



OFFRE DE PROJET DE THESE DE DOCTORAT

Titre :

Métabolisme du lactate et implication dans la régulation du pH et de la perfusion musculaire : Explorations non invasives par spectroscopie de résonance magnétique

Laboratoire et lieu d'exercice :

CRMBM UMR7339 CNRS, Faculté de Médecine, Aix-Marseille Université

Directeur de thèse :

David Bendahan, Directeur de Recherche CNRS, Aix-Marseille Université

Co-directeur de thèse :

Laurent Messonier, Professeur des Universités, Université Savoie Mont Blanc

Date limite de candidature :

17 juin 2022 minuit

Elements à fournir pour la candidature :

- Un CV
- Une lettre de motivation
- Les relevés de notes universitaires [L1, L2, L3, M1 et M2 (au moins le semestre 9)]

Modalités de candidature : Envoyez par courriel les pièces requises avant la date limite à david.bendahan@univ-amu.fr et laurent.messonier@univ-smb.fr

Candidat.e recherché.e :

D'une formation universitaire solide, il/elle sera également autonome, force de propositions, motivé.e par le sujet de recherche et sociable.

Objectifs principaux :

- 1 : déterminer les concentrations musculaires du lactate de manière non-invasive *in vivo* chez l'homme au repos, à l'exercice et lors de la récupération.
- 2 : explorer de manière non-invasive *in vivo* chez l'homme le rôle du lactate dans la régulation du flux sanguin musculaire à l'exercice.
- 3 : déterminer le lien entre transport du lactate et régulation du pH musculaire *in vivo* à l'exercice grâce à un modèle de souris MCT1^{+/-}.
- 4 : explorer le rôle du lactate et de son transport sarcolemmal dans l'angiogenèse musculaire

Contexte théorique.

1. Métabolisme énergétique musculaire

La contraction musculaire est un mécanisme hautement consommateur d'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP. Compte-tenu de la quantité limitée d'ATP, il existe des mécanismes de détection permettant d'adapter la production à la demande. Ces mécanismes de production d'ATP sont classés en filières. De façon classique, on distingue les filières anaérobie alactique, anaérobie lactique et aérobie. Ce projet porte sur les mécanismes de régulation qui accompagnent la filière anaérobie lactique et indirectement sur l'importance du métabolisme du lactate sur la performance.

2. Filière anaérobie lactique et métabolisme du lactate

Dans cette filière, la dégradation du glycogène musculaire (polymère de glucose) et vraisemblablement du glucose circulant est à l'origine de la synthèse d'ATP. Glycogénolyse et glycolyse sont donc les voies métaboliques impliquées dans cette synthèse d'ATP, qui s'accompagne également d'une production de lactate (Robergs et al. 2004). Le lactate a une position centrale dans le métabolisme énergétique musculaire à l'exercice. Pour exemple, la courbe d'évolution du lactate sanguin lors de l'exercice incrémental met en évidence des points d'inflexion (seuils lactiques 1 et 2) qui sont étroitement corrélés à la performance lors d'épreuves d'endurance (course à pied, aviron, etc) (Messonnier et al. 1997). Ces seuils lactiques sont également utilisés pour gérer l'intensité de l'exercice lors de l'entraînement des athlètes (Heck et al. 1985).

3. Concentrations musculaires du lactate

Le lactate est un produit du métabolisme musculaire et de ce fait, la lactatémie n'est qu'un reflet indirect des événements musculaires. En effet, les concentrations plasmatiques de lactate reflètent non seulement la production de lactate par les muscles actifs mais aussi de nombreux autres phénomènes comme i) le transport du lactate notamment entre le muscle et sang, et ii) son élimination/recyclage principalement par oxydation (au niveau musculaire) et néoglucogénèse (au niveau hépatique) (Brooks 1986). Pour des raisons technologiques et éthiques évidentes, les concentrations musculaires du lactate ont été très peu analysées. Des données parcellaires ont été obtenues par des études invasives impliquant des biopsies musculaires effectuées avant et à l'arrêt de l'exercice (Juel et al. 1990), mais l'évolution des concentrations musculaires du lactate en temps réel au cours de l'exercice est totalement inconnue.

4. Aspects méthodologiques

La spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (sRMN) est une méthode d'exploration non invasive qui permet la mesure de différents composés d'intérêt biologique. Ainsi, la sRMN du P-31 permet d'accéder *in vivo* aux composés à haut-potentiel énergétique (ATP, PCr) et au pH. La sRMN du H-1 quant à elle permet potentiellement de détecter des composés comme la créatine et le lactate. Ainsi, des mesures du lactate ont été rapportées au niveau cérébral (Hugg et al. 1992) et dans des tissus tumoraux (Bernsen et al. 1992). Au niveau musculaire, la présence de lipides représente une contrainte technologique supplémentaire (superposition des signaux des lipides et du lactate) mais quelques groupes ont développé des méthodes d'acquisition adaptées (Pan et al. 1991, Kmiecik et al. 1997, Shen et al. 1996) que nous optimiserons dans ce projet.

5. Rationnel et Objectifs du projet

Au cours d'exercices intenses, les concentrations musculaires du lactate augmentent et un gradient de concentration en lactate a été observé entre le muscle et le sang (Juel et al. 1990), objectivant ainsi des limitations dans le transport du lactate. Cependant, l'évolution des concentrations musculaires ainsi que l'intensité de l'exercice à partir de laquelle le

gradient se met en place restent inconnues. Le premier objectif de ce projet sera de suivre *in vivo* en continu et de manière non invasive l'évolution des concentrations musculaires (sRMN) et sanguines (micro-méthode de prélèvement à l'oreille minimalement invasive) de lactate lors d'exercices incrémentaux. Cette analyse nous permettra de définir précisément les conditions d'apparition (intensité d'exercice) d'un gradient de concentration entre le muscle et le sang, signature d'une limitation dans les mécanismes de transport.

Il a été démontré que le lactate favorise la dilatation capillaire dans divers organes (rétine, cerveau, cochlée) et ce de manière dose-dépendante (Hein et al. 2006, Ido et al. 2004). A notre connaissance, le rôle du lactate dans le flux sanguin des muscles striés squelettiques n'a jamais été étudié *in vivo*. Ce sera le second objectif de notre projet.

Le transport du lactate hors de la cellule s'effectue de manière couplée à un ion H⁺ via des protéines de transport dont MCT1, suivant le gradient de concentration (Juel 1997). De ce fait, le transport du lactate et en l'occurrence MCT1 intervient de manière déterminante dans la régulation du pH musculaire. Lors d'une précédente étude utilisant la sRMN, nous avons démontré ce rôle *in vivo* au repos (Chatel et al. 2017). En revanche, l'implication du transport du lactate via MCT1 dans le métabolisme énergétique et la régulation du pH musculaires *in vivo* lors de l'exercice reste mal connue ; son étude par sRMN constituera le troisième objectif de notre projet.

Par ailleurs, la libération du lactate par le muscle pourrait favoriser l'angiogenèse. En effet, le lactate semble stabiliser l'unité HIF-1 α (Lu et al. 2002) et augmenter la production de VEGF, le facteur pro-angiogénique le plus important. Le lactate semble également améliorer l'activité angiogénique du VEGF (Kumar et al., 2007). De plus, l'effet pro-angiogénique du lactate sur les cellules endothéliales dépend des transporteurs du lactate MCT1 (Sonveaux *et al.*, 2012). Le quatrième objectif de ce projet sera donc de déterminer le rôle du lactate et de son transport sur l'angiogenèse musculaire (études histologiques).

Objectifs scientifiques/hypothèses/problématiques.

Ce projet combine des mesures non invasives réalisées chez l'homme et sur un modèle animal de défaut de transport du lactate. Deux groupes de recherche ayant une expertise complémentaire seront impliqués. Grâce à la spectrométrie et l'imagerie par résonance magnétique nucléaire (RMN) et des analyses histologiques, nos objectifs seront les suivants : i) déterminer les concentrations musculaires du lactate de manière non-invasive *in vivo* chez l'homme au repos, à l'exercice et lors de la récupération, ii) explorer le rôle du lactate dans la régulation du flux sanguin musculaire, iii) déterminer le rôle du transport du lactate dans la régulation du pH musculaire *in vivo* à l'exercice, et iv) déterminer le rôle du lactate et de son transport dans l'angiogenèse musculaire.

Verrous scientifiques à lever/enjeux/challenge.

Les outils méthodologiques (ergomètres amagnétiques, séquences IRM d'acquisition, méthodes de post-processing, micro-méthode de prélèvement à l'oreille) qui seront utilisés chez l'homme et chez l'animal dans le cadre de ce projet sont maîtrisés par les chercheurs du CRMBM et ses partenaires et l'accès aux appareils d'IRM est totalement assuré.

Grandes lignes de la méthodologie qui sera mise en œuvre.

Les accords préalables du comité de protection des personnes et du comité d'éthique pour l'animal seront requis, mais ne constituent pas un verrou.

Après des travaux d'optimisation technique, les concentrations musculaires (par RMN au niveau du quadriceps) et sanguines du lactate seront mesurées dans le cadre du premier objectif, au repos, à l'exercice incrémental et lors de la récupération subséquente chez des

sujets sains entraînés en endurance et sédentaires. Les sujets entraînés en endurance devraient présenter un retard dans l'accumulation musculaire et sanguine du lactate.

Dans le cadre du second objectif, le métabolisme énergétique (mesuré par RMN, Bendahan *et al.* 2004) et des indices de perfusion (effet Bold) musculaires seront étudiés sur le quadriceps chez des sujets au repos, à l'exercice physique et lors de la récupération. Afin de mieux déterminer le rôle spécifique du lactate dans la perfusion, un protocole utilisant un clamp lactate au repos et à l'exercice (Messonnier *et al.* 2013) sera implémenté. (En cas de verrou méthodologique, cette étude sera effectuée sur modèle murin).

Dans le cadre des troisième et quatrième objectifs, l'étude du métabolisme énergétique et en particulier du pH musculaire (par sRMN, Chatel *et al.* 2017) et de la capillarisation (par histologie, Merlet *et al.* 2019) musculaires sera effectuée sur des souris transgéniques MCT1^{+/-} dont les concentrations circulantes de lactate sont supérieures (Lengacher *et al.* 2013) et les capacités de transport du lactate via MCT1 sont réduites d'environ 50% (Chatel *et al.* 2017) par rapport à des souris « wildtype ». Les résultats seront comparés à ceux obtenus sur un groupe de souris contrôle. Ces mesures seront répétées sur deux autres groupes de souris (MCT1^{+/-} et contrôles) après huit semaines d'entraînement en endurance (connu pour stimuler l'expression protéique de MCT1 et l'angiogenèse chez des souris contrôle).

Résultats attendus.

Ce projet fournira des données totalement originales.

Objectif 1 : Le décours temporel du lactate musculaire au cours de l'exercice incrémental montre-t-il des points d'inflexion comme c'est le cas pour les concentrations sanguines ? Quand se met en place un gradient de concentration entre compartiments musculaire et sanguin ? Cela coïncide-t-il avec l'apparition du 1^{er} ou du 2^d seuil lactique ?

Objectif 2 : Quel est le lien entre perfusion musculaire et lactate circulant ? Une augmentation du lactate (clamp/perfusion) est-elle responsable d'une augmentation du débit sanguin musculaire ?

Objectif 3 : Le décours temporel du pH au cours d'un protocole standardisé de stimulation musculaire est-il affecté par l'expression de MCT1 chez des souris MCT1^{+/-} ? S'il existe un impact de MCT1 sur les mécanismes de régulation du pH, les effets bénéfiques connus de l'entraînement en endurance sur le contenu musculaire en MCT1 devraient permettre de confirmer le rôle du transport du lactate dans la régulation du pH à l'exercice.

Objectif 4 : Existe-t-il un lien entre niveaux de lactate circulant et transport sarcolemmal du lactate d'une part, et densité capillaire d'autre part ? Les effets connus de l'entraînement en endurance sur la production de lactate, son turnover et le contenu musculaire en MCT1 d'une part, et la densité capillaire d'autre part, devraient étayer de façon élégante notre hypothèse d'une implication du métabolisme du lactate et de son transport via MCT1 dans l'angiogenèse.

L'ensemble des résultats obtenus devraient apporter un éclairage nouveau sur les effets attendus du lactate et de l'acidose sur la performance musculaire.

Annexes Bibliographiques.

Bendahan *et al.* Cell Mol Life Sci. 2004 May;61(9):1001-15, Bernsen *et al.* J Neurooncol. 1992 Jun;13(2):119-30, Brooks Med Sci Sports Exerc. 1986 Jun;18(3):360-8, Chatel *et al.* FASEB J. 2017 Jun;31(6):2562-2575, Heck *et al.* Int J Sports Med. 1985 Jun;6(3):117-30, Hein *et al.* Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006 Feb;47(2):693-9, Hugg *et al.* Cereb Blood Flow Metab. 1992 Sep;12(5):734-44, Ido *et al.* Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 Jan 13;101(2):653-8, Juel Physiol Rev. 1997 Apr;77(2):321-58, Juel *et al.* Acta Physiol Scand. 1990 Oct;140(2):147-59, Kmiecik *et al.* Magn Reson Med. 1997 Jun;37(6):840-50, Kumar *et al.* J Cell Physiol. 2007 May;211(2):477-85, Lengacher *et al.* PLoS One 2013 Dec;8(12):e82505, Lu *et al.* J Biol Chem. 2002 Jun 28;277(26):23111-5, Merlet *et al.* Blood. 2019 Dec 19;134(25):2233-2241, Messonnier *et al.* Med Sci Sports Exerc. 1997 Mar;29(3):396-401, Messonnier *et al.* J Appl Physiol (1985). 2013 Jun;114(11):1593-602, Pan *et al.* Magn Reson Med. 1991 Jul;20(1):57-65, Robergs *et al.* Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2004 Sep;287(3):R502-16, Shen *et al.* Magn Reson Med. 1996 Jul;36(1):30-8, Sonveaux *et al.* PLoS One. 2012;7(3):e33418.