



Journées
Francophones
de Nutrition

Bordeaux
11 - 13 décembre 2013

Le syndrome métabolique induit par un régime enrichi en fructose est promoteur d'un développement néovasculaire et d'altérations fonctionnelles dans la rétine



Magalie THIERRY

Directeur de thèse : Lionel BRETILLON

Équipe Œil, nutrition et signalisation cellulaire

Centre des sciences du goût et de l'alimentation

DIJON



Centre des Sciences
du Goût et de
l'Alimentation



* Déclaration d'intérêts en rapport avec la présentation

➤ Activités de conseil, fonctions de gouvernance, rédaction de rapports

Oui *

Société(s) : *Horus Pharma*

➤ Essais cliniques, autres travaux, communications de promotion

Non

Société(s) :

➤ Intérêts financiers (actions, obligations)

Non

Société(s) :

➤ Liens avec des personnes ayant des intérêts financiers ou impliquées dans la gouvernance

Non

Société(s) :

➤ Réception de dons sur une association dont je suis responsable

Non

Société(s) :

➤ Détention d'un brevet, rédaction d'un ouvrage utilisé par l'industrie

Non

Société(s) :

Organisation de l'œil et de la rétine

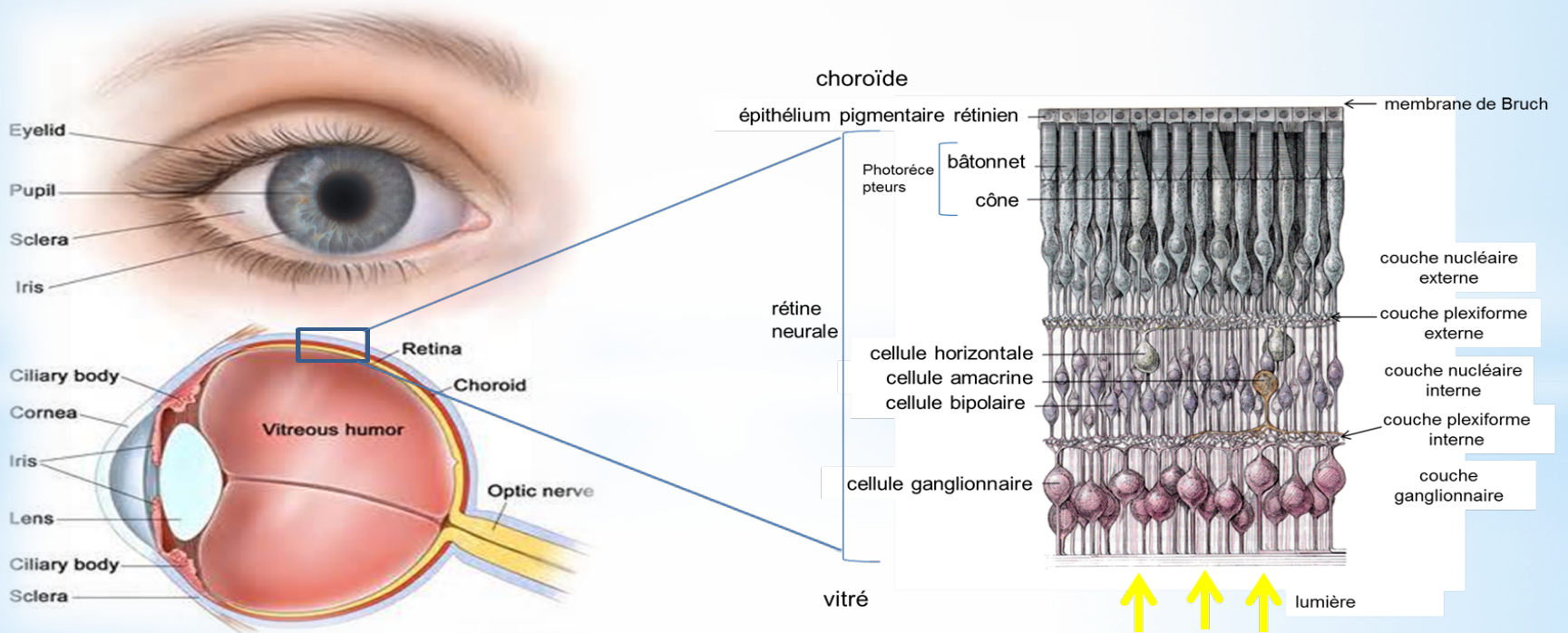


Fig 1 : Organisation structurale et cellulaire de la rétine
Adapté de Hubel, 1988

Syndrome métabolique et régime fructose

Une épidémie mondiale d'obésité

- 1,5 milliard de personnes en surpoids
- 500 millions d'obèses

L'obésité viscérale = facteur de risque

→ Syndrome métabolique

Syndrome X (Reaven , 1988) = ensemble de symptômes

- Résistance à l'insuline
- Intolérance au glucose
- Augmentation de triacylglycérols
- Diminution de HDL, augmentation de LDL

→ Pathologies cardio-vasculaires, hypertension, diabète de type 2

Le fructose

- Adapté à l'animal = un bon modèle de SM



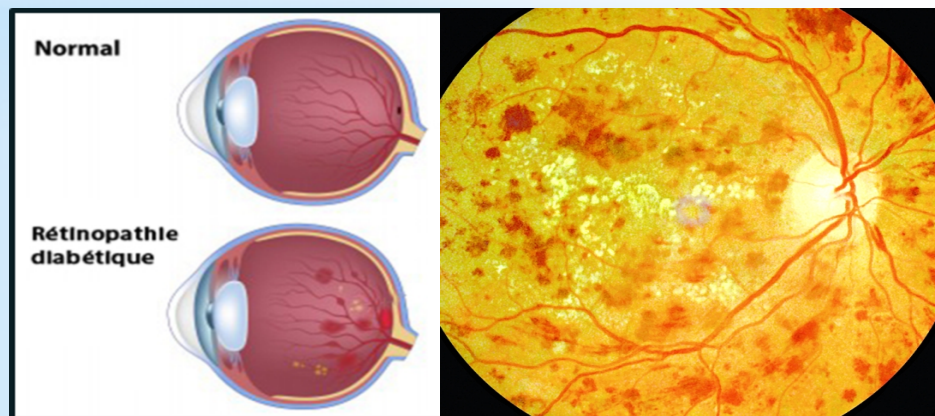
De l'insulinorésistance au diabète et ses complications

Hyperglycémie

→ fragilisation des vaisseaux sanguins

30 à 40% des patients diabétiques → **Rétinopathie diabétique**

Le DNR = complication du diabète → 60% des patients diabétiques après 15 ans d'évolution



Objectifs et protocole expérimental

Régime **Standard** / **60% Fructose**



96 Rats Brown Norway mâles âgés de 6 semaines

- ❖ Conséquences néovasculaires
- ❖ Atteintes des fonctionnalités de la rétine



1 mois

3 mois

6 mois

Prélèvements



Analyses plasmatiques

Analyses lipidiques

Analyse de l'expression des gènes

Electrorétinographies

Flicker, Scotopique simple Flash, STR, potentiels oscillatoires



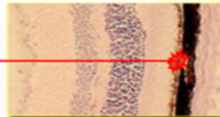
Composition corporelle (EchoMRI)



Modèle de Neovascularisation choroïdienne

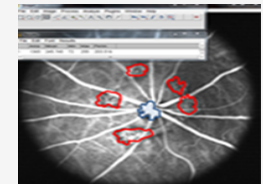
Induction impacts laser

Argon Laser induced CNV in rats
(5 to 6 impacts, 300mW, 50 ms, 75 µm)



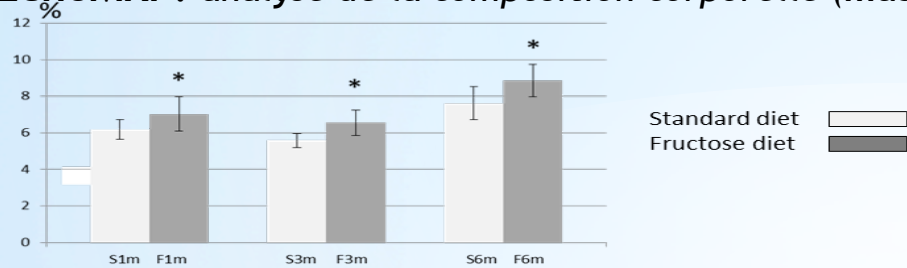
Suivi par angiographie confocale à balayage laser (HRA)
I.V produits de contraste

Quantification CNV



Paramètres physiologiques

EchoMRI : analyse de la composition corporelle (masse grasse, masse maigre)



-> Augmentation de masse grasse (+17%)

Analyses plasmatiques (insuline et leptine évaluées par Luminex)

	Glucose (mmol/l)	Insulin (pg/ml)	Leptin (pg/mL)
Standard 1M	6.63 +/- 1.22	244.97 +/- 191.66	576.98 +/- 308.62
Fructose 1M	6.43 +/- 0.35	167.6 +/- 108.55	983.9 +/- 375.08 *
Standard 3M	7.28 +/- 0.80	529.92 +/- 170.91	394.55 +/- 113.84
Fructose 3M	8.20 +/- 1.09	787.79 +/- 325.04 *	865.15 +/- 313.85 *
Standard 6M	7.29 +/- 0.99	1030.85 +/- 492.21	902.16 +/- 473.20
Fructose 6M	7.28 +/- 0.72	2115 +/- 977.67 *	906.60 +/- 710.61

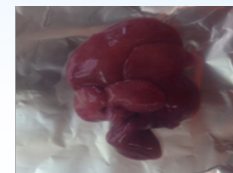
-> Hyperleptinémie + hyperinsulinémie

Analyses lipidiques des foies

Foie	Standard	Fructose
Poids (g)	7.1 +/- 0.6	9.6 +/- 0.8 * p=0.04
Cholestérol (%)	2.9 +/- 0.3	1.5 +/- 0.5 ** p<0.01
Phospholipides (%)	83.5 +/- 4.5	43.3 +/- 10.0 ** p<0.01
TAG (%)	10 +/- 3.7	51.4 +/- 10.9 ** p<0.01



Standard

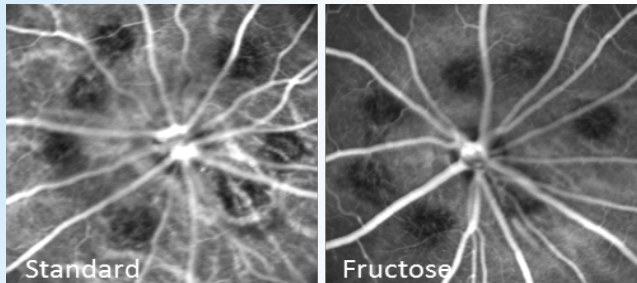


Fructose

-> Stéatose hépatique (1,3mois de régime)

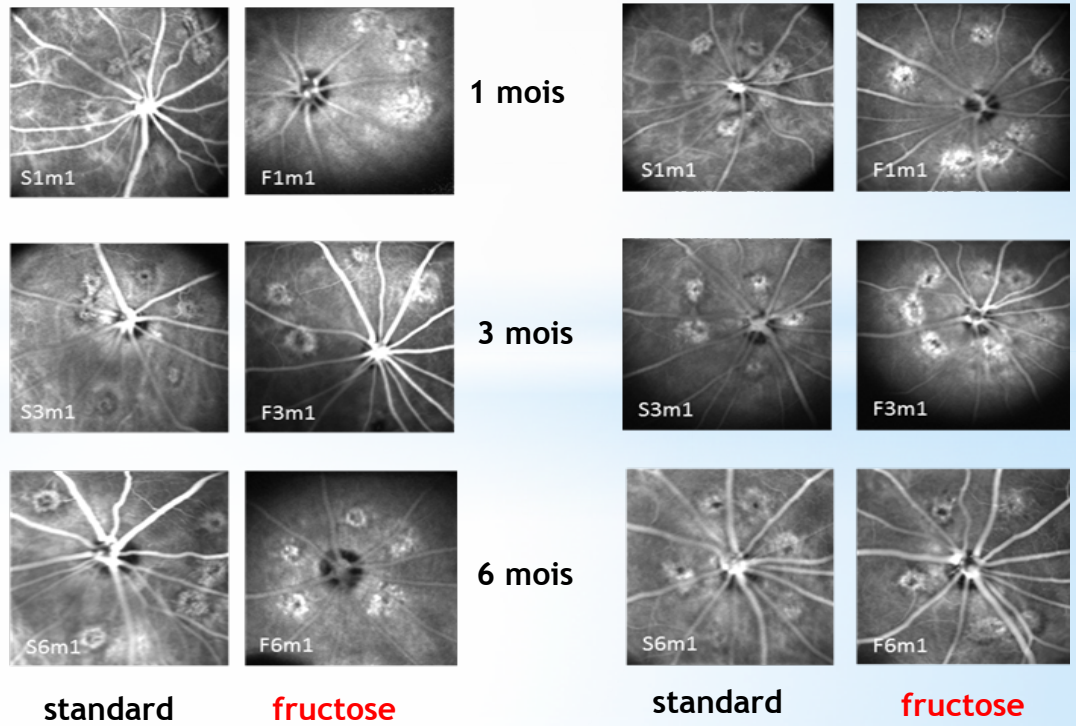
Modèle de néovascularisation CNV

A 1 semaine après l'induction d'impacts laser

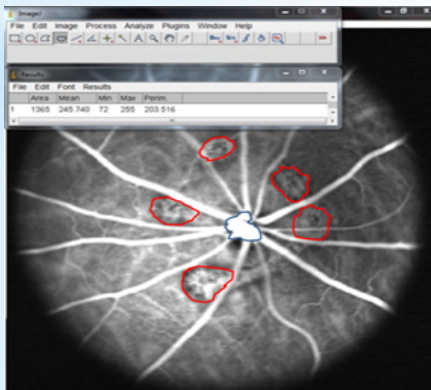


B 2 semaines après l'induction d'impacts laser 3 semaines après l'induction d'impacts laser

B



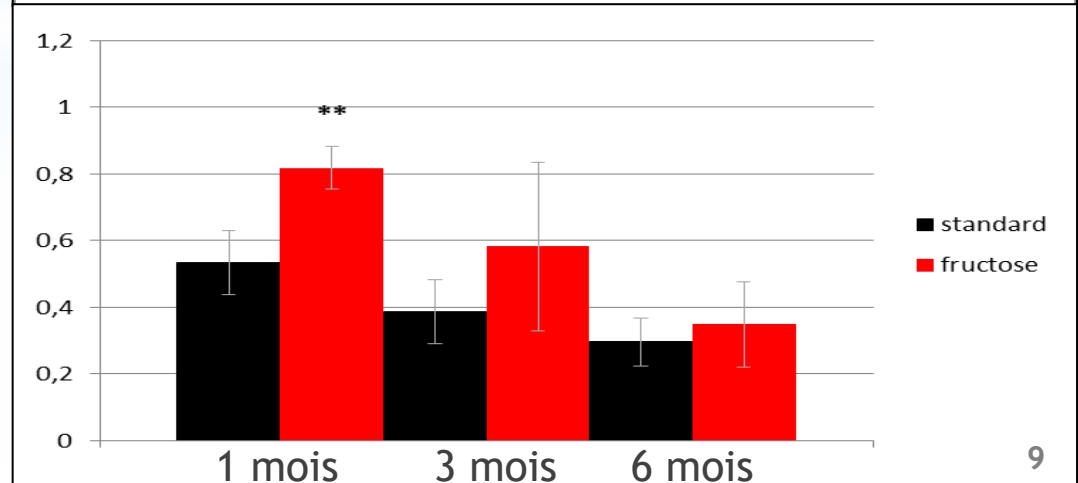
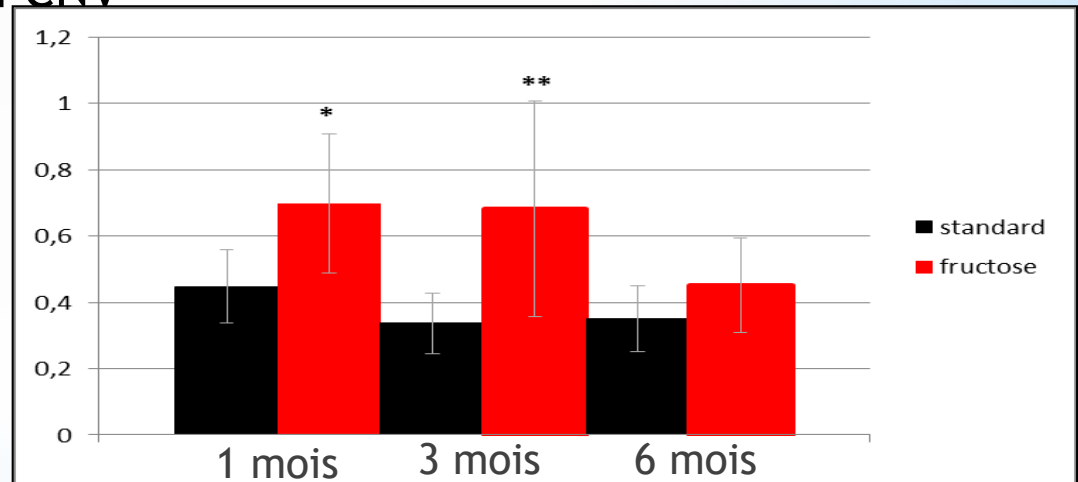
C Quantification par Image J



Modèle de néovascularisation CNV

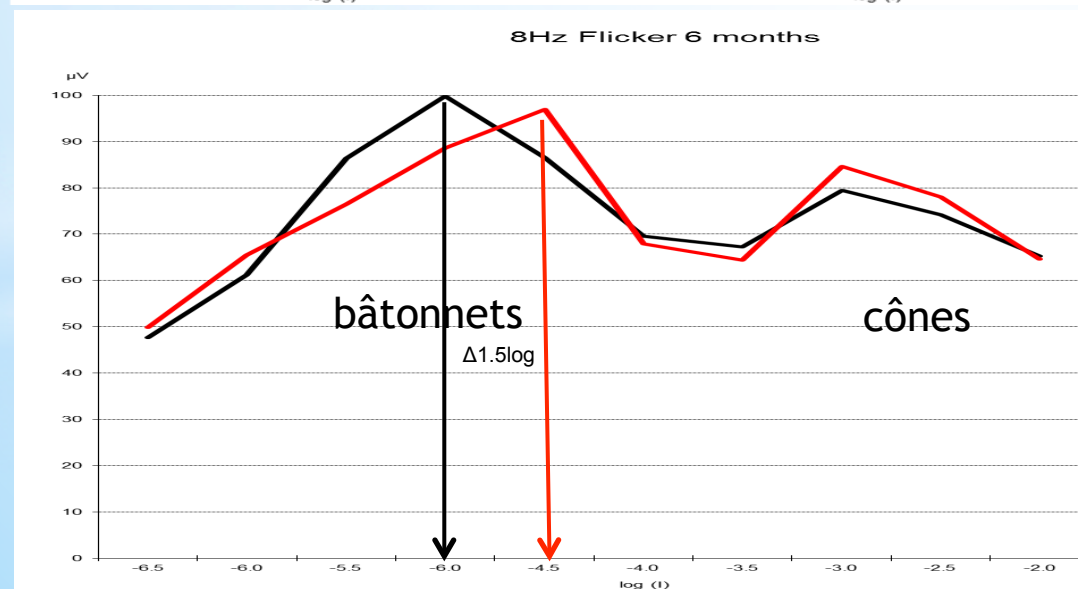
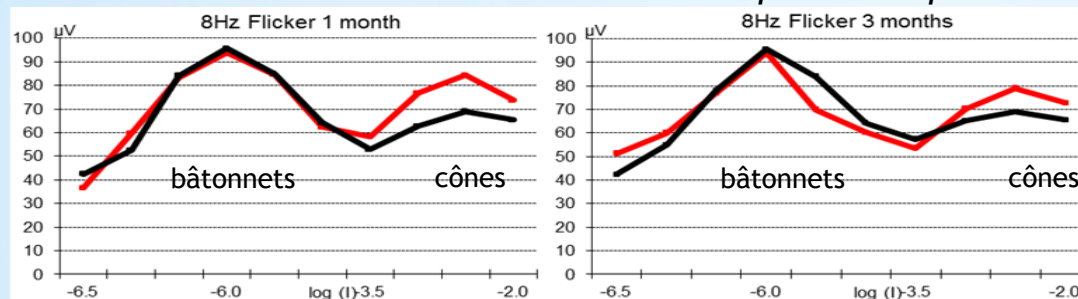
→ 2 semaines après l'induction d'impacts laser

→ 3 semaines après l'induction d'impacts laser



Electrorétinographies

Flicker 8Hz : Étude de la sensibilité des photorécepteurs



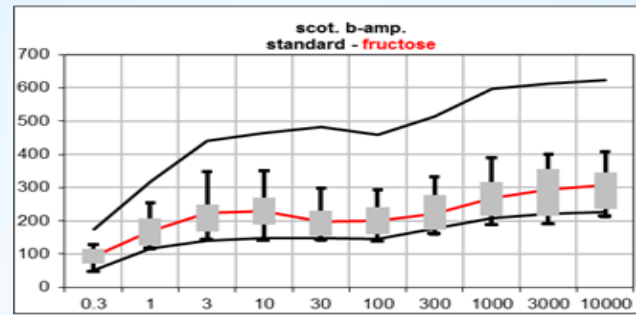
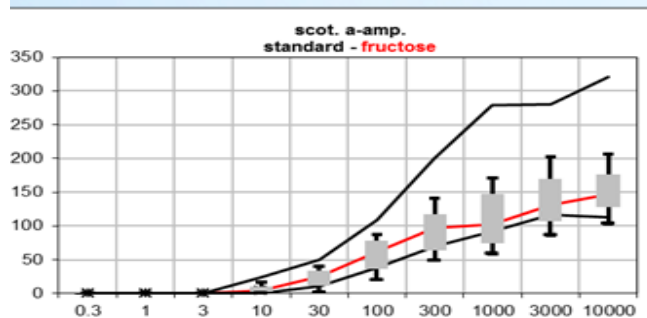
→ Décalage vers la droite de la réponse maximale des photorécepteurs de type bâtonnet

→ Diminution de la sensibilité des bâtonnets

(Seeliger et al, Nat. genetics, 2001)

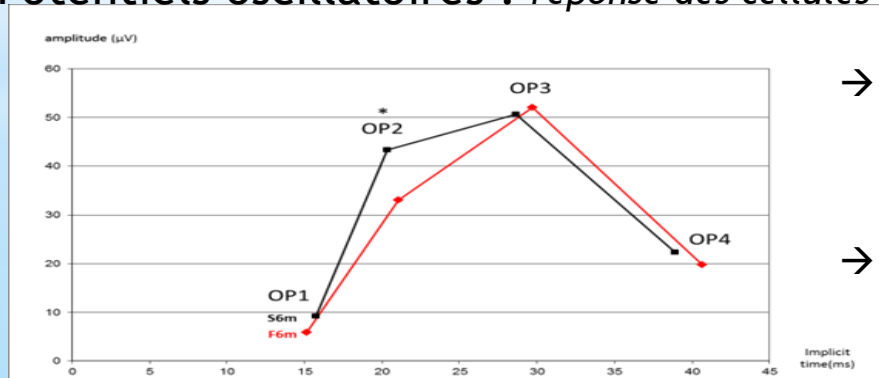
Electrorétinographies

Scotopique simple flash : *réponse fonctionnelle des photorécepteurs et de la rétine interne*



→ Tendance vers une diminution d'amplitude de l'onde A et B

Potentils oscillatoires : *réponse des cellules bipolaires*



- Diminution d'amplitude des potentiels oscillatoires associée à une plus grande probabilité de développer une rétinopathie diabétique (Vadalà et al, 2002)
- Diminution des OP chez rats soumis à injection de Streptozotocine (8 semaines) (Kohzaki K. et al, 2008)

Analyse de l'expression génique par RT-qPCR

→ Surexpression de facteurs pro-angiogéniques

VegfA et Leptine

▪ Cohérent avec données obtenues par angiographie

- ❑ 1 mois mort cellulaire **Mapk8** ($p \leq 0.01$)
- ❑ 3 mois métabolisme lipidique : **Lcat** et **Cd36** ($p \leq 0.05$)
mort cellulaire : **Tnf**
mise en place du diabète : **Irs1**, **slc2a2**
différents facteurs nucléaires : **Lxr**, **Rxrg**
- ❑ 6 mois sous expression **Apoa4**, **ApoB** ($p \leq 0.05$)
sous-expression de **Abca4**

▪ Cohérent avec données de l'ERG



Conclusion

Modèle = Terrain favorable à l'installation de complications microvasculaires

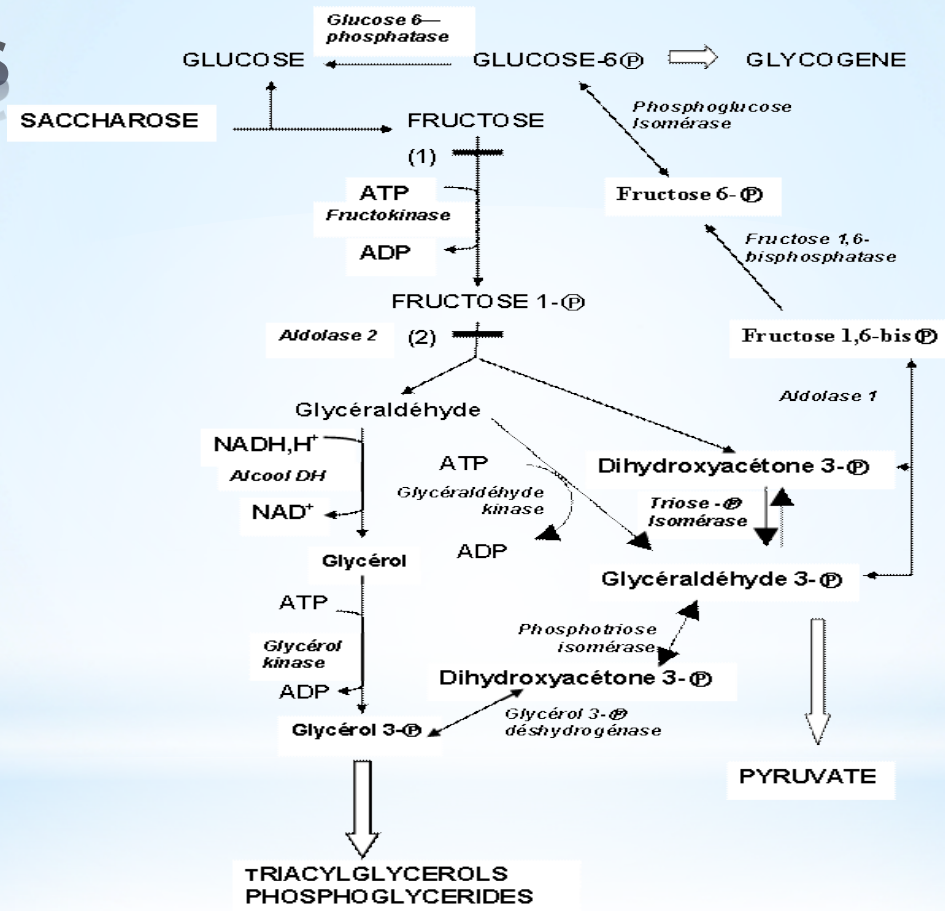
→ Complications et dysfonctionnements intervenant très précocement

Limites : 6 mois

→ adaptation de l'organisme à l'environnement diabétogène ?



Annexes



15
Fig 1 : Métabolisme du fructose

Annexes

	Fructose-enriched diet	Standard diet
	In g per kg of diet	
casein	180	180
cornstach	90	460
sucrose	0	230
fructose	600	0
cellulose	20	20
Mineral mix (a)	50	50
Vitamin mix (b)	10	10
Fat : oil mix(c)	50	50

(a) Composition (g/kg): sucrose, 110.7; CaCO₃, 240; K₂HPO₄, 215; CaHPO₄, 215; MgSO₄·7H₂O, 100; NaCl, 60; MgO, 40; FeSO₄·7H₂O, 8; ZnSO₄,

7H₂O, 7; MnSO₄·H₂O, 2; CuSO₄·5H₂O, 1; Na₂SiO₇·3H₂O, 0.5; AlK(SO₄)₂·12H₂O, 0.2; K₂CrO₄, 0.15; NaF, 0.1; NiSO₄·6H₂O, 0.1; H₂BO₃, 0.1; CoSO₄·7H₂O, 0.05; KIO₃, 0.04; (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O, 0.02; LiCl, 0.015; Na₂SeO₃, 0.015; NH₄VO₃, 0.01.

(b) Composition (g/kg): sucrose, 549.45; retinyl acetate, 1; cholecalciferol, 0.25; DL-tocopheryl acetate, 20; phylloquinone, 0.1; thiamine HCl, 1; riboflavin, 1; nicotinic acid, 5; calcium pantothenate, 2.5; pyridoxine HCl, 1; biotin, 1; folic acid, 0.2; cyanocobalamin, 2.5; choline HCl, 200; DL-methionine, 200; p-aminobenzoic acid, 5; inositol, 10.

**(c) Composition of the oil mix(%) : Rapeseed oil 18.7; Oleic oil 38.1 ; Sunflower oil 5 ; Palm oil 38.1
Ω6/Ω3 = 7.5**