-00221-2>
- Lai HMX, Cleary M, Sitharthan T, Hunt GE (2015) Prevalence of comorbid substance use, anxiety and mood disorders in epidemiological surveys, 1990–2014: A systematic review and meta-analysis. *Drug and Alcohol Dependence* 154:1–13 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376871615002811>
- Lalanza JF, Caimari A, Del Bas JM, Torregrosa D, Cigarroa I, Pallàs M, Capdevila L, Arola L, Escorihuela RM (2014) Effects Of A Post-Weaning Cafeteria Diet In Young Rats: Metabolic Syndrome, Reduced Activity And Low Anxiety-Like Behaviour Ashton N, ed. *PLoS ONE* 9:e85049 Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0085049>
- Lalanza JF, Snoeren EMS (2021) The cafeteria diet: A standardized protocol and its effects on behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 122:92–119 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763420306357>
- Lama A, Pirozzi C, Annunziata C, Morgese MG, Senzacqua M, Severi I, Calignano A, Trabace L, Giordano A, Meli R, Mattace Raso G (2021) Palmitoylethanolamide counteracts brain fog improving depressive-like behaviour in obese mice: Possible role of synaptic plasticity and neurogenesis. *Br J Pharmacol* 178:845–859 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.15071>
- Land BB, Narayanan NS, Liu R-J, Gianessi CA, Brayton CE, M Grimaldi D, Sarhan M, Guarnieri DJ, Deisseroth K, Aghajanian GK, DiLeone RJ (2014) Medial prefrontal D1 dopamine neurons control food intake. *Nat Neurosci* 17:248–253 Available at: <https://www.nature.com/articles/nn.3625>
- Larocque D, Sanderson NSR, Bergeron J, Curtin JF, Girton J, Wibowo M, Bondale N, Kroeger KM, Yang J, Lacayo LM, Reyes KC, Farrokhi C, Pechnick RN, Castro MG, Lowenstein PR (2010) Exogenous fms-like tyrosine kinase 3 ligand overrides brain immune privilege and facilitates recognition of a neo-antigen without causing autoimmune neuropathology. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:14443–14448 Available at: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.0913496107>
- Lassale C, Batty GD, Baghdadli A, Jacka F, Sánchez-Villegas A, Kivimäki M, Akbaraly T (2019) Healthy dietary indices and risk of depressive outcomes: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Mol Psychiatry* 24:965–986 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41380-018-0237-8>
- La-Vu M, Tobias BC, Schuette PJ, Adhikari A (2020) To Approach or Avoid: An Introductory Overview of the Study of Anxiety Using Rodent Assays. *Front Behav Neurosci* 14:145 Available at: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnbeh.2020.00145/full>
- Lee C, Rodgers RJ (1990) Antinociceptive effects of elevated plus-maze exposure: influence of opiate receptor manipulations. *Psychopharmacology* 102:507–513 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/BF02247133>
- Lee KM, Coehlo MA, Solton NR, Szumlinski KK (2017) Negative Affect and Excessive Alcohol Intake Incubate during Protracted Withdrawal from Binge-Drinking in Adolescent, But Not Adult, Mice. *Front Psychol* 8:1128.

- Leenaerts N, Jongen D, Ceccarini J, Van Oudenhove L, Vrieze E (2022) The neurobiological reward system and binge eating: A critical systematic review of neuroimaging studies. *Intl J Eating Disorders* 55:1421–1458 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eat.23776>
- Leffa DD, Valvassori SS, Varela RB, Lopes-Borges J, Daumann F, Longaretti LM, Dajori ALF, Quevedo J, Andrade VM (2015) Effects of palatable cafeteria diet on cognitive and noncognitive behaviors and brain neurotrophins' levels in mice. *Metab Brain Dis* 30:1073–1082 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11011-015-9682-0>
- Levallius J, Monell E, Birgegård A, Clinton D, Forsén Mantilla E (2022) Binge Eating and Addictive-Like Behaviours in Males and Females. *Psychol Rep* 125:148–166 Available at: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0033294120971750>
- Leyrolle Q et al. (2021) Specific gut microbial, biological, and psychiatric profiling related to binge eating disorders: A cross-sectional study in obese patients. *Clinical Nutrition* 40:2035–2044 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261561420304970>
- Lezak KR, Missig G, Carlezon Jr WA (2017) Behavioral methods to study anxiety in rodents. *Dialogues in Clinical Neuroscience* 19:181–191 Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.31887/DCNS.2017.19.2/wcarlezon>
- Li B, Matter EK, Hoppert HT, Grayson BE, Seeley RJ, Sandoval DA (2014) Identification of optimal reference genes for RT-qPCR in the rat hypothalamus and intestine for the study of obesity. *Int J Obes* 38:192–197 Available at: <https://www.nature.com/articles/ijo201386>
- Li H, Fang Q, Gao F, Fan J, Zhou J, Wang X, Zhang H, Pan X, Bao Y, Xiang K, Xu A, Jia W (2010) Fibroblast growth factor 21 levels are increased in nonalcoholic fatty liver disease patients and are correlated with hepatic triglyceride. *Journal of Hepatology* 53:934–940 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168827810006173>
- Li J, Chen P, Han X, Zuo W, Mei Q, Bian EY, Umeugo J, Ye J (2019) Differences between male and female rats in alcohol drinking, negative affects and neuronal activity after acute and prolonged abstinence. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 11:163–176.
- Li J, Ge C, Xu M, Wang W, Yu R, Fan C, Kong L (2015) Betaine recovers hypothalamic neural injury by inhibiting astrogliosis and inflammation in fructose-fed rats. *Molecular Nutrition Food Res* 59:189–202 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mnfr.201400307>.
- Liang N-C, Hajnal A, Norgren R (2006) Sham feeding corn oil increases accumbens dopamine in the rat. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 291:R1236–R1239 Available at: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpregu.00226.2006>
- Linnerbauer M, Wheeler MA, Quintana FJ (2020) Astrocyte Crosstalk in CNS Inflammation. *Neuron* 108:608–622 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896627320306437>
- Lister RichardG (1987) The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology* 92 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/BF00177912>
- Liu CM, Kanoski SE (2018) Homeostatic and non-homeostatic controls of feeding behavior: Distinct vs. common neural systems. *Physiology & Behavior* 193:223–231 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938418300556>
- Liu J, Jiang S, Zhao Y, Sun Q, Zhang J, Shen D, Wu J, Shen N, Fu X, Sun X, Yu D, Chen J, He J, Shi T, Ding Y, Fang L, Xue B, Li C (2018) Geranylgeranyl diphosphate synthase (GGPPS) regulates non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)–fibrosis progression by determining hepatic glucose/fatty acid preference under high-fat diet conditions. *The Journal of Pathology* 246:277–288 Available at: <https://pathsocjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.5131>
- Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2 $^{-\Delta\Delta CT}$ Method. *Methods* 25:402–408 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1046202301912629>.
- Lizarbe B, Soares AF, Larsson S, Duarte JMN (2019) Neurochemical Modifications in the Hippocampus, Cortex and Hypothalamus of Mice Exposed to Long-Term High-Fat Diet. *Front Neurosci* 12:985 Available at: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2018.00985/full>

- Lundsgaard A-M, Fritzen AM, Sjøberg KA, Myrmel LS, Madsen L, Wojtaszewski JFP, Richter EA, Kiens B (2017) Circulating FGF21 in humans is potently induced by short term overfeeding of carbohydrates. *Molecular Metabolism* 6:22–29 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877816302617>
- Lyman B (1982) The Nutritional Values and Food Group Characteristics of Foods Preferred During Various Emotions. *The Journal of Psychology* 112:121–127 Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00223980.1982.9923544>
- Lynch WJ (2008) Acquisition and maintenance of cocaine self-administration in adolescent rats: effects of sex and gonadal hormones. *Psychopharmacology* 197:237–246 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00213-007-1028-0>
- Macht M (1999) Characteristics of Eating in Anger, Fear, Sadness and Joy. *Appetite* 33:129–139 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195666399902362>
- Macht M (2008) How emotions affect eating: A five-way model. *Appetite* 50:1–11 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195666307003236>
- Macht M, Simons G (2000) Emotions and eating in everyday life. *Appetite* 35:65–71 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195666300903258>
- Malik VS, Hu FB (2022) The role of sugar-sweetened beverages in the global epidemics of obesity and chronic diseases. *Nat Rev Endocrinol* 18:205–218 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41574-021-00627-6>
- Malkesman O, Scattoni ML, Paredes D, Tragon T, Pearson B, Shaltiel G, Chen G, Crawley JN, Manji HK (2010) The Female Urine Sniffing Test: A Novel Approach for Assessing Reward-Seeking Behavior in Rodents. *Biological Psychiatry* 67:864–871 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322309012682>
- Malmir H, Mahdavi FS, Ejtahed H-S, Kazemian E, Chaharrahi A, Mohammadian Khonsari N, Mahdavi-Gorabi A, Qorbani M (2023) Junk food consumption and psychological distress in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *Nutritional Neuroscience* 26:807–827 Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1028415X.2022.2094856>
- Maric I, Krieger J-P, Van Der Velden P, Börchers S, Asker M, Vujicic M, Wernstedt Asterholm I, Skibicka KP (2022) Sex and Species Differences in the Development of Diet-Induced Obesity and Metabolic Disturbances in Rodents. *Front Nutr* 9:828522 Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2022.828522/full>
- Marriott BP, Hunt KJ, Malek AM, Newman JC (2019) Trends in Intake of Energy and Total Sugar from Sugar-Sweetened Beverages in the United States among Children and Adults, NHANES 2003–2016. *Nutrients* 11:2004 Available at: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/9/2004>
- Martinez-Ricos J, Agustin-Pavon C, Lanuza E, Martinez-Garcia F (2006) Intraspecific Communication Through Chemical Signals in Female Mice: Reinforcing Properties of Involatile Male Sexual Pheromones. *Chemical Senses* 32:139–148 Available at: <https://academic.oup.com/chemse/article-lookup/doi/10.1093/chemse/bjl039>
- Masheb RM, Grilo CM (2006) Emotional overeating and its associations with eating disorder psychopathology among overweight patients with Binge eating disorder. *Int J Eat Disord* 39:141–146 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eat.20221>
- Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI (1990) Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 346:561–564.
- Mazier W, Saucisse N, Gatta-Cherifi B, Cota D (2015) The Endocannabinoid System: Pivotal Orchestrator of Obesity and Metabolic Disease. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 26:524–537 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S104327601500140X>
- McGivern R (1996) Sex difference in daily water consumption of rats: Effect of housing and hormones. *Physiology & Behavior* 59:653–658 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0031938495020179>
- Meacham K, Shepherd A, Mohapatra DP, Haroutounian S (2017) Neuropathic Pain: Central vs. Peripheral Mechanisms. *Curr Pain Headache Rep* 21:28 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11916-017-0629-5>

- Mechoulam R ed. (2019) *Cannabinoids as therapeutic agents*. Boca Raton: CRC Press.
- Melchior B, Puntambekar S, Carson M (2006) Microglia and the control of autoreactive T cell responses. *Neurochemistry International* 49:145–153 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0197018606001641>
- Mellion ML, Nguyen V, Tong M, Gilchrist J, De La Monte S (2013) Experimental model of alcohol-related peripheral neuropathy: Alcoholic Neuropathy. *Muscle Nerve* 48:204–211 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mus.23744>
- Mergenthaler P, Lindauer U, Dienel GA, Meisel A (2013) Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function. *Trends in Neurosciences* 36:587–597 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166223613001306>
- Micale V, Di Marzo V, Sulcova A, Wotjak CT, Drago F (2013) Endocannabinoid system and mood disorders: Priming a target for new therapies. *Pharmacology & Therapeutics* 138:18–37 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0163725812002409>
- Mogil JS, Chanda ML (2005) The case for the inclusion of female subjects in basic science studies of pain. *Pain* 117:1–5 Available at: <https://journals.lww.com/00006396-200509000-00001>
- Monteiro CA, Cannon G, Levy RB, Moubarac J-C, Louzada ML, Rauber F, Khandpur N, Cediel G, Neri D, Martinez-Steele E, Baraldi LG, Jaime PC (2019) Ultra-processed foods: what they are and how to identify them. *Public Health Nutr* 22:936–941 Available at: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1368980018003762/type/journal_article
- Monteiro S, Nejad YS, Aucoin M (2022) Perinatal diet and offspring anxiety: A scoping review. *Translational Neuroscience* 13:275–290 Available at: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/tnsci-2022-0242/html>
- Monteleone AM et al. (2022) Treatment of eating disorders: A systematic meta-review of meta-analyses and network meta-analyses. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 142:104857 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763422003463>
- Monteleone P, Matias I, Martiadis V, De Petrocellis L, Maj M, Di Marzo V (2005) Blood Levels of the Endocannabinoid Anandamide are Increased in Anorexia Nervosa and in Binge-Eating Disorder, but not in Bulimia Nervosa. *Neuropsychopharmacol* 30:1216–1221 Available at: <http://www.nature.com/articles/1300695>
- Moraes CEDF, Hay P, Sichieri R, Fazzino TL, Mourilhe C, Appolinario JC (2023) Hyperpalatable Foods Consumption in a Representative Sample of the General Population in Brazil: Differences of Binge and Non-Binge Eating Meals. *Behavioral Sciences* 13:149 Available at: <https://www.mdpi.com/2076-328X/13/2/149>
- Morales L, Del Olmo N, Valladolid-Acebes I, Fole A, Cano V, Merino B, Stucchi P, Ruggieri D, López L, Alguacil LF, Ruiz-Gayo M (2012) Shift of Circadian Feeding Pattern by High-Fat Diets Is Coincident with Reward Deficits in Obese Mice Gaetani S, ed. *PLoS ONE* 7:e36139 Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0036139>
- Morari J, Anhe GF, Nascimento LF, De Moura RF, Razolli D, Solon C, Guadagnini D, Souza G, Mattos AH, Tobar N, Ramos CD, Pascoal VD, Saad MJ, Lopes-Cendes I, Moraes JC, Velloso LA (2014) Fractalkine (CX3CL1) Is Involved in the Early Activation of Hypothalamic Inflammation in Experimental Obesity. *Diabetes* 63:3770–3784 Available at: <https://diabetesjournals.org/diabetes/article/63/11/3770/34225/Fractalkine-CX3CL1-Is-Involved-in-the-Early>
- Mota B, Ramos M, Marques SI, Silva A, Pereira PA, Madeira MD, Mateus N, Cardoso A (2023) Effects of High-Fat and High-Fat High-Sugar Diets in the Anxiety, Learning and Memory, and in the Hippocampus Neurogenesis and Neuroinflammation of Aged Rats. *Nutrients* 15:1370 Available at: <https://www.mdpi.com/2072-6643/15/6/1370>
- Mota-Ramírez LD, Escobar C (2023) Postweaning cafeteria diet induces a short-term metabolic dysfunction and a differential vulnerability to develop anxiety-like and depressive-like behaviors in male but not female rats. *Developmental Psychobiology* 65:e22392 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/dev.22392>
- Müller TD et al. (2015) Ghrelin. *Molecular Metabolism* 4:437–460 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877815000605>

- Murphy K, Weaver C (2016) Janeway's immunobiology, 9th edition. New York, NY: Garland Science/Taylor & Francis Group, LLC.
- Nair-Roberts RG, Chatelain-Badie SD, Benson E, White-Cooper H, Bolam JP, Ungless MA (2008) Stereological estimates of dopaminergic, GABAergic and glutamatergic neurons in the ventral tegmental area, substantia nigra and retrorubral field in the rat. *Neuroscience* 152:1024–1031 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306452208000328>
- Narouze SN ed. (2021) Cannabinoids and Pain. Cham: Springer International Publishing. Available at: <https://link.springer.com/10.1007/978-3-030-69186-8>
- National Institutes of Health (NIH) (2016) Consideration of sex as a biological variable in NIH-funded research. Available at: <http://grants.nih.gov/grants/guide/notice-files/NOT-OD-15-102.html>.
- Neel JV (1962) Diabetes mellitus: a “thrifty” genotype rendered detrimental by “progress”? 1962. *Bull World Health Organ* 14:353–362.
- Nieh EH, Vander Weele CM, Matthews GA, Presbrey KN, Wichmann R, Leppla CA, Izadmehr EM, Tye KM (2016) Inhibitory Input from the Lateral Hypothalamus to the Ventral Tegmental Area Disinhibits Dopamine Neurons and Promotes Behavioral Activation. *Neuron* 90:1286–1298 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896627316301222>
- Noble EP (1991) Allelic Association of the D2 Dopamine Receptor Gene With Receptor-Binding Characteristics in Alcoholism or Gene ism. *Arch Gen Psychiatry* 48:648 Available at: <http://archpsyc.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archpsyc.1991.01810310066012>
- Obrosov A, Coppey LJ, Shevalye H, Yorek MA (2022) COMPARATIVE EFFECT OF A HIGH FAT WITH OR WITHOUT HIGH LEVELS OF SUCROSE DIETS ON PERIPHERAL NEUROPATHY IN C57BL/6J MICE. *J Diabet Complicat Ther* 1:101.
- Olds J, Milner P (1954) Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 47:419–427 Available at: <http://doi.apa.org/getdoi.cfm?doi=10.1037/h0058775>
- Olgun P, Fuentes M, Gabler G, Guerdjikova AI, Keck PE, McElroy SL (2017) Medical comorbidity of binge eating disorder. *Eat Weight Disord* 22:13–26 Available at: <https://link.springer.com/10.1007/s40519-016-0313-5>
- Onaivi ES, Ishiguro H, Gong JP, Patel S, Perchuk A, Meozzi PA, Myers L, Mora Z, Tagliaferro P, Gardner E, Brusco A, Akinshola BE, Liu QR, Hope B, Iwasaki S, Arinami T, Teasenfitz L, Uhl GR (2006) Discovery of the presence and functional expression of cannabinoid CB2 receptors in brain. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1074:514–536.
- Orahia J, Enriquez RF, Herzog H, Lee NJ (2022) Sex-specific changes in metabolism during the transition from chow to high-fat diet feeding are abolished in response to dieting in C57BL/6J mice. *Int J Obes* 46:1749–1758 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41366-022-01174-4>
- Ousey J, Boktor JC, Mazmanian SK (2023) Gut microbiota suppress feeding induced by palatable foods. *Current Biology* 33:147–157.e7 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S09609822201750X>
- Pan J, Cen L, Zhou T, Yu M, Chen X, Jiang W, Li Y, Yu C, Shen Z (2021) Insulin-like growth factor binding protein 1 ameliorates lipid accumulation and inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *J of Gastro and Hepatol* 36:3438–3447 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jgh.15627>
- Park SK, Chung Y, Chang Y, Oh C-M, Ryoo J-H, Jung JY (2023) Longitudinal analysis for the risk of depression according to the consumption of sugar-sweetened carbonated beverage in non-diabetic and diabetic population. *Sci Rep* 13:12901 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41598-023-40194-6>
- Parletta N, Zarnowiecki D, Cho J, Wilson A, Bogomolova S, Villani A, Itsipoulos C, Niyonsenga T, Blunden S, Meyer B, Segal L, Baune BT, O'Dea K (2019) A Mediterranean-style dietary intervention supplemented with fish oil improves diet quality and mental health in people with depression: A randomized controlled trial (HELFIMED). *Nutritional Neuroscience* 22:474–487 Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1028415X.2017.1411320>

- Patkar OL, Mohamed AZ, Narayanan A, Mardon K, Cowin G, Bhalla R, Stimson DHR, Kassiou M, Beecher K, Belmer A, Alvarez Cooper I, Morgan M, Hume DA, Irvine KM, Bartlett SE, Nasrallah F, Cumming P (2021) A binge high sucrose diet provokes systemic and cerebral inflammation in rats without inducing obesity. *Sci Rep* 11:11252 Available at: <http://www.nature.com/articles/s41598-021-90817-z>
- Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M (1985) Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods* 14:149–167 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0165027085900317>
- Peris-Sampedro F, Mounib M, Schéle E, Edvardsson CE, Stolttenborg I, Adan RAH, Dickson SL (2019) Impact of Free-Choice Diets High in Fat and Different Sugars on Metabolic Outcome and Anxiety-Like Behavior in Rats: Dietary Composition, Metabolism, and Anxiety. *Obesity* 27:409–419 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ob.22381>
- Pini RTB, Ferreira Do Vales LDM, Braga Costa TM, Almeida SS (2017) Effects of cafeteria diet and high fat diet intake on anxiety, learning and memory in adult male rats. *Nutritional Neuroscience* 20:396–408 Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1028415X.2016.1149294>
- Pinto RM, Steinmetz LS, M. G. Barbosa J, F. C. S. Mendes A, Curado MP, Da Cruz AD (2019) The Role of Genetics in the Pathophysiology of Obesity: A Systematic Review. *Obes Res Open J* 6:11–17 Available at: <https://openventio.org/wp-content/uploads/The-Role-of-Genetics-in-the-Pathophysiology-of-Obesity-A-Systematic-Review-OROJ-6-137.pdf>
- Planchez B, Surget A, Belzung C (2019) Animal models of major depression: drawbacks and challenges. *J Neural Transm* 126:1383–1408 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00702-019-02084-y>
- Poncelet M, Maruani J, Calassi R, Soubrié P (2003) Overeating, alcohol and sucrose consumption decrease in CB1 receptor deleted mice. *Neuroscience Letters* 343:216–218 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304394003003975>
- Pond HL, Heller AT, Gural BM, McKissick OP, Wilkinson MK, Manzini MC (2021) Digging behavior discrimination test to probe burrowing and exploratory digging in male and female mice. *J of Neuroscience Research* 99:2046–2058 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jnr.24857>
- Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M (1977) Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266:730–732 Available at: <https://www.nature.com/articles/266730a0>
- Poupon RE, Gervaise G, Riant P, Houin G, Tillement J-P (1990) BLOOD THIAMINE AND THIAMINE PHOSPHATE CONCENTRATIONS IN EXCESSIVE DRINKERS WITH OR WITHOUT PERIPHERAL NEUROPATHY. *Alcohol and Alcoholism* 25:605–611 Available at: <https://academic.oup.com/alcalc/article-lookup/doi/10.1093/oxfordjournals.alcalc.a045056>
- Prendergast BJ, Onishi KG, Zucker I (2014) Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 40:1–5 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763414000049>
- Prinz M, Jung S, Priller J (2019) Microglia Biology: One Century of Evolving Concepts. *Cell* 179:292–311 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867419310049>
- Pucci M, Micioni Di Bonaventura MV, Zaplatinic E, Bellia F, Maccarrone M, Cifani C, D'Addario C (2019) Transcriptional regulation of the endocannabinoid system in a rat model of binge-eating behavior reveals a selective modulation of the hypothalamic fatty acid amide hydrolase gene. *The International journal of eating disorders* 52:51–60 Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30578649>.
- Pyndt Jørgensen B, Hansen JT, Krych L, Larsen C, Klein AB, Nielsen DS, Josefson K, Hansen AK, Sørensen DB (2014) A Possible Link between Food and Mood: Dietary Impact on Gut Microbiota and Behavior in BALB/c Mice Bereswill S, ed. *PLoS ONE* 9:e103398 Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0103398>
- Qian J, Wu Y, Liu F, Zhu Y, Jin H, Zhang H, Wan Y, Li C, Yu D (2022) An update on the prevalence of eating disorders in the general population: a systematic review and meta-analysis. *Eat Weight Disord* 27:415–428 Available at: <https://link.springer.com/10.1007/s40519-021-01162-z>

- Qin L, Crews FT (2012) NADPH oxidase and reactive oxygen species contribute to alcohol-induced microglial activation and neurodegeneration. *J Neuroinflammation* 9:5 Available at: <https://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/1742-2094-9-5>
- Qin L, He J, Hanes RN, Pluzarev O, Hong J-S, Crews FT (2008) Increased systemic and brain cytokine production and neuroinflammation by endotoxin following ethanol treatment. *J Neuroinflammation* 5:10 Available at: <https://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/1742-2094-5-10>
- Rabasa C, Winsa-Jörnulf J, Vogel H, Babaei CS, Askevik K, Dickson SL (2016) Behavioral consequences of exposure to a high fat diet during the post-weaning period in rats. *Hormones and Behavior* 85:56–66 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0018506X15302026>
- Rada P, Avena NM, Hoebel BG (2005) Daily bingeing on sugar repeatedly releases dopamine in the accumbens shell. *Neuroscience* 134:737–744.
- Raja SN, Carr DB, Cohen M, Finnerup NB, Flor H, Gibson S, Keefe FJ, Mogil JS, Ringkamp M, Sluka KA, Song X-J, Stevens B, Sullivan MD, Tutelman PR, Ushida T, Vader K (2020) The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain* 161:1976–1982 Available at: <https://journals.lww.com/10.1097/j.pain.0000000000001939>
- Rakov H, Engels K, Hönes GS, Strucksberg K-H, Moeller LC, Köhrle J, Zwanziger D, Führer D (2016) Sex-specific phenotypes of hyperthyroidism and hypothyroidism in mice. *Biol Sex Differ* 7:36 Available at: <http://bsd.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13293-016-0089-3>
- Rath M, Tawfic J, Abrorkhujaeva A, Sowell S, Wu S, Eans SO, Peris J, McLaughlin JP, Stevens SM, Liu B (2021) Binge ethanol consumption-associated behavioral impairments in male mice using a gelatin-based drinking-in-the-dark model. *Alcohol* 95:25–36 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0741832921000598>
- Rathod YD, Di Fulvio M (2021) The feeding microstructure of male and female mice Yamazaki S, ed. *PLoS ONE* 16:e0246569 Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0246569>
- Rebolledo-Solleiro D, Roldán-Roldán G, Díaz D, Velasco M, Larqué C, Rico-Rosillo G, Vega-Robledo GB, Zambrano E, Hiriart M, Pérez De La Mora M (2017) Increased anxiety-like behavior is associated with the metabolic syndrome in non-stressed rats Kavushansky A, ed. *PLoS ONE* 12:e0176554 Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0176554>
- Reddy BR, Maitra S, Jhelum P, Kumar KP, Bagul PK, Kaur G, Banerjee SK, Kumar A, Chakravarty S (2016) Sirtuin 1 and 7 mediate resveratrol-induced recovery from hyper-anxiety in high-fructose-fed prediabetic rats. *J Biosci* 41:407–417 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s12038-016-9627-8>
- Rehm J (2011) The risks associated with alcohol use and alcoholism. *Alcohol Research and Health* 34:135–143.
- Reichborn-Kjennerud T, Bulik CM, Tambs K, Harris JR (2004) Genetic and environmental influences on binge eating in the absence of compensatory behaviors: A population-based twin study. *Int J Eat Disord* 36:307–314 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eat.20047>
- Ren J-N, Yin K-J, Fan G, Li X, Zhao L, Li Z, Zhang L-L, Xie D-Y, Pan S-Y, Yuan F (2020) Effect of short-term intake of high- and low-concentrations of sucrose solution on the neurochemistry of male and female mice. *Food Funct* 11:9103–9113 Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=D0FO02214D>
- Rhodes JS, Best K, Belknap JK, Finn DA, Crabbe JC (2005) Evaluation of a simple model of ethanol drinking to intoxication in C57BL/6J mice. *Physiology & Behavior* 84:53–63 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938404004585>
- Richard J-B (2019) La consommation d'alcool chez les adultes en France en 2017 / Alcohol consumption in adults in France in 2017. *Bull Epidémiol Hebd*:89–97 Available at: http://invs.santepubliquefrance.fr/beh/2019/5-6/2019_5-6_1.html.
- Riecher-Rössler A (2017) Sex and gender differences in mental disorders. *The Lancet Psychiatry* 4:8–9 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2215036616303480>

- Riley III JL, King C (2009) Self-Report of Alcohol Use for Pain in a Multi-Ethnic Community Sample. *The Journal of Pain* 10:944–952 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1526590009004507>
- Rivera-Irizarry JK, Zallar LJ, Levine OB, Skelly MJ, Boyce JE, Barney T, Kopyto R, Pleil KE (2023) Sex differences in binge alcohol drinking and the behavioral consequences of protracted abstinence in C57BL/6J mice. *Animal Behavior and Cognition*. Available at: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2023.05.12.540565>
- Robins MT, Heinricher MM, Ryabinin AE (2019) From Pleasure to Pain, and Back Again: The Intricate Relationship Between Alcohol and Nociception. *Alcohol and Alcoholism* 54:625–638 Available at: <https://academic.oup.com/alcalc/article/54/6/625/5560088>
- Roeckel L-A, Massotte D, Olmstead MC, Befort K (2018) CB1 Agonism Alters Addiction-Related Behaviors in Mice Lacking Mu or Delta Opioid Receptors. *Front Psychiatry* 9:630 Available at: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpsyg.2018.00630/full>
- Roeckel LA, Utard V, Reiss D, Mouheiche J, Maurin H, Robé A, Audouard E, Wood JN, Goumon Y, Simonin F, Gaveriaux-Ruff C (2017) Morphine-induced hyperalgesia involves mu opioid receptors and the metabolite morphine-3-glucuronide. *Scientific Reports* 7:1–15.
- Roitman MF, Wheeler RA, Wightman RM, Carelli RM (2008) Real-time chemical responses in the nucleus accumbens differentiate rewarding and aversive stimuli. *Nat Neurosci* 11:1376–1377 Available at: <https://www.nature.com/articles/nn.2219>
- Roltsch Hellard EA, Impastato RA, Gilpin NW (2017) Intra-cerebral and intra-nasal melanocortin-4 receptor antagonist blocks withdrawal hyperalgesia in alcohol-dependent rats: MC4Rs and alcohol hyperalgesia. *Addiction Biology* 22:692–701 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/adb.12360>
- Rom S, Zuluaga-Ramirez V, Gajghate S, Seliga A, Winfield M, Heldt NA, Kolpakov MA, Bashkirova YV, Sabri AK, Persidsky Y (2019) Hyperglycemia-Driven Neuroinflammation Compromises BBB Leading to Memory Loss in Both Diabetes Mellitus (DM) Type 1 and Type 2 Mouse Models. *Mol Neurobiol* 56:1883–1896 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s12035-018-1195-5>
- Rosenbaum DL, White KS (2013) The role of anxiety in binge eating behavior: a critical examination of theory and empirical literature. *Health Psych Res* 1:19 Available at: <http://www.pagepressjournals.org/index.php/hpr/article/view/hpr.2013.e19>
- Rowland NE, Mukherjee M, Robertson K (2001) Effects of the cannabinoid receptor antagonist SR 141716, alone and in combination with dextroamphetamine or naloxone, on food intake in rats. *Psychopharmacology* 159:111–116 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s002130100910>
- Sanchez-Alavez M, Alboni S, Conti B (2011) Sex- and age-specific differences in core body temperature of C57Bl/6 mice. *AGE* 33:89–99 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11357-010-9164-6>
- Sanchez-Villegas A, Zazpe I, Santiago S, Perez-Cornago A, Martinez-Gonzalez MA, Lahortiga-Ramos F (2018) Added sugars and sugar-sweetened beverage consumption, dietary carbohydrate index and depression risk in the Seguimiento Universidad de Navarra (SUN) Project. *Br J Nutr* 119:211–221 Available at: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0007114517003361/type/journal_article
- Sanchis-Segura C, Cline BH, Marsicano G, Lutz B, Spanagel R (2004) Reduced sensitivity to reward in CB1 knockout mice. *Psychopharmacology* 176:223–232 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00213-004-1877-8>
- Santos CJ, Ferreira AVM, Oliveira AL, Oliveira MC, Gomes JS, Aguiar DC (2018) Carbohydrate-enriched diet predispose to anxiety and depression-like behavior after stress in mice. *Nutritional Neuroscience* 21:33–39 Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1028415X.2016.1213529>
- Sanyal AJ (2019) Past, present and future perspectives in nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 16:377–386 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41575-019-0144-8>

- Satta R, Hilderbrand ER, Lasek AW (2018) Ovarian Hormones Contribute to High Levels of Binge-Like Drinking by Female Mice. *Alcoholism Clin & Exp Res* 42:286–294 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/acer.13571>
- Satta V, Scherma M, Giunti E, Collu R, Fattore L, Fratta W, Fadda P (2016) Emotional profile of female rats showing binge eating behavior. *Physiology & Behavior* 163:136–143 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938416302359>
- Scheggi S, De Montis MG, Gambarana C (2018) Making Sense of Rodent Models of Anhedonia. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 21:1049–1065 Available at: <https://academic.oup.com/ijnp/article/21/11/1049/5104314>
- Schienle A, Schäfer A, Hermann A, Vaitl D (2009) Binge-Eating Disorder: Reward Sensitivity and Brain Activation to Images of Food. *Biological Psychiatry* 65:654–661 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322308011682>
- Schulz P, Hryhorowicz S, Rychter AM, Zawada A, Słomski R, Dobrowolska A, Krela-Kaźmierczak I (2021) What Role Does the Endocannabinoid System Play in the Pathogenesis of Obesity? *Nutrients* 13:373 Available at: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/2/373>
- Schulz S, Laessle RG (2010) Associations of negative affect and eating behaviour in obese women with and without binge eating disorder. *Eat Weight Disord* 15:e287–e293 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/BF03325311>
- Schur EA, Melhorn SJ, Oh S-K, Lacy JM, Berkseth KE, Guyenet SJ, Sonnen JA, Tyagi V, Rosalynn M, De Leon B, Webb MF, Gonsalves ZT, Fligner CL, Schwartz MW, Maravilla KR (2015) Radiologic evidence that hypothalamic gliosis is associated with obesity and insulin resistance in humans: Hypothalamic Gliosis in Humans. *Obesity* 23:2142–2148 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/oby.21248>
- Schwarz J-M, Noworolski SM, Wen MJ, Dyachenko A, Prior JL, Weinberg ME, Herraiz LA, Tai VW, Bergeron N, Bersot TP, Rao MN, Schambelan M, Mulligan K (2015) Effect of a High-Fructose Weight-Maintaining Diet on Lipogenesis and Liver Fat. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 100:2434–2442 Available at: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2014-3678>
- Seibenhener ML, Wooten MC (2015) Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. *JoVE*:52434 Available at: <https://www.jove.com/t/52434/use-open-field-maze-to-measure-locomotor-anxiety-like-behavior>
- Sekkarie A, Welsh JA, Northstone K, Stein AD, Ramakrishnan U, Vos MB (2021) Associations between Free Sugar and Sugary Beverage Intake in Early Childhood and Adult NAFLD in a Population-Based UK Cohort. *Children* 8:290 Available at: <https://www.mdpi.com/2227-9067/8/4/290>
- Sharma S, Fulton S (2013) Diet-induced obesity promotes depressive-like behaviour that is associated with neural adaptations in brain reward circuitry. *Int J Obes* 37:382–389 Available at: <https://www.nature.com/articles/ijo201248>
- Shepherd JK, Grewal SS, Fletcher A, Bill DJ, Dourish CT (1994) Behavioural and pharmacological characterisation of the elevated “zero-maze” as an animal model of anxiety. *Psychopharmacology* 116:56–64 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/BF02244871>
- Shi Z, Taylor AW, Wittert G, Goldney R, Gill TK (2010) Soft drink consumption and mental health problems among adults in Australia. *Public Health Nutr* 13:1073–1079 Available at: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1368980009993132/type/journal_article
- Shinohara Y, Inui T, Yamamoto T, Shimura T (2009) Cannabinoid in the nucleus accumbens enhances the intake of palatable solution. *NeuroReport* 20:1382–1385 Available at: <https://journals.lww.com/00001756-200910070-00015>
- Shivacharan RS, Rolle CE, Barbosa DAN, Cunningham TN, Feng A, Johnson ND, Safer DL, Bohon C, Keller C, Buch VP, Parker JJ, Azagury DE, Tass PA, Bhati MT, Malenka RC, Lock JD, Halpern CH (2022) Pilot study of responsive nucleus accumbens deep brain stimulation for loss-of-control eating. *Nat Med* 28:1791–1796 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41591-022-01941-w>

- Silberberg G, Baruch K, Navon R (2009) Detection of stable reference genes for real-time PCR analysis in schizophrenia and bipolar disorder. *Analytical Biochemistry* 391:91–97 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000326970900342X>
- Simiand J, Keane M, Keane PE, Soubrié P (1998) SR 141716, a CB1 cannabinoid receptor antagonist, selectively reduces sweet food intake in marmoset. *Behav Pharmacol* 9:179–181.
- Simon MM et al. (2013) A comparative phenotypic and genomic analysis of C57BL/6J and C57BL/6N mouse strains. *Genome Biol* 14:R82 Available at: <http://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/gb-2013-14-7-r82>
- Simpson CA, Diaz-Arteche C, Eliby D, Schwartz OS, Simmons JG, Cowan CSM (2021) The gut microbiota in anxiety and depression – A systematic review. *Clinical Psychology Review* 83:101943 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272735820301318>
- Sinclair EB, Hildebrandt BA, Culbert KM, Klump KL, Sisk CL (2017) Preliminary evidence of sex differences in behavioral and neural responses to palatable food reward in rats. *Physiology & Behavior* 176:165–173 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938417300045>
- Sinclair JD (1984) Ethanol-induced conditioned taste aversion to ethanol. *Alcohol* 1:223–227 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0741832984901022>
- Sinnayah P, Jobst EE, Rathner JA, Caldera-Siu AD, Tonelli-Lemos L, Eusterbrock AJ, Enriori PJ, Pothos EN, Grove KL, Cowley MA (2008) Feeding Induced by Cannabinoids Is Mediated Independently of the Melanocortin System Verdejo García A, ed. *PLoS ONE* 3:e2202 Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0002202>
- Sirohi S, Van Cleef A, Davis JF (2017) Binge-like intake of HFD attenuates alcohol intake in rats. *Physiology & Behavior* 178:187–195 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938416305996>
- Sivanathan S, Thavartham K, Arif S, Elegino T, McGowan PO (2015) Chronic high fat feeding increases anxiety-like behaviour and reduces transcript abundance of glucocorticoid signalling genes in the hippocampus of female rats. *Behavioural Brain Research* 286:265–270 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432815001151>
- Sloan G, Selvarajah D, Tesfaye S (2021) Pathogenesis, diagnosis and clinical management of diabetic sensorimotor peripheral neuropathy. *Nat Rev Endocrinol* 17:400–420 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41574-021-00496-z>
- Small DM (2012) Flavor is in the brain. *Physiology & Behavior* 107:540–552 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938412001527>
- Small DM, Jones-Gotman M, Dagher A (2003) Feeding-induced dopamine release in dorsal striatum correlates with meal pleasantness ratings in healthy human volunteers. *NeuroImage* 19:1709–1715 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053811903002532>
- Smarr B, Rowland NE, Zucker I (2019) Male and female mice show equal variability in food intake across 4-day spans that encompass estrous cycles Mintz EM, ed. *PLoS ONE* 14:e0218935 Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0218935>
- Sneddon EA, White RD, Radke AK (2019) Sex Differences in Binge-Like and Aversion-Resistant Alcohol Drinking in C57B/6J Mice. *Alcoholism Clin & Exp Res* 43:243–249 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/acer.13923>
- Sofroniew MV (2009) Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. *Trends in Neurosciences* 32:638–647 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166223609001532>
- Sohn J-W (2015) Network of hypothalamic neurons that control appetite. *BMB Reports* 48:229–233 Available at: <http://koreascience.or.kr/journal/view.jsp?kj=E1MBB7&py=2015&vnc=v48n4&sp=229>
- Souza CG, Moreira JD, Siqueira IR, Pereira AG, Rieger DK, Souza DO, Souza TM, Portela LV, Perry MLS (2007) Highly palatable diet consumption increases protein oxidation in rat frontal cortex and anxiety-like behavior. *Life Sciences* 81:198–203 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320507003542>

- Spagnuolo MS, Iossa S, Cigliano L (2020) Sweet but Bitter: Focus on Fructose Impact on Brain Function in Rodent Models. *Nutrients* 13:1 Available at: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/1>
- Spangler R, Wittkowski KM, Goddard NL, Avena NM, Hoebel BG, Leibowitz SF (2004) Opiate-like effects of sugar on gene expression in reward areas of the rat brain. *Brain Res Mol Brain Res* 124:134–142.
- Speakman JR (2007) A Nonadaptive Scenario Explaining the Genetic Predisposition to Obesity: The “Predation Release” Hypothesis. *Cell Metabolism* 6:5–12 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S155041310700160X>
- Speakman JR (2008) Thrifty genes for obesity, an attractive but flawed idea, and an alternative perspective: the ‘drifty gene’ hypothesis. *Int J Obes* 32:1611–1617 Available at: <https://www.nature.com/articles/ijo2008161>
- Spencer SJ, Korosi A, Layé S, Shukitt-Hale B, Barrientos RM (2017) Food for thought: how nutrition impacts cognition and emotion. *npj Sci Food* 1:7 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41538-017-0008-y>
- Spruss A, Kanuri G, Wagnerberger S, Haub S, Bischoff SC, Bergheim I (2009) Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology* 50:1094–1104 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hep.23122>
- Stamatovic S, Keep R, Andjelkovic A (2008) Brain Endothelial Cell-Cell Junctions: How to “Open” the Blood Brain Barrier. *CN* 6:179–192 Available at: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1570-159X&volume=6&issue=3&spage=179>
- Statovci D, Aguilera M, MacSharry J, Melgar S (2017) The Impact of Western Diet and Nutrients on the Microbiota and Immune Response at Mucosal Interfaces. *Front Immunol* 8:838 Available at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2017.00838/full>
- Stein RI, Kenardy J, Wiseman CV, Dounchis JZ, Arnow BA, Wilfley DE (2007) What’s driving the binge in binge eating disorder?: A prospective examination of precursors and consequences. *Int J Eat Disord* 40:195–203 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eat.20352>
- Steiner JE (1973) The gustofacial response: observation on normal and anencephalic newborn infants. *Symp Oral Sens Percept*:254–278.
- Steiner JE, Glaser D, Hawilo ME, Berridge KC (2001) Comparative expression of hedonic impact: affective reactions to taste by human infants and other primates. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 25:53–74 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763400000518>
- Stephenson EJ, Stayton AS, Sethuraman A, Rao PK, Meyer A, Gomes CK, Mulcahy MC, McAllan L, Puchowicz MA, Pierre JF, Bridges D, Han JC (2022) Chronic intake of high dietary sucrose induces sexually dimorphic metabolic adaptations in mouse liver and adipose tissue. *Nat Commun* 13:6062 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41467-022-33840-6>
- Stover PJ, Field MS, Andermann ML, Bailey RL, Batterham RL, Cauffman E, Frühbeck G, Iversen PO, Starke-Reed P, Sternson SM, Vinoy S, Witte AV, Zuker CS, Angelin B (2023) Neurobiology of eating behavior, nutrition, and health. *J Intern Med*:joim.13699 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jiom.13699>
- Succurro E, Segura-Garcia C, Ruffo M, Caroleo M, Rania M, Aloia M, De Fazio P, Sesti G, Arturi F (2015) Obese Patients With a Binge Eating Disorder Have an Unfavorable Metabolic and Inflammatory Profile. *Medicine* 94:e2098 Available at: <https://journals.lww.com/00005792-201512280-00005>
- Sun W, Cornwell A, Li J, Peng S, Osorio MJ, Aalling N, Wang S, Benraiss A, Lou N, Goldman SA, Nedergaard M (2017) SOX9 Is an Astrocyte-Specific Nuclear Marker in the Adult Brain Outside the Neurogenic Regions. *J Neurosci* 37:4493–4507 Available at: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.3199-16.2017>
- Sutton AK, Myers MG, Olson DP (2016) The Role of PVH Circuits in Leptin Action and Energy Balance. *Annu Rev Physiol* 78:207–221 Available at: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-physiol-021115-105347>

- Sweeney P, O'Hara K, Xu Z, Yang Y (2017) HFD-induced energy states-dependent bidirectional control of anxiety levels in mice. *Int J Obes* 41:1237–1245 Available at: <https://www.nature.com/articles/ijo2017112>
- Szumlinski KK, Coelho MA, Lee KM, Tran T, Sern KR, Bernal A, Kippin TE (2019) DID it or DIDn't it? Exploration of a failure to replicate binge-like alcohol-drinking in C57BL/6J mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 178:3–18 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091305718300637>
- Takao K, Miyakawa T (2006) Light/dark transition test for mice. *J Vis Exp*:104.
- Tapia MA, Lee JR, Weise VN, Tamasi AM, Will MJ (2019) Sex differences in hedonic and homeostatic aspects of palatable food motivation. *Behavioural Brain Research* 359:396–400 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432818309550>
- Teegarden SL, Bale TL (2007) Decreases in Dietary Preference Produce Increased Emotionality and Risk for Dietary Relapse. *Biological Psychiatry* 61:1021–1029 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322306012200>
- Telch CF, Agras WS (1996) Do emotional states influence binge eating in the obese? *Int J Eat Disord* 20:271–279 Available at: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1098-108X\(199611\)20:3<271::AID-EAT6>3.0.CO;2-L](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1098-108X(199611)20:3<271::AID-EAT6>3.0.CO;2-L)
- Tellez LA, Han W, Zhang X, Ferreira TL, Perez IO, Shammah-Lagnado SJ, Van Den Pol AN, De Araujo IE (2016) Separate circuitries encode the hedonic and nutritional values of sugar. *Nat Neurosci* 19:465–470 Available at: <https://www.nature.com/articles/nn.4224>
- Teo PS, Lim AJ, Goh AT, Janani R, Michelle Choy JY, McCrickerd K, Forde CG (2022) Texture-based differences in eating rate influence energy intake for minimally processed and ultra-processed meals. *The American Journal of Clinical Nutrition* 116:244–254 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002916522000259>
- Thaler JP, Yi C-X, Schur EA, Guyenet SJ, Hwang BH, Dietrich MO, Zhao X, Sarruf DA, Izgur V, Maravilla KR, Nguyen HT, Fischer JD, Matsen ME, Wisse BE, Morton GJ, Horvath TL, Baskin DG, Tschöp MH, Schwartz MW (2012) Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. *J Clin Invest* 122:153–162 Available at: <http://www.jci.org/articles/view/59660>
- Todoric J et al. (2020) Fructose stimulated de novo lipogenesis is promoted by inflammation. *Nat Metab* 2:1034–1045 Available at: <https://www.nature.com/articles/s42255-020-0261-2>
- Togo J, Hu S, Li M, Niu C, Speakman JR (2019) Impact of dietary sucrose on adiposity and glucose homeostasis in C57BL/6J mice depends on mode of ingestion: liquid or solid. *Molecular Metabolism* 27:22–32 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877819302947>
- Tordoff MG, Pearson JA, Ellis HT, Poole RL (2017) Does eating good-tasting food influence body weight? *Physiology & Behavior* 170:27–31 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938416309994> [Accessed August 11, 2023].
- Touriño C, Oveisi F, Lockney J, Piomelli D, Maldonado R (2010) FAAH deficiency promotes energy storage and enhances the motivation for food. *Int J Obes* 34:557–568 Available at: <https://www.nature.com/articles/ijo2009262>
- Treede R-D et al. (2019) Chronic pain as a symptom or a disease: the IASP Classification of Chronic Pain for the International Classification of Diseases (ICD-11). *Pain* 160:19–27 Available at: <https://journals.lww.com/00006396-201901000-00003>
- Treit D, Menard J, Royan C (1993) Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 44:463–469 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/009130579390492C>
- Tulloch AJ, Murray S, Vaicekonyte R, Avena NM (2015) Neural Responses to Macronutrients: Hedonic and Homeostatic Mechanisms. *Gastroenterology* 148:1205–1218 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508515001535>

- Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444:1027–1031 Available at: <https://www.nature.com/articles/nature05414>
- Turton R, Chami R, Treasure J (2017) Emotional Eating, Binge Eating and Animal Models of Binge-Type Eating Disorders. *Curr Obes Rep* 6:217–228 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s13679-017-0265-8>
- Udo T, Grilo CM (2018) Prevalence and Correlates of DSM-5–Defined Eating Disorders in a Nationally Representative Sample of U.S. Adults. *Biological Psychiatry* 84:345–354 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322318314409>
- Udo T, Grilo CM (2019) Psychiatric and medical correlates of DSM-5 eating disorders in a nationally representative sample of adults in the United States. *International Journal of Eating Disorders* 52:42–50.
- Ullah R, Rauf N, Nabi G, Yi S, Yu-Dong Z, Fu J (2021) Mechanistic insight into high-fat diet-induced metabolic inflammation in the arcuate nucleus of the hypothalamus. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 142:112012 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332221007952>
- Ulrich-Lai YM (2016) Self-medication with sucrose. *Current Opinion in Behavioral Sciences* 9:78–83 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352154616300389>
- Valdarcos M, Robblee MM, Benjamin DI, Nomura DK, Xu AW, Koliwad SK (2014) Microglia Dictate the Impact of Saturated Fat Consumption on Hypothalamic Inflammation and Neuronal Function. *Cell Reports* 9:2124–2138 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S22111247140097232023>.
- Van Den Hoogen NJ, Harding EK, Davidson CED, Trang T (2022) Cannabinoids in Chronic Pain: Therapeutic Potential Through Microglia Modulation. *Front Neural Circuits* 15:816747 Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncir.2021.816747/full>
- Van Hees L, Didone V, Charlet-Briart M, Van Ingelgom T, Alexandre A, Quertemont E, Nguyen L, Laguesse S (2022) Voluntary alcohol binge-drinking in adolescent C57Bl6 mice induces delayed appearance of behavioural defects in both males and females. *Addiction Biology* 27 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/adb.13102>
- Vargas-Soria M, García-Alloza M, Corraliza-Gómez M (2023) Effects of diabetes on microglial physiology: a systematic review of in vitro, preclinical and clinical studies. *J Neuroinflammation* 20:57 Available at: <https://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12974-023-02740-x>
- Veit R, Schag K, Schopf E, Borutta M, Kreutzer J, Ehlis A-C, Zipfel S, Giel KE, Preissl H, Kullmann S (2021) Diminished prefrontal cortex activation in patients with binge eating disorder associates with trait impulsivity and improves after impulsivity-focused treatment based on a randomized controlled IMPULS trial. *NeuroImage: Clinical* 30:102679 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213158221001236>
- Veniaminova E, Cesuglio R, Chernukha I, Schmitt-Boehrger AG, Morozov S, Kalueff AV, Kuznetsova O, Anthony DC, Lesch K-P, Strekalova T (2020) Metabolic, Molecular, and Behavioral Effects of Western Diet in Serotonin Transporter-Deficient Mice: Rescue by Heterozygosity? *Front Neurosci* 14:24 Available at: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2020.00024/full>
- Virchow (1856) Gesammelte Abbildung zur wissenschaftlichen Medizin, Verlag von Meidinger Sohn&Comp.
- Volkow ND, Morales M (2015) The Brain on Drugs: From Reward to Addiction. *Cell* 162:712–725 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.046>.
- Volkow ND, Wise RA, Baler R (2017) The dopamine motive system: implications for drug and food addiction. *Nat Rev Neurosci* 18:741–752 Available at: <https://www.nature.com/articles/nrn.2017.130>
- von Holstein-Rathlou S et al. (2016) FGF21 Mediates Endocrine Control of Simple Sugar Intake and Sweet Taste Preference by the Liver. *Cell Metabolism* 23:335–343 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S155041311500618X>

- Vos T et al. (2017) Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet* 390:1211–1259 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673617321542>
- Vranjkovic O, Winkler G, Winder DG (2018) Ketamine administration during a critical period after forced ethanol abstinence inhibits the development of time-dependent affective disturbances. *Neuropsychopharmacol* 43:1915–1923 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41386-018-0102-0>
- Waise TMZ, Toshinai K, Naznin F, NamKoong C, Md Moin AS, Sakoda H, Nakazato M (2015) One-day high-fat diet induces inflammation in the nodose ganglion and hypothalamus of mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 464:1157–1162 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X15303272>
- Wake C, Schneider JA, Stein TD, Bregu J, Labadorf A, McKee A, De Jager PL, Bennett DA, Seshadri S, Myers RH, DeStefano AL (2022) RNA-sequencing of human post-mortem hypothalamus and nucleus accumbens identifies expression profiles associated with obesity. *Genomics*. Available at: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2022.01.08.473382>
- Wald C, Wu C (2010) Of Mice and Women: The Bias in Animal Models. *Science* 327:1571–1572 Available at: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.327.5973.1571>
- Walf AA, Frye CA (2007) The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc* 2:322–328 Available at: <https://www.nature.com/articles/nprot.2007.44>
- Walton J, Bell H, Re R, Nugent AP (2023) Current perspectives on global sugar consumption: definitions, recommendations, population intakes, challenges and future direction. *Nutr Res Rev* 36:1–22 Available at: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S095442242100024X/type/journal_article
- Wang GH (1925) AGE AND SEX DIFFERENCES IN THE DAILY FOOD-INTAKE OF THE ALBINO RAT. *American Journal of Physiology-Legacy Content* 71:729–735 Available at: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajplegacy.1925.71.3.729>
- Wang G-J, Geliebter A, Volkow ND, Telang FW, Logan J, Jayne MC, Galanti K, Selig PA, Han H, Zhu W, Wong CT, Fowler JS (2011) Enhanced Striatal Dopamine Release During Food Stimulation in Binge Eating Disorder. *Obesity* 19:1601–1608 Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21350434>.
- Wang X-F, Liu J-J, Xia J, Liu J, Mirabella V, Pang ZP (2015) Endogenous Glucagon-like Peptide-1 Suppresses High-Fat Food Intake by Reducing Synaptic Drive onto Mesolimbic Dopamine Neurons. *Cell Reports* 12:726–733 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211124715006889>
- Ward SJ, Dykstra LA (2005) The role of CB1 receptors in sweet versus fat reinforcement: effect of CB1 receptor deletion, CB1 receptor antagonism (SR141716A) and CB1 receptor agonism (CP-55940). *Behavioural Pharmacology* 16:381–388 Available at: <http://journals.lww.com/00008877-200509000-00010>
- Warneke W, Klaus S, Fink H, Langley-Evans SC, Voigt J-P (2014) The impact of cafeteria diet feeding on physiology and anxiety-related behaviour in male and female Sprague–Dawley rats of different ages. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 116:45–54 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091305713003080>
- Waskow C, Liu K, Darrasse-Jèze G, Guermonprez P, Ginhoux F, Merad M, Shengelia T, Yao K, Nussenzweig M (2008) The receptor tyrosine kinase Flt3 is required for dendritic cell development in peripheral lymphoid tissues. *Nat Immunol* 9:676–683 Available at: <https://www.nature.com/articles/ni.1615>
- Webber ES, Bonci A, Krashes MJ (2015) The elegance of energy balance: Insight from circuit-level manipulations. *Synapse* 69:461–474 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/syn.21837>
- Wechsler H (1992) “Binge” Drinkers at Massachusetts Colleges: Prevalence, Drinking Style, Time Trends, and Associated Problems. *JAMA* 267:2929 Available at: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.1992.03480210091038>

- Wegner KE, Smyth JM, Crosby RD, Wittrock D, Wonderlich SA, Mitchell JE (2002) An evaluation of the relationship between mood and binge eating in the natural environment using ecological momentary assessment. *Int J Eat Disord* 32:352–361 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eat.10086>
- Wei S, Hertle S, Spanagel R, Bilbao A (2021) Female mice are more prone to develop an addictive-like phenotype for sugar consumption. *Sci Rep* 11:7364 Available at: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-86797-9>
- Weiss F, Barbuti M, Carignani G, Calderone A, Santini F, Maremmani I, Perugi G (2020) Psychiatric Aspects of Obesity: A Narrative Review of Pathophysiology and Psychopathology. *JCM* 9:2344 Available at: <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/8/2344>
- White AM, Tapert S, Shukla SD (2018) Binge Drinking. *Alcohol research : current reviews* 39:1–3.
- Williams CM, Kirkham TC (1999) Anandamide induces overeating: Mediation by central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology* 143:315–317.
- Williams CM, Rogers PJ, Kirkham TC (1998) Hyperphagia in pre-fed rats following oral δ 9-THC. *Physiology & Behavior* 65:343–346 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003193849800170X>
- Willner P (2005) Chronic Mild Stress (CMS) Revisited: Consistency and Behavioural-Neurobiological Concordance in the Effects of CMS. *Neuropsychobiology* 52:90–110 Available at: <https://www.karger.com/Article/FullText/87097>
- Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R (1987) Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology* 93 Available at: <http://link.springer.com/10.1007/BF00187257>
- Wolfe BE, Baker CW, Smith AT, Kelly-Weeder S (2009) Validity and utility of the current definition of binge eating. *International Journal of Eating Disorders* 42:674–686.
- Woodhams SG, Chapman V, Finn DP, Hohmann AG, Neugebauer V (2017) The cannabinoid system and pain. *Neuropharmacology* 124:105–120 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002839081730285X>.
- World Health Organization (2015) Guideline: sugars intake for adults and children. Geneva: World Health Organization. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/149782>
- World Health Organization (2019) International statistical classification of diseases and related health problems (11th ed.).
- Wu J, Cai Y, Wu X, Ying Y, Tai Y, He M (2021) Transcardiac Perfusion of the Mouse for Brain Tissue Dissection and Fixation. *BIO-PROTOCOL* 11 Available at: <https://bio-protocol.org/e3988>
- Xi Z-X, Peng X-Q, Li X, Song R, Zhang H-Y, Liu Q-R, Yang H-J, Bi G-H, Li J, Gardner EL (2011) Brain cannabinoid CB2 receptors modulate cocaine's actions in mice. *Nature Neuroscience* 14:1160–1166 Available at: <http://www.nature.com/articles/nn.2874>.
- Xiong X-D, Xiong W-D, Xiong S-S, Chen G-H (2018) Age- and Gender-Based Differences in Nest-Building Behavior and Learning and Memory Performance Measured Using a Radial Six-Armed Water Maze in C57BL/6 Mice. *Behavioural Neurology* 2018:1–7 Available at: <https://www.hindawi.com/journals/bn/2018/8728415/>
- Xu C, Xiong Q, Tian X, Liu W, Sun B, Ru Q, Shu X (2022) Alcohol Exposure Induces Depressive and Anxiety-like Behaviors via Activating Ferroptosis in Mice. *IJMS* 23:13828 Available at: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/22/13828>
- Xu M-X, Yu R, Shao L-F, Zhang Y-X, Ge C-X, Liu X-M, Wu W-Y, Li J-M, Kong L-D (2016) Up-regulated fractalkine (FKN) and its receptor CX3CR1 are involved in fructose-induced neuroinflammation: Suppression by curcumin. *Brain, Behavior, and Immunity* 58:69–81 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159116300010>
- Xu N, Tang X-H, Pan W, Xie Z-M, Zhang G-F, Ji M-H, Yang J-J, Zhou M-T, Zhou Z-Q (2017) Spared Nerve Injury Increases the Expression of Microglia M1 Markers in the Prefrontal Cortex of Rats and Provokes Depression-Like Behaviors. *Front Neurosci* 11 Available at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2017.00209/full>

- Xu TJ, Reichelt AC (2018) Sucrose or sucrose and caffeine differentially impact memory and anxiety-like behaviours, and alter hippocampal parvalbumin and doublecortin. *Neuropharmacology* 137:24–32 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0028390818301679>
- Yagin NL, Aliasgari F, Alizadeh M, Aliasgharzadeh S, Mahdavi R (2020) Comparison of endocannabinoids levels, FAAH gene polymorphisms, and appetite regulatory substances in women with and without binge eating disorder: a cross-sectional study. *Nutrition Research* 83:86–93 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0271531720305248>
- Yalcin I, Aksu F, Belzung C (2005) Effects of desipramine and tramadol in a chronic mild stress model in mice are altered by yohimbine but not by pindolol. *European Journal of Pharmacology* 514:165–174 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014299905003262>
- Yang JL, Liu DX, Jiang H, Pan F, Ho CS, Ho RC (2016) The Effects of High-fat-diet Combined with Chronic Unpredictable Mild Stress on Depression-like Behavior and Leptin/LepR_b in Male Rats. *Sci Rep* 6:35239 Available at: <https://www.nature.com/articles/srep35239>
- Yao Y, Shi S, Yang Y, Luo B, Li M, Zhang L, Yuan X, Liu H, Zhang K (2022) Effects of chronic bubble tea administration on behavior and cognition in C57BL/6 mice. *Front Psychiatry* 13:1044052 Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsyg.2022.1044052/full>
- Yasoshima Y, Shimura T (2015) A mouse model for binge-like sucrose overconsumption: Contribution of enhanced motivation for sweetener consumption. *Physiology & behavior* 138:154–164 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.10.035>.
- Yeomans MR (1998) Taste, palatability and the control of appetite. *Proc Nutr Soc* 57:609–615 Available at: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0029665198000925/type/journal_article
- Yoneyama N, Crabbe JC, Ford MM, Murillo A, Finn DA (2008) Voluntary ethanol consumption in 22 inbred mouse strains. *Alcohol* 42:149–160 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0741832908000244>
- You DS, Hahn HA, Welsh TH, Meagher MW (2020) Hyperalgesia after a Drinking Episode in Young Adult Binge Drinkers: A Cross-Sectional Study. *Alcohol and Alcoholism* 55:608–615 Available at: <https://academic.oup.com/alcalc/article/55/6/608/5849134>
- Yousefi R, Panahi Moghaddam SA, Salahi H, Woods R, Abolhasani M, Eini-Zinab H, Saidpour A (2022) Food Addiction and Binge Eating Disorder in Relation to Dietary Patterns and Anthropometric Measurements: A Descriptive-Analytic Cross-Sectional Study in Iranian Adults with Obesity. *Behavioral Medicine*:1–10 Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/08964289.2022.2092442>
- Zandstra EH, De Graaf C, Van Trijp HCM, Van Staveren WA (1999) Laboratory hedonic ratings as predictors of consumption. *Food Quality and Preference* 10:411–418 Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0950329398000500>
- Zemdegs J, Martin H, Pintana H, Bullich S, Manta S, Marqués MA, Moro C, Layé S, Ducrocq F, Chattipakorn N, Chattipakorn SC, Rampon C, Pénicaud L, Fioramonti X, Guiard BP (2019) Metformin Promotes Anxiolytic and Antidepressant-Like Responses in Insulin-Resistant Mice by Decreasing Circulating Branched-Chain Amino Acids. *J Neurosci* 39:5935–5948 Available at: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.2904-18.2019>
- Zemdegs J, Quesseveur G, Jarriault D, Pénicaud L, Fioramonti X, Guiard BP (2016) High-fat diet-induced metabolic disorders impairs 5-HT function and anxiety-like behavior in mice: Correlation between metabolic disorders and anxiety. *British Journal of Pharmacology* 173:2095–2110 Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.13343>
- Zeng L, Alongkronrusmee D, Van Rijn RM (2017) An integrated perspective on diabetic, alcoholic, and drug-induced neuropathy, etiology, and treatment in the US. *JPR Volume* 10:219–228 Available at: <https://www.dovepress.com/an-integrated-perspective-on-diabetic-alcoholic-and-drug-induced-neuro-peer-reviewed-article-JPR>
- Zhang H-Y, Gao M, Liu Q-R, Bi G-H, Li X, Yang H-J, Gardner EL, Wu J, Xi Z-X (2014) Cannabinoid CB₂ receptors modulate midbrain dopamine neuronal activity and dopamine-related behavior in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 111 Available at: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1413210111>

- Zhang HY, Gao M, Shen H, Bi GH, Yang HJ, Liu QR, Wu J, Gardner EL, Bonci A, Xi ZX (2017a) Expression of functional cannabinoid CB2 receptor in VTA dopamine neurons in rats. *Addiction Biology* 22:752–765.
- Zhang Q, Manders T, Tong AP, Yang R, Garg A, Martinez E, Zhou H, Dale J, Goyal A, Urien L, Yang G, Chen Z, Wang J (2017b) Chronic pain induces generalized enhancement of aversion. *eLife* 6 Available at: <https://elifesciences.org/articles/25302>.
- Zhang X, Yeung DCY, Karpisek M, Stejskal D, Zhou Z-G, Liu F, Wong RLC, Chow W-S, Tso AWK, Lam KSL, Xu A (2008) Serum FGF21 Levels Are Increased in Obesity and Are Independently Associated With the Metabolic Syndrome in Humans. *Diabetes* 57:1246–1253 Available at: <https://diabetesjournals.org/diabetes/article/57/5/1246/13517/Serum-FGF21-Levels-Are-Increased-in-Obesity-and>
- Zhang Y, Qi Y, Gao Y, Chen W, Zhou T, Zang Y, Li J (2023) Astrocyte metabolism and signaling pathways in the CNS. *Front Neurosci* 17:1217451 Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2023.1217451/full>
- Zhu S, Shi R, Wang J, Wang J-F, Li X-M (2014) Unpredictable chronic mild stress not chronic restraint stress induces depressive behaviours in mice. *NeuroReport* 25:1151–1155 Available at: <https://journals.lww.com/00001756-201410010-00012>
- Zucker I, Prendergast BJ, Beery AK (2021) Pervasive Neglect of Sex Differences in Biomedical Research. *Cold Spring Harb Perspect Biol*:a039156 Available at: <http://cshperspectives.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/cshperspect.a039156>

ABREVIATIONS

A

AEA : anandamide / N-arachidonoylethanolamine
2-AG : 2-arachidonoylglycerol
AGRP : peptide lié à agouti
ANSES : agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ARC: Noyau arqué

B

BED: binge eating disorder / hyperphagie boulimique
BHE : barrière hémato-encéphalique

C

CAF : cafeteria diet
CART : transcrit régulé par la cocaïne et les amphetamines
CB : récepteur cannabinoïde
CCL : chimiockine ligand
CIM-11 : classification internationale des maladies onzième édition
CPP : préférence de place conditionnée

D

D1R : récepteur dopaminergique de type 1
D2R : récepteur dopaminergique de type 2
DA : dopamine / dopaminergique
DS : striatum dorsal
DSM-5 : manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux 5^{ème} édition

E

ECS : système endocannabinoïde

EFSA : autorité européenne de sécurité des aliments
EPM : elevated plus maze/labyrinthe en croix surélevé

F

FDA : food and drug administration
FR: ratio-fixe
FST: forced swim test / nage forcée

G

GABA: acide γ -aminobutyrique
GFAP : protéine acide fibrillaire gliale
GLUT : Transporteur de glucose de type
GLP1: glucagon-like peptide-1
GPCR : récepteurs couplés aux protéines G

H

HAS : haute autorité de santé
HFD : high-fat diet/régime riche en gras
HFHS: High-fat high-sugar diet / régime riche en gras et en sucre
HS: high-sugar diet/ régime riche en sucre

I

IL : interleukine

K

KO: knock-out

L

LD: light-dark / clair/obscur
LH : hypothalamus latéral

N

NAc : noyau accumbens

NPY : neuropeptide Y
NTS : noyau du tractus solitaire
NVM : noyau ventro-médian

O

OF: open field / champ ouvert
OMS : organisation mondiale de la santé

P

PBN : noyau parabrachial
PFC : cortex préfrontal
POMC : proopiomélanocortine
PR : ratio-progressif
PVN : noyau paraventriculaire

S

SNC : système nerveux central

T

TCA : trouble du comportement alimentaire
CIM-11 : classification internationale des maladies onzième édition
TNF- α : tumor necrosis factor alpha
TST : tail suspension test / suspension par la queue

U

UST : urine sniffing test

V

VTA: l'air tegmentale ventral

W

WD: western diet

Y

YFAS: Yale food addiction scale

Consommation excessive de sucre : impact sur les réponses comportementales, la neuroinflammation et le système endocannabinoïde

Résumé

Le binge eating disorder (BED) est le trouble du comportement alimentaire le plus prévalent, caractérisé par une perte de contrôle lors de la prise alimentaire. Ce trouble psychiatrique est associé à des taux élevés de troubles émotionnels et de maladies douloureuses chroniques. L'omniprésence de sucres ajoutés dans les aliments palatables (riche en gras et en sucre) contribue à la prise de nourriture excessive, notamment par l'activation du circuit cérébral de la récompense. Les recherches montrent qu'une prise alimentaire déséquilibrée est à l'origine d'une réponse neuroinflammatoire, or le rôle du sucre dans ces mécanismes reste encore méconnu. Le système endocannabinoïde impliqué dans la régulation de la prise alimentaire et les mécanismes inflammatoires pourrait contribuer à la physiopathologie du BED. Nous avons étudié les conséquences comportementales et moléculaires d'une consommation excessive de saccharose chez des souris mâles et femelles. Nos travaux ne montrent pas d'effet du comportement de binge sur les aspects comportementaux (bien-être et nociception), malgré des signes de neuroinflammation, et l'expression des gènes du système endocannabinoïde ne semble pas altérée dans nos conditions. En revanche, la consommation excessive de saccharose en continu, lorsqu'elle est associée à des altérations métaboliques, conduit à une neuroinflammation, associée chez les femelles à une plus grande vulnérabilité émotionnelle.

Mots clés : Binge eating, saccharose, bien-être, douleur chronique, sexe, récompense, neuroinflammation

Summary

Binge Eating Disorder (BED) is the most prevalent eating disorder, characterized by a loss of control during food consumption. This psychiatric disorder is often accompanied by elevated rates of emotional disturbances and chronic painful conditions. The widespread inclusion of added sugars in palatable foods (rich in both fat and sugar) contributes to excessive eating by activating the brain's reward pathway. Research indicates that an imbalanced diet triggers a neuroinflammatory response, although the precise role of sugar in these mechanisms remains somewhat elusive. The cannabinoid system, which plays a role in regulating food intake and inflammatory processes, is believed to have a potential role in the pathophysiology of BED. We studied the behavioral and molecular consequences of excessive sucrose consumption in male and female mice. Our findings do not demonstrate behavioral alterations (well-being and nociception) due to bingeing behavior, despite signs of neuroinflammation, and cannabinoid genes expression does not seem to be impacted by our conditions. However, continuous excessive sucrose consumption, when associated with metabolic alterations, leads to neuroinflammation, and increased emotional vulnerability in females.

Key words: Binge eating, sucrose, well-being, chronic pain, sex, reward, neuroinflammation