

Article original

# La restriction sodée prévient le remodelage cardiovasculaire dans l'insulinorésistance chez le rat

*Sodium restriction prevents cardiovascular remodeling associated with insulin-resistance in the rat*

C. Rugale, C. Oudot, C. Desmetz, C. Guzman, A. Lajoix, B. Jover\*

EA7288, groupe rein et hypertension, PRES Sud de France, institut universitaire de recherche clinique, 641, avenue du Doyen-Gaston-Giraud, 34093 Montpellier cedex 5, France

Reçu le 31 janvier 2013 ; accepté le 8 mars 2013

Disponible sur Internet le 28 mars 2013

## Résumé

*But de l'étude.* – L'objectif de ce travail était d'évaluer l'influence de la restriction de l'apport alimentaire en sodium sur les changements de la morphologie cardiaque et vasculaire associés à une insulinorésistance.

*Animaux et protocoles.* – À huit semaines d'âge, les rats reçoivent soit un régime contenant 60 % de fructose avec (0,64 %) ou sans (<0,01 %) sodium, soit une alimentation standard (0,64 % de NaCl) pendant 12 semaines.

*Résultats.* – L'augmentation de l'HOMA index et de l'insulinémie à jeun confirme l'installation d'une insulinorésistance. Le régime fructose s'accompagne d'une hypertrophie cardiaque et vasculaire ainsi que d'une augmentation de la proportion de collagène indiquant une fibrose cardiaque. Aucune variation significative de la pression artérielle ou de l'expression de l'ARNm de l'aldostérone synthétase n'est notée. En revanche, on observe une augmentation du stress oxydant, évalué par la fluorescence du dihydroéthidium (DHE), dans le tissu cardiaque. Le régime désodé prévient l'insulinorésistance, l'augmentation de la masse cardiaque et la fibrose cardiaque de même que l'élévation de l'aire de section de la carotide. Parallèlement, le marquage du DHE est normalisé dans le tissu cardiaque des rats nourris par le régime fructose sans sodium.

*Conclusion.* – La prévention de l'élévation du stress oxydant est très probablement l'un des mécanismes impliqués dans l'effet favorable de la réduction de la consommation de sodium sur les altérations cardiovasculaires associées à une insulinorésistance d'origine alimentaire.

© 2013 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

*Mots clés :* Régime fructose ; Anion superoxyde ; Remodelage cardiaque ; Hypertrophie vasculaire ; Aldostérone synthétase

## Abstract

*Aim of the study.* – In the present work, the objective was to evaluate the influence of a dietary sodium restriction on cardiovascular morphology changes associated with insulin-resistance.

*Animals and protocol.* – At 8 weeks of age, rats were fed for 12 weeks a 60%-fructose diet containing a regular sodium content (0.64%) or totally lacking in sodium chloride (<0.01%). A group of rats fed a wheat starch-based diet with regular sodium content served as control group.

*Results.* – Elevated HOMA index and plasma insulin confirm the presence of insulin-resistance in fructose-fed rats. Concomitantly, an increase in cardiac mass and in cardiac collagen (Sirius red staining) was detected without obvious change in arterial pressure or cardiac aldosterone synthase mRNA expression. In addition, cross-sectional area of the carotid artery was higher in fructose-fed rats. Production of superoxide anion, equated with dihydroethidium (DHE) staining, was enhanced in cardiac tissue of rats with insulin-resistance. Withdrawal of sodium from the fructose diet prevented all the cardiovascular effects of fructose consumption, including DHE staining.

*Conclusion.* – These results are in favor of the participation of oxidative stress normalization in the beneficial influence of dietary sodium deprivation on cardiovascular remodeling in this model of insulin-resistance in rats.

© 2013 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

*Keywords:* Fructose diet; Superoxide anion; Cardiac remodeling; Vascular hypertrophy; Aldosterone synthase

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [bernard.jover@inserm.fr](mailto:bernard.jover@inserm.fr) (B. Jover).

## 1. Introduction

Chez l'homme, l'augmentation de la consommation de fructose serait impliquée dans le développement de l'obésité et du syndrome métabolique [1]. Elle s'accompagnerait d'atteintes cardiaques comme illustré par l'augmentation du contenu en collagène et d'une dysfonction diastolique chez des patients insulino-résistants [2]. L'augmentation de la consommation de ce sucre simple provoque chez le rat de nombreuses altérations métaboliques dont une résistance hépatique et musculaire à l'insuline. Chez le rat soumis à un régime enrichi en fructose, cette insulino-résistance s'accompagne comme chez l'homme de modifications cardiaques dont une augmentation de la masse cardiaque [3,4]. Dans un modèle de diabète de type 2 non obèse, le rat Goto Kakizaki, le remodelage du ventricule gauche précède le diabète de type 2 [5], suggérant que l'altération débute dans la phase d'insulino-résistance. Ce remodelage est caractérisé par une hypertrophie marquée des cardiomyocytes et une augmentation des dépôts de la matrice extracellulaire qui se traduit par une augmentation de la taille du cœur en l'absence de changements ultrastructuraux.

Divers facteurs peuvent intervenir dans les atteintes des organes cibles de maladies complexes et chroniques. Dans l'hypertension artérielle, l'ingestion de sodium apparaît comme un modulateur des atteintes cardiaques tant chez l'homme [6] que chez l'animal [7,8]. Dans l'insulino-résistance, nous avons récemment montré que l'effet bénéfique de la restriction de l'apport alimentaire en sodium prévenait aussi les atteintes rénales [9,10]. Ces effets sont peu liés à un effet tensionnel et pourraient être le résultat d'une amélioration de la sensibilité à l'insuline comme observé chez l'homme à court terme [11] mais pas chez l'animal où une diminution de la sensibilité à l'insuline est rapportée [12]. Plus probablement, l'effet bénéfique de la restriction sodée est en rapport avec une prévention de l'installation d'un stress oxydant et d'une inflammation au niveau des tissus concernés.

L'hypothèse principale de cette étude est que les modifications morphologiques cardiaque et vasculaire associées à un régime riche en fructose peuvent être prévenues par une restriction en sodium alimentaire. L'objectif spécifique est d'évaluer la participation du stress oxydant au niveau du muscle cardiaque dans ce modèle représentant un stade précoce précédant l'hyperglycémie et le diabète [13]. Parallèlement, une analyse biomoléculaire de l'expression cardiaque des gènes de l'aldostérone a été réalisée.

## 2. Animaux et méthodes

L'étude est réalisée en accord avec la réglementation française et européenne sur l'utilisation et le conditionnement des animaux de laboratoire (Permis B-3417226 – EEA 34179).

### 2.1. Animaux et protocole

Des rats mâles Sprague Dawley ( $n = 24$ ) de 200–220 g au début de l'étude (Charles River ; L'Arbresle, France) sont nourris pendant 12 semaines avec une nourriture solide à base de

fructose (60 %) contenant soit une quantité habituelle de sodium (0,64 % NaCl, régime normosodé fructose [NSF],  $n = 8$ ) soit totalement dépourvu de sodium ( $< 0,01$  % NaCl, régime désodé fructose [DSF],  $n = 8$ ) et de l'eau en boisson. Un groupe de rat consommant une alimentation standard (A04, UAR, Épinay-sur-Orge,  $n = 9$ ) contenant 0,64 % de NaCl (régime normosodé standard [NSS],  $n = 8$ ) sert de groupe témoin.

### 2.2. Paramètres métaboliques, glycémiques et pression artérielle

La dernière semaine de l'étude, les animaux sont placés en cage à diurèse individuelle avec un accès libre à l'eau et la nourriture. Après trois jours de stabilisation, le poids corporel, la consommation solide et hydrique et la diurèse sont mesurés quotidiennement pendant 3 jours. La veille de l'expérimentation, un cathéter polyéthylène est implanté sous anesthésie dans la carotide droite et placé sous la peau du cou. Les rats sont mis à jeun toute une nuit. Le lendemain, le cathéter est externalisé et la pression artérielle est mesurée chez l'animal vigile suivie d'un premier prélèvement (200  $\mu$ L) de sang pour la mesure de la glycémie (glucomètre Optium Xceed, Medsense) et de l'insuline (kit Elisa, Millipore). La sensibilité à l'insuline est calculée par l'index HOMA : (insuline plasmatique à jeun en  $\mu$ U/mL  $\times$  glucose plasmatique à jeun en mg/dL)/2,430 [14].

### 2.3. Morphologie cardiaque et vasculaire

L'artère carotide cathétérisée est préparée pour une perfusion-fixation de formaline 10 % à la pression standard de 100 mmHg. Après inclusion dans la paraffine, l'aire de la section de la carotide est mesurée sur des coupes de 3 à 5  $\mu$ m après marquage à l'hématoxyline-éosine. Le cœur a été prélevé, nettoyé des tissus adjacents et les différentes chambres ont été découpées (oreillettes, ventricule gauche avec septum, paroi du ventricule droit) et pesées. L'index de masse cardiaque est calculé comme le rapport entre les poids du cœur et du corps (mg de cœur/g de corps). Une section transverse du ventricule gauche (VG) est placée dans une solution de formaline à 10 %. Après inclusion dans la paraffine, les coupes de VG (3–5  $\mu$ m) servent à divers marquages. Le collagène est déterminé par coloration au rouge Sirius (0,1 %) dans un champ donné et exprimé en pourcentage de la superficie totale du champ. Dix à 15 champs par coupe de cœur et trois coupes de cœur par rat ont été analysés.

### 2.4. Détection de l'anion superoxyde par le DHE

La présence d'anion superoxyde est appréciée à l'aide d'une sonde fluorescente : le dihydroéthidium (DHE, Invitrogen). Après pénétration dans les cellules (2,5  $\mu$ M, 30 minutes à 37 °C dans le noir), le DHE oxydé par l'anion superoxyde forme un produit fluorescent qui s'intercale dans l'ADN. La fluorescence est visualisée (Nikon, microscope TM300 avec système de numérisation DXM1200), et la quantification s'effectue avec le logiciel d'analyse d'image (ImageJ).

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/2869021>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/2869021>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)