



HAL
open science

Déconditionnement du muscle strié squelettique chez la patiente atteinte d'un cancer du sein traité par chimiothérapie : étude de la fonction, des mécanismes cellulaires et d'une contremesure par exercice excentrique

Joris Mallard

► To cite this version:

Joris Mallard. Déconditionnement du muscle strié squelettique chez la patiente atteinte d'un cancer du sein traité par chimiothérapie : étude de la fonction, des mécanismes cellulaires et d'une contremesure par exercice excentrique. Cancer. Université de Strasbourg, 2022. Français. NNT : 2022STRAJ098 . tel-04368895

HAL Id: tel-04368895

<https://theses.hal.science/tel-04368895>

Submitted on 2 Jan 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ÉCOLE DOCTORALE 414 DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ UR 3072 –

Mitochondries, Stress oxydant et Protection musculaire Institut de

Cancérologie Strasbourg Europe

THÈSE présentée par :

Joris MALLARD

soutenue le : **09 novembre 2022**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université de Strasbourg**

Discipline/Spécialité : Sciences et techniques des activités physiques et sportives

Déconditionnement du muscle strié squelettique chez la patiente atteinte d'un cancer du sein traité par chimiothérapie : étude de la fonction, des mécanismes cellulaires et d'une contremesure par exercice excentrique

THÈSE dirigée par :

M. FAVRET Fabrice

Professeur des Universités, Université de Strasbourg

CO-ENCADRANT :

M. PAGANO Allan

Maitre de Conférences, Université de Strasbourg

RAPPORTEURS :

M. DERBRÉ Frédéric

Maitre de Conférences HDR, Université de Rennes 2

M. FREYSSINET Damien

Professeur des Universités, Université Jean Monnet, Saint-Étienne

EXAMINATEURS :

M. GONDIN Julien

Chargé de recherche, Institut NeuroMyoGène, Université Lyon 1

Mme CHOPARD Angèle

Professeur des Universités, Université de Montpellier

M. DETAPPE Alexandre

Professeur associé, Université de Strasbourg

*Cette thèse est dédiée à toutes les patientes sans qui ce travail
n'aurait jamais existé. Je vous admire Mesdames.*

REMERCIEMENTS

Nous y sommes, ma thèse se termine (enfin) ! Ce fut une véritable aventure à tous les niveaux. J'espère retrouver un rythme de sommeil normal et pouvoir prendre de vraies vacances pour profiter de mes proches, sans penser au papier qui vient d'être soumis ou celui qui est en révision. Évidemment, rien n'aurait été possible sans un réel travail d'équipe. Ces remerciements sont certes longs, mais on ne peut plus sincères. Comme seuls les écrits restent, j'espère que chacun se retrouvera à travers ces quelques mots et y verra toute ma gratitude.

Frédéric Derbré. Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. Je suis très heureux de vous compter parmi nous et j'ai hâte qu'on échange ensemble comme cela a été le cas à chacune de nos rencontres.

Damien Freyssenet. Merci d'avoir accepté de juger mon travail. J'espère que vous prendrez plaisir à le lire et que cela donnera lieu à des discussions enrichissantes.

Angèle Chopard. Je suis tellement heureux que tu fasses partie de mon jury de thèse. Je me souviens de mon premier cours à l'UFR STAPS de Montpellier en 2013 qui était avec toi. Je pense qu'on a aujourd'hui bouclé la boucle et je suis très content de te présenter mes travaux qui ont été encadrés par Allan. Merci infiniment d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir accueilli au labo à la fin de mon master 2. J'espère que tu seras fière !

Julien Gondin. Merci d'avoir accepté d'examiner cette thèse. J'espère que vous prendrez plaisir à la lire, je suis impatient d'échanger avec vous.

Alexandre Detappe. Merci d'avoir accepté d'être parmi nous pour juger mon travail. Je sais que ce n'est pas ton domaine, mais tu n'as pas hésité une seule seconde. J'espère que l'ICANS sera fier de cette thèse. Merci d'avoir toujours répondu présent à chacune de mes sollicitations. Au plaisir de bosser ensemble à l'avenir.

Xavier Pivot. Je me souviens encore de votre appel le 14 novembre 2018 : « vous voulez démarrer quand ? ». Merci d'avoir cru en moi dès le début, de m'avoir donné toute votre confiance et les moyens pour réussir. Vous avez toujours été moteur et facilitateur dans nos projets. Merci également de toujours avoir pensé à notre avenir et à nos carrières. Je suis conscient de la chance que j'ai eue de travailler dans ces conditions et j'espère que vous serez fier de moi. Maintenant un peu de repos et je me remets au boulot, nous avons encore pleins d'études à lancer, de papier à écrire et une mobilité à faire ! Je suis très heureux que l'on continue de travailler ensemble, vous êtes un exemple.

Allan Pagano. Je ne pense pas qu'il n'y ait de mot assez fort pour te témoigner ma reconnaissance. Merci Pagawan d'avoir dirigé ma thèse, c'était un vrai travail d'équipe. En même temps c'était sûr que ça se passerait bien avec nos passions communes pour la bière, le rhum, les sushis et Star Wars. Je me souviens encore quand je suis arrivé à DMeM, j'avais ta tête sur le mur de gauche et je pensais que tu étais une légende tellement qu'on me parlait de toi. J'espère que tu te souviendras de ton premier thésard, sûrement pas comme de celui qui écrivait le mieux dans le cahier de manip, mais certainement comme celui qui avait le meilleur humour ! J'ai adoré bosser et manipuler avec toi, toujours dans la bonne humeur et la confiance. Merci d'avoir toujours pris le temps de répondre à mes nombreuses questions, messages, et sollicitations. Merci également d'être venu à chacune des biopsies et à chaque lancement de manips, je sais que j'ai de la chance d'avoir eu quelqu'un d'aussi présent que toi. Tu m'as accompagné comme un grand frère et tu m'as fait progresser, tu peux être fier de toi. J'espère qu'on aura l'occasion d'encadrer ensemble à l'avenir, on a encore beaucoup trop de projets pour que ça s'arrête là. J'ai hâte de pouvoir siéger au conseil des Jedis ! Évidemment, je garderai les petites anecdotes croustillantes pour la « vraie soirée », comme ce France-Pays de Galles du tournoi des 6 nations qui s'est terminé à 3h du matin, ou encore tes petits soucis digestifs récurrents en soirée. Par contre, je ne te remercie pas pour ton déménagement et la descente du meuble télé par l'escalier qui m'a littéralement râpé la tête : « mais ça paaaaasse ». Merci également à **Guénaëlle Negre** pour tous ces moments partagés en dehors du boulot et pour avoir toujours été compréhensive (enfin j'espère haha !). Je suis très heureux que vous ayez fondé votre petite famille et je continuerai de raconter que je suis le premier à avoir vu votre princesse !

Fabrice Favret. Merci d'avoir officiellement dirigé cette thèse et d'avoir permis à Allan de m'encadrer quotidiennement. Merci de m'avoir fait confiance, je sais que tu avais quelques doutes après notre première visio où tu as vu beaucoup de bières (vides) derrière moi. Je te rassure, ça n'a pas changé ! Je t'avoue quand même que tu me faisais un peu peur au début... Merci d'avoir été réactif à chacune de mes sollicitations et merci pour toutes ces discussions scientifiques (et moins scientifiques) au journal club et en dehors. Tu peux être fier de l'équipe SVS que tu as construite à la fac. Je ne sais pas si c'est la meilleure, mais en tout cas, on ne peut difficilement plus rigoler.

Roland Schott. Roro, qui ne rêverait pas d'avoir un chef comme toi ? Merci pour tout, sincèrement. Je me souviens de ce jour où tu m'as dit « On vous a confié un projet. Tu gères tes horaires comme tu veux, je te fais confiance ». Quelle chance. Merci de nous avoir permis de travailler dans ces conditions, merci pour ton aide et ton soutien. Tu as toujours tout fait pour nous, je suis très reconnaissant que tu aies toujours cru en nos projets qui faisaient peur à tout le monde. J'espère que tu es fier de moi, presque 4 ans depuis notre première rencontre, le temps passe si vite. Je suis content de te compter parmi mes amis, merci pour toutes nos discussions professionnelles et moins professionnelles (promis je ne

dirai rien). Évidemment, merci pour tous ces cafés partagés ensemble et pour ton soutien à chaque coup de mou, t'es une belle personne Roro (et en plus, tu sauves des vies).

Elyse Hucteau. Zuzuc, my friend ! Je ne sais vraiment pas par où commencer. Évidemment, merci. Merci pour tout ce qu'on a partagé ensemble et pour tout ton soutien à n'importe quelle heure du jour et de la nuit (non ça c'est juste pour faire genre, globalement entre 21h et 7h du matin je peux mourir que ça ne te réveillerait pas). On en aura vécu des choses pendant presque 4 ans : le bureau, les manips, les papiers, les weekends, le ski, les soirées, les bières, les gueules de bois, les repas, les congrès, les galères, les séances de sport, les rires, les larmes, les joies, les moments de stress, et pleins d'autres choses ! J'ai tellement de bons souvenirs avec toi que je pourrai écrire un livre entier ! Je crois que ce qui me fera toujours autant rire c'est ton « face plant » mémorable lorsque tu as voulu faire du skate à 2h du matin après avoir bu quelques bières. Plus sérieusement, je suis tellement heureux d'avoir fait ma thèse avec toi, je n'aurai pas pu trouver meilleure collègue et meilleure amie. Merci pour tout ce que tu m'as appris sur la fatigue et pour ta rigueur qui m'impressionnera toujours. Merci pour ton aide, tes services, ta bienveillance. Bref, merci ! On dit que certains amis deviennent la famille, et bien c'est tout à fait le cas pour toi. Merci évidemment à **David Lietz** (dit Daoud) de prendre soin de toi et merci tous ces bons moments partagés. Honeyyyyyy, toujours chaud pour un gin to. Évidemment Zuzuc ne le lâche pas, au-delà de toutes ses qualités, il a surtout du sang corrézien ce qui le rend (comme moi) parfait ! Allez my friend, tu touches au bout pour ta thèse et j'ai hâte qu'on attaque 2023 comme des docteurs ! On a plein de projets à mener encore, et surtout comme promis, des vacances à faire tous les 4 avec Daoud et Lara.

Anasthase Massamba. Athanase, Nanasthase, Massambeau, Bompoutou... T'es mon pote qui a le plus de surnoms ! Je ne sais pas trop par où commencer avec toi... Pour être original, je vais commencer par ne pas te remercier ! Ne pas te remercier d'avoir ronflé comme un dinosaure à l'ACAPS (je te jure je ne sais pas comment c'est possible de ronfler à l'inspiration ET à l'expiration, mais je connais un bon ORL si jamais), ne pas te remercier pour toutes les fois où tu m'as appelé en commençant par « Parce que le problème c'est que... ». Mec, je ne sais pas comment on peut avoir aussi peu de chances que toi. En tout cas j'admire ta persévérance, à ta place j'aurai déjà mis quelques IPPONS et je me serai battu avec le hamtech (d'ailleurs, c'est peut-être pour ça qu'il déconne). Bon sinon t'as quand même des bons côtés, j'ai de la chance de t'avoir comme collègue et ami. Merci mon gros pour tous ces bons moments passés ensemble, pour toutes ces manips et pré-manips, pour toute cette entraide, ces discussions, ces réflexions... On s'est toujours soutenu avec Zuzuc et ça a été une réelle force. Je suis vraiment content de t'avoir aidé sur les manips (même si je t'avoue que je me souviendrai toujours de ce matin de décembre où j'ai perdu un orteil dans le froid). Évidemment, merci pour toutes ces pintes ! Je te souhaite le meilleur pour cette fin de thèse, et compte sur moi pour te botter le cul quand t'auras un coup de mou.

Guillaume Ducrocq. Même si au début j'avais peur de prendre une clef de bras à chaque journal club, merci pour tout mon lapin ! Merci pour tous tes conseils et toutes nos discussions sur la physiologie, j'ai beaucoup appris grâce à toi et j'en suis très reconnaissant. T'es vraiment une grosse machine et c'est agréable de bosser avec quelqu'un comme toi qui nous tires vers le haut. Évidemment, merci pour tout le reste, notre amitié, nos weekends, nos soirées, les litres de bière et les tonnes de burgers... Vivement que tu rentres des US qu'on reparte en festoche ! Je me souviendrai toujours de ce week-end à la neige où tu étais trempé « ouais ouais ça va » !

Thomas Hureau. Merci Thomas pour ton aide et tes conseils sur chacun de nos projets et de nos articles. Même si ça a été plus compliqué sur la fin, j'admire ta rigueur scientifique. Je suis content et reconnaissant que tu m'aies toujours intégré aux projets sur la fatigue neuromusculaire, j'ai vraiment pris beaucoup de plaisir et c'est certain que je continuerai d'avoir cette approche intégrative dans ma future carrière de chercheur.

Stéphane Dufour. Merci pour tout Stéphane, tu es un peu le mec parfait ! Merci de m'avoir transmis ta passion pour l'excentrique, ça m'aura juste valu une petite colique néphrétique ! Plus sérieusement, merci d'avoir toujours répondu à mes sollicitations, merci pour toutes nos discussions au CEERIPE et en journal club, merci pour ton soutien, tes mots sympas et ta bienveillance. Merci de m'avoir fait confiance en me laissant tes cours de bioméca. J'ai adoré et j'adore bosser avec toi.

Yao Kouassi. Ou devrais-je t'appeler Monsieur Yaya ? Merci Yao pour ta bienveillance et ton soutien. Tu as toujours eu un mot sympa. C'est très agréable de travailler avec quelqu'un d'aussi bonne humeur que toi !

Mourad Boukhari. Moumou !!! Si jamais tu ne lis pas mes remerciements, promis je les mettrai sur insta pour toi ! Merci pour ton fidèle soutien, tu t'es toujours intéressé à ce que je faisais et tu as toujours eu un mot sympa. Merci pour toutes ces séances de musculation qu'on a partagées ensemble, j'aimerais être aussi solide que toi plus tard. C'est bien parti, j'ai quasi autant de cheveux ! Sinon j'attends encore qu'on fasse une séance de bagarre....

Lise Cardin. Merci Lise pour tous ces bons moments partagés autour de la nourriture et du vin ! Merci pour toutes tes petites attentions, tes plats et desserts délicieux, et évidemment, merci pour tous ces commérages !

Christine Loehlé. Je suis tellement content d'avoir croisé ta route. Tu es d'une telle bienveillance, les étudiants ont de la chance de t'avoir. Merci pour tout Christine, merci pour ton soutien et tes nombreux témoignages. Merci également de m'avoir fait intervenir auprès des L3 APA.

Antoine Grandperrin. Merci pour tes encouragements pour la dernière ligne droite. C'est dommage que tu sois arrivé à la fin mais je suis sûr qu'on va pouvoir faire de beaux projets ensemble, malgré ton âge avancé... haha. Vu les amis qu'on a en commun, je ne doute pas qu'on va continuer de bien s'entendre ! En tout cas, t'as cerné mon humour !

Nicolas Salvi. Tout comme Monsieur Pivot, je vous remercie de m'avoir fait confiance. Merci d'avoir toujours eu un mot sympa à chacune de nos rencontres et de m'avoir permis de travailler dans ces conditions idéales. Je suis reconnaissant de la chance que j'ai eue et de l'ensemble des moyens qui ont été mis à ma disposition. Depuis le temps qu'on parle de boire des bières, j'espère qu'on trinquera ensemble pour cette thèse !

Martin Demarchi. Merci Martin pour ton accueil et ton soutien pendant cette thèse. Tu as toujours eu un mot sympa et pris de nos nouvelles. Je me souviens la première fois qu'on s'est vu, j'étais nouveau à Strasbourg tu m'as donné ton numéro en me disant que si j'avais besoin de quoi que ce soit, je pouvais t'appeler. Ça m'a beaucoup touché.

Laura Bender. Laura, merci infiniment pour tout. Évidemment, merci pour les biopsies. Tu as toujours dit oui et fais en sorte de te libérer, on a vraiment de la chance de travailler avec toi.

Carole Pflumio. Merci Carole pour ton investissement et ton soutien. Merci d'avoir autant parlé de nous autour de toi, tu as été un véritable moteur dans ces projets !

Philippe Trenzsz. Philippe, c'est tellement simple et sympa de bosser avec toi. Toujours réactif, toujours intéressé. Merci pour tout, les patientes ont de la chance de t'avoir comme oncologue, et nous comme collègue !

Michal Kalish-Weindling. Merci Michal d'avoir supporté tous mes mails du vendredi pour te parler des nouveaux cas. Plus sérieusement, merci pour ton investissement. Je crois que tu détiens le record d'inclusion dans les projets Protect.

Claire Baéza. Merci d'avoir assuré le lancement des biopsies et merci pour ta bienveillance, c'était chouette de bosser ensemble. Tellement dégouté que tu sois partie ! J'espère que tout se passe bien pour toi.

Fabien Moinard Butot. Fabien, merci pour ton aide pour les biopsies et pour toute ta bienveillance envers nous et les patientes. Tu feras un excellent oncologue, c'est certain !

Audren Bousinière. Audren, un merci ne suffirait pas pour tout ce que tu as fait pour nous. Tu as été un véritable pilier lors de mon arrivée et tu l'es toujours. La preuve, c'est toujours vers toi qu'on vient quand on a une question. Merci pour tout, tu es tellement gentille et

bienveillante ! Merci pour tous ces moments partagés et évidemment, merci pour toutes ces anecdotes et commérages. Enfin, merci de m'avoir fait découvrir toutes ces traditions alsaciennes ! Hopla !

Sophie Schaaf. Sophie, qu'est-ce qu'on rigole bien avec toi ! Toujours la joie de vivre et la connerie en toi même quand tu es au bord de l'agonie ! Merci de nous avoir toujours soutenus et mis en avant, tu es vraiment une belle personne et ta petite tribu a de la chance de t'avoir, comme tes collègues. Tu es une future Audren, c'est certain (et ça, c'est du compliment). « Le petit génie » est content de te compter parmi ses amies et de partager la même vision que toi sur beaucoup de choses.

Anne-Catherine Bohr. Anne-Cat, merci pour tout ton soutien ! Tu as même fini par participer à l'une de nos manips. Merci d'avoir toujours parlé de nous autour de toi et merci pour tous ces bons moments partagés sur les pauses de midi (surtout quand tu ramènes du fromage !!!).

Sandrine Cherreau. Sansan !!! Mais pourquoi t'es partie Sansan ????? Merci pour tous ces moments de rigolade et de bagarre. Si je devais en garder un ce serait le jour où j'ai failli te tuer avec ta fourchette (en vrai je ne faisais pas le fier). Reviens nous voir plus souvent, ton odeur de moufette me manque !

Aline Sansig. Aline, tu me fais tellement rire ! Merci pour ta joie de vivre, même quand t'es au bord de la dépression t'arrives à être solaire. Les patientes ont de la chance de t'avoir !

Loïc Mazoyer. Lolo, merci pour toutes les gaffes que tu as pu faire, on ne s'ennuie pas avec toi. Merci pour ton soutien et toutes tes blagues ratées !

Francine Thiriet. Merci Francine pour votre bienveillance et votre soutien. Merci également d'avoir répondu à toutes nos sollicitations !

Anne-Catherine Schaettel. Merci pour toutes les prises de sang ! Tu es si bienveillante avec nous et les patientes.

Valérie Sartori. Merci Valérie d'avoir répondu à toutes nos (très nombreuses) sollicitations pour le lancement des études. On a de la chance de travailler avec une équipe aussi réactive et investie ! Évidemment, merci à **Manon, Alexandre, Shérine, Dorette et toute la recherche clinique.** On n'a pas fini de vous embêter, il y a encore pleins de Protect à lancer !

Marie Brault. Merci Marie de nous avoir toujours mis en avant et d'avoir toujours pensé à nous. On a de la chance d'avoir une équipe de communication aussi investie à nos côtés !

Vous avez permis la reconnaissance de notre travail de recherche auprès des professionnels et du grand public.

Claire-Marie Freudenreich. Merci pour ton soutien et pour nous avoir toujours mis en avant. Merci d'avoir fait le lien avec tous les donateurs car sans ça, nos projets n'en seraient pas là aujourd'hui. Je me souviens de la première fois où je suis arrivé à Strasbourg le lendemain des attentats, tu étais venue m'expliquer toute la géographie de la ville pour que je trouve un appartement.

Hélène Suzanne. Hélène, tu es d'une telle bienveillance. Merci pour tout ton soutien et ton dynamisme. Tu as toujours plein d'idées et je dois avouer qu'elles sont souvent très bonnes ! Les patients ont de la chance d'avoir une personne ressource comme toi.

Judith Kazemir. Merci pour ta bonne humeur et ta réactivité pour les nombreux visuels que tu as fait pour nous. C'était évidemment toujours très stylé !

Kahina Djaoui. Merci Kahina d'avoir été aussi réactive pour toutes nos commandes. C'est vraiment très agréable de travailler avec toi, tu es vraiment efficace et tu nous as toujours permis de gagner du temps ! Évidemment, merci à **Bernard Witz** et **Agnès Grivet**, vous avez toujours pris du temps pour nous et pour que nos projets avancent.

Bernard Gény. Merci Bernard pour ton accueil chaleureux au labo. Merci pour ta confiance, ton soutien dans nos projets avec l'ICANS et ta bienveillance.

Anne Lejay. Merci pour ton soutien et ta bienveillance. Tu t'es toujours intéressée à nos projets et tu as toujours pris le temps d'en discuter avec moi. Tu feras une super directrice de labo, c'est certain !

Anne-Laure Charles. Anne-Laure, qu'est-ce que le labo serait sans toi ? Tu es une personne formidable avec le cœur sur la main, on a de la chance de t'avoir. Merci sincèrement pour tout : ton aide, tes attentions, ton partage et nos discussions. Merci d'avoir répondu présente à mes (nombreuses) sollicitations : « Anne-Laure, j'ai une question » ou « Anne-Laure, j'ai un problème ». Je suis très content d'avoir pu travailler avec toi et je suis très heureux que ça se poursuive ! Tu m'as beaucoup appris sur les mitos et j'en suis très reconnaissant. Je sais que tu n'aimes pas qu'on dise ça, mais tu es un peu la maman des doctorants au labo ! Tu as toujours le sourire, même quand j'oublie d'enlever le capillaire de la RPE.

Joffrey Zoll. Merci Joffrey d'avoir toujours été intéressé par nos projets et de m'avoir convié pour une conférence grand public. C'était très sympa et très valorisant ! Ravi de faire désormais parti du clan des « Jojo docteur chauve » (enfin, avec peu de cheveux quoi).

Fabienne Goupilleau et Isabelle Georg. Merci à toutes les deux pour votre aide sur les manips de respi, pour votre bonne humeur et toutes nos discussions !

Anouk Charlot. Nounouuuuuuuuk, collègue, voisine, amie et cat sitter d'exception ! Merci pour tous ces moments partagés au labo et en dehors, pour ces gin to et ces manips. T'es une chouette personne, même si pour ton anniversaire en pleins mois de juillet on a dû fêter Noël (je n'ai toujours pas compris) ! Promis un jour j'essaierai le régime céto, quel rêve de manger gras ! En attendant, bon courage pour cette fin de thèse et n'oublie pas, je suis là !

Léa Debrut. Léaaaaaaaaaaaaa ! La reine des PCR en soum-soum. Merci pour ton soutien et toutes nos discussions pour bitcher sur les gens ! Comme Anouk, j'ai de la chance d'avoir croisé ta route, merci pour tout ! Je suis content que tu aies retrouvé la raison et que tu deviennes une vraie STAPS, tu verras, on ne joue pas qu'au ballon !

Mégane Pizzimenti. Merci Mégane pour ton soutien quand on faisait des western les samedis et dimanches sous 45 degrés ! J'espère que ta nouvelle vie te plait et que tu es heureuse !

Thomas Brioche. C'est quand même un peu grâce à toi que j'ai atterri à Strasbourg. Je me souviens de ce jour où tu m'as dit à la machine à café : « Ça te dit de faire une thèse sur activité physique et cancer avec Allan ? Bon par contre c'est à Strasbourg ». Merci pour tous ces bons moments qu'on a partagé ensemble à Montpellier et merci pour tout ton soutien ! Tu nous auras quand même bien rendu service avec ce kit de protéines carbonylées (quelle galère !!!).

Guillaume Py. Guillaume, tu es vraiment une personne formidable. Merci de m'avoir accueilli au labo en master 2, merci pour tout ce que tu as fait pour moi et merci pour tout ton soutien. Tu as toujours fait passer l'humain avant tout et surtout, ne change pas ! Je me souviens de mon premier cours avec toi où tu parlais des myopathies, tu me faisais peur et je ne comprenais rien. Mais j'ai découvert qu'il y avait un cœur derrière Monsieur Propre (désolé j'étais obligé). J'espère qu'on aura l'occasion de retravailler ensemble, c'est tellement stimulant et agréable.

Corentin Guilhot. Ah mon Coco, tellement heureux d'avoir croisé ta route et de te compter parmi mes amis. Tu es mon associable préféré. Sûrement l'une des personnes avec qui je parle le plus et qui me manque le plus. Merci pour tous ces moments partagés ensemble (et pour toutes ces soirées mémorables). Merci également pour tout ton soutien pendant la thèse et pour toutes nos discussions autour de la science (et tout le reste évidemment). On l'aura fait mon vieux ! Tes connaissances en physiologie cellulaire m'impressionneront

toujours (sincèrement). Hâte de fêter ça ensemble et n'oublie pas, je compte sur toi pour les FAPs. Je serai tellement heureux de (re)bossier avec toi. Allez, bon courage pour la dernière droite !

Martin Schonk. Tintin, le troisième membre du trio infernal ! Merci pour ton soutien et pour avoir toujours pris des nouvelles malgré les milliers de kilomètres qui nous séparent ! Je suis tellement content que tu puisses faire ta thèse aux US, et en plus sur la cachexie. J'espère que je pourrai venir dans ton labo pour ma mobilité, je suis certain qu'on pourra faire de belles manips ! Enfin, merci pour tous ces bons moments partagés avec Coco, je ne suis pas sûr qu'on n'aurait pas misé sur nous en nous voyant en soirée et pourtant, on n'a pas si mal réussi ! Team chauve à moustache.

Laura Pavlin. Merci d'avoir toujours eu une petite attention pour les jeunes étudiants modèles que nous étions à l'époque (ce n'est pas crédible, je sais). Merci pour tous ces bons moments à chaque passage à Montpellier. Je ne sais pas si tu as marqué beaucoup de connerie dans ta thèse mais j'ai tout pompé ! **Maxence Jollet.** Merci à toi de nous avoir toujours tirés vers le bas en soirée (évidemment que c'est vrai). Pour ta thèse je n'ai rien pompé, j'ai juste retenu que tu travaillais sur le caca. J'espère que tu te plais bien en post-doc, je ne me fais pas trop de souci pour toi et tes facultés d'adaptations !

Luc Souilla. Merci pour tous nos échanges, ton soutien et toutes nos discussions mec ! Je suis très content que tu aies pu faire une thèse. Je me souviens encore quand tu étais en L3 et que tu m'avais appelé pour me demander des conseils ! Bon courage pour la suite et comme d'hab, tu pourras toujours compter sur moi donc n'hésite pas. Tu es une belle personne !

Pierrick Bernard. Ah Pierrick, tellement de choses à dire sur toi. Merci pour tout. Merci de m'avoir transmis ta rigueur. Je suis très reconnaissant de tout ce que tu as fait pour moi depuis la L2, pour m'avoir toujours conseillé et permis de prendre les bonnes décisions. J'ai eu de la chance de croiser ta route et je pense que j'ai sauté dans le bon wagon. Je suis également très touché qu'on ait pu garder contact.

Merci à tous les stagiaires que j'ai pu croiser à l'ICANS ou au CRBS. Merci pour votre aide et votre bonne humeur, j'espère que vous avez appris quelques trucs à mes côtés ! Mention spéciale pour **Daphné Vontrat**, merci pour les manips, pour Bibi et évidemment, merci pour toutes ces soirées ! J'espère que tu finiras par faire une thèse et comme je t'ai toujours dit, tu peux compter sur moi ! **Chiara Barbi**, thank you for your help for the eccentric study! It was a real pleasure to work with you and to share French traditions. I hope you will keep good memories from Strasbourg. Good luck for your PhD!

Jean-Pierre Giordanella. Mon parrain de promo, tellement heureux d'avoir croisé ta route. Merci pour tous tes conseils et toutes tes attentions. J'espère que tu es fier de moi et je suis tellement content que tu viennes me voir soutenir cette thèse. Je t'embrasse.

Rémy, Léa et Lucas Simon. Merci les copains d'avoir toujours été là, quand ça allait et quand ça allait moins bien. Vous avez servi de famille d'accueil plus d'une fois. Merci pour tous ces bons moments, je ne pourrai jamais oublier notre séjour à Ibiza. Il y a plein de choses que je n'oublierai pas mais c'est classé secret défense. Je vous aime fort et j'ai hâte qu'on repasse du temps ensemble. Tonton **Frédo** et **Sandrine**, je vous embrasse les vieux. **JB Tomas**, je t'embrasse aussi mon poulet, merci d'avoir toujours été là piche. Tu es bien le seul à être venu à Strasbourg !

Gaël Metzler. Merci mon Galou pour tous ces bons moments passés à Montpellier. Merci pour ton soutien, toutes ces bières et parties de pêche partagées. Je pense bien fort à toi.

Lucas Deguilhen. Mon minou, merci de m'avoir toujours soutenu et d'avoir toujours cru en moi. Maintenant que tu es rentré sur le continent, j'espère qu'on se verra plus souvent.

Merci à la famille du karaté d'avoir toujours été là et d'avoir toujours pris de mes nouvelles. **Aurélien** (dit Caps), **Ciçou**, **Marylou**, **Lonni**, **Ludo**, **Alex**, **Lila**, **Lorrys**, **Enzo**, je vous embrasse les fratés. Mention spéciale à toi **Justine** (dit Croustine) pour tout ton soutien. J'ai hâte que tu sois là pour qu'on fête ça.

Merci à ma belle-famille pour son soutien « local » et tous ces bons moments partagés ensemble. Je suis fier d'avoir une belle famille alsacienne. Merci à **Patricia** d'avoir parfois joué le rôle de maman de substitution. Merci également à **Emma**, **Océane**, **Noé**, **Sabine**, **Katia**, **Ginette** et **Jean-Marie** d'avoir toujours eu un mot sympa et d'avoir toujours pris de mes nouvelles. Je vous embrasse.

Tonton Domi et Mathilde. Je suis très heureux de vous savoir si bien au Mexique, j'ai tellement hâte de vous rejoindre et que vous me fassiez découvrir votre vie. On a beaucoup de temps à rattraper mais je suis heureux qu'on s'écrive aussi souvent. Tonton, merci d'avoir eu toujours autant d'attention pour nous depuis qu'on est petits avec mon frère, on a de la chance de t'avoir et j'espère faire un aussi bon tonton que toi. Je t'aime fort !

Lucas et Clément. Mes « petits » cousins préférés, aussi barges que beaux gosses. Merci les mecs d'avoir toujours été présents, d'avoir toujours pris de mes nouvelles et de m'avoir toujours soutenu. Je vous aime fort, bande de cons, mais n'oubliez pas que c'est moi qui ai les plus gros bras. Évidemment, merci **Tatie Marie**, **Tonton Patrick** et **Tonton Philippe** pour tous ces bons moments depuis petit.

Michel et Marie-Jo. Tellement de souvenirs avec vous et les garçons. Merci pour tous ces bons moments partagés, pour toutes vos petites attentions et tout votre soutien. J'espère que vous serez encore plus heureux aux Sables, j'ai déjà hâte de venir vous voir.

Charlie Allard. J'en ai tellement marre de dire « Charlie, le beau-frère de mon frère » que je dis que t'es mon beauf maintenant, ça va plus vite. Merci mon lapin de t'être toujours intéressé à ce que je faisais et d'avoir toujours pris de mes nouvelles. Merci évidemment pour tous ces bons moments partagés, essentiellement autour de l'électro, du pinard et de la bouffe. Vivement le prochain Tomorrowland. Merci également à toi **Elodie**, merci pour toutes tes petites attentions à chaque fois qu'on se voit.

Pépé et Mémé. Vous n'êtes plus là mais je ne cesse d'avoir de pensées pour vous. Je suis très fier d'être l'un de vos descendants et de vos valeurs dont j'ai hérité. Je parle si souvent de vous. Je n'ai qu'à fermer les yeux pour me souvenir des si bons moments que j'ai passé à Azat.

Maman. Tu t'y attendais, mais je suis obligé de laisser une trace écrite de ce jour où nous étions dans la 2cv et que tu m'as demandé ce que je voulais faire plus tard. « STAPS », j'ai répondu fièrement. Tu as pilé en disant « mais tu ne vas pas finir coach sportif à moving ? ». Et non maman, aujourd'hui je vais devenir docteur « comme mon frère ». Je te taquine. Merci pour tout maman, j'ai tellement de chance de t'avoir. Merci pour tout ce que tu as fait pour moi, merci pour tout cet amour, ces attentions, ces rires et cette complicité. N'aie aucun doute, tu es une maman parfaite et je te dois beaucoup. Il n'y a pas meilleur médicament qu'une maman quand ça ne va pas. Je t'aime si fort.

Papa. « Tu as de la chance d'avoir un père comme le tien », c'est la phrase que j'entends à chaque fois que je parle de toi. Et oui, j'en ai de la chance. Tu es parfait. Tu m'as toujours soutenu, tu as toujours essayé de comprendre ce que je faisais, et tous les jours j'apprends de nouvelles choses avec toi. Merci pour tout ce que tu as fait pour moi, tu nous as toujours fait passer avant avec mon frère et on vous doit tout à toi et maman. Merci d'être aussi compréhensif et d'avoir toujours les mots aussi justes. Je me souviens de ce jour où je m'envolais pour les championnats du monde et que vous m'aviez marqué quelques mots symboliques (que j'ai gardés). Tu avais marqué « Papa » et effectivement, c'est difficile de faire plus symbolique. Je t'aime mon Papa.

Jérémy. Ah mon frérot, je ne saurai pas où commencer. Mon « grand petit frère », mais surtout mon exemple depuis que je suis petit. Malgré nos 5 ans d'écart, on a grandi comme des jumeaux et pour rien au monde je ne changerai notre relation aussi fusionnelle, complice et sincère. Merci pour tout mon frérot, depuis le haut niveau jusqu'à la recherche, tu as toujours été derrière moi, tu m'as toujours soutenu, défendu et encouragé. J'ai toujours admiré tes connaissances et tes heures passées à bosser. Je suis fier de toi, que ce

soit pour ton métier de médecin ou ton rôle de papa. Les plus belles années sont à venir, on a beaucoup de vacances à la montagne et de festivals d'électro à rattraper. Je suis tellement heureux de nos passions communes pour les sports extrêmes et de glisse, pour le vin, la nature, la musique, *etc.* Je t'aime si fort. Évidemment, merci **Marion** pour toutes tes petites attentions, pour tous ces bons moments. Je suis très heureux et très fier d'être ton beau-frère, merci de prendre soin de mon frère et merci d'être une aussi bonne maman pour **Juliette**. Ninou, tu es trop petite pour lire ces quelques lignes, mais promis tonton Jojo te les lira. Tu es un soleil pour toute ta famille et tu es bien la seule personne qui me réveille aussi tôt sans que je râle.

Lara. Je n'aurai jamais pu imaginer à quel point ton soutien serait essentiel et déterminant pendant cette thèse. S'il y a bien quelqu'un qui a tout vécu avec moi, c'est toi. Depuis mon premier jour à Strasbourg tu es là et tu as toujours tout fait pour que je me sente à ma place. Je me souviens encore de cet appartement vide et du fameux mail que je devais t'aider à envoyer, heureusement que tu as progressé en informatique depuis n'est-ce pas ! Merci pour ta patience et tous tes sacrifices. Je sais que ce n'est pas facile de supporter un Mallard, et encore moins de supporter un Mallard en thèse. Merci d'avoir été aussi compréhensive, d'avoir toujours été une oreille attentive et d'avoir toujours tout fait pour que je travaille dans les meilleures conditions. Merci pour toutes ces fois où tu m'as écouté répéter mes présentations orales, où tu m'as écouté me plaindre et où tu as séché mes larmes. Évidemment merci pour tous ces rires aux éclats et tous ces bons moments. Merci de m'avoir toujours suivi dans tous mes délires (randonnée, skate, snow, *etc.*). Je suis conscient de la chance que j'ai de partager ma vie avec une personne aussi solaire et dévouée que toi. Je suis tellement admiratif de ta joie de vivre, toujours partante pour boire une bière et faire la fête. Pour nous aussi, les plus belles années sont à venir. Je suis fier de toi, fier de nous et de tout ce qu'on construit. Je t'aime.

Merci à l'ensemble des donateurs qui a permis la réalisation de ses nombreuses études. Nous sommes conscients de la chance que nous avons eue d'avoir des partenaires aussi fidèles que vous. Merci particulièrement à **l'association des courses de Strasbourg Europe** pour **La Strasbourgeoise** qui a été le soutien financier le plus important. Merci également au **Rotary club de Schiltigheim**, au **club Infini Jiu Jitsu d'Illkirch Graffenstaden**, à **l'association des bûcherons du Hohwald et du village du Hohwald pour La Hohwaldoise**, et enfin merci au **Rohan Athlétisme Saverne pour la Savernoise**.

Pour terminer ces (longs) remerciements, je tenais à remercier toutes les **patientes** sans qui rien n'aurait été possible. Merci pour toutes vos petites attentions, votre bonne humeur, vos confidences, vos encouragements. Mention spéciale pour celles qui ont accepté les biopsies, je vous promets qu'à chaque expérimentation je donne le maximum pour que vos bouts de muscle fassent avancer la science. Vous êtes un exemple de combativité, je vous admire.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES PUBLICATIONS	23
LISTE DES COMMUNICATIONS	25
LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX	27
INTRODUCTION	29
REVUE DE LITTÉRATURE	35
CHAPITRE I : DECONDITIONNEMENT MUSCULAIRE : CARACTERISTIQUES ET CONSEQUENCES PRINCIPALES	37
1. Définition	37
2. Modèles et situations de déconditionnement musculaire chez l'humain	38
2.1. Modèles simulés	38
2.1.1. Suspension d'un membre ou « unilateral limb suspension »	38
2.1.2. Alitement prolongé ou « bed rest »	39
2.1.3. Immersion sèche ou « dry immersion »	39
2.2. Situations cliniques	40
2.2.1. Contexte d'avancée en âge : la sarcopénie	40
2.2.2. Contexte de maladie chronique : la cachexie	41
3. Aspects quantitatifs du déconditionnement musculaire et structure du muscle	42
3.1. Perte de masse musculaire ou atrophie	42
3.2. Shift phénotypique	43
3.3. Architecture musculaire	44
4. Aspects qualitatifs du déconditionnement musculaire	46
4.1. Infiltrations graisseuses ou intermuscular adipose tissue (IMAT)	46
4.2. Système neuromusculaire	47
4.3. Altérations mitochondriales	49
5. Aspects fonctionnels du déconditionnement musculaire	50
5.1. Perte de force	50
5.2. Capacité d'exercice	52

6. Conséquences du déconditionnement musculaire sur la qualité de vie et la mortalité	53
CHAPITRE II : MECANISMES CELLULAIRES DU DECONDITIONNEMENT MUSCULAIRE	55
1. Le turnover protéique	55
1.1. Synthèse des protéines	55
1.2. Système ubiquitine-protéasome	57
1.3. Système autophagique lysosomal	59
1.4. Système des calpaïnes	61
2. Les cellules satellites	63
3. Les progéniteurs fibroadipogéniques (FAPs)	65
4. La mitochondrie	71
4.1. Dynamique mitochondriale : biogénèse, fusion, fission et mitophagie	71
4.2. Fonction mitochondriale, espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant	75
4.3. Apoptose	79
5. L'inflammation et la myostatine	81
5.1. Cytokines pro-inflammatoires et facteurs de transcription FoxO et NF- κ B	81
5.2. La myostatine : un membre de la superfamille TGF- β	83
CHAPITRE III : LE CANCER DU SEIN, UNE SITUATION DE DECONDITIONNEMENT MUSCULAIRE	85
1. Le cancer du sein : généralités	85
1.1. Description et anatomie du sein	85
1.2. Épidémiologie	87
1.3. Facteurs de risques	89
1.4. Type de cancers du sein	91
1.4.1. Localisation de la tumeur	91
1.4.2. Sous-types moléculaires	91
1.4.3. Stade, classification TNM et grade	92
2. Traitements du cancer du sein	92
2.1. Chirurgie	93
2.2. Radiothérapie	94
2.3. Hormonothérapie	94
2.4. Thérapie ciblée	94
2.5. Chimiothérapie	95

3.	Effets secondaires principaux liés à la chimiothérapie	95
3.1.	Alopécie	95
3.2.	Cardiotoxicité	96
3.3.	Neurotoxicité	96
3.4.	Troubles cognitifs	96
3.5.	Troubles alimentaires et digestifs	97
3.6.	Troubles liés à la ménopause et à la reproduction	97
3.7.	Troubles psychosociaux	97
3.8.	Fatigue liée au cancer	97
4.	Déconditionnement musculaire dans le cancer du sein : connaissances actuelles et parallèle avec les autres cancers	98
4.1.	Altérations macroscopiques du muscle squelettique	99
4.4.1.	Masse musculaire	99
4.4.1.	Force musculaire	100
4.4.1.	Qualité musculaire	100
4.4.1.	Capacité d'exercice	101
4.2.	Mécanismes cellulaires connus du déconditionnement musculaire dans le cancer du sein	103
4.2.1.	Diminution de la CSA et shift phénotypique	104
4.2.2.	Turnover protéique	105
4.2.3.	Altérations mitochondriales	106
4.3.	Autres mécanismes cellulaires potentiels du déconditionnement musculaire dans le cancer du sein : parallèle avec les autres cancers	107
4.3.1.	Turnover protéique	108
4.3.2.	Cytokines pro-inflammatoires et TGF- β	110
4.3.3.	Altérations mitochondriales, stress oxydant et défaut de repliement des protéines	112
4.3.4.	Cellules satellites	114
4.3.5.	Progéniteurs fibroadipogéniques et IMAT	115
4.4.	Résumé	116
5.	L'exercice comme moyen de prévention du déconditionnement musculaire dans le cancer du sein ?	117
5.1.	Généralités	117
5.2.	Exercice et cancer du sein	118
5.2.1.	Recommandations générales	118
5.2.2.	Effets sur la force musculaire	119
5.2.3.	Effets sur les capacités cardiorespiratoires	119
5.2.4.	Effets sur la masse musculaire	120
5.2.5.	Effets au niveau cellulaire : surface de section transversale des fibres musculaires et contenu mitochondrial	122
	PROBLÉMATIQUE ET OBJECTIFS DE LA THÈSE	125
	PRINCIPES MÉTHODOLOGIQUES GÉNÉRAUX	131

RÉSULTATS DES ÉTUDES 145

ÉTUDE 1 : LES PATIENTES ATTEINTES D'UN CANCER DU SEIN ET TRAITÉES PAR CHIMIOTHÉRAPIE SOUFFRENT D'UN DECONDITIONNEMENT MUSCULAIRE RAPIDE 147

Implication personnelle 147

Contexte 148

Article : Fast skeletal muscle deconditioning and exercise intolerance during chemotherapy in patients with early-stage breast cancer 148

Discussion et perspectives 160

ÉTUDE 2 : LA CHIMIOTHÉRAPIE ALTERE L'HOMÉOSTASIE MITOCHONDRIALE DU MUSCLE SQUELETTIQUE CHEZ LES PATIENTES ATTEINTES D'UN CANCER DU SEIN DE STADE PRÉCOCÉ 163

Implication personnelle 163

Contexte 164

Article : Chemotherapy impairs skeletal muscle mitochondrial homeostasis in early breast cancer patients 166

Discussion et perspectives 178

ÉTUDE 3 : DÉVELOPPEMENT DE L'ATROPHIE MUSCULAIRE ET DES INFILTRATIONS GRAISSEUSES CHEZ LES PATIENTES ATTEINTES D'UN CANCER DU SEIN DE STADE PRÉCOCÉ ET TRAITÉES PAR CHIMIOTHÉRAPIE 181

Implication personnelle 181

Contexte 182

Article : Development of skeletal muscle atrophy and intermuscular adipose tissue in early breast cancer patients treated with chemotherapy 183

185

186

Discussion et perspectives 191

ÉTUDE 4 : PERTURBATION DU TURNOVER PROTEIQUE COMME MECANISME DE L'ATROPHIE MUSCULAIRE CHEZ DES PATIENTES ATTEINTES D'UN CANCER DU SEIN DE STADE PRECOCE ET TRAITEES PAR CHIMIOTHERAPIE 193

Implication personnelle	193
Contexte	194
Résultats	196
Discussion	202

ÉTUDE 5 : MECANISMES AIGUS DU DECONDITIONNEMENT MUSCULAIRE SURVENANT 4 JOURS APRES L'ADMINISTRATION DE LA PREMIERE CHIMIOTHERAPIE (RESULTATS PRELIMINAIRES) 209

Implication personnelle	209
Contexte	210
Résultats préliminaires	212
Discussion	222

ÉTUDE 6 : FAISABILITE ET REPONSES PHYSIOLOGIQUES D'UNE SEANCE DE PEDALAGE EXCENTRIQUE CHEZ DES PATIENTES ATTEINTES D'UN CANCER DU SEIN 233

Implication personnelle	233
Contexte	234
Article : Acute neuromuscular fatigue and muscle damage induced by eccentric cycling in breast cancer patients	238
Discussion et perspectives	270

DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES 273

TRAVAUX SUPPLÉMENTAIRES 289

TRAVAIL SUPPLEMENTAIRE 1: REVUE DE LITTERATURE SUR LE DECONDITIONNEMENT MUSCULAIRE DANS LE CANCER DU SEIN TRAITE PAR CHIMIOTHERAPIE 291

Implication personnelle	291
Article : Skeletal muscle deconditioning in breast cancer patients: current knowledge and insights from other cancers	292
TRAVAIL SUPPLEMENTAIRE 2 : ARTICLE DE PROTOCOLE SUR L'EVOLUTION DE LA CONDITION PHYSIQUE DES PATIENTES ATTEINTES D'UN CANCER DU SEIN AU COURS DE LA CHIMIOTHERAPIE	311
Implication personnelle	311
Article : Evolution of physical status from diagnosis to the end of first-line treatment in breast, lung, and colorectal cancer patients: the PROTECT-01 cohort study protocol	312
TRAVAIL SUPPLEMENTAIRE 3 : ETUDE DE LA FATIGUE NEUROMUSCULAIRE CHEZ DES PATIENTES ATTEINTES D'UN CANCER DU SEIN ET TRAITEES PAR CHIMIOTHERAPIE	323
Implication personnelle	323
Article : Exacerbated central fatigue and reduced exercise tolerance in early breast cancer patients treated with chemotherapy	324
TRAVAIL SUPPLEMENTAIRE 4 : ETUDE DE LA FATIGUE NEUROMUSCULAIRE DES ISCHIOS ET DES QUADRICEPS CHEZ DES HOMMES	353
Implication personnelle	353
TRAVAIL SUPPLEMENTAIRE 5 : ARTICLE DE JOURNAL CLUB SUR LA FATIGUE NEUROMUSCULAIRE	365
Implication personnelle	365
Article : Identifying sex differences in neuromuscular fatigue: the challenge of normalizing exercise intensity and interpreting the results between populations	366
BIBLIOGRAPHIE	369
RÉSUMÉ	420

LISTE DES PUBLICATIONS

Articles acceptés ou publiés :

En lien avec la thèse :

Mallard J, Hucteau E, Schott R, Trenz P, Pflumio C, Kalish Weindling M, Favret F, Pivot X, Hureau TJ, Pagano AF. Early skeletal muscle deconditioning and reduced exercise capacity during (neo)adjuvant chemotherapy in patients with early-stage breast cancer. *Cancer*. 2022 Nov 17. doi: 10.1002/cncr.34533. Epub ahead of print. Impact factor: 6.9

Mallard J, Hucteau E, Bender L, Charlot A, Debrut L, Pflumio C, Trenz P, Schott R, Favret F, Pivot X, Hureau TJ, Pagano AF. Development of skeletal muscle atrophy and intermuscular adipose tissue in early breast cancer patients treated with chemotherapy. *American Journal of Physiology – Cell Physiology*. 2022 Sep 12. doi: 10.1152/ajpcell.00373.2022. Epub ahead of print. Impact factor: 5.3

Mallard J, Hucteau E, Charles AL, Bender L, Baeza C, Péliissie M, Trenz P, Pflumio C, Kalish-Weindling M, Gény B, Schott R, Favret F, Pivot X, Hureau TJ, Pagano AF. Chemotherapy impairs skeletal muscle mitochondrial homeostasis in early breast cancer patients. *Journal of Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2022 Jun;13(3):1896-1907. doi: 10.1002/jcsm.12991. Impact factor: 12.1

Mallard J, Hucteau E, Hureau TJ, Pagano AF. Skeletal Muscle Deconditioning in Breast Cancer Patients Undergoing Chemotherapy: Current Knowledge and Insights From Other Cancers. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021 Sep 14;9:719643. doi: 10.3389/fcell.2021.719643. Impact factor: 6.1

Mallard J, Hucteau E, Schott R, Petit T, Demarchi M, Belletier C, Ben Abdelghani M, Carinato H, Chiappa P, Fischbach C, Kalish-Weindling M, Bousinière A, Dufour S, Favret F, Pivot X, Hureau TJ, Pagano AF. Evolution of Physical Status From Diagnosis to the End of First-Line Treatment in Breast, Lung, and Colorectal Cancer Patients: The PROTECT-01 Cohort Study Protocol. *Frontiers in Oncology*. 2020 Aug 7;10:1304. doi: 10.3389/fonc.2020.01304. Impact factor: 5.7

Autres :

Massamba A, Hucteau E, **Mallard J**, Ducrocq GP, Favret F, Hureau TJ. Exercise-induced Fatigue in Hamstring versus Quadriceps Muscles and Consequences on the Torque-Duration Relationship in Men. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2022 Jul 16. doi: 10.1249/MSS.0000000000003007. Epub ahead of print. Impact factor: 6.3

Hureau TJ, Hucteau E, Massamba A, **Mallard J**, Ducrocq GP. Identifying sex differences in neuromuscular fatigue: the challenge of normalizing exercise intensity and interpreting the results between populations. *Journal of Physiology*. 2021 Jun;599(11):2801-2802. doi: 10.1113/JP281755. Impact factor: 6.2

Articles en révision ou soumis :

Autre :

Hucteau E, **Mallard J**, Pivot X, Schott R, Pflumio C, Trenz P, Favret F, Pagano AF, Hureau TJ. (en révision). Central Fatigue is exacerbated in early breast cancer patients after chemotherapy treatment. *European Journal of Applied Physiology*. Impact factor: 3.3

Articles en préparation :

En lien avec la thèse :

Hucteau E, **Mallard J**, Barbi C, Ducrocq GP, Schott R, Favret F, Pivot X, Dufour SP, Pagano AF, Hureau TJ. Effects of eccentric versus concentric cycling exercise on neuromuscular fatigue and muscle damage in patients with breast cancer. Manuscrit préparé pour une soumission dans *Sports medicine*. Impact factor: 11.9

LISTE DES COMMUNICATIONS

Communications orales :

Mallard J, Hucteau E, Pivot X, Bender L, Schott R, Favret F, Pivot X, Hureau TJ, Pagano AF (2022). Cellular mechanisms involved in skeletal muscle deconditioning in early-breast cancer patients treated with chemotherapy. *CRBS days 2022, Strasbourg, France*.

Hucteau E, **Mallard J**, Pivot X, Schott R, Favret F, Pagano AF, Hureau TJ (2022). Exacerbated central fatigue and reduced exercise tolerance in early-breast cancer patients after chemotherapy treatment. *CRBS days 2022, Strasbourg, France*.

Mallard J, Hucteau E, Charles AL, Baeza C, Pelissie M, Bender L, Trenz P, Pflumio C, Kalish-Weindling M, Schott R, Favret F, Pivot X, Hureau TJ, Pagano AF (2022). Chemotherapy impairs skeletal muscle mitochondrial homeostasis in early breast cancer patients. *ED days 2022, Strasbourg, France*.

Hucteau E, **Mallard J**, Schott R, Pivot X, Favret F, Pagano A, Hureau TJ (2021). Central fatigue is exacerbated in early breast cancer patients after chemotherapy treatment. *ED days 2022, Strasbourg, France*.

Charlot A, Charles AL, Georg I, Goupilleau F, Debrut L, Pizzimenti M, **Mallard J**, Pagano AF, Geny B, Zoll J (2022). Beneficial effects of Ketogenic Diet on hepatic inflammation in obese mice model. *The 2nd international electronic conference on nutrients*.

Mallard J, Hucteau E, Charles AL, Baeza C, Pelissie M, Bender L, Trenz P, Pflumio C, Kalish-Weindling M, Schott R, Favret F, Pivot X, Hureau TJ, Pagano AF (2021). La chimiothérapie augmente le stress oxydant et altère l'homéostasie mitochondriale des muscles squelettiques de patientes atteintes d'un cancer du sein. *12^{ème} Forum du Cancéropôle Est, Dijon, France*.

Hucteau E, **Mallard J**, Schott R, Pivot X, Favret F, Pagano A, Hureau TJ (2021). Mécanismes de la fatigue neuromusculaire induite par l'exercice chez la patiente atteinte d'un cancer du sein en fin de chimiothérapie (néo)adjuvante. *43^{ème} Journées de la Société Française de Sénologie et de Pathologie Mammaire, Lyon, France*.

Mallard J, Hucteau E, Charles AL, Baeza C, Pelissie M, Bender L, Goupilleau F, Georg I, Trenz P, Pflumio C, Kalish-Weindling M, Schott R, Favret F, Pivot X, Hureau TJ, Pagano AF (2021). Dysregulation of mitochondria-related oxidative stress in breast cancer patients during chemotherapy: the first step to decipher the mechanisms of muscle deconditioning. *21^{ème} congrès ACAPS, Montpellier, France*. Cette présentation a fait l'objet d'un prix jeune chercheur.

Hucteau E, **Mallard J**, Pivot X, Schott R, Favret F, Pagano AF1, Hureau TJ (2021). Central and peripheral fatigue during exercise in breast cancer patients following (neo)adjuvant chemotherapy. *21^{ème} congrès ACAPS, Montpellier, France*.

Conférencier invité :

Mallard J (2021). Apports de la recherche en physiologie de l'exercice en cancérologie : exemple du cancer du sein. *Soirée de la société française de biologie de Strasbourg, Strasbourg, France.*

Mallard J (2020). APA et recherche en soin. *14ème Biennale Monégasque de cancérologie, Monaco.*

Communications affichées :

Hueteau E, **Mallard J**, Schott R, Pivot X, Favret F, Pagano A, Hureau TJ (2021). Mécanismes de la fatigue neuromusculaire induite par l'exercice chez la patiente atteinte d'un cancer du sein en fin de chimiothérapie (néo)adjuvante. *12ème Forum du Cancéropôle Est, Dijon, France.*

Mallard J, Hueteau E, Charles AL, Baeza C, Pelissie M, Bender L, Goupilleau F, Georg I, Trensz P, Pflumio C, Kalish-Weindling M, Gény B, Schott R, Favret F, Pivot X, Hureau TJ, Pagano AF (2021). Déconditionnement musculaire au cours de la chimiothérapie du cancer du sein : caractérisation des altérations mitochondriales. *43ème journées de la Société Française de Sénologie et Pathologie Mammaire (SFSPM), Lyon, France.*

Mallard J, Hueteau E, Charles AL, Baeza C, Pelissie M, Bender L, Trensz P, Pflumio C, Kalish-Weindling M, Schott R, Favret F, Pivot X, Hureau TJ, Pagano AF (2021). La chimiothérapie augmente le stress oxydant et altère l'homéostasie mitochondriale des muscles squelettiques de patientes atteintes d'un cancer du sein. *Colloque interdisciplinaire de l'Université de Strasbourg, Strasbourg, France.*

Hueteau E, **Mallard J**, Pivot X, Schott R, Favret F, Pagano AF, Hureau TJ (2021). Fatigue centrale et périphérique à l'exercice après une chimiothérapie adjuvante chez la femme ayant un cancer du sein. *Colloque interdisciplinaire de l'Université de Strasbourg, Strasbourg, France.*

Massamba A, Hueteau E, **Mallard J**, Favret F, Hureau TJ (2021). Caractérisation de la fatigabilité des ischos-jambiers. *Colloque interdisciplinaire de l'Université de Strasbourg, Strasbourg, France.*

Pagano AF, **Mallard J**, Hueteau E, Trensz P, Pflumio C, Kalish-Weindling M, Schott R, Favret F, Pivot X, Hureau TJ (2021). Impact of breast cancer chemotherapy on muscle deconditioning and fatigue: the PROTECT-01 cohort study. *21ème congrès ACAPS, Montpellier, France.*

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1 : modèles de déconditionnement musculaire simulés.	40
Figure 2 : diminution de la masse musculaire (A) et de la CSA par types de fibres musculaires (B) lors de l'avancée en âge.	43
Figure 3 : échographie musculaire et différents paramètres analysables : épaisseur musculaire (a), longueur des fascicules (b) et angle de pennation (c).	45
Figure 4 : représentation des IMAT sur une coupe longitudinale de tibialis antérieur de souris.	47
Figure 5 : perte de force musculaire excentrique, isométrique et concentrique lors de l'avancée en âge.	51
Figure 6 : corrélation entre le pourcentage de masse musculaire et la $\dot{V}O_{2max}$ (A) et entre le volume mitochondrial et la $\dot{V}O_{2max}$ (B).	53
Figure 7 : impact de la quantité de masse musculaire, répartie selon 4 quartiles, sur la mortalité lors de l'avancée en âge.	54
Figure 8 : PI3k-Akt-mTOR, voie principale impliquée dans la synthèse des protéines.	57
Figure 9 : facteurs de transcriptions impliqués dans l'activation de MuRF1 et MAFbx, des E3 ligases essentielles au fonctionnement du système ubiquitin-protéasome.	59
Figure 10 : système de l'autophagie et dégradation des protéines.	60
Figure 11 : rôle des calpaïnes dans la dégradation des protéines et l'atrophie musculaire.	62
Figure 12 : localisation des cellules satellites entre le sarcolemme et la lame basale.	63
Figure 13 : processus de différenciation d'une cellule satellite et protéines exprimées aux différentes étapes.	64
Figure 14 : rôle des FAPs (A) et localisation (B) (en orange).	66
Figure 15 : prolifération transitoire des FAPs pendant la régénération musculaire.	67
Figure 16 : prolifération des FAPs en condition normale (A) et prolifération des FAPs avec altération du shift M1/M2 (B) lors de régénération musculaire.	69
Figure 17 : représentation d'une mitochondrie et de sa structure.	71
Figure 18 : biogénèse mitochondriale et rôle de PGC-1 α .	72
Figure 19 : dynamique mitochondriale : régulation de la fusion et fission par MFN1/2, OPA1, Fis1, DRP1.	73
Figure 20 : principales protéines impliquées dans la mitophagie : Parkin, PINK1 et Mul1.	74
Figure 21 : respiration mitochondriale et chaîne de transport des électrons.	76
Figure 22 : production d'espèces réactives de l'oxygène et système antioxydant.	77
Figure 23 : impact du stress oxydant sur l'environnement cellulaire : impact sur les lipides, les protéines et l'ADN.	78
Figure 24 : régulation de l'apoptose par la mitochondrie.	80
Figure 25 : rôle de l'inflammation dans l'atrophie musculaire.	82
Figure 26 : interaction entre PGC-1 α et NF- κ B.	82

Figure 27 : rôle de la myostatine de l'atrophie musculaire.	84
Figure 28 : étape de la cancérogenèse (ou carcinogénèse) avec l'initiation, la promotion et la progression.	86
Figure 29 : anatomie du sein et types de cancer.	87
Figure 30 : incidence et mortalité des cancers en 2020 pour les deux sexes (A) et spécifiquement chez la femme (B).	88
Figure 31 : incidence du cancer du sein selon l'âge.	89
Figure 32 : facteurs de risque du cancer du sein.	90
Figure 33 : stratégies thérapeutiques pour la prise en charge d'un cancer du sein non métastatique.	93
Figure 34 : cercle vicieux du déconditionnement chez les patients atteints de cancer.	98
Figure 35 : connaissances actuelles du déconditionnement musculaire dans le cancer du sein.	102
Figure 36 : représentation schématique d'une biopsie musculaire à l'aiguille de Bergström.	103
Figure 37 : mécanismes potentiels du déconditionnement musculaire dans le cancer du sein.	116
Figure 38 : effets de l'exercice aérobie et en résistance sur l'homéostasie musculaire.	118
Figure 39 : recommandations de prescription d'exercice individualisé chez des patients atteints de cancer.	121
Figure 40 : effets de l'exercice sur le déconditionnement musculaire pendant un cancer du sein notamment sur l'activité citrate synthase (A), la CSA globale des fibres du muscle vaste latéral (B), la CSA des fibres de type I (C), la CSA des fibres de type II (D), et la consommation maximale d'oxygène (F).	123
Figure 41 : dispositifs d'évaluations de la force maximale isométrique des extenseurs du genou et de la force maximale de préhension.	134
Figure 42 : évaluation de la composition corporelle par balance à impédancemétrie.	136
Figure 43 : échographie musculaire du vaste latéral et paramètres analysés.	137
Figure 44 : biopsie musculaire à l'aiguille de Bergström.	138
Figure 45 : investigations neuromusculaires chez la patiente atteinte d'un cancer du sein.	143
Figure 46 : résumé général de ma thèse sur le déconditionnement musculaire dans le cancer du sein traité par chimiothérapie.	288
Tableau 1 : caractéristiques des types de fibres musculaires.	44
Tableau 2 : résumé des caractéristiques du déconditionnement musculaire.	54
Tableau 3 : caractéristiques des patientes incluses dans les différentes études de cette thèse.	133
Tableau 4 : liste des évaluations et expérimentations réalisées par étude.	133

INTRODUCTION

« Mieux comprendre ce qu'il se passe permet de mieux vivre ce qu'on subit ou ce qu'on a subi ». Rachel, patiente de 47 ans suivie à l'ICANS.

Le corps humain est un objet d'étude passionnant qui comprend une multitude de fonctions différentes. Son étude a permis au cours des dernières décennies de réaliser de progrès considérables dans le domaine de la santé, notamment au niveau de la recherche en physiologie humaine. Avec plus de 600 muscles squelettiques qui représentent 35 à 45% de la masse corporelle, le muscle strié squelettique est un des tissus les plus importants du corps humain, ce qui fait de lui un élément central des études en physiologie. Il possède une grande plasticité qui lui permet de s'adapter en réponse à différents stimulus par des modifications aussi bien au niveau structurel que métabolique. Le muscle peut ainsi varier au niveau de sa taille, mais également au niveau de sa fonction. Ces adaptations sont régulées par différentes voies de signalisation au niveau cellulaire qui répondent aux contraintes qui leur sont imposées. Lorsque le tissu musculaire strié squelettique s'adapte face à un manque de stimulus (*e.g.* diminution du niveau d'activité) ou face à des stimuli négatifs (*e.g.* maladies, traitements), on parle alors de déconditionnement musculaire (Chopard *et al.*, 2009; Mallard *et al.*, 2021; Sartori *et al.*, 2021a). Ce phénomène peut ainsi se manifester par une diminution de la masse musculaire et/ou de la force, associée à une réduction de la qualité musculaire (*i.e.* augmentation des infiltrations graisseuses et de la fatigabilité, développement d'altérations mitochondriales) (Brioche *et al.*, 2016; Chopard *et al.*, 2009; Mallard *et al.*, 2021).

L'étude du déconditionnement musculaire est un enjeu majeur dans le domaine de l'oncologie (Farkas *et al.*, 2013) de par ses nombreuses conséquences sur la qualité de vie, la mortalité et les coûts liés à la santé (Arthur *et al.*, 2014; Baracos *et al.*, 2018; Farkas *et al.*, 2013). Le cancer du sein, qui représente aujourd'hui le cancer le plus fréquent et le plus mortel chez la femme, constitue une situation à risques de déconditionnement musculaire en raison de l'utilisation de chimiothérapie (Guigni *et al.*, 2018; Mallard *et al.*, 2021; Mijwel *et al.*, 2018a). Néanmoins, l'étude des mécanismes cellulaires responsables de ce déconditionnement est quasi inexistante dans cette population. Si des études mécanistiques et fondamentales peuvent paraître éloignées de la réalité clinique, elles sont pour autant nécessaires afin de prévenir l'apparition du déconditionnement musculaire.

Effectivement, avec une meilleure compréhension des mécanismes cellulaires, des stratégies préventives spécifiques et adaptées telles que l'exercice, la supplémentation nutritionnelle ou les traitements pharmacologiques pourront être développées au niveau clinique pour lutter contre le déconditionnement musculaire et améliorer la qualité de vie des patientes.

C'est dans ce contexte que cette thèse de physiologie intégrée à l'interface entre la recherche clinique et la recherche fondamentale a été financée par l'Institut de Cancérologie Strasbourg Europe (ICANS), en partenariat avec le Centre Européen d'Enseignement de Recherche et d'Innovation en Physiologie de l'Exercice (CEERIPE) de la Faculté des Sciences du Sport de Strasbourg et le laboratoire UR 3072 du Centre de Recherche en Biomédecine de Strasbourg (CRBS). L'enjeu de ce travail était de caractériser le déconditionnement musculaire chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie d'un point de vue clinique et cellulaire. Ainsi, nous avons dans un premier temps caractérisé l'évolution du déconditionnement musculaire au cours de la chimiothérapie (**étude 1**). Dans un deuxième temps, nous avons étudié à partir de biopsies musculaires réalisées avant et après le traitement par chimiothérapie, les mécanismes cellulaires impliqués dans les altérations mitochondriales (**étude 2**), le développement d'infiltrations graisseuses (**étude 3**) et l'atrophie musculaire (**étude 4**), afin d'expliquer les manifestations cliniques du déconditionnement musculaire. Étant donné qu'il est bien admis dans les modèles expérimentaux d'atrophie musculaire que les mécanismes cellulaires se déclenchent de manière précoce (Atherton *et al.*, 2016; Hanson *et al.*, 2013), nous avons démarré une expérimentation complémentaire visant à étudier les mécanismes cellulaires aigus survenant 4 jours après l'administration de la première séance de chimiothérapie (**étude 5**).

En parallèle, l'ICANS a financé une thèse menée par Elyse Hucteau qui s'est intéressée à l'étude de la fatigue neuromusculaire. Ces études supplémentaires auxquelles j'ai participé en tant que co-investigateur principal ont mis en évidence d'autres mécanismes pouvant expliquer le déconditionnement musculaire. Ensemble, ces deux projets de recherche de physiologie intégrée ont permis d'identifier le pédalage excentrique comme une contremesure spécifique et adaptée au déconditionnement

musculaire. Si cette pratique présente des avantages, son étude de faisabilité était nécessaire et s'intègre dans la dernière partie de cette thèse (**étude 6**). Ces études de recherche ont nécessité la maîtrise de nombreuses techniques d'investigation allant du système nerveux central jusqu'à la cellule musculaire.

La première partie de ce manuscrit de thèse est consacrée à une revue de littérature présentée sous la forme de trois chapitres s'intéressant respectivement aux caractéristiques du déconditionnement musculaire, aux mécanismes cellulaires sous-jacents et au cancer du sein comme situation de déconditionnement. À l'issue de cette partie, les résultats obtenus dans les 6 études sont présentés et discutés, dont 4 sont sous la forme d'article. Après une discussion générale de la thèse et une mise en relation des différentes études, 5 articles complémentaires viennent compléter ce manuscrit.

REVUE DE LITTÉRATURE

Chapitre I : Déconditionnement musculaire : caractéristiques et conséquences principales

Ce chapitre 1 s'intéresse à la présentation générale du déconditionnement musculaire et passe en revue les différents modèles expérimentaux classiquement utilisés et les situations cliniques concernées. Le cancer n'apparaît pas volontairement étant donné qu'il fait l'objet du chapitre 3. Enfin, une description des caractéristiques principales du déconditionnement musculaire est réalisée au niveau des paramètres quantitatifs (*i.e.* perte de masse musculaire), qualitatifs (*i.e.* infiltrations graisseuses, fatigabilité, altérations mitochondriales) et fonctionnels (*i.e.* perte de force et diminution de la capacité d'exercice).

1. Définition

Les définitions du déconditionnement musculaire sont variées et beaucoup ne regroupent pas l'ensemble des désadaptations du tissu musculaire strié squelettique. Nous avons néanmoins proposé notre définition (Mallard *et al.*, 2021) en se basant sur des travaux antérieurs (Alldritt *et al.*, 2021; Arc-Chagnaud *et al.*, 2020; Brioché *et al.*, 2016; Chopard *et al.*, 2009; Pagano *et al.*, 2018; Ploutz-Snyder *et al.*, 2014). Nous désignons ainsi le déconditionnement musculaire comme une conséquence directe de la perturbation globale de l'homéostasie musculaire, se traduisant par des altérations du muscle strié squelettique aussi bien au niveau structurel que fonctionnel. Ces désadaptations sont caractérisées par une diminution de la masse musculaire et/ou une diminution de la force, associée à une altération de la qualité musculaire (Brioché *et al.*, 2016; Chopard *et al.*, 2009; Mallard *et al.*, 2021). Cette définition regroupe donc l'ensemble des aspects du déconditionnement musculaire, *i.e.* les aspects quantitatifs (masse musculaire), fonctionnels (force musculaire et capacité d'exercice) et qualitatifs (infiltrations graisseuses, fatigabilité, altérations mitochondriales). En proposant une définition globale,

nous souhaitons étudier l'ensemble des désadaptations du tissu musculaire strié squelettique, quelle qu'en soit la cause (vieillesse, maladie, hypoactivité, etc.).

2. Modèles et situations de déconditionnement musculaire chez l'humain

2.1. Modèles simulés

Afin d'étudier la plasticité musculaire, des modèles expérimentaux de déconditionnement musculaire ont été développés chez l'humain. Ces modèles ont pour conséquences principales d'induire une atrophie musculaire par la réduction drastique des contraintes mécaniques. Il existe trois modèles principaux d'hypoactivité (Figure 1) : la suspension d'un membre ou « unilateral limb suspension », le « bed rest » (alitement prolongé) et la dry immersion (immersion « sèche ») (Brioche *et al.*, 2016; Memme *et al.*, 2021a).

2.1.1. Suspension d'un membre ou « unilateral limb suspension »

Le modèle de suspension permet de mettre une des deux jambes en suspension et de comparer le membre suspendu au membre controlatéral (Hackney & Ploutz-Snyder, 2012). Ce modèle est connu pour induire un profond déconditionnement musculaire caractérisé à la fois par des altérations quantitatives (*i.e.* perte de masse musculaire), fonctionnelles (*i.e.* force musculaire) et qualitatives (*i.e.* augmentation des infiltrations graisseuses) (Hackney & Ploutz-Snyder, 2012). À titre d'illustration, les études d'immobilisation entre 1991 et 2012 ont mis en évidence une perte moyenne de la masse musculaire de 0.44% par jour d'immobilisation (Hackney & Ploutz-Snyder, 2012).

2.1.2. Alitement prolongé ou « *bed rest* »

Le *bed rest* correspond à un alitement prolongé et dans certains cas, une déclivité de 6 degrés au niveau de la tête est appliquée pour mimer de façon encore plus importante les effets physiologiques de la microgravité (Brioche *et al.*, 2016). Ce modèle d'inactivité extrême est principalement utilisé au cours des programmes spatiaux mais permet également de faire un parallèle avec la sédentarité ou l'avancée en âge. Il s'agit du modèle le plus utilisé chez l'humain qui a permis de caractériser de nombreux aspects et mécanismes du déconditionnement musculaire (Marusic *et al.*, 2021). En effet, tout comme la suspension d'un membre, le *bed rest* induit un déconditionnement musculaire important caractérisé par une atrophie musculaire et une perte de force (Arc-Chagnaud *et al.*, 2020; Marusic *et al.*, 2021).

2.1.3. Immersion sèche ou « *dry immersion* »

Enfin, si le *bed rest* permet de mimer les effets de la microgravité, il existe un modèle permettant de se rapprocher encore plus des conditions d'impesanceur. Il s'agit de la *dry immersion*, un modèle utilisé pour la première fois en 1976 (Shul'zhenko & Will-Williams, 1976) qui consiste à immerger un sujet dans de l'eau thermiquement neutre et recouverte d'un tissu élastique étanche. Le sujet est immergé dans l'eau tout en étant sec, entraînant ainsi une absence quasi totale de support sous le sujet et créant une sorte de « flottaison ». La *dry immersion*, qui induit une hypokinésie et hypodynamie, entraîne une atrophie musculaire sévère et rapide, associée à une perte de force et une augmentation des infiltrations graisseuses (Demangel *et al.*, 2017; Fovet *et al.*, 2021; Guilhot *et al.*, 2022; Navasiolava *et al.*, 2011; Pagano *et al.*, 2018).

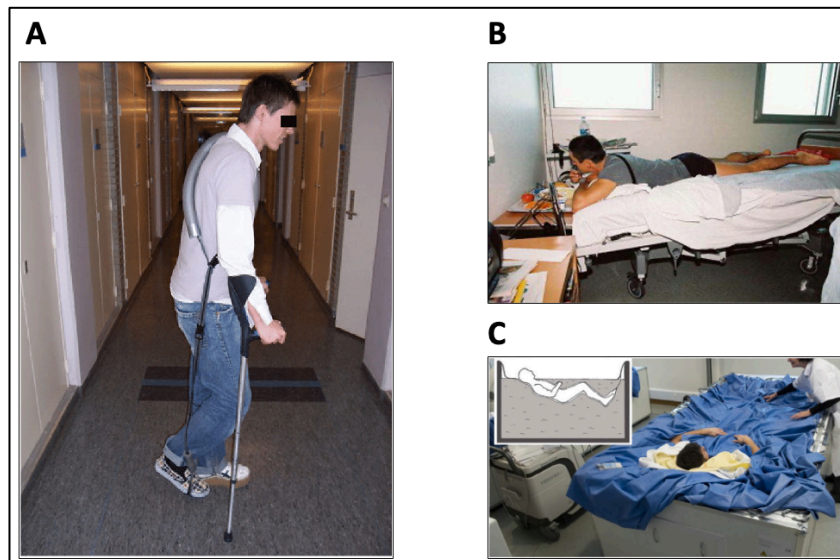


Figure 1 : modèles de déconditionnement musculaire simulés.

Adapté de Brioche et al., (2016). Unilateral limb suspension (A), bed rest (B) et dry immersion (C). Cette figure représente les trois modèles expérimentaux principaux pour explorer les effets de l'inactivité sur le muscle strié squelettique.

2.2. Situations cliniques

Si les modèles simulés permettent d'induire une atrophie musculaire par une hypoactivité, des situations cliniques sont aussi connues pour entraîner un déconditionnement musculaire. C'est par exemple le cas de l'avancée en âge ou de certaines maladies chroniques.

2.2.1. Contexte d'avancée en âge : la sarcopénie

Il est bien admis que l'avancée en âge s'accompagne d'une diminution de la masse et de la force musculaire (Cruz-Jentoft *et al.*, 2019). Ce syndrome s'appelle la sarcopénie et se définit comme un trouble progressif et généralisé des muscles squelettiques, associé à une diminution des capacités fonctionnelles (Cruz-Jentoft *et al.*, 2019). La sarcopénie se diagnostique selon trois critères : i) faible force (sarcopénie probable), ii) faible quantité ou qualité musculaire (sarcopénie confirmée) et iii) faibles performances physiques (sarcopénie sévère). La problématique majeure de ce système de détection est qu'il ne prend pas en compte le caractère temporel et longitudinal, *i.e.* l'évolution des paramètres.

Effectivement, une personne ayant depuis toujours une faible masse musculaire sera considérée comme sarcopénique malgré l'absence de variation. À l'inverse, une personne qui perd de la masse musculaire, mais qui se situe au-dessus du seuil de détection sera considérée comme saine alors qu'elle est atteinte d'un déconditionnement musculaire. Ainsi, ce système de détection pourrait sur- ou sous-estimer la prévalence de la sarcopénie et il semble nécessaire d'instaurer un suivi longitudinal systématique.

2.2.2. Contexte de maladie chronique : la cachexie

Beaucoup de maladies chroniques sont associées à un déconditionnement musculaire, à cause de la maladie *per se* ou des traitements. Dans ce cas, ce type de déconditionnement est souvent appelé cachexie (Baracos *et al.*, 2018; Evans *et al.*, 2008; Fearon *et al.*, 2011; Martin & Freyssenet, 2021) et se caractérise par une atrophie musculaire. Plus précisément, la cachexie est définie cliniquement comme une perte progressive de masse musculaire (avec ou sans perte de masse grasse), qui ne peut pas être totalement contrecarrée par une supplémentation nutritionnelle et qui conduit à une incapacité fonctionnelle (Fearon *et al.*, 2011). Son diagnostic repose sur une perte de poids > 5% du poids de corps, ou à un IMC <20 avec une perte de poids >2%, ou à une faible masse musculaire (Fearon *et al.*, 2011). Bien que l'évaluation précise de la masse musculaire soit recommandée (Roeland *et al.*, 2017), ce type de détection sous-estime largement la perte de masse musculaire qui peut avoir lieu sans perte de poids, un phénomène reporté chez les patients obèses et nommé « obésité sarcopénique » (Baracos & Arribas, 2018). De plus, comme pour la sarcopénie, la notion de faible masse musculaire ne prend pas en compte l'évolution de cette dernière. Beaucoup de maladies chroniques sont concernées par la cachexie comme le cancer (28 à 57% des patients), l'insuffisance cardiaque (16 à 42% des patients), l'insuffisance rénale (30 à 60% des patients), la BPCO (27 à 35% des patients), la polyarthrite rhumatoïde (18 à 65% des patients) ou le SIDA (10 à 37% des patients) (Farkas *et al.*, 2013).

3. Aspects quantitatifs du déconditionnement musculaire et structure du muscle

3.1. Perte de masse musculaire ou atrophie

L'une des caractéristiques majeures du déconditionnement musculaire est la perte de masse musculaire, également connue sous le nom d'atrophie musculaire (Bonaldo & Sandri, 2013; Sartori *et al.*, 2021a). Elle se caractérise comme une diminution de la quantité de muscle et le vieillissement est ainsi une situation simple pour l'illustrer. En effet, lors de l'avancée un âge, la perte de masse musculaire se manifeste par une diminution de la surface occupée par le muscle (Figure 2), qui diminue d'environ 1% par an à partir de 50 ans, soit 10% de masse musculaire en moins par décennie (Lexell *et al.*, 1988). De façon plus importante, la surface de section des fibres musculaires (CSA), *i.e.* le diamètre des fibres, diminue d'environ 26% entre 20 et 80 ans pour les fibres de type II (Lexell *et al.*, 1988) (Figure 2). Ces altérations au niveau de la masse musculaire ou de la CSA sont également retrouvées dans les modèles expérimentaux du déconditionnement musculaire. À titre d'illustration, 3 jours de dry immersion entraîne une diminution de la CSA des fibres musculaires du vaste latéral d'environ 10% (Pagano *et al.*, 2018) alors que 5 jours sont responsables d'une diminution d'environ 20% (Fovet *et al.*, 2021). Des pertes similaires ont été retrouvées après deux mois d'alitement, soulignant ainsi que la perte de masse musculaire n'est pas linéaire en l'absence de contraintes mécaniques (Arc-Chagnaud *et al.*, 2020). Cela a parfaitement été illustré dans un bed rest de 20 jours où il a été rapporté une perte marquée de masse musculaire lors des 10 premiers jours, sans changement significatif entre 10 et 20 jours (Kawashima *et al.*, 2004). Ce phénomène de non-linéarité de la perte de masse musculaire a également été confirmé dans un modèle d'immobilisation où la perte de masse musculaire, évaluée par échographie, était de 3% au niveau du gastrocnémien après 14 jours d'immobilisation, sans changement supplémentaire à 23 jours (Seynnes *et al.*, 2008). Si le déconditionnement musculaire peut s'illustrer par une perte de masse musculaire ainsi qu'une diminution du diamètre des fibres musculaires (de Boer *et al.*, 2008; Demangel *et al.*, 2017; Dirks *et al.*, 2016; Koukourikos *et al.*, 2014; Mahmassani *et al.*, 2019; Pagano *et al.*, 2018), il peut également s'accompagner d'un remaniement au niveau de la typologie musculaire.

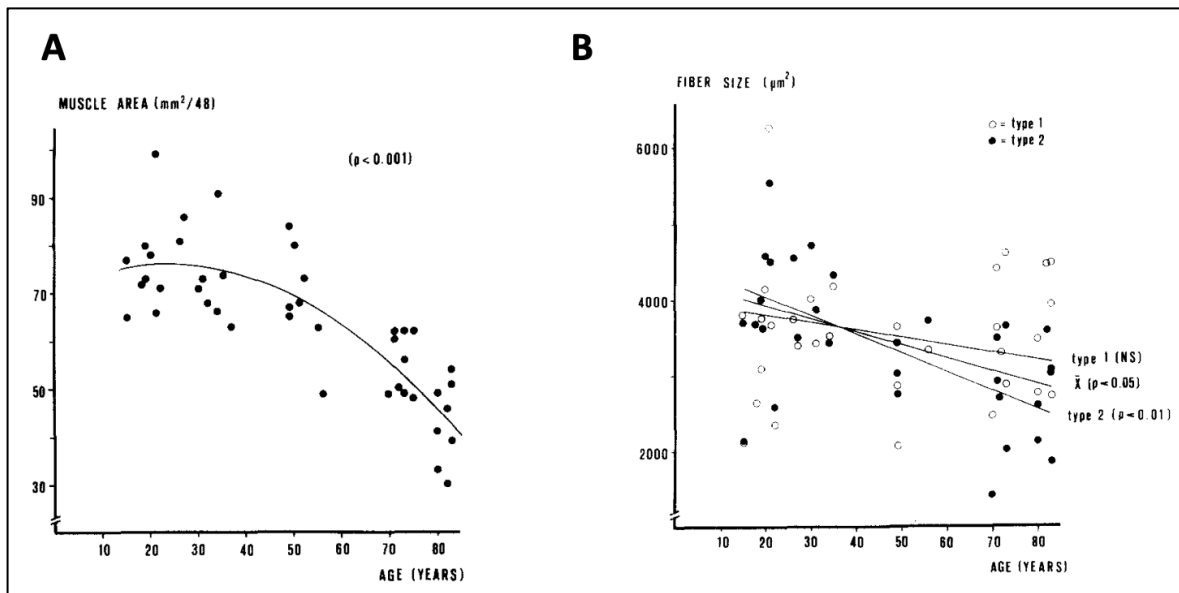


Figure 2 : diminution de la masse musculaire (A) et de la CSA par types de fibres musculaires (B) lors de l'avancée en âge.

Extrait de Lexell et al., (1988). Cette figure illustre l'évolution de l'aire musculaire et de la surface de section des fibres musculaires lors de l'avancée en âge. Ces données proviennent de 43 cadavres d'hommes âgés de 15 à 83 ans.

3.2. Shift phénotypique

Il existe au sein du muscle strié squelettique deux types de fibres : les fibres lentes composées de chaînes lourdes de myosine (MyHC) de type I et les fibres rapides composées de MyHC de type II (tableau 1). Le caractère lent et rapide fait référence à la vitesse de contraction des fibres. Ainsi, les fibres de type I produisent peu de force, mais sont davantage endurantes et reposent majoritairement sur le métabolisme oxydatif. À l'inverse, les fibres rapides, qui reposent de manière préférentielle sur le métabolisme glycolytique, produisent des hauts niveaux de force, mais sont plus fatigables. Il existe néanmoins plusieurs isoformes des MyHC de type II avec des vitesses de contraction différentes. Il s'agit chez l'humain des fibres IIa (intermédiaires) et IIx (rapides) (Bellinger et al., 2021; Egan & Zierath, 2013). Lors de l'avancée en âge, si la quantité de fibres de type I diminue, les fibres de type II diminuent également, mais de façon plus conséquente (Lexell, 1995; Lexell & Taylor, 1991). Ce phénomène s'appelle ainsi un « shift » phénotypique, c'est-à-dire que la proportion de fibres lentes/rapides est différente. Si ce

dernier intervient des fibres de type II vers les fibres de type I lors du vieillissement, certaines maladies comme la BPCO induisent un shift des fibres de type I vers les fibres de type II (Ciciliot *et al.*, 2013). De même, les situations d'hypoactivité comme le bed rest ou l'immobilisation entraînent un shift des fibres de type I vers les fibres de type II (Baldwin *et al.*, 2013; Ciciliot *et al.*, 2013). La spécificité du shift aura alors des conséquences différentes : le shift des fibres de type II vers les fibres de type I induira principalement une perte de force (Zullo *et al.*, 2020) tandis que l'inverse sera associé à une diminution des capacités cardiorespiratoires (Ried-Larsen *et al.*, 2017).

Tableau 1 : caractéristiques des types de fibres musculaires.
Adapté de Karp (2001).

	Fibres lentes (MyHC I)	Fibres intermédiaires (MyHC IIa)	Fibres rapides (MyHC IIx)
<i>Vitesse de contraction</i>	Lente	Rapide	Très rapide
<i>Production de force</i>	Faible	Élevée	Très élevée
<i>Résistance à la fatigue</i>	Élevée	Intermédiaire	Faible
<i>Métabolisme</i>	Aérobie	Anaérobie	Anaérobie
<i>Capacité oxydative</i>	Élevée	Élevée	Faible
<i>Capacité glycolytique</i>	Faible	Élevée	Élevée
<i>Densité mitochondriale</i>	Élevée	Élevée	Faible
<i>Substrat principal</i>	Triglycérides	Phosphocréatine, glycogène	Phosphocréatine, glycogène

MyHC : myosin heavy chain.

3.3. Architecture musculaire

En plus des atteintes liées à la quantité de masse musculaire ou à la CSA des fibres musculaires, le déconditionnement musculaire peut entraîner des modifications au niveau de l'architecture du muscle, évaluable par échographie musculaire. Plusieurs paramètres sont ainsi mesurables (Figure 3) : l'épaisseur du muscle, la longueur des fascicules (*i.e.* ensemble de fibres musculaires) ou encore l'angle de pennation (*i.e.* l'angle formé entre une fibre musculaire et l'aponévrose profonde). Si l'angle de pennation donne des indications sur la production de force (*e.g.* un angle faible correspond à une force par type de fibre élevée tandis qu'un angle élevé correspond à une grande quantité de fibres

recrutables), l'épaisseur musculaire et la longueur des fascicules renseignent davantage sur la « morphologie » du muscle.

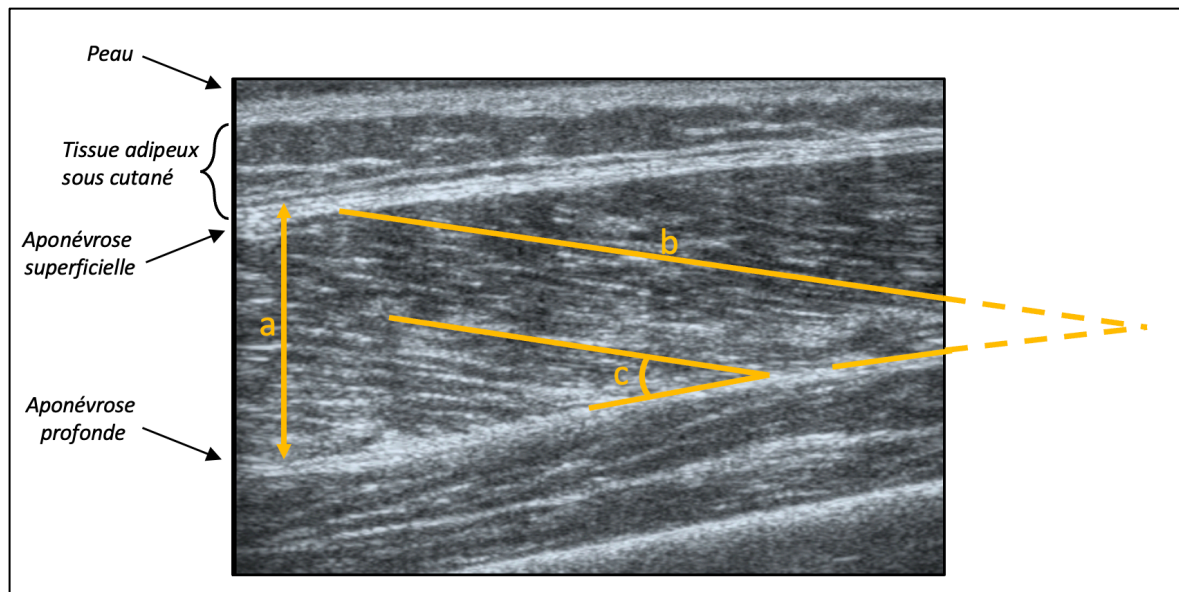


Figure 3 : échographie musculaire et différents paramètres analysables : épaisseur musculaire (a), longueur des fascicules (b) et angle de pennation (c).

Cette image correspond à une échographie du muscle vaste latéral provenant d'une patiente atteinte d'un cancer du sein. L'échographie a été réalisée à 62.5% de la distance entre l'épine iliaque antérosupérieure et le condyle latéral du fémur.

Il a été montré qu'un bed rest de 5 semaines entraînait des altérations au niveau de la structure du muscle (de Boer *et al.*, 2008), avec une diminution de l'épaisseur musculaire de 8 à 17% au niveau du muscle vaste latéral et une diminution de la longueur des fascicules de 5.9% (Agostini *et al.*, 2010; de Boer *et al.*, 2008). De la même manière, un séjour en unité de soins intensifs (*i.e.* réanimation) ou un vol spatial sont associés à des modifications d'architecture musculaire similaires (Koryak, 2019; Parry *et al.*, 2015). Dix jours d'alitement en réanimation entraînent par exemple une diminution de l'épaisseur du muscle vaste latéral de 14% tandis que la diminution de l'épaisseur du muscle vaste médial atteint 29% (Parry *et al.*, 2015), démontrant ainsi l'influence de l'absence de contraintes mécaniques sur la structure du muscle. De plus, l'avancée en âge semble également avoir un impact sur l'architecture puisque le vieillissement s'accompagne de réductions au niveau de l'épaisseur musculaire, de la longueur des fascicules ou encore de l'angle de pennation (Ticinesi *et al.*, 2017). Si la réduction de l'épaisseur musculaire est associée à une diminution du nombre de sarcomères en parallèle, la diminution de la longueur des

fascicules correspond quant à elle à une diminution du nombre de sarcomères en série (de Boer *et al.*, 2008; M. V. Narici & Maganaris, 2007). De ce fait, en ayant moins de sarcomères en série ou en parallèle, les unités contractiles sont ainsi moins nombreuses, ce qui entraîne finalement des pertes de force (Fitts *et al.*, 1991).

4. Aspects qualitatifs du déconditionnement musculaire

Si l'une des caractéristiques majeures du déconditionnement musculaire est la perte de masse musculaire, qui se traduit par une diminution de la quantité de muscle et de la CSA des fibres musculaires, avec un possible shift phénotypique et des changements d'architecture musculaire, des altérations qualitatives peuvent également se produire.

4.1. Infiltrations graisseuses ou intermuscular adipose tissue (IMAT)

Parmi les facteurs impliqués dans la qualité musculaire, les infiltrations graisseuses, également appelées intermuscular adipose tissue (IMAT), jouent un rôle clef dans le déconditionnement musculaire de par leur impact sur la baisse de force (Biltz *et al.*, 2020; Brioché *et al.*, 2016; Delmonico *et al.*, 2009). Les IMAT représentent des amas d'adipocytes entre les fibres et/ou les faisceaux de fibres musculaires et sont localisées sous l'épimysium (Figure 4). Contrairement aux gouttelettes lipidiques, les IMAT présentent une insulino-résistance (Arrighi *et al.*, 2015; Sachs *et al.*, 2019), sont localisées à l'extérieur de la cellule musculaire et constituent une accumulation ectopique de lipides sans rôle fonctionnel connu (Vettor *et al.*, 2009; Waters, 2019).

Si les IMAT sont naturellement présents au sein du tissu musculaire sain, c'est leur accumulation qui est responsable d'une perte de qualité musculaire avec des changements dans la production de force et dans les capacités fonctionnelles. Ainsi, l'accumulation d'IMAT s'observe dans plusieurs situations de déconditionnement musculaire comme l'avancée en âge (Brioché *et al.*, 2016; Delmonico *et al.*, 2009; Waters, 2019), l'hypoactivité (Guilhot *et al.*, 2022; Manini *et al.*, 2007; Pagano *et al.*, 2018), la rupture de la coiffe des rotateurs (Kuzel *et al.*, 2013; Nakamura *et al.*, 2017; Valencia *et al.*, 2018) ou le cancer

(Beaudry *et al.*, 2020; Reding *et al.*, 2019; Rier *et al.*, 2017). De manière intéressante, une étude sur modèle animal a permis d'isoler l'implication des IMAT sur les capacités contractiles et a montré que l'augmentation des IMAT expliquait plus de 50% de la perte de force (Biltz *et al.*, 2020). Effectivement, en utilisant un modèle glycérol afin d'induire une régénération musculaire avec développement d'IMAT, les auteurs ont montré une corrélation entre le volume d'IMAT et la diminution de la tension contractile, sans lien avec une réduction du matériel contractile. Ils ont également utilisé un modèle lipodystrophique qui ne peut pas générer d'adipocytes et ont rapporté qu'en l'absence d'IMAT, l'injection de glycérol ne conduit pas à une diminution de la force musculaire, indiquant finalement que les IMAT ont un impact direct sur la contraction musculaire. Les IMAT représentent donc un aspect qualitatif du déconditionnement musculaire intimement lié à la perte de force musculaire.

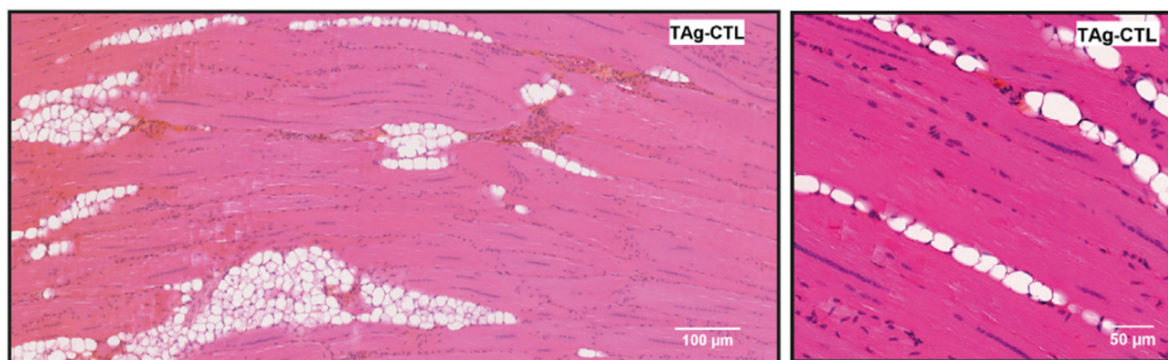


Figure 4 : représentation des IMAT sur une coupe longitudinale de tibialis antérieur de souris.

Cette figure, extraite de Pagano et al., (2015), représente les IMAT caractérisées par la présence d'adipocytes (en blanc) entre les fibres musculaires (en rose).

4.2. Système neuromusculaire

La force générée par un muscle ne dépend pas uniquement de sa structure ou de la quantité d'IMAT. Effectivement, elle est également dépendante de la commande nerveuse et de la qualité des unités motrices (*i.e.* un motoneurone et les fibres musculaires qu'il innerve). Plus précisément, la capacité de production de force par un groupe musculaire est initiée par le système nerveux central au niveau du cortex moteur, puis relayée par les faisceaux de la voie corticospinale qui projettent sur les motoneurones afin d'innover les

muscles distaux pour permettre la contraction via le couplage excitation-contraction (Wan *et al.*, 2017). Dans des modèles et situations de déconditionnement musculaire, il n'est pas rare d'observer une atteinte du système neuromusculaire (Canu *et al.*, 2019). Effectivement, il a déjà été montré une diminution de l'excitabilité corticospinale après 90 jours de bed rest (Roberts *et al.*, 2010) ainsi qu'une réorganisation du cortex moteur dans des modèles d'immobilisation (Furlan *et al.*, 2016). Ces résultats témoignent ainsi d'une altération au niveau central, *i.e.* au niveau de la capacité du système nerveux central à activer les muscles. D'autres désadaptations centrales ont été retrouvées après une immobilisation de la jambe comme une diminution de l'activation volontaire (Behm & St-Pierre, 1997, 1998) ou une diminution de l'activité électrique des muscles (Alkner *et al.*, 2016; Duchateau & Hainaut, 1987; Fuglsang-Frederiksen & Scheel, 1978; Yue *et al.*, 1997). À titre d'exemple, une immobilisation de 14 jours est associée à une diminution de l'activité électrique du soléaire de 29% (Seynnes *et al.*, 2008). Si les altérations centrales semblent prédominantes, des altérations périphériques, *i.e.* au niveau des capacités contractiles du muscle, ont également été retrouvées après une immobilisation et se caractérisaient par une diminution du couplage excitation-contraction (M. J. White *et al.*, 1984). Si ces données montrent que les pertes de force liées aux modèles d'inactivité peuvent aussi s'expliquer par une défaillance du système neuromusculaire (Koryak, 1998), elles peuvent aussi être associées à une augmentation de la fatigue à la suite d'une immobilisation (Veldhuizen *et al.*, 1993) ou d'un bed rest (Mulder *et al.*, 2007).

Similairement, l'avancée en âge est connue pour être une situation de déconditionnement musculaire et s'accompagne également d'une altération du système neuromusculaire. En effet, les pertes de force liées à l'avancée en âge peuvent s'expliquer par un ralentissement de la vitesse de contraction et une diminution du couplage excitation-contraction (Hunter *et al.*, 2016). De plus, le vieillissement est associé à une altération au niveau de la jonction neuromusculaire (*i.e.* la synapse entre un motoneurone et une fibre musculaire) (Deschenes, 2011) entraînant ainsi une baisse de la production de force (Hughes *et al.*, 2015). Ces altérations peuvent s'expliquer par un phénomène de dénervation-réinnervation (Jang & Van Remmen, 2011) ainsi que par une apoptose (*i.e.* mort cellulaire) des motoneurones (Anagnostou & Hepple, 2020). L'apoptose des motoneurones serait alors médiée par un dysfonctionnement mitochondrial et une augmentation du

stress oxydant (Anagnostou & Hepple, 2020; Dobrowolny *et al.*, 2021). Plus précisément, c'est l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui provoquerait une fragmentation et une dégénérescence de la jonction neuromusculaire (Aagaard *et al.*, 2010).

4.3. Altérations mitochondriales

La mitochondrie est un organe présent dans la cellule dont le rôle principal est d'assurer la production d'énergie, *i.e.* la production d'ATP (Annesley & Fisher, 2019; Nunnari & Suomalainen, 2012). Cette production d'ATP est médiée par la chaîne respiratoire mitochondriale, reconnue comme source principale de production de ROS qui, en excès, créent du stress oxydant.

Les altérations mitochondriales représentent une caractéristique majeure du déconditionnement musculaire, affectant grandement la qualité musculaire. La première spécificité est une réduction du nombre de mitochondries, aussi bien dans des modèles d'hypoactivité (Arc-Chagnaud *et al.*, 2020; Standley *et al.*, 2020) que lors de l'avancée en âge (Marzetti *et al.*, 2013) ou pendant une maladie chronique comme la BPCO (Gifford *et al.*, 2018). En plus d'être réduites en nombre, les mitochondries subissent des modifications au niveau de leur morphologie et de leur structure, ce qui conduit à la formation de mitochondries endommagées, fragmentées et moins fonctionnelles (Leduc-Gaudet *et al.*, 2021). De manière générale, le dysfonctionnement mitochondrial s'illustre par une diminution de la respiration mitochondriale (Dirks *et al.*, 2020), ce qui entraîne une diminution de la production d'ATP (Abrigo *et al.*, 2019). De plus, que ce soit dans des modèles d'hypoactivité ou lors de l'avancée en âge, il existe une augmentation de la production de ROS, ce qui conduit finalement à du stress oxydant et à une augmentation de l'apoptose (*i.e.* mort cellulaire) (H. Hyatt *et al.*, 2019; Marzetti *et al.*, 2013; Standley *et al.*, 2020). L'ensemble de ces altérations aboutit à une perturbation de l'homéostasie mitochondriale qui participe *in fine* à l'atrophie musculaire, notamment par une perturbation des voies de signalisation cellulaire (H. Hyatt *et al.*, 2019; Ji & Yeo, 2019).

5. Aspects fonctionnels du déconditionnement musculaire

Les altérations des paramètres quantitatifs et qualitatifs du muscle strié squelettique conduisent à des modifications au niveau des capacités fonctionnelles comme une perte de force ou une diminution de la capacité d'exercice, deux aspects fréquemment retrouvés dans les modèles et les situations de déconditionnement musculaire.

5.1. Perte de force

La perte de force musculaire est un aspect fonctionnel majeur du déconditionnement musculaire couramment utilisé pour refléter les modifications de fonction musculaire. Cette perte de force peut aussi bien se manifester lors d'une maladie chronique que pendant l'avancée en âge, ou encore dans des modèles d'hypoactivité (Cruz-Jentoft *et al.*, 2019; Evans *et al.*, 2008; Y. Gao *et al.*, 2018). Effectivement, il est bien admis et logique que la force générée par un muscle est proportionnelle à la CSA du muscle, *i.e.* à sa taille (Krivickas *et al.*, 2011). Ainsi, les modèles d'hypoactivité comme le bed rest et la dry immersion, connus pour induire une atrophie, entraînent également une perte de force musculaire. À titre d'exemple, 3 à 5 jours de dry immersion entraînent des pertes de force respectivement de 9 à 17% au niveau du muscle quadriceps (Demangel *et al.*, 2017; Fovet *et al.*, 2021). De manière plus impressionnante, la perte de force musculaire est d'environ 30% après deux mois de bed rest (Arc-Chagnaud *et al.*, 2020) et 32% après une semaine d'immobilisation totale de la jambe (Luo *et al.*, 2020). Si ces modèles peuvent paraître extrêmes, la perte de force est également présente lors de l'avancée en âge. Effectivement, il est bien admis qu'il existe une perte de 1 à 2% de force musculaire par an à partir de 60 ans, représentant alors une perte de 20 à 40% pendant 20 ans d'avancée en âge (Figure 5) (Vandervoort, 2002). Cette perte de force est alors responsable d'une diminution des capacités fonctionnelles ainsi que d'une augmentation du syndrome de fragilité chez la personne âgée (Cruz-Jentoft *et al.*, 2019; Dent *et al.*, 2018). Plus précisément, il a été montré que la force des extenseurs du genou avait un impact plus important que la force de préhension sur les capacités fonctionnelles, que ce soit lors de l'avancée en âge (Martien *et al.*, 2015) ou pendant une maladie chronique (Norman *et al.*, 2010).

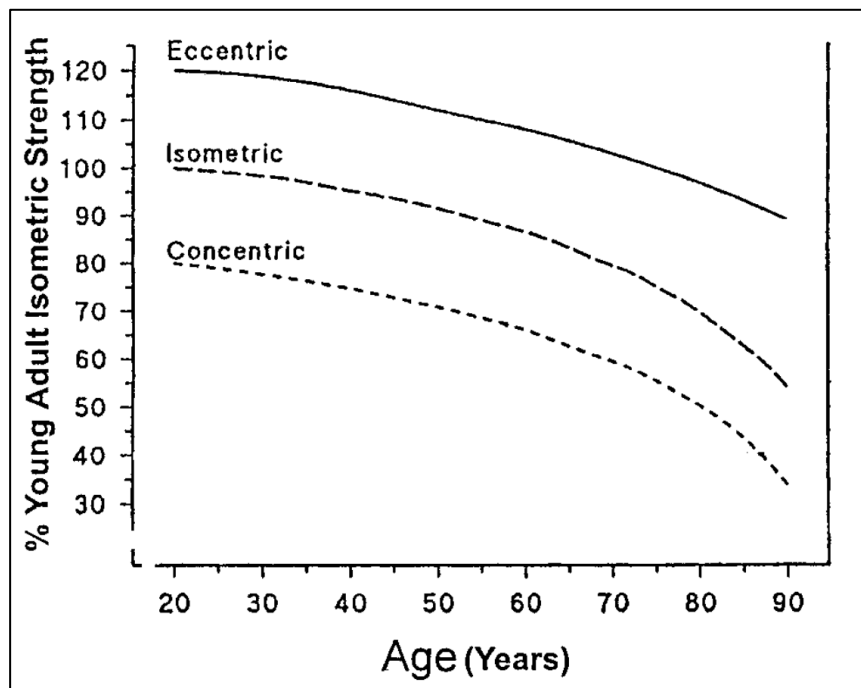


Figure 5 : perte de force musculaire excentrique, isométrique et concentrique lors de l'avancée en âge.

Extrait de Vandervoort (2002). Cette figure schématise l'évolution théorique de la force musculaire excentrique, isométrique et concentrique lors de l'avancée en âge. Ces courbes proviennent des recherches gérontologiques menées par l'auteur.

Au-delà des aspects « quantitatifs » du déconditionnement musculaire, les paramètres « qualitatifs » du muscle strié squelettique peuvent aussi expliquer la perte de force. En effet, s'il est bien admis que la force générée par un muscle est corrélée à sa taille, il a aussi été mis en évidence que la perte de force musculaire excédait la perte de masse musculaire. Une étude de cohorte chez des personnes âgées a montré qu'en 5 ans, la perte de force musculaire était 2 à 5 fois supérieure par rapport à la perte de masse musculaire (Delmonico *et al.*, 2009). De manière similaire, une étude en situation d'hypoactivité a souligné une perte de masse musculaire d'environ 2% au niveau du quadriceps avec une perte de force de 9% après seulement 3 jours de dry immersion (Demangel *et al.*, 2017). S'il s'agit d'un phénomène largement connu dans tous les modèles d'hypoactivité (di Prampero & Narici, 2003), cette discordance se retrouve aussi lors de maladies chroniques comme le cancer (Cešeiko *et al.*, 2020; Toth *et al.*, 2020) et peut s'expliquer par des changements au niveau de la qualité musculaire. Plus précisément, l'augmentation de la quantité d'IMAT et/ou une altération du système neuromusculaire ont été identifiées

comme deux causes de la perte de force, indépendamment de la masse musculaire (Delmonico *et al.*, 2009; Hughes *et al.*, 2015; Hunter *et al.*, 2016).

5.2. Capacité d'exercice

Bien que la quantité de masse musculaire soit directement associée à la capacité à produire de la force, il est également bien admis qu'elle est associée à la capacité d'exercice, et plus précisément à la $\dot{V}O_{2\max}$ (Figure 6A) (Mancini *et al.*, 1992; Miyatani *et al.*, 2008). Dès lors, les modèles de bed rest, connus pour induire une atrophie musculaire, sont aussi responsables d'une diminution de la capacité aérobie (S. M. C. Lee *et al.*, 2010), tout comme l'avancée en âge qui est associée à une diminution de la $\dot{V}O_{2\max}$ de plus de 10% par décennie (Fleg, 2012). L'une des explications est liée à la perte du contenu mitochondrial étant donné que plus le contenu mitochondrial est faible, plus la $\dot{V}O_{2\max}$ est faible (Figure 6B) (Weibel *et al.*, 2004). Ainsi, la réduction des capacités d'endurance chez les patients BPCO (Taivassalo & Hussain, 2016), chez des insuffisants cardiaques (Yokota *et al.*, 2021) ou lors de l'avancée en âge (Betik & Hepple, 2008; Handy *et al.*, 2021), peut s'expliquer par des altérations mitochondriales. De plus, le stress oxydant, médié par une production excessive de ROS, serait responsable d'une fatigabilité supérieure et d'une altération de la fonction neuromusculaire (D. G. Allen *et al.*, 2008; Powers *et al.*, 2011). En effet, l'augmentation du stress oxydant entraîne une fatigue périphérique accrue, notamment par une réduction des capacités contractiles musculaires en raison d'une perturbation du couplage excitation-contraction (D. G. Allen *et al.*, 2008). Cette augmentation de la fatigue est aussi une caractéristique majeure du déconditionnement musculaire rapportée dans toutes les pathologies présentant une atrophie musculaire (Powers *et al.*, 2016).

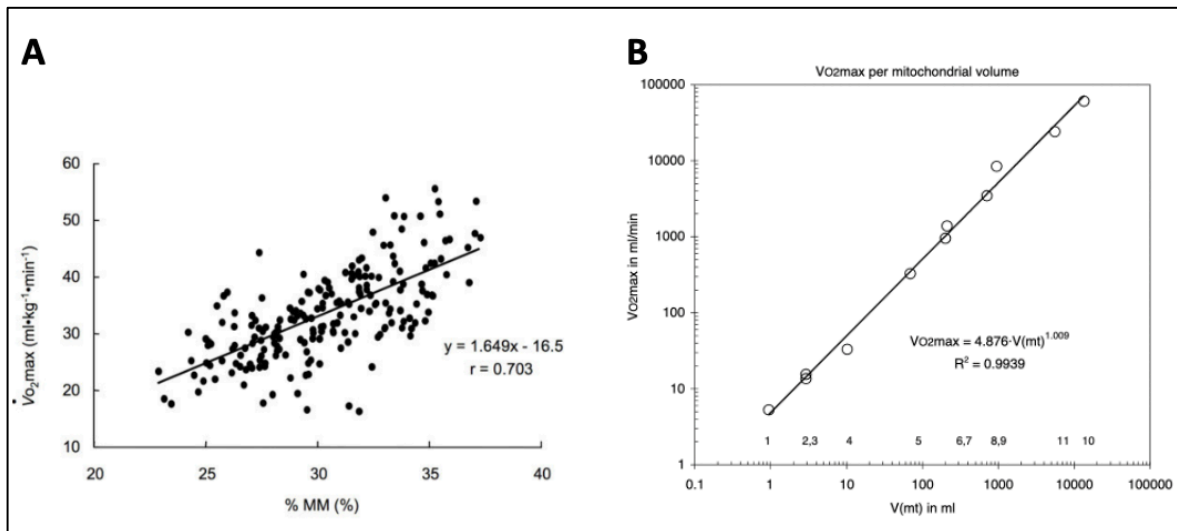


Figure 6 : corrélation entre le pourcentage de masse musculaire et la $\dot{V}O_{2max}$ (A) et entre le volume mitochondrial et la $\dot{V}O_{2max}$ (B).

Extrait de Miyatani *et al.*, (2008) et Weibel *et al.*, (2004). La figure A illustre la relation entre le pourcentage de masse musculaire et la $\dot{V}O_{2max}$. Plus la masse musculaire est élevée, plus la consommation maximale d'oxygène est élevée. Le r^2 à 0.49 (0.703×0.703) signifie que 49% de la variance de la $\dot{V}O_{2max}$ est expliquée par la masse musculaire. Ces données proviennent de 201 femmes japonaises âgées de 20 à 69 ans. La figure B illustre quant à elle la relation entre le volume mitochondrial et la $\dot{V}O_{2max}$. Plus le volume mitochondrial est élevé, plus la $\dot{V}O_{2max}$ est élevée. Le r^2 à 0.99 indique que 99% de la variance de la $\dot{V}O_{2max}$ est expliquée par le volume mitochondrial. Ces données proviennent de 11 espèces de mammifères.

6. Conséquences du déconditionnement musculaire sur la qualité de vie et la mortalité

En plus de profondément perturber la fonction musculaire et la capacité d'exercice, le déconditionnement musculaire a également des répercussions psychosociales. Il est très largement rapporté une diminution de la qualité de vie chez de nombreux patients touchés par une perte de masse musculaire (Baracos *et al.*, 2018; Beaudart *et al.*, 2018; Nipp *et al.*, 2018; A. M. Ryan *et al.*, 2019). Bien qu'il n'existe pas encore de preuves de cause à effet, il semblerait que l'influence de la masse musculaire sur la qualité de vie soit médiée par l'impact d'atrophie et de la perte de force sur les diminutions des capacités fonctionnelles, l'indépendance et le bien-être émotionnel des patients (Hanna *et al.*, 2022). De manière plus dramatique, le déconditionnement musculaire entraîne un risque majeur pour la

santé. Effectivement, la perte de masse musculaire représente un facteur qui augmente considérablement le risque de mortalité, aussi bien lors de maladies chroniques (Baggerman *et al.*, 2020; Baracos *et al.*, 2018; Ioyama *et al.*, 2014) que pendant l'avancée en âge (Figure 7) (Kelley & Kelley, 2017; Kitamura *et al.*, 2021; Sieber, 2019).

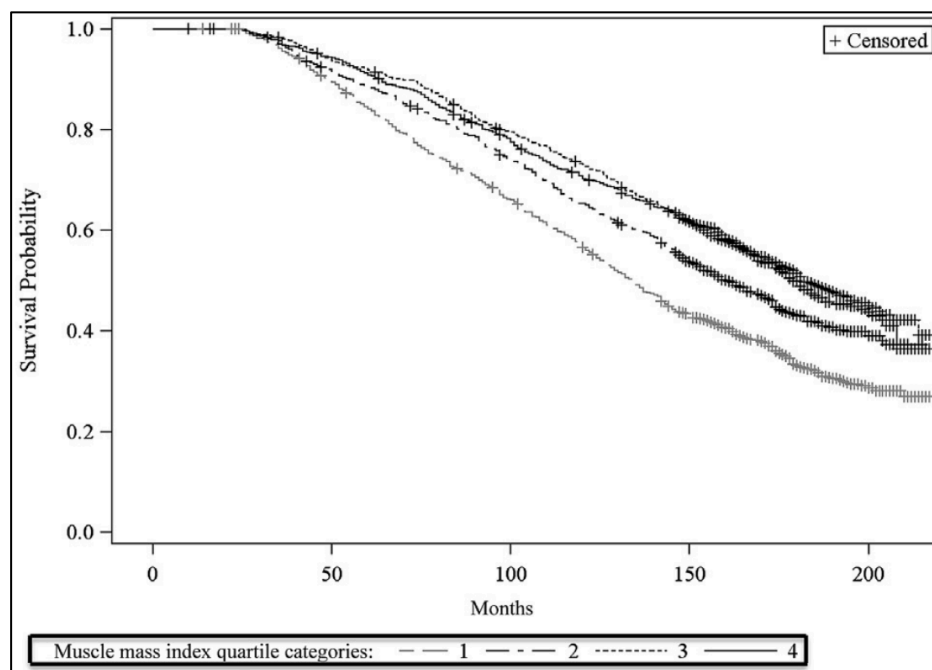


Figure 7 : impact de la quantité de masse musculaire, répartie selon 4 quartiles, sur la mortalité lors de l'avancée en âge.

Extrait de Srikanthan & Karlamangla, (2014). Les données de cette figure proviennent d'un échantillon de 3659 sujets âgés et en bonne santé et indiquent que plus la masse musculaire est faible, plus le risque de mortalité est élevé.

Ainsi, compte tenu des caractéristiques du déconditionnement musculaire (tableau 2) et des conséquences sur la santé, sa prévention et sa prise en charge semblent primordiales. Toutefois, l'étude des mécanismes cellulaires est nécessaire pour proposer une contremesure adaptée visant à cibler les mécanismes sous-jacents.

Tableau 2 : résumé des caractéristiques du déconditionnement musculaire.

Aspects quantitatifs	Aspects qualitatifs	Aspects fonctionnels
Masse musculaire	IMAT	Force musculaire
Shift phénotypique	Système neuromusculaire	Capacité d'exercice
Architecture	Mitochondries	

Chapitre II : Mécanismes cellulaires du déconditionnement musculaire

Ce chapitre 2 est dédié à la présentation des principaux mécanismes cellulaires impliqués dans le déconditionnement musculaire chez l'humain. Différents exemples sont utilisés pour illustrer ces altérations comme les modèles expérimentaux (*i.e.* immobilisation, bed rest et dry immersion) et les situations cliniques (*i.e.* vieillissement et maladies chroniques hors cancer). Une partie spécifique dédiée aux mécanismes cellulaires impliqués dans le déconditionnement musculaire chez la patiente atteinte d'un cancer du sein est présentée dans le chapitre suivant.

1. Le turnover protéique

Si le muscle strié squelettique est un tissu capable de s'hypertrophier ou à l'inverse de s'atrophier, sa grande plasticité repose principalement sur le turnover protéique, *i.e.* la balance entre la synthèse et la dégradation des protéines (Schiaffino *et al.*, 2013; Vainshtein & Sandri, 2020). Effectivement, le volume musculaire de la fibre musculaire est occupé à 80% par des protéines (Hoppeler, 1986). Ainsi, il apparaît évident qu'un déséquilibre du turnover protéique entraînant plus de dégradation et/ou moins de synthèse sera associé à une perte de masse musculaire. Si la synthèse des protéines repose majoritairement sur la voie PI3k-Akt-mTOR, la dégradation protéique comprend quant à elle le système ubiquitine-protéasome, l'autophagie et le système des calpaïnes.

1.1. Synthèse des protéines

La voie principale impliquée dans la synthèse des protéines musculaires est la voie PI3k-Akt-mTOR (Figure 8) (Vainshtein & Sandri, 2020). Si les acides aminés (via la nutrition), le facteur de croissance de l'insuline (IGF-1) et les contraintes mécaniques (*e.g.* exercice en résistance) activent cette voie, l'inflammation représente quant à elle un puissant régulateur négatif (G. Y. Liu & Sabatini, 2020). L'activation de PI3K augmente l'activité d'Akt qui va inhiber le complexe TSC1/TSC2, pour permettre *in fine* l'activation de mTOR

(Schiaffino *et al.*, 2013). Plus précisément, Akt phosphoryle TSC1 sur les Ser-939/981 et la Thr-1462 (Manning & Cantley, 2003). Ce mécanisme empêche alors TSC2 d'inhiber la protéine Rheb, qui représente un activateur de mTOR (Miyazaki & Esser, 2009), et qui aboutit *in fine* à son activation. mTOR est composé de deux complexes : mTORC1 et mTORC2. Si mTORC2 est impliqué dans l'homéostasie lipidique et glycolytique (G. Y. Liu & Sabatini, 2020), mTORC1 représente le complexe le plus étudié dans les modèles de déconditionnement musculaire étant donné sa forte implication dans les processus anaboliques comme la synthèse des protéines (Sartori *et al.*, 2021a). mTORC1 régule l'efficacité traductionnelle de la cellule en phosphorylant 4EBP1 et S6K1 par son lien avec eIF3f (Vainshtein & Sandri, 2020). S6K1 est alors en mesure de phosphoryler à son tour rpS6, entraînant finalement la traduction protéique. L'ensemble de la voie mTOR, en plus d'activer la traduction des protéines, inhibe les systèmes de dégradation des protéines comme le système ubiquitine-protéasome ou le système de l'autophagie (J. Zhao *et al.*, 2015). Ainsi, la synthèse des protéines est un mécanisme indispensable pour le maintien de la masse musculaire et une diminution de son activité est souvent associée à une atrophie.

En effet, il est couramment rapporté dans les modèles de déconditionnement musculaire que la synthèse des protéines diminue fortement (Chopard *et al.*, 2009; Schiaffino *et al.*, 2013). Lors d'un modèle d'hypoactivité comme la dry immersion, la phosphorylation de mTOR et de 4EBP1 diminue respectivement de 24 et 29% en seulement 5 jours, soulignant l'influence des contraintes mécaniques sur la synthèse des protéines (Fovet *et al.*, 2021). De façon plus importante, lors d'une immobilisation de la jambe, le flux de synthèse de protéines myofibrillaires diminue de moitié en seulement 10 jours (de Boer *et al.*, 2007). Si des résultats similaires sont rapportés dans des modèles animaux (Bodine, *et al.*, 2001a; Hornberger *et al.*, 2001), des études ont également montré que l'inhibition de mTORC1 résultait certes en une masse musculaire plus faible, mais que le tissu musculaire était quand même capable de s'hypertrophier (Bentzinger *et al.*, 2008). Ainsi, mTORC1 joue un rôle clef dans la synthèse des protéines, mais n'est pas le seul régulateur du turnover protéique (Sartori *et al.*, 2021a). D'autres mécanismes, notamment ceux impliqués dans la dégradation protéique, doivent être pris en considération pour étudier la plasticité musculaire.

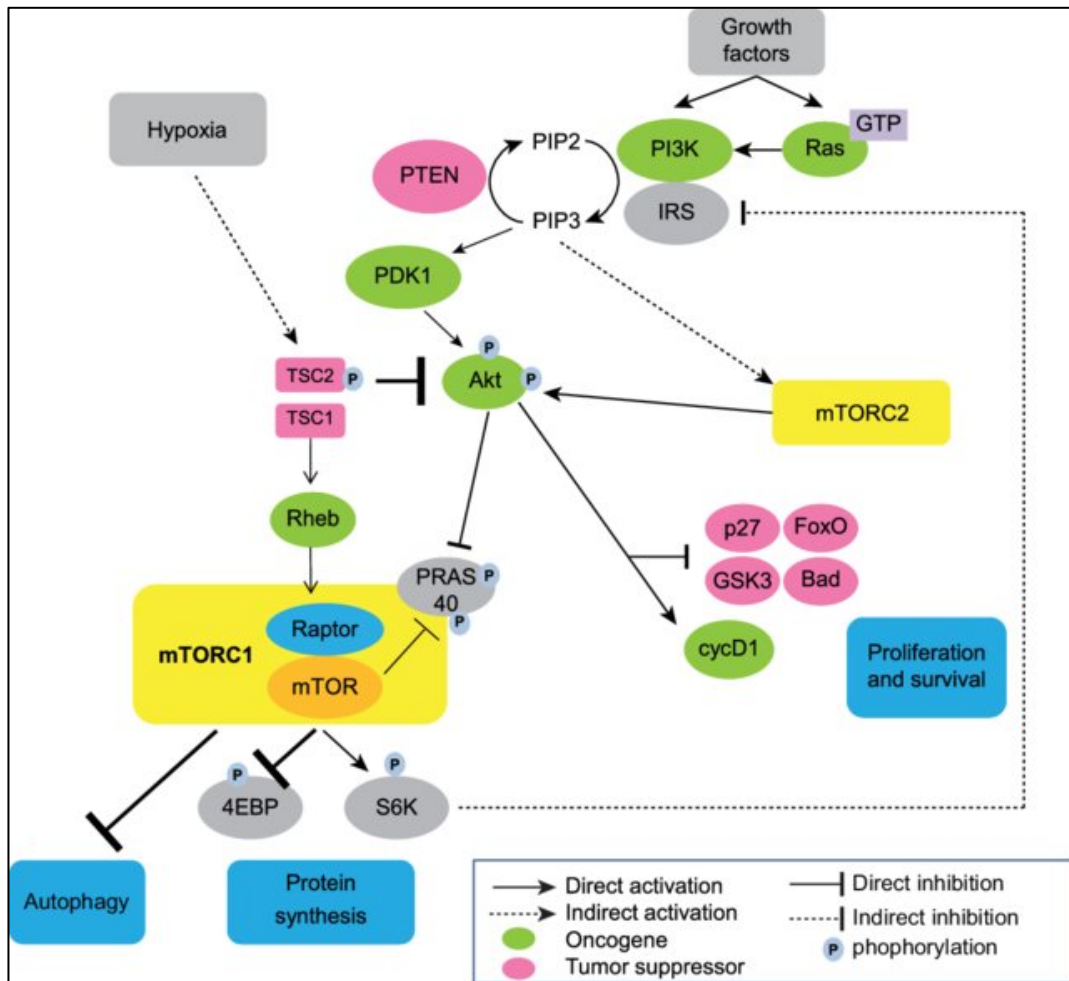


Figure 8 : PI3k-Akt-mTOR, voie principale impliquée dans la synthèse des protéines.
 Extrait de Augereau et al., (2017). Ce schéma représente les mécanismes cellulaires impliqués dans la voie principale de synthèse des protéines.

1.2. Système ubiquitine-protéasome

Il existe deux grands systèmes de dégradation protéique, dont le système ubiquitine-protéasome qui est ATP-dépendant. L'activation de ce système protéolytique est principalement régulée par les facteurs de transcriptions de la famille des FoxOs et par NF- κ B (Schiaffino et al., 2013; Vainshtein & Sandri, 2020). Ces gènes vont alors activer deux E3 ligases fortement impliquées dans la dégradation : MAFbx (ou atrogin-1) et MuRF-1 (Figure 9). Ces E3 ligases sont considérées comme des protéines impliquées dans toutes les situations cataboliques et leur activation induit une importante atrophie musculaire (Bodine et al., 2001b; Sartori et al., 2021a). MuRF1 ubiquitine plusieurs protéines structurelles musculaires comme la troponine I, les MyHC et l'actine (Cohen et al., 2015),

alors que MAFbx est davantage impliqué dans la diminution de la synthèse protéique via la dégradation d'eIF3f (qui initie la traduction) et MyoD, un facteur de transcription myogénique (Bodine & Baehr, 2014; Cohen *et al.*, 2015). De nombreuses autres ligases ont été découvertes comme TRIM32 et TRAF6 qui jouent un rôle dans la dégradation protéique (Sartori *et al.*, 2021a). Même si les modèles précliniques ont déjà souligné que l'inhibition des E3 ligases comme MuRF1 et MAFbx ne prévenait pas totalement l'atrophie musculaire (Baehr *et al.*, 2011; Cadena *et al.*, 2019; Hwee *et al.*, 2014; Sandri *et al.*, 2013), les données de la littérature suggèrent un rôle fort du système ubiquitine-protéasome dans la dégradation des protéines sarcomériques lors du déconditionnement musculaire (Sartori *et al.*, 2021a).

En effet, l'atrophie musculaire des fibres musculaires du vaste latéral de plus de 20% induite par 5 jours de dry immersion pourrait en partie s'expliquer par une augmentation de l'expression protéique de MuRF-1 (Fovet *et al.*, 2021), qui n'était pas associée à une augmentation de MAFbx. De la même manière, il a été montré chez l'humain une augmentation précoce de l'expression du MuRF-1 dans les jours qui suivent une immobilisation, sans changement au niveau de MAFbx (de Boer *et al.*, 2007). Ces études soulignent ainsi deux points clés : MuRF-1 semble davantage impliqué dans l'atrophie musculaire par une dégradation protéique exacerbée plutôt que MAFbx par une inhibition de la synthèse ; l'activation du système ubiquitine-protéasome semble avoir lieu très tôt après l'initiation de l'hypoactivité. Cette notion de cinétique a très bien été illustrée dans un modèle d'hypoactivité chez la souris. Il a été montré que la diminution de la CSA intervenait 7 jours après l'initiation de l'hypoactivité pour le gastrocnémien et 14 jours après pour le soléaire, alors que l'augmentation des E3 ligases comme MuRF-1 était présente dès 24h (Hanson *et al.*, 2013). La suractivation du système ubiquitine-protéasome semble donc être un mécanisme précurseur de la diminution de la CSA. Si l'implication de ce mécanisme de dégradation protéique est indiscutable dans tous les modèles d'atrophie musculaire, *i.e.* chez l'humain ou l'animal (Kitajima *et al.*, 2020; Milan *et al.*, 2015; Murton *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2018), un autre processus comme l'autophagie, régulé majoritairement par les mêmes facteurs de transcription (*i.e.* FoxOs et NF- κ B), est aussi impliqué dans le déconditionnement musculaire.

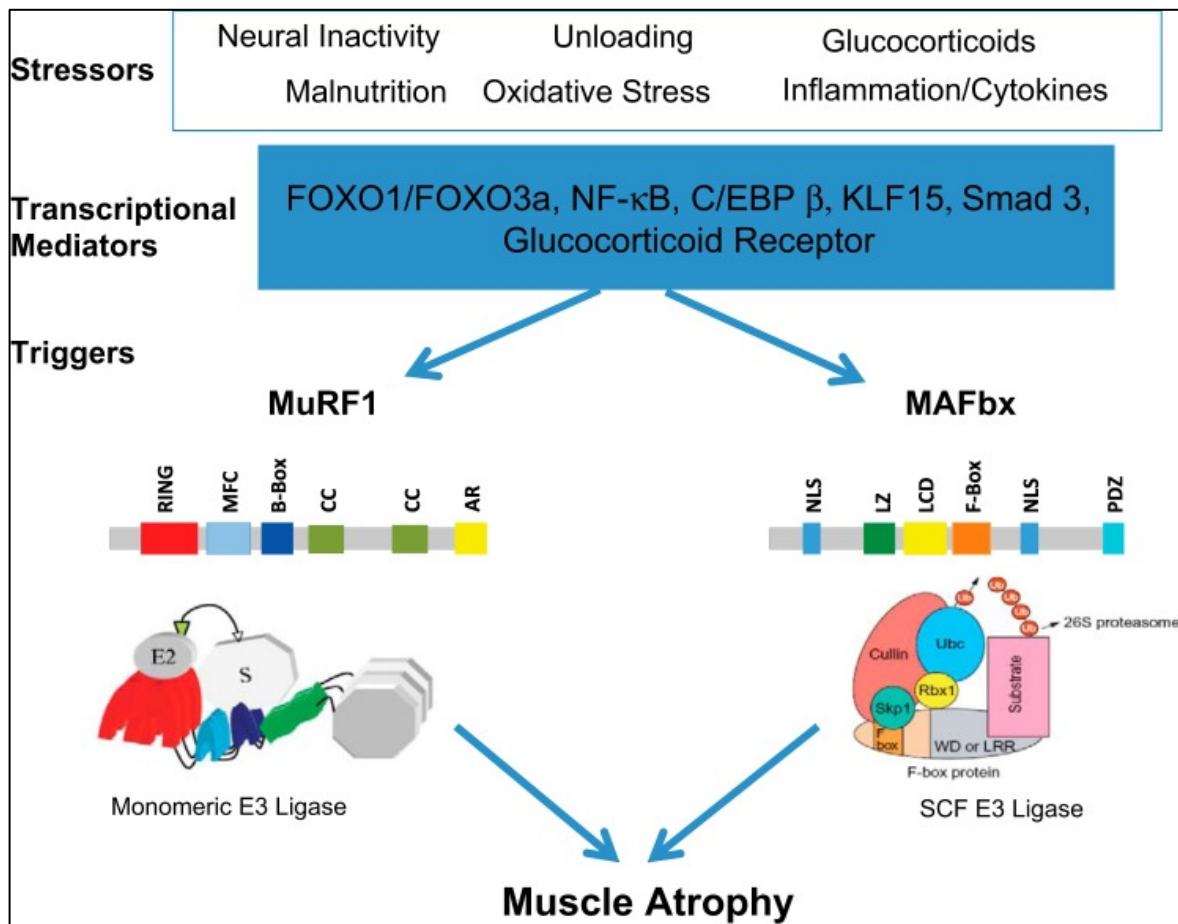


Figure 9 : facteurs de transcriptions impliqués dans l'activation de MuRF1 et MAFbx, des E3 ligases essentielles au fonctionnement du système ubiquitin-protéasome.
 Extrait de Bodine & Baehr (2014). Ce schéma illustre le rôle des différents stress physiologiques impliqués dans l'activation de facteurs de transcription de la protéolyse dont les cibles sont MuRF1 et MAFbx.

1.3. Système autophagique lysosomal

Le système autophagique lysosomal, simplifié sous l'appellation « autophagie », est un autre système de dégradation fortement impliqué dans l'homéostasie musculaire (Figure 10). Principalement régulée par les gènes de la famille des Atg en réponse à l'activation des facteurs de transcription NF-κB et FoxOs, l'autophagie permet l'élimination sélective d'organites spécifiques tels que les mitochondries ou les protéines (y compris d'agrégats protéiques). Ce mécanisme joue alors un rôle clef dans l'homéostasie musculaire par le recyclage de macromolécules (Sartori *et al.*, 2021a). L'autophagie est initiée par Ulk1, et plus particulièrement par le complexe Ulk1-Atg13-FIP200 (Ganley *et al.*,

2009; Hosokawa *et al.*, 2009). Ulk1 est alors soit inhibé par la phosphorylation de mTORC1, soit activé par AMPK (Parzych & Klionsky, 2014; Sanchez *et al.*, 2012; Y. Wang & Zhang, 2019). L'initiation de l'autophagie entraîne une cascade d'activation résultant en la biogénèse de l'autophagosome via Atg7 suite à la phosphorylation de Beclin-1 et l'activation de vps34 (Nakatogawa, 2020). La formation de l'autophagosome mature est ensuite régulée par LC3B. Sous l'action des Atg, notamment Atg4 et Atg7, LC3 aboutit à la formation de deux isoformes : LC3B-I puis LC3B-II (Nakatogawa, 2020). Plus précisément, LC3B-I est conjugué au phosphatidyléthanolamine de la membrane de l'autophagosome par l'action de Atg7, qui devient alors LC3B-II et permet l'élongation de l'autophagosome mature (Nakatogawa, 2020). Grâce à sa liaison avec LC3B-II, p62 se lie aux constituants cellulaires à dégrader et les fixe. L'autophagosome fusionne finalement avec le lysosome pour entraîner la dégradation des éléments qu'il contient, dont p62 qui est utilisé comme un reflet du flux autophagique (Bjørkøy *et al.*, 2009).

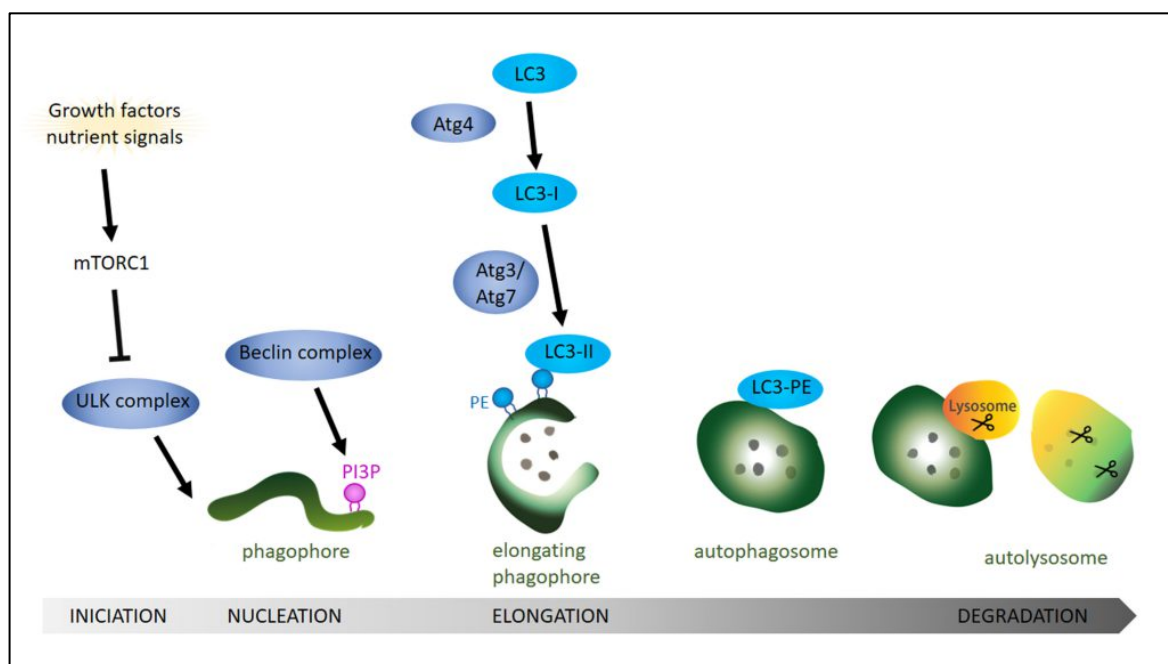


Figure 10 : système de l'autophagie et dégradation des protéines.

Extrait de Hernandez-Diaz & Soukup, (2020). Ce schéma décrit les différentes étapes de l'autophagie et l'implication des différentes protéines clefs.

L'augmentation de l'autophagie a été montrée dans de nombreuses conditions associées à une perte de masse musculaire comme les maladies chroniques ou l'hypoactivité (Sandri, 2013). À titre d'exemple, il a été montré une augmentation d'Atg7

après seulement 5 jours de dry immersion (Fovet *et al.*, 2021) ou deux mois de bed rest (Arc-Chagnaud *et al.*, 2020), ainsi qu'une augmentation de Beclin1 après 24 jours de bed rest (Brocca *et al.*, 2012). Il a également été montré que les patients BPCO présentaient au niveau du vaste latéral des niveaux de protéines de LC3B-II et Beclin1 plus importants que des sujets contrôles, suggérant ainsi un niveau d'autophagie plus important (Hussain & Sandri, 2013). L'augmentation de l'autophagie se retrouve également lors de l'avancée en âge, avec des augmentations de Beclin1 et Bnip3 chez des personnes âgées sédentaires comparées à des sujets jeunes ou des sujets âgés sportifs (Zampieri *et al.*, 2015). Néanmoins, s'il est bien admis qu'une suractivation de l'autophagie entraîne une perte de masse musculaire, il a aussi été montré qu'une diminution de l'autophagie par une déficience d'Atg5, Atg7, Vps15, ULK2, AMPK ou mTOR avait des conséquences importantes chez l'animal (Vainshtein & Sandri, 2020), comme l'accumulation de protéines endommagées, conduisant à la dégénérescence des myofibrilles et finalement à une perte de force (Bujak *et al.*, 2015; Fuqua *et al.*, 2019; Masiero *et al.*, 2009; Nemazanyy *et al.*, 2013; Raben *et al.*, 2008; Theeuwes *et al.*, 2017). Chez l'humain, une étude chez des patients en réanimation a par exemple rapporté que l'atrophie musculaire était associée à une autophagie déficiente qui conduisait *in fine* à une accumulation de protéines à dégrader (Vanhorebeek *et al.*, 2011). Une défaillance de l'autophagie est également impliquée dans le développement de la glycogénose musculaire de type II, une maladie musculaire caractérisée par la présence de grands lysosomes remplis de glycogène qui est responsable d'importantes incapacités fonctionnelles (Nascimbeni *et al.*, 2012). Pour conclure, une sur- ou sous-activation de l'autophagie résulte en une altération de l'homéostasie du muscle squelettique, ce qui entraîne *in fine* un déficit fonctionnel caractérisé par une perte de force.

1.4. Système des calpaïnes

Bien qu'impliqué dans la dégradation des protéines, ce système calcium-dépendant (Figure 11) reste le moins étudié dans les modèles de déconditionnement musculaire malgré sa découverte en 1964 (Meyer *et al.*, 1964). La famille des calpaïnes est constituée d'un groupe de protéases activées par le calcium dont la fonction protéolytique varie selon

l'isoforme de la calpaïne et le type de cellule (H. W. Hyatt & Powers, 2020). Il existe trois isoformes au sein du tissu musculaire squelettique, CAPN1, CAPN2 et CAPN3. Leur rôle le plus admis est de faciliter le renouvellement des protéines par le clivage protéolytique des protéines sarcomériques et cytosquelettiques telles que la titine, la dystrophine, la nébuline et la desmine (Goll *et al.*, 2003; H. W. Hyatt & Powers, 2020; Purintrapiban *et al.*, 2003). Le système des calpaïnes serait également impliqué dans l'inhibition d'Akt, ce qui entrainerait alors en une diminution de la synthèse protéique (I. J. Smith *et al.*, 2008). La plupart des études ayant montré l'implication du système des calpaïnes dans l'atrophie musculaire, soit par une sur- ou une sous-activation, a été menée chez le modèle animal (H. W. Hyatt & Powers, 2020; Powers *et al.*, 2020).

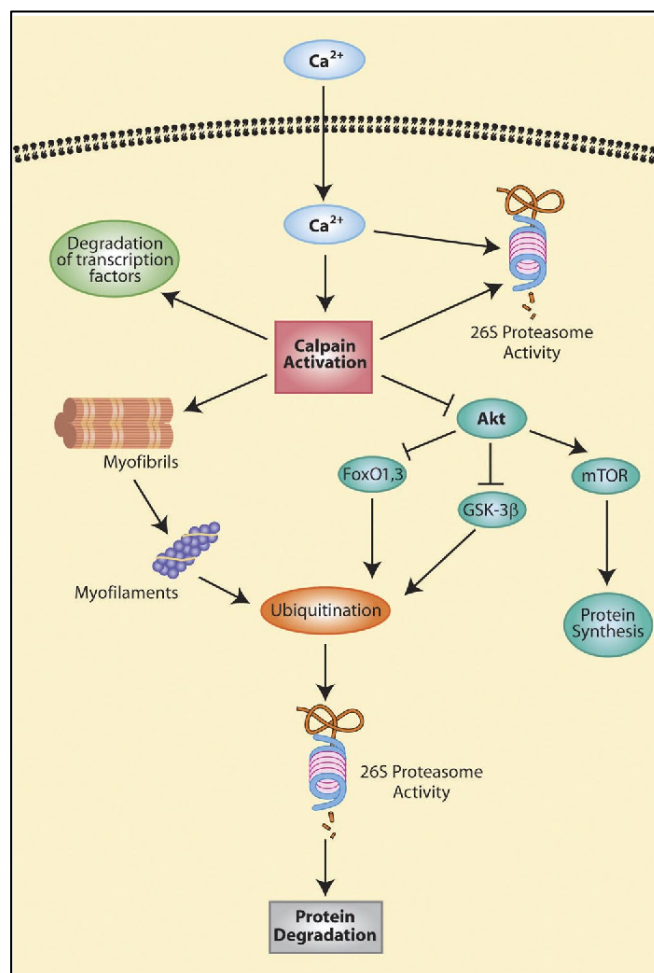


Figure 11 : rôle des calpaïnes dans la dégradation des protéines et l'atrophie musculaire. Extrait de Smith *et al.*, (2008). Ce schéma souligne le rôle des calpaïnes dans l'atrophie musculaire notamment par l'inhibition de la synthèse des protéines (voie Akt-mTOR) et l'augmentation de l'ubiquitination des protéines.

2. Les cellules satellites

Si le turnover protéique joue un rôle essentiel dans la croissance (ou la diminution du tissu musculaire), la régénération musculaire est un autre mécanisme primordial pour maintenir une homéostasie. Ce mécanisme est principalement assuré par les cellules satellites, des progéniteurs myogéniques situés entre le sarcolemme et la lame basale des fibres musculaires (Figure 12) (Mauro, 1961). Lors du processus de régénération, les cellules satellites vont sortir de leur état de quiescence pour proliférer en myoblastes, puis se différencier en myotubes et fusionner avec une fibre musculaire lésée (Figure 13) (Dumont *et al.*, 2015).

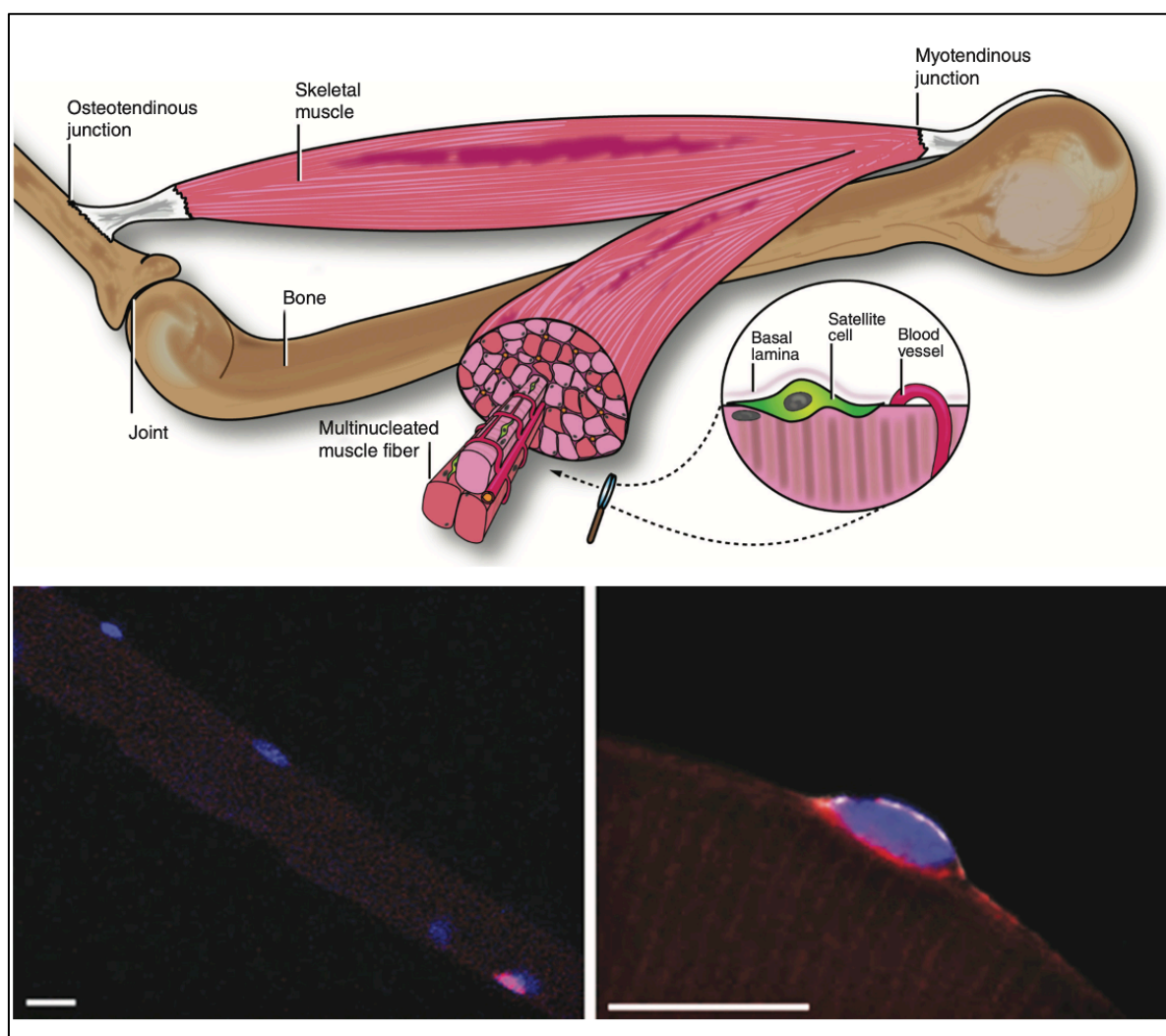


Figure 12 : localisation des cellules satellites entre le sarcolemme et la lame basale. Extrait de Dumont *et al.*, (2015). Cette figure illustre la localisation des cellules satellites dans l'environnement musculaire à travers un schéma et un marquage immunohistochimique fluorescent.

Tout au long du processus de régénération, les cellules satellites expriment différentes protéines (Figure 13) : Pax7 à l'état de quiescence, MyoD et Myf5 en prolifération et Myogenin et MRF4 en différenciation (Snijders *et al.*, 2015). Dans les modèles de déconditionnement musculaire, il est couramment rapporté une altération du processus de régénération.

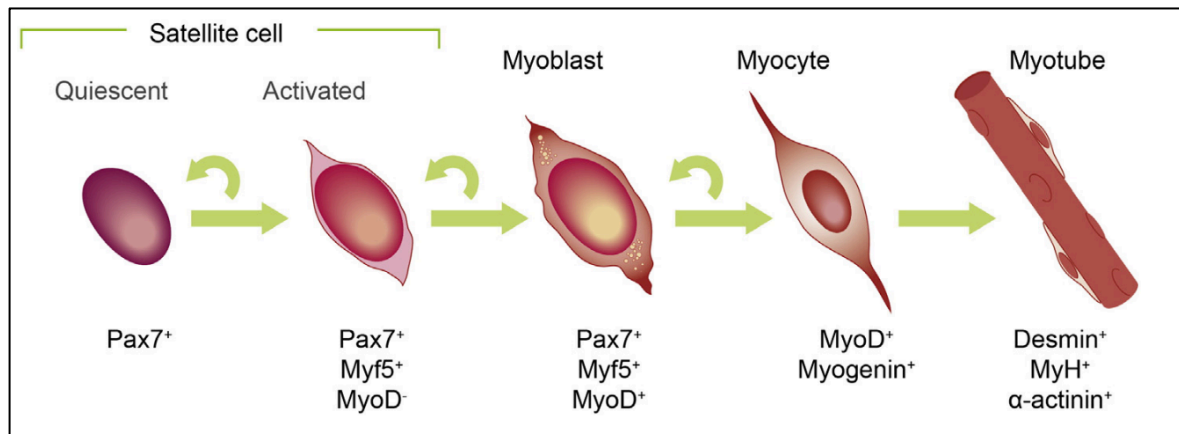


Figure 13 : processus de différenciation d'une cellule satellite et protéines exprimées aux différentes étapes.

Extrait de McCullagh & Perlingeiro (2015). Cette figure illustre les différentes protéines exprimées par les cellules satellites lors de la régénération musculaire, de l'état de quiescence à la formation de myotubes.

Les cellules satellites ont d'abord beaucoup été étudiées et mise en cause lors de l'avancée en âge (Joanisse *et al.*, 2017; Sousa-Victor *et al.*, 2021; Yamakawa *et al.*, 2020). En effet, il est désormais bien admis que lors de l'avancée en âge, le pool (*i.e.* la quantité) de cellules satellites diminue, altérant ainsi le processus de régénération (Kadi *et al.*, 2004; Verdijk *et al.*, 2012, 2014). Des observations similaires ont été rapportées après 14 jours de bed rest (Arentson-Lantz *et al.*, 2016), soulignant l'influence des contraintes mécaniques sur les processus de régénération musculaire. De la même manière, l'atrophie musculaire des patients atteints de BPCO s'accompagne d'une diminution de la quantité de cellules satellites, mise en évidence par la diminution de Pax7 et Myf5, ce qui entraîne finalement un processus de régénération altéré (Sancho-Muñoz *et al.*, 2021; Thériault *et al.*, 2014). S'il apparait alors bien admis que les cellules souches comme les cellules satellites jouent un rôle dans le déconditionnement musculaire, d'autres progéniteurs peuvent être aussi être impliqués dans la diminution de la qualité musculaire.

3. Les progéniteurs fibroadipogéniques (FAPs)

Les FAPs sont des cellules souches mésenchymateuses multipotentes situées dans l'espace interstitiel des fibres musculaires et peuvent se différencier en adipocytes, en fibroblastes et dans certains cas, en ostéocytes (Biferali *et al.*, 2019; Molina *et al.*, 2021.; Theret *et al.*, 2021; Uezumi *et al.*, 2010) (Figure 14). Ces cellules sont connues pour exprimer les récepteurs de surface PDGFR α et SCA-1, mais aussi CD34 (Joe *et al.*, 2010; Molina *et al.*, 2021). De manière intéressante, une étude sur modèle animal a montré que si plus de 85% des cellules qui expriment PDGFR α dans un muscle sain sont des FAPs, ce taux s'élève à plus de 98% dans un muscle en régénération (Joe *et al.*, 2010). D'autres études ont par la suite retrouvé des résultats similaires ce qui a amené à considérer de manière générale qu'environ 90% des cellules qui expriment PDGFR α sont des FAPs (Schaum *et al.*, 2017; Uezumi *et al.*, 2010; Wosczyzna *et al.*, 2012). Néanmoins, il est tout de même important de noter que des sous-populations de cellules mésenchymateuses exprimant PDGFR α ont été récemment identifiées dans un modèle murin transgénique (Leinroth *et al.*, 2022). Si comme les FAPs, ces cellules pouvaient se différencier en adipocytes, une partie d'entre elles était également impliquée dans la régulation de la minéralisation en réponse à des blessures nerveuses (Leinroth *et al.*, 2022).

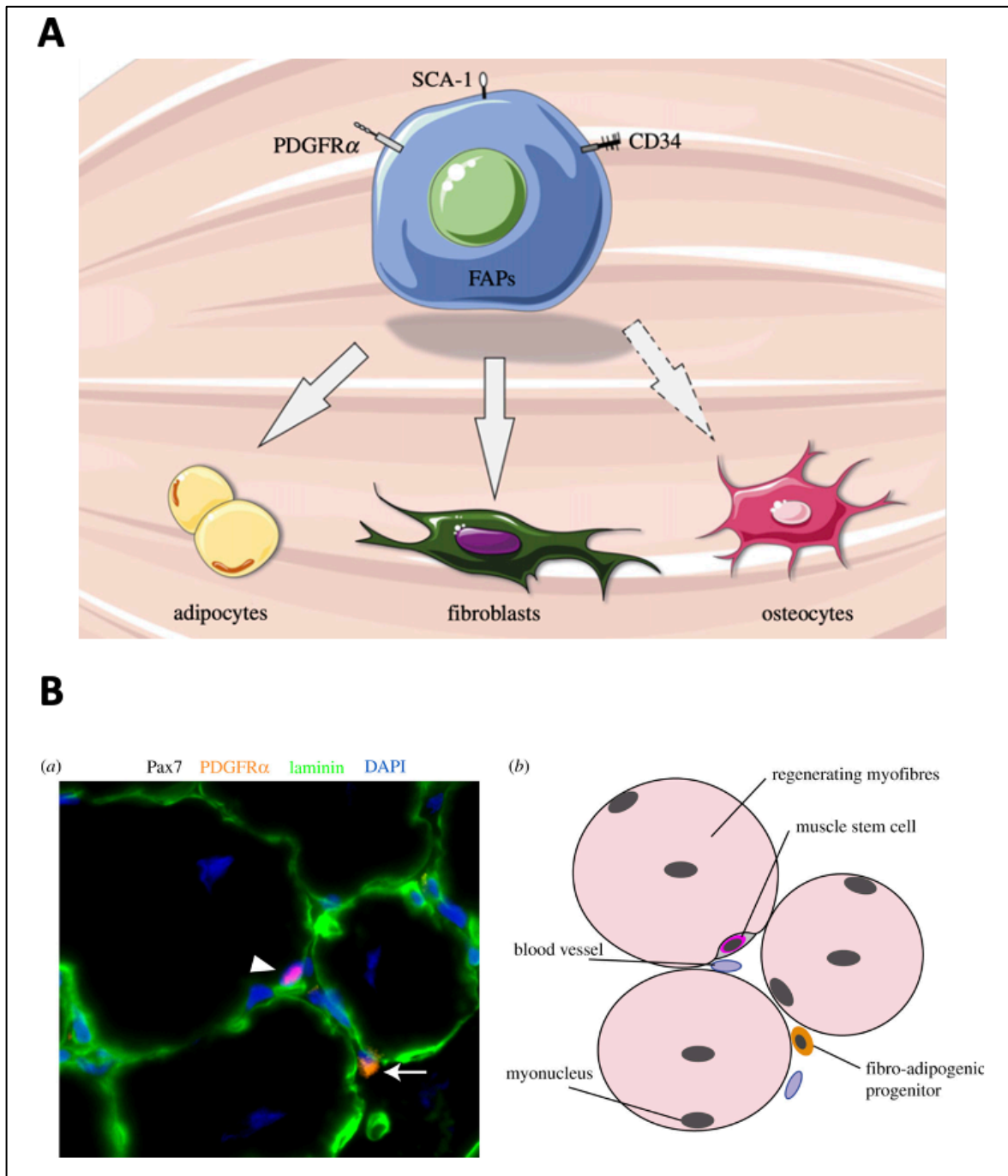


Figure 14 : rôle des FAPs (A) et localisation (B) (en orange).

Extrait de Molina *et al.*, (2021). La figure A illustre que les FAPs peuvent se différencier en adipocytes, en fibroblastes et dans certains cas, en ostéocytes. La figure B permet de visualiser les FAPs dans l'espace interstitiel des fibres musculaires par un marquage immunohistochimique fluorescent associé à un schéma.

Les FAPs sont indispensables pour le maintien de l'homéostasie musculaire et l'un de leurs rôles principaux est de participer à la régénération musculaire en proliférant de manière transitoire pour aider les cellules satellites à chaque étape de la régénération (Molina *et al.*, 2021; Perandini *et al.*, 2018) (Figure 15). Une étude sur modèle animal a

parfaitement illustré ce rôle. En effet, dans un modèle transgénique dépourvu de FAPs, il a été montré que la régénération musculaire était largement perturbée, mais qu'elle pouvait être rétablie par l'injection de FAPs (Wosczyzna *et al.*, 2019). L'activité des FAPs est grandement dépendante de celle des macrophages. À la suite d'une blessure musculaire, les macrophages M1 sont recrutés rapidement avec un pic 3 jours après la blessure (Lemos *et al.*, 2015; Perdiguero *et al.*, 2011). Ensuite, entre le 3^{ème} et 5^{ème} jour, un shift entre les macrophages M1 et M2 va s'opérer (Lemos *et al.*, 2015; Perdiguero *et al.*, 2011). Les macrophages M1 qui sécrètent du TNF- α sont responsables de l'apoptose des FAPs tandis que les macrophages M2, qui sécrètent du TGF- β , favorisent leur prolifération par inhibition de TNF- α et de l'apoptose (Lemos *et al.*, 2015; Muñoz-Cánoves & Serrano, 2015; Perandini *et al.*, 2018). Si les FAPs s'accumulent anormalement, notamment par une absence d'apoptose, l'homéostasie musculaire est alors profondément perturbée.

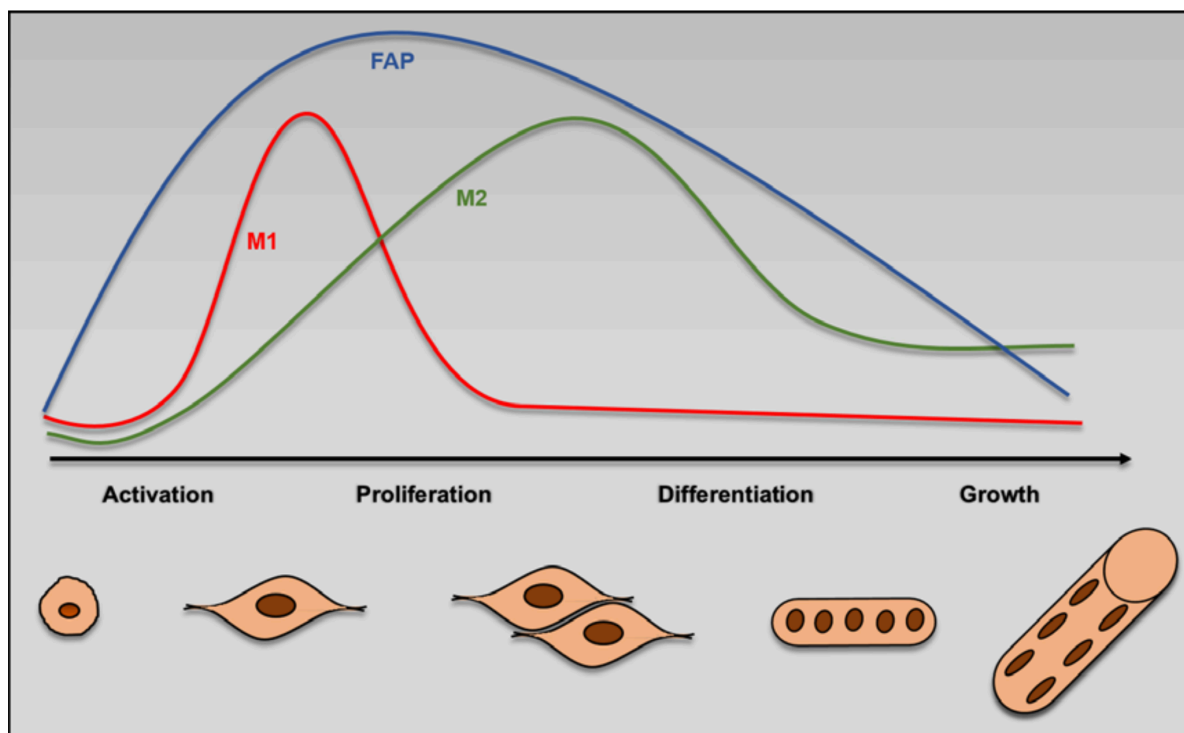


Figure 15 : prolifération transitoire des FAPs pendant la régénération musculaire.
Extrait de Perandini et al., (2018). Ce schéma illustre la prolifération des FAPs lors des différentes étapes de la régénération musculaire assurée par les cellules satellites et souligne également la prolifération transitoire des macrophages 1 et 2 dont le rôle est déterminant dans le destin des FAPs.

Une accumulation anormale de FAPs peut conduire à la formation excessive de tissu fibreux, notamment dans la dystrophie musculaire de Duchenne (Ieronimakis *et al.*, 2016; Uezumi *et al.*, 2014), la dystrophie facioscapulohumérale (Bosnakovski *et al.*, 2017) et la dystrophie musculaire des ceintures (Hogarth *et al.*, 2019). D'autre part, l'accumulation des FAPs serait également responsable de l'augmentation d'adipocytes au sein du tissu musculaire, et donc d'IMAT, notamment dans les modèles de dystrophies musculaires (Molina *et al.*, 2021; Uezumi *et al.*, 2014), les contextes de régénération musculaire (Pagano *et al.*, 2015, 2019; Uezumi *et al.*, 2010, 2011), la rupture de la coiffe des rotateurs (Davies *et al.*, 2022) ou les modèles d'hypoactivité (Guilhot *et al.*, 2022; Pagano *et al.*, 2018). Ces adipocytes, qui n'ont pas de rôle fonctionnel connu, ont la particularité d'être insulino-résistants (Arrighi *et al.*, 2015). D'autres mécanismes favorisent l'augmentation d'IMAT comme les facteurs de transcription de l'adipogénèse de la famille des C/EBPs et PPARs (Guilhot *et al.*, 2022; Joshi *et al.*, 2013; Pagano *et al.*, 2018; Shao *et al.*, 2016; Uezumi *et al.*, 2010, 2014; Zuo *et al.*, 2006). Parmi eux, C/EBP α et PPAR γ représentent des facteurs de transcription tardifs de l'adipogénèse et sont les plus étudiés et les plus impliqués dans l'accumulation d'IMAT, aussi bien dans des modèles animaux que chez l'humain (Guilhot *et al.*, 2022; Joshi *et al.*, 2013; Pagano *et al.*, 2018; Uezumi *et al.*, 2010, 2014). D'autres facteurs peuvent également influencer le devenir des FAPs en adipocytes, comme une altération du shift entre les macrophages M1 et M2 à la suite d'une blessure musculaire. Ce dysfonctionnement entraîne alors une augmentation trop rapide de TGF- β et une prolifération des FAPs sans apoptose par l'inhibition de TNF- α (Figure 16) (Muñoz-Cánoves & Serrano, 2015). Ce mécanisme est particulièrement intéressant étant donné qu'il a été montré qu'en inhibant TGF- β , par un traitement à la décorine ou au nilotinib, l'apoptose des FAPs est restaurée et le développement d'IMAT profondément réduit dans des modèles animaux de régénération musculaire (Lemos *et al.*, 2015; Pagano *et al.*, 2019). D'autres pistes thérapeutiques sont également envisageables. En effet, il a été montré qu'un traitement anti GSK-3, une sérine/thréonine kinase exprimée par les FAPs dans les modèles murins de dystrophie musculaire de Duchenne, était efficace pour réduire la différenciation des FAPs en adipocytes (Reggio *et al.*, 2020).

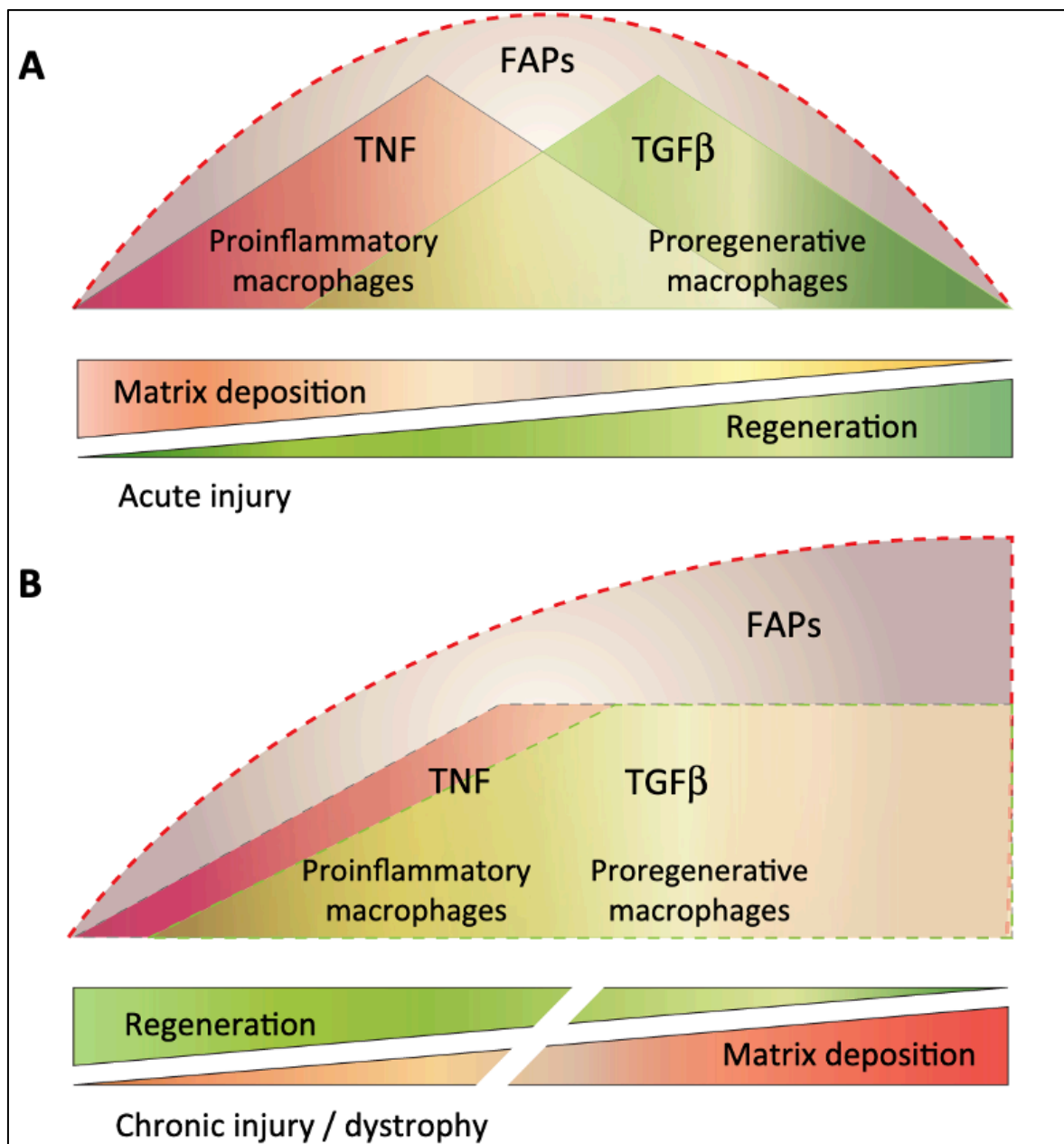


Figure 16 : prolifération des FAPs en condition normale (A) et prolifération des FAPs avec altération du shift M1/M2 (B) lors de régénération musculaire.

Extrait de Muñoz-Cánoves & Serrano (2015). Cette figure décrit qu'en condition pathologique, la prolifération des FAPs est perturbée en raison d'une altération du rapport TNF- α / TGF- β qui conduit finalement à l'accumulation de FAPs et à une régénération musculaire altérée.

Si le rôle des FAPs dans le développement d'IMAT semble aujourd'hui très bien admis, il a récemment été découvert qu'ils jouaient aussi un rôle dans l'atrophie musculaire. Des modèles de dénervation musculaire chez la souris ont mis en évidence que les FAPs induisaient directement une diminution de la CSA par une activation persistante de STAT3 et des sécrétions élevées d'IL-6 (Madaro *et al.*, 2018). Des FAPs présentant une

activation aberrante de la voie IL-6/STAT3 ont également été retrouvés dans des modèles animaux de lésions de la moelle épinière et d'atrophie musculaire spinale, ainsi que chez des patients atteints de sclérose latérale amyotrophique (Madaro *et al.*, 2018). La surexpression de cette voie entraînait une perte d'intégrité de la jonction neuromusculaire, ce qui semble être un mécanisme pouvant expliquer l'atrophie musculaire. De manière intéressante, il a été montré qu'une inhibition de l'expression de la voie IL-6/STAT3 chez les FAPs permettait de rétablir l'atrophie, tandis qu'une inhibition de cette voie chez des myotubes était inefficace (Madaro *et al.*, 2018). Des modèles animaux d'immobilisation d'un membre ont également mis en évidence que les FAPs surexprimaient IL-1 β et Cdkn2a, ce qui entraînait leur sénescence et contribuait ainsi à l'atrophie musculaire (Parker *et al.*, 2022). Si davantage d'études sont nécessaires pour confirmer leur implication dans d'autres modèles de déconditionnement musculaire, l'implication de ces progéniteurs dans l'atrophie musculaire offre des pistes de prévention prometteuses étant donné qu'il est possible de cibler les FAPs par différents traitements.

Enfin, si l'augmentation des FAPs entraîne le développement de fibrose, d'IMAT ou d'atrophie, une déplétion des FAPs pourrait également être impliquée dans le déconditionnement musculaire lié à l'avancée en âge. En effet, il a été montré qu'en vieillissant, les FAPs sont réduits en nombre et prolifèrent moins, ce qui altère le processus de régénération musculaire. Il a également été montré que malgré leur diminution en quantité, les FAPs âgés présentent des prédispositions à la différenciation en fibroblastes, ce qui peut expliquer l'augmentation de la fibrose lors de l'avancée en âge et souligne le rôle du micro-environnement cellulaire dans le devenir des FAPs (Lukjanenko *et al.*, 2019; Uezumi *et al.*, 2021). Si la fibrose est connue pour affecter la qualité musculaire, une caractéristique de la sarcopénie (Cruz-Jentoft *et al.*, 2019), les mécanismes cellulaires liés à la mitochondrie sont eux impliqués de manière très importante dans les altérations qualitatives du muscle strié squelettique.

4. La mitochondrie

La mitochondrie (Figure 17) est un organe de la cellule connue aussi bien pour assurer la production d'ATP via la phosphorylation oxydative (Nunnari & Suomalainen, 2012) que pour contrôler l'apoptose (Jeong & Seol, 2008; Yoo & Jung, 2018). De par ses fonctions, la mitochondrie est un élément clef du maintien de l'homéostasie musculaire et d'importantes perturbations sont rapportées dans des situations de déconditionnement musculaire, entraînant *in fine* une altération de la qualité musculaire.

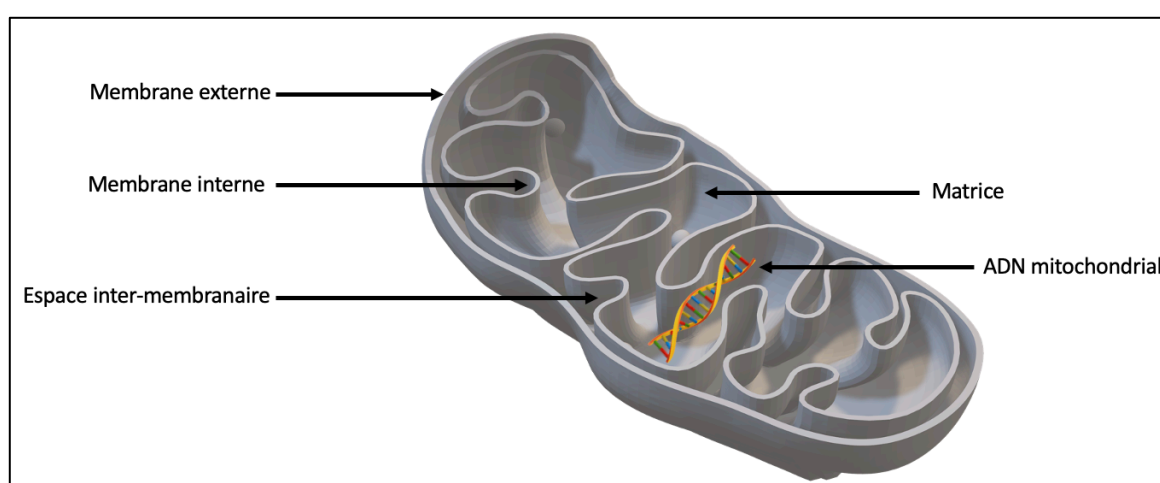


Figure 17 : représentation d'une mitochondrie et de sa structure.

4.1. Dynamique mitochondriale : biogénèse, fusion, fission et mitophagie

La dynamique mitochondriale regroupe l'ensemble des mécanismes impliqués dans le renouvellement des mitochondries. Plus précisément, elle repose sur la génération de nouvelles mitochondries par la biogénèse, la régulation de leur morphologie par les processus de fusion et fission et l'élimination des mitochondries endommagées par la mitophagie (Popov, 2020). La biogénèse mitochondriale (Figure 18) est principalement régulée par PGC-1 α , un co-activateur transcriptionnel (Ploumi *et al.*, 2017; Popov, 2020). Phosphorylé par AMPK et SIRT1, PGC-1 α va ensuite activer NRF1/2 et les ERRs pour aboutir finalement à l'activation de TFAM qui va initier la réplication de l'ADN mitochondrial (Ploumi *et al.*, 2017).

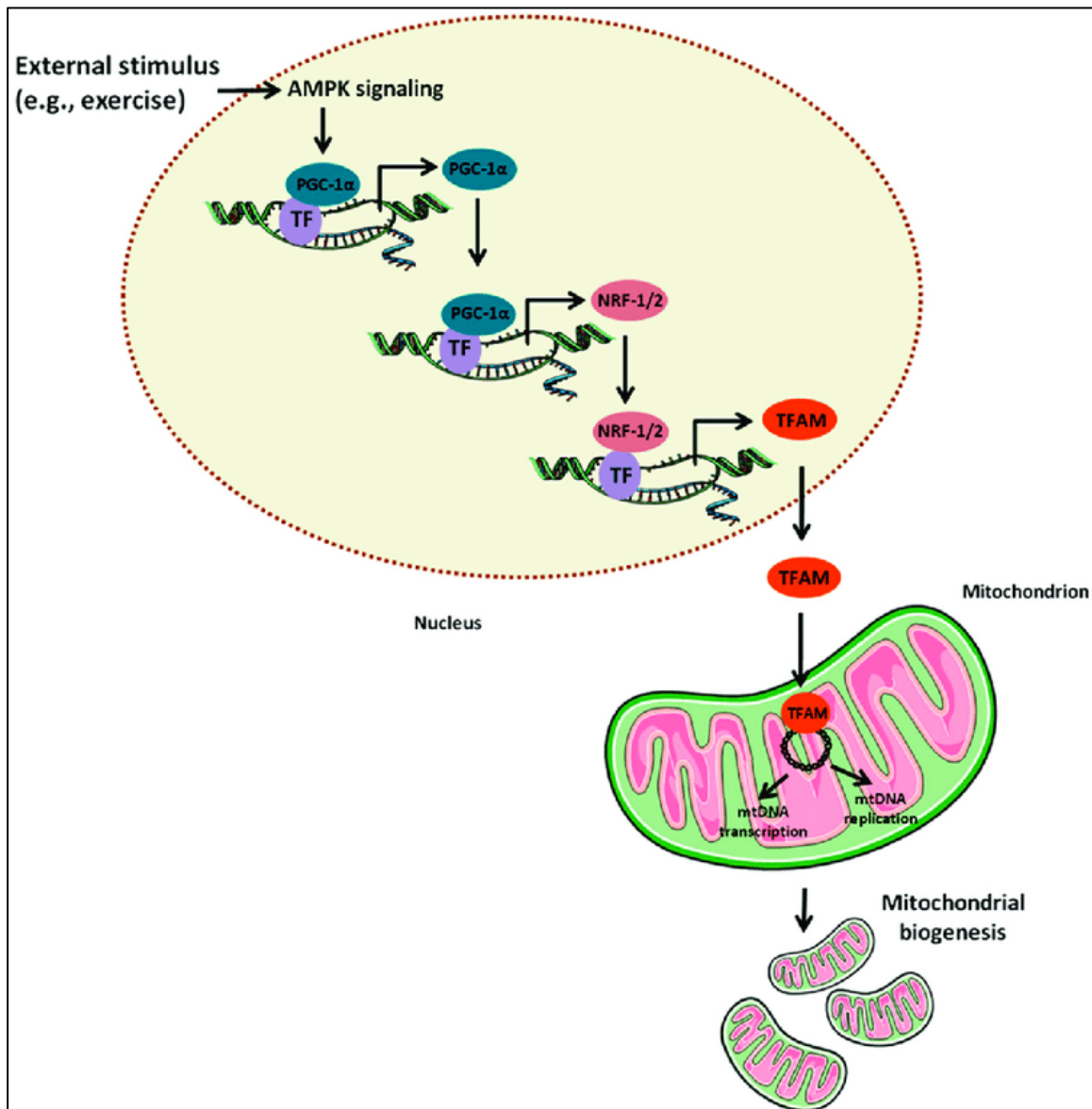


Figure 18 : biogénèse mitochondriale et rôle de PGC-1α.

Extrait de Picca et al., (2017). Ce schéma met en évidence les mécanismes cellulaires impliqués dans la biogénèse mitochondriale et souligne particulièrement le rôle de PGC-1α, un co-activateur transcriptionnel.

Une fois la nouvelle mitochondrie synthétisée, elle va pouvoir fusionner avec une autre mitochondrie afin de maintenir un état d'homéostasie. Étant donné que les mitochondries ont deux types de membranes, la fusion passe dans un premier temps par la fusion des membranes externes puis des membranes internes (Figure 19) (Chan, 2020). La fusion des membranes externes est assurée par les mitofusines, *i.e.* MFN1 et MFN2, tandis que la fusion des membranes internes relève de l'activation d'OPA1 qui possède plusieurs isoformes tels que L-OPA1, S1-OPA1, S2-OPA1 et S3-OPA1 (S. Gao & Hu, 2021; Ju

et al., 2008). Un déséquilibre dans la fusion mitochondriale entraîne la formation de mitochondries fragmentées qui sont par conséquent moins fonctionnelles (Chan, 2020). La fusion mitochondriale, qui résulte en la formation d'une mitochondrie de plus grande taille, peut être séparée, en cas de dommages, en deux mitochondries de plus petite taille par le processus de fission. La fission mitochondriale est régulée par DRP1, situé sur la membrane externe, qui peut être activé par différents récepteurs tels que Fis1, Mff, MiD49 ou MiD51, ce qui aboutit *in fine* à la séparation de la partie endommagée de la mitochondrie (Figure 19) (Losón et al., 2013; Yoo & Jung, 2018).

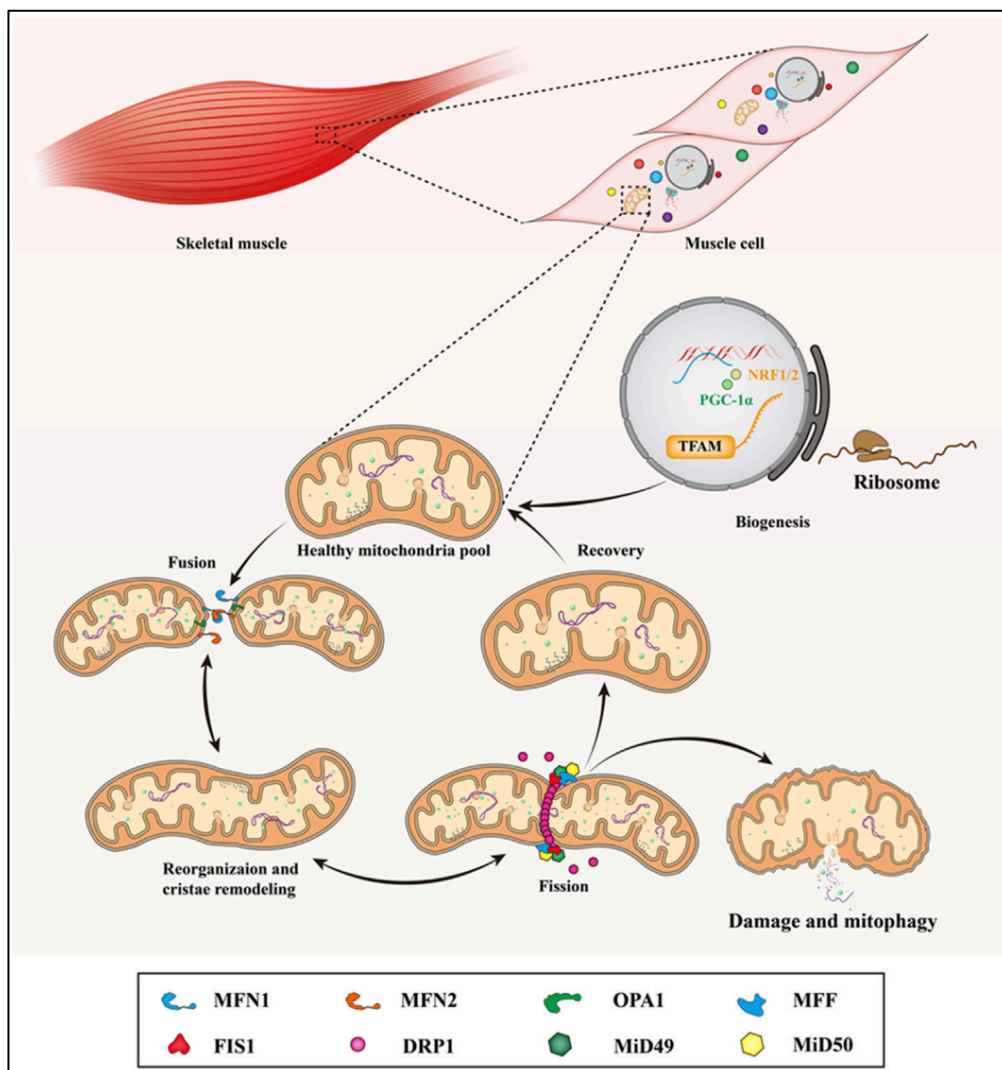


Figure 19 : dynamique mitochondriale : régulation de la fusion et fission par MFN1/2, OPA1, Fis1, DRP1.

Extrait Chen et al., (2022). Cette figure illustre la dynamique mitochondriale, majoritairement composée de la succession de cycles fusion/fission, et indique quelles protéines sont impliquées dans chaque étape.

Un déséquilibre dans le processus de fusion/fission est aussi responsable de la formation de mitochondries fragmentées et de l'accumulation de mitochondries endommagées. En condition physiologique « normale », les mitochondries endommagées sont ensuite dégradées par le processus de mitophagie (Figure 20), qui est une forme d'autophagie sélective, principalement contrôlée par le couple Parkin et PINK1. Parkin va se lier à PINK1 pour ubiquitiner VDAC et former le mitophagosome afin de dégrader la mitochondrie (Ashrafi & Schwarz, 2013). D'autres protéines comme Mul1, une E3 ligase, peuvent jouer un rôle clef dans la mitophagie, notamment au niveau de l'initiation du processus de dégradation (Peng *et al.*, 2016). Ainsi, l'homéostasie mitochondriale repose sur un ensemble d'étapes qui peuvent être profondément altérées lors d'un déconditionnement musculaire.

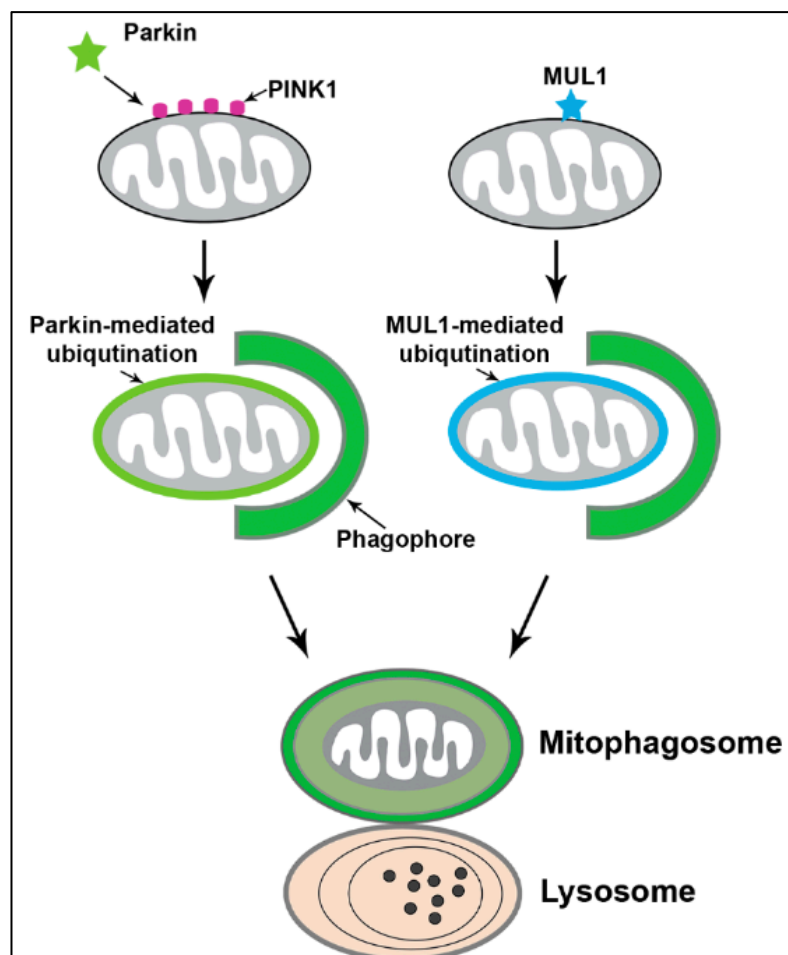


Figure 20 : principales protéines impliquées dans la mitophagie : Parkin, PINK1 et Mul1. Extrait et adapté de Cai & Jeong (2020). Cette figure est une représentation schématique de la mitophagie, une forme d'autophagie sélective qui permet la dégradation de mitochondries endommagées.

Comme mentionné précédemment dans le chapitre I, une réduction du nombre de mitochondries a déjà été rapportée aussi bien dans des modèles d'hypoactivité (Arc-Chagnaud *et al.*, 2020) que lors de l'avancée en âge (Marzetti *et al.*, 2013). L'une des explications principales de cette perte de contenu mitochondrial est liée à la diminution de la biogénèse mitochondriale, pouvant atteindre -30 à -40% dans des situations d'immobilisation ou de sarcopénie (Fovet *et al.*, 2021; Kim *et al.*, 2021; Memme *et al.*, 2021a; Rosa-Caldwell *et al.*, 2020). Ce phénomène s'expliquerait, notamment pour l'avancée en âge et la sarcopénie, par le fait que PGC-1 α ne réponde pas favorablement aux stimulus qui lui sont imposés comme l'exercice (Derbré *et al.*, 2012). Si les altérations de fusion et fission mitochondriale sont beaucoup étudiées dans les modèles animaux (Houzelle *et al.*, 2021; Leduc-Gaudet *et al.*, 2021), très peu d'expérimentations ont été menées chez l'humain. Les données disponibles montrent néanmoins une diminution d'OPA1, MFN1 et MFN2 lors de la sarcopénie (Crane *et al.*, 2010; Joseph *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2021), indiquant donc une fusion mitochondriale réduite. De plus, des observations similaires ont été effectuées chez des femmes atteintes d'insuffisance cardiaque (Garnham *et al.*, 2020). Une fusion mitochondriale altérée se traduit classiquement par la formation de mitochondries fragmentées et défailtantes qui doivent être dégradées par le processus de mitophagie, un mécanisme de dégradation également peu étudié chez l'humain. Néanmoins, il a été montré chez des sujets âgés une diminution du potentiel mitophagique via le rapport Parkin/VDAC, ce qui traduit finalement une mitophagie insuffisante (Gospillou *et al.*, 2014).

Pour résumer, le déconditionnement musculaire s'accompagne d'une dynamique mitochondriale altérée, particulièrement au niveau de la biogénèse, de la fusion et la mitophagie. Ensemble, ces perturbations mènent à des mitochondries fragmentées et moins fonctionnelles.

4.2. Fonction mitochondriale, espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant

La fonction principale de la mitochondrie est d'assurer la production d'énergie en synthétisant de l'ATP essentiellement par la phosphorylation oxydative via la chaîne

Lors des transferts d'électrons, certains ne sont pas captés par les complexes et peuvent réagir avec l'oxygène avoisinant pour former des radicaux libres. Lorsqu'une molécule d'oxygène capte un électron non apparié, il y a la formation d'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$). Ce radical libre peut être dismuté pour former le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui lui-même peut se transformer en radical hydroxyle (OH^{\bullet}). Ensemble, ces molécules constituent les ROS dont la mitochondrie est la source principale, notamment via le complexe I et III (Figure 22) (H. W. Hyatt & Powers, 2021). Il existe tout de même d'autres sources de ROS comme le système NADPH oxydase ou la xanthine oxydase par le système du NO^{\bullet} (Atashi *et al.*, 2015). Afin de maintenir une homéostasie, il existe des défenses antioxydantes qui sont composées principalement d'enzymes qui ont pour but de réduire la production de ROS. Plus précisément, la SOD2 permet la dismutation de l' $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 , qui peut à son tour être transformé en H_2O par la GPx, la catalase ou la GSH. L' H_2O_2 peut aussi être transformé en OH^{\bullet} avec la réaction du Fenton (Ray *et al.*, 2012).

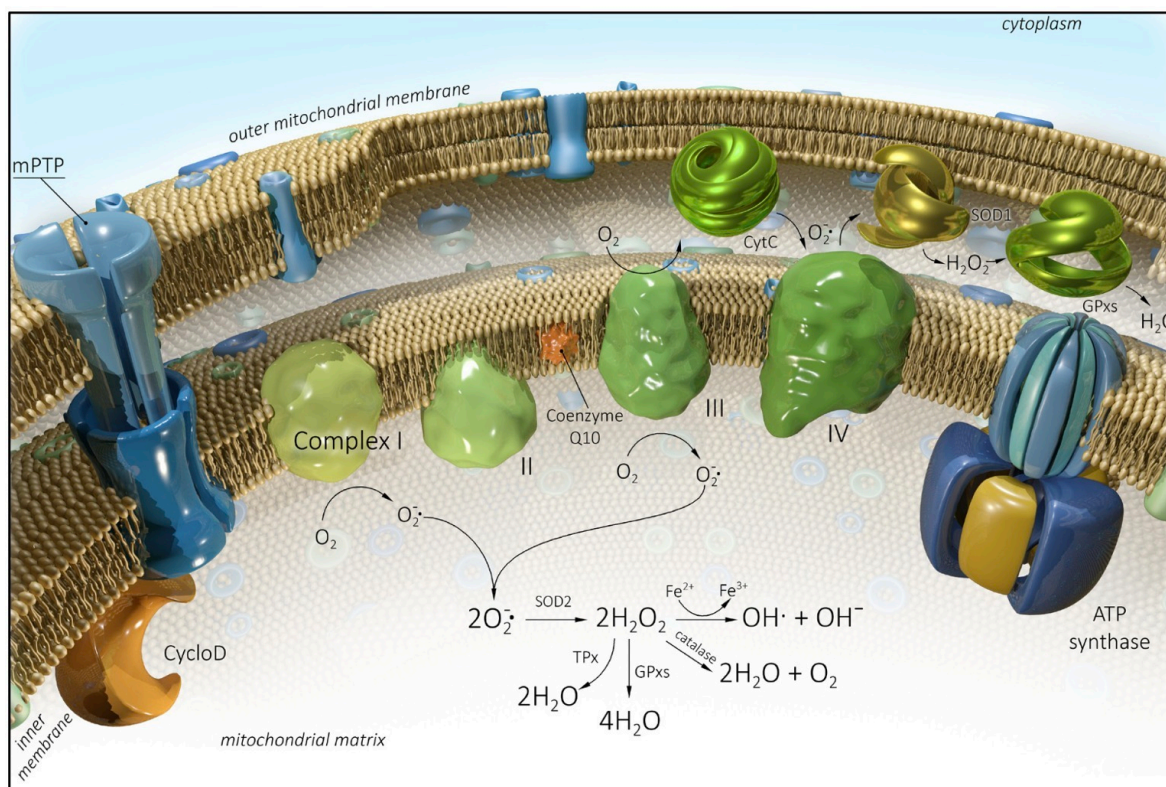


Figure 22 : production d'espèces réactives de l'oxygène et système antioxydant. Extrait de Kudryavtseva *et al.*, (2016). Ce schéma illustre la production d'espèces réactives de l'oxygène, notamment par le complexe I et III de la mitochondrie, et le rôle des défenses antioxydantes comme SOD2, GPx et catalase.

En cas de production excessive de ROS ou lorsqu'il y a un déséquilibre entre la production de ROS et les défenses antioxydantes, le statut redox est perturbé et cela peut engendrer du stress oxydant (D. P. Jones, 2008). Les conséquences du stress oxydant sont multiples, mais peuvent être regroupées en trois catégories (Figure 23) : impact sur les lipides via la peroxydation lipidique, impact sur les protéines via la carbonylation et impact sur l'ADN via la fragmentation de l'ADN, et notamment l'ADN mitochondrial (H. W. Hyatt & Powers, 2021). De plus, les ROS sont connus pour activer des facteurs de transcription de la protéolyse tels que NF- κ B.

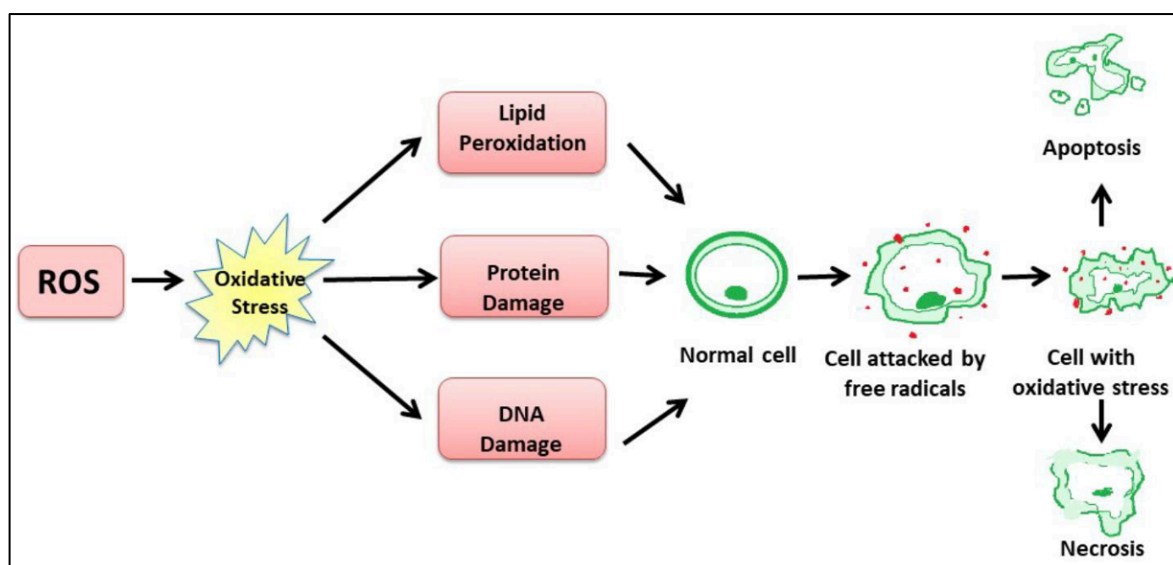


Figure 23 : impact du stress oxydant sur l'environnement cellulaire : impact sur les lipides, les protéines et l'ADN.

Extrait et adapté de Sharifi-Rad et al., (2020). Cette figure illustre les conséquences du stress oxydant, provenant d'une production excessive de ROS, sur les lipides, les protéines et l'ADN. Ces conséquences conduisent in fine à l'apoptose ou la nécrose des cellules.

Une augmentation du stress oxydant est une caractéristique rapportée aussi bien dans des modèles d'hypoactivité que lors de l'avancée en âge ou d'une maladie chronique (Derbré et al., 2014; Pierre et al., 2016; Powers et al., 2011, 2012). À titre d'exemple, la peroxydation lipidique, mesurée par le niveau protéique de 4HNE, augmente chez des patients BPCO atteints d'atrophie musculaire ou après 5 jours de dry immersion (Fovet et al., 2021; Gifford et al., 2018). De la même manière, le vieillissement, la BPCO et la réduction d'activité induite par 35 jours de bed rest sont associées à une augmentation des protéines carbonylées, en raison d'une production excessive d' $O_2^{\bullet-}$ pour la BPCO et d' H_2O_2

pour l'hypoactivité et le vieillissement (Dirks *et al.*, 2020; Fermoselle *et al.*, 2012; Gram *et al.*, 2015). Ces altérations sont classiquement associées à une diminution de la respiration mitochondriale (Kudryavtseva *et al.*, 2016), comme cela a déjà été rapporté chez les patients BPCO ou après seulement 1 semaine de bed rest (Dirks *et al.*, 2016; Gifford *et al.*, 2018), témoignant ainsi d'un dysfonctionnement mitochondrial et d'une probable altération dans la production d'ATP. L'augmentation de la production de ROS est également impliquée de manière très importante dans l'apoptose (Circu & Aw, 2010).

4.3. Apoptose

L'apoptose est le processus de mort cellulaire programmée principalement régulée par la mitochondrie (Estaquier *et al.*, 2012; Jeong & Seol, 2008). En effet, en réponse à la production des ROS, notamment de l' H_2O_2 , l'apoptose va être initiée (Figure 24) par l'activation de Bax et l'inhibition de Bcl-2, permettant ainsi l'ouverture du pore de transition de perméabilité de la mitochondrie (mPTP). La mitochondrie va alors relarguer du cytochrome C dans le cytosol pour former l'apoptosome, qui, sous l'action des caspases (3 et 9 principalement), va induire la mort cellulaire (Di Marzo *et al.*, 2018).

Si les études sur modèle animal rapportent fréquemment une augmentation de l'apoptose dans les situations d'atrophie musculaire (Argilés *et al.*, 2008; Dupont-Versteegden, 2006), les études chez l'homme sont très rares. Néanmoins, il a été rapporté lors de l'avancée en âge une augmentation des caspases et du cytochrome c cytosolique (Marzetti *et al.*, 2012; Whitman *et al.*, 2005). De la même manière, il y a une augmentation des caspases dans des modèles humains de dénervation (Tews *et al.*, 2005) ou chez des patients atteints de maladies artérielles périphériques, une pathologie connue pour induire une atrophie musculaire (Mitchell *et al.*, 2007; Pizzimenti *et al.*, 2020). Ces mêmes patients présentent également une augmentation de marquage TUNEL au niveau du muscle gastrocnémien, une technique histologique pour marquer les noyaux en apoptose (Mitchell *et al.*, 2007). Une augmentation du marquage TUNEL a également été rapportée chez des patients atteints de BPCO et souffrants d'atrophie musculaire (Sancho-Muñoz *et al.*, 2021). Le marquage TUNEL permet de détecter directement la fragmentation de l'ADN en marquant les terminaisons 3'-hydroxyle dans les cassures d'ADN double brin générées

pendant l'apoptose (Loo, 2011). Davantage d'études sont nécessaires pour comprendre pleinement le rôle de l'apoptose dans le déconditionnement musculaire, en étudiant particulièrement l'ensemble de la voie apoptotique au niveau cellulaire. Il semble en effet primordial d'étudier l'initiation de l'apoptose par l'augmentation des ROS et l'activation de Bax, puis d'investiguer le rôle de la mitochondrie avec l'augmentation du mPTP et le relargage du cytochrome c dans le cytosol.

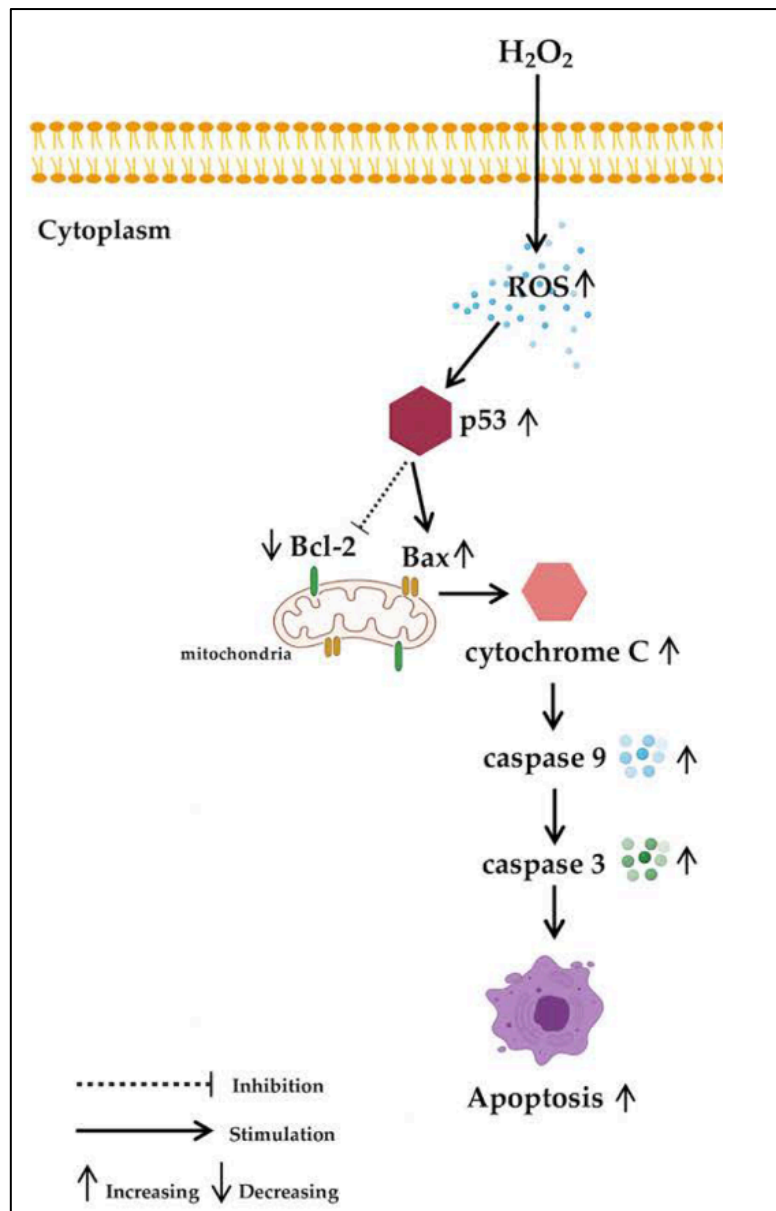


Figure 24 : régulation de l'apoptose par la mitochondrie.

Extrait et adapté de Warinhomhoun et al., (2021). Ce schéma illustre la cascade d'évènements cellulaires conduisant à l'apoptose. Ces mécanismes sont initiés par une production excessive d' H_2O_2 et de ROS, soulignant le rôle déterminant de la mitochondrie. Celle-ci est également impliquée par la libération du cytochrome c pour activer les caspases.

5. L'inflammation et la myostatine

5.1. Cytokines pro-inflammatoires et facteurs de transcription FoxO et NF- κ B

Si les mécanismes impliqués dans le déconditionnement musculaire sont variés, l'inflammation représente un point commun à toutes les situations (Figure 25). En effet, il existe un consensus qui considère que l'inflammation chronique systémique, médiée par les cytokines pro-inflammatoires, est un mécanisme clef majeur impliqué dans tous les modèles et situations de déconditionnement musculaire (Sartori *et al.*, 2021a; Schiaffino *et al.*, 2013; Vainshtein & Sandri, 2020). Les cytokines pro-inflammatoires circulantes telles que TNF- α , TWEAK et IL-6 sont connues pour induire une activation de TRAF6, TRADD, IKK et JAK qui, à leur tour, activent NF- κ B, STAT3 et FoxOs. Ces mécanismes aboutissent *in fine* à une augmentation de l'activité des systèmes protéolytiques (Vainshtein & Sandri, 2020) tels que l'autophagie et le système ubiquitine-protéasome (Schiaffino *et al.*, 2013), ainsi qu'une augmentation de l'apoptose par la voie IL-6-JAK-Stat (Webster *et al.*, 2020). D'autre part, les cytokines pro-inflammatoires sont également responsables d'une insulino-résistance caractérisée par une inhibition de la voie mTOR et donc une défaillance dans la synthèse des protéines (de Alvaro *et al.*, 2004; Dogra *et al.*, 2007; Schiaffino *et al.*, 2013). Ainsi, l'inflammation apparaît comme un puissant régulateur de l'homéostasie musculaire.

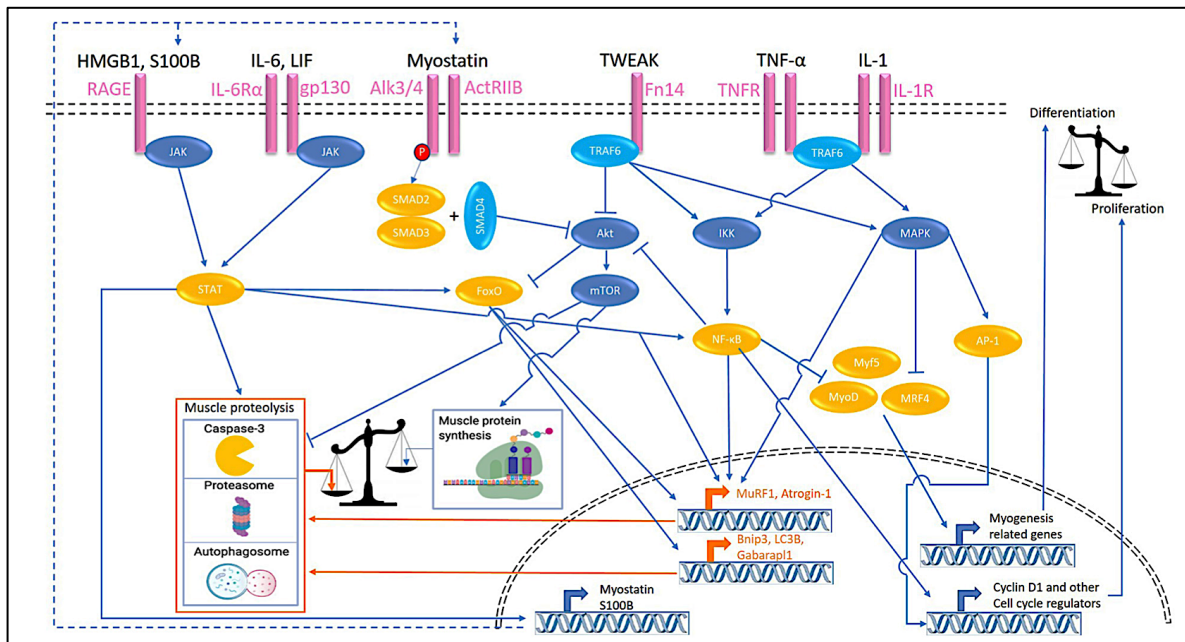


Figure 25 : rôle de l'inflammation dans l'atrophie musculaire.

Extrait de Webster et al., (2020). Cette figure illustre le rôle des cytokines pro-inflammatoires dans l'activation des systèmes protéolytiques.

L'inflammation semble également jouer un rôle dans le dysfonctionnement mitochondrial, avec une diminution du turnover au niveau de la biogénèse, de la dynamique et de la mitophagie (Marzetti et al., 2013; Qualls et al., 2021). En effet, en condition inflammatoire, PGC-1 α est régulé à la baisse et cette diminution serait médiée par une activation de NF- κ B (Figure 26) (Rius-Pérez et al., 2020). Cette altération augmenterait également la production de stress oxydant et de cytokines pro-inflammatoires, ce qui renforcerait la surexpression de NF- κ B, et aboutirait *in fine* à une altération de l'homéostasie mitochondriale (Rius-Pérez et al., 2020).

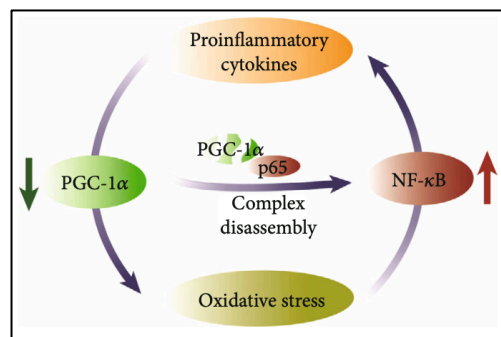


Figure 26 : interaction entre PGC-1 α et NF- κ B.

Extrait de Rius-Pérez et al., (2020). Ce schéma décrit qu'avec une diminution de PGC-1 α et une augmentation de NF- κ B, les cytokines pro-inflammatoires et le stress oxydant sont régulés à la hausse.

De la même manière, l'inflammation chronique est aussi impliquée dans des altérations au niveau des cellules satellites (Perandini *et al.*, 2018). Effectivement, il a été montré que des cytokines telles que IL-1 β , TNF- α et IFN γ inhibaient la prolifération des cellules satellites en myoblastes (Y.-P. Li, 2003; Otis *et al.*, 2014). L'activité des cellules satellites peut également être inhibée par la famille des FoxOs, des facteurs de transcription qui augmentent en situation d'inflammation (Dumont *et al.*, 2015). De plus, comme mentionné précédemment, d'autres populations de cellules souches comme les FAPs peuvent aussi bien subir les conséquences de l'inflammation, ce qui entraîne leur accumulation et leur différenciation en adipocytes (Perandini *et al.*, 2018) ou le relargage d'IL-6 pour induire une atrophie musculaire (Madaro *et al.*, 2018).

5.2. La myostatine : un membre de la superfamille TGF- β

En plus des cytokines pro-inflammatoires, la myostatine, un facteur de croissance de la superfamille TGF- β , joue un rôle déterminant dans le déconditionnement musculaire avec son récepteur ActRIIB et l'activation de la voie SMAD2/3 (Figure 27) (Schiaffino *et al.*, 2013). L'effet majeur de la myostatine est une inhibition de la voie mTOR, aboutissant à une altération de la synthèse protéique, ainsi qu'un maintien des cellules satellites à l'état de quiescence, perturbant alors fortement le processus de régénération musculaire (T. Yoshida & Delafontaine, 2020). Une surexpression de la myostatine entraîne par exemple une diminution de la masse musculaire entre 10 et 20%, une diminution de la CSA des fibres musculaires entre 15 et 30%, et une diminution de la quantité de protéines musculaires d'environ 20% (Durieux *et al.*, 2007). D'autre part, la myostatine est aussi connue pour activer la protéolyse par le système ubiquitine-protéasome, via la régulation à la hausse des E3 ligases MuRF1 et MAFbx (H. Q. Han *et al.*, 2013; Vainshtein & Sandri, 2020). À l'inverse, si la délétion du gène de la myostatine entraîne un phénotype hypertrophié, des altérations mitochondriales sont également rapportées dans des modèles animaux comme une diminution du contenu et de la respiration mitochondriale (Amthor *et al.*, 2007, 2007; Ploquin *et al.*, 2012), ainsi qu'une diminution de PGC1- α et de la biogénèse mitochondriale (Pauly *et al.*, 2015; Relizani *et al.*, 2014). Ensemble, ces résultats soulignent que la sur- ou

sous-activation de la myostatine est fortement impliquée dans les mécanismes du déconditionnement musculaire.

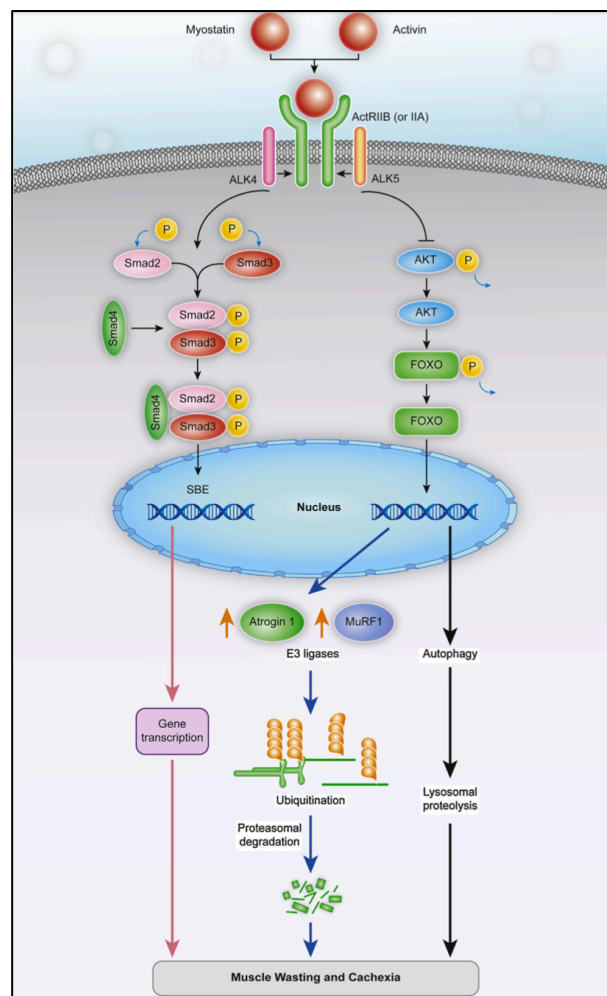


Figure 27 : rôle de la myostatine dans l'atrophie musculaire.
Extrait de Han et al., (2013). Cette figure décrit la cascade d'évènements cellulaires conduisant à l'atrophie musculaire en réponse à l'activation de la myostatine.

Si les études chez l'humain sont assez rares, des augmentations de myostatine ont été retrouvées au niveau circulant après 25 jours de bed rest (Zachwieja *et al.*, 1999) ainsi qu'au niveau du muscle vaste latéral après 84 jours de bed rest (Irimia *et al.*, 2017) ou 5 jours de dry immersion (Guilhot *et al.*, 2022). Chez les patients BPCO, une expression musculaire 3 fois supérieure de la myostatine a été rapportée par rapport à des sujets contrôles (Plant *et al.*, 2010), ce qui pourrait expliquer la dysfonction musculaire et l'atrophie des patients BPCO (Hayot *et al.*, 2011). Enfin, bien que d'autres études soient nécessaires pour le confirmer, la myostatine serait également impliquée lors de la sarcopénie (T. A. White & LeBresseur, 2014).

Chapitre III : Le cancer du sein, une situation de déconditionnement musculaire

Ce chapitre 3 est dédié au cancer du sein qui correspond aujourd'hui au cancer le plus fréquent et le plus mortel chez la femme. Les différents traitements utilisés sont également présentés ci-après, comme la chimiothérapie qui est connue pour induire le plus d'effets secondaires. Parmi eux, un déconditionnement musculaire est fréquemment rapporté chez les patientes. Ainsi, une partie est consacrée aux caractéristiques et aux mécanismes cellulaires impliqués dans ce déconditionnement. Plus précisément, un état des connaissances des mécanismes cellulaires impliqués chez la patiente et dans les modèles précliniques de cancer du sein est effectué, associé à un parallèle avec les autres modèles de cancers (cliniques et précliniques). Enfin, la dernière partie de ce chapitre s'intéresse aux bénéfices de l'exercice dans le cancer du sein, particulièrement au niveau cellulaire.

1. Le cancer du sein : généralités

1.1. Description et anatomie du sein

Le cancer du sein correspond à une tumeur maligne située au niveau du sein. Cette tumeur est composée de cellules tumorales, *i.e.* de cellules insensibles au cycle cellulaire qui ne subissent plus d'apoptose et prolifèrent rapidement. Effectivement, l'origine du cancer provient d'une lésion majeure au niveau de l'ADN d'une cellule. La cellule se réplique alors avec la lésion au cours de la mitose, donnant naissant à deux cellules filles modifiées qui prolifèrent rapidement et se multiplient finalement de façon anarchique pour former un amas de cellules cancéreuses appelé tumeur (Reya *et al.*, 2001). L'ensemble de ces étapes s'appelle la cancérogenèse (ou carcinogenèse) et se décompose en trois étapes : initiation, promotion et progression (Figure 28).

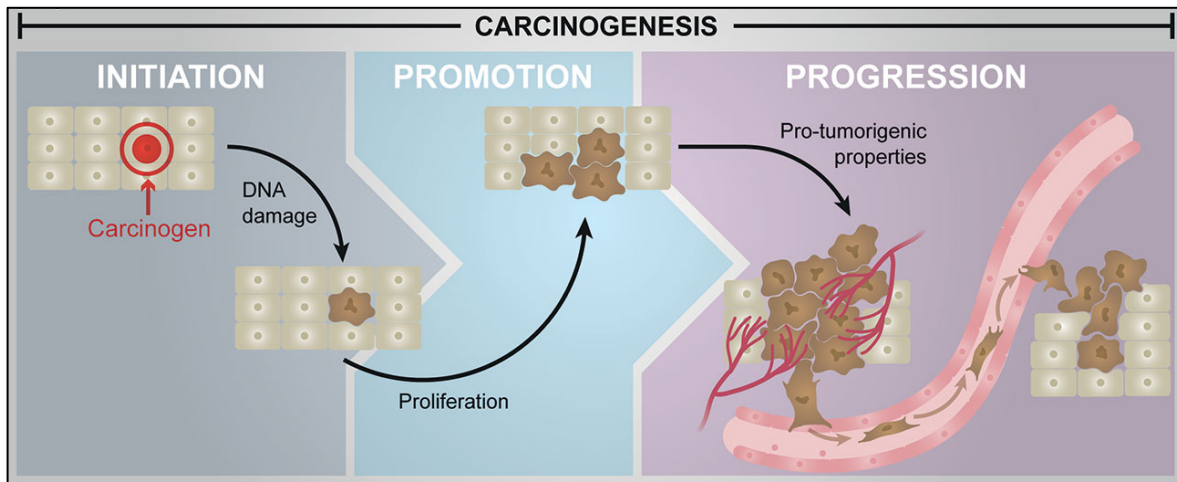


Figure 28 : étape de la cancérogenèse (ou carcinogénèse) avec l'initiation, la promotion et la progression.

Extrait de Cerda-Troncoso et al., (2021). Ce schéma illustre la carcinogénèse dont l'étape initiale provient d'une altération dans la réplication de l'ADN d'une cellule saine qui va donner naissance à une cellule cancéreuse. Celle-ci va proliférer pour finalement former une tumeur.

Le sein est composé d'une glande mammaire, elle-même composée de compartiments séparés par du tissu adipeux (Pandya & Moore, 2011). On distingue au sein de la glande mammaire les lobules, qui permettent la production de lait, et les canaux, qui transportent le lait vers le mamelon (Figure 29) (Hassiotou & Geddes, 2013). La majorité des cancers du sein sont des adénocarcinomes. Lorsque le cancer touche les lobules, on parle de cancer du sein lobulaire et à l'inverse, lorsque les canaux sont affectés, on parle de cancer du sein canalaire. Le cancer peut toucher différemment les régions du sein qui sont réparties selon 4 quadrants autour du mamelon (Figure 29) : le quadrant supéro interne, le quadrant supéro externe, le quadrant inféro-interne et le quadrant inféro externe. La tumeur peut également envahir les ganglions lymphatiques avoisinants tels que les ganglions mammaires, les ganglions sus-claviculaires, les ganglions sous-claviculaires et les ganglions axillaires.

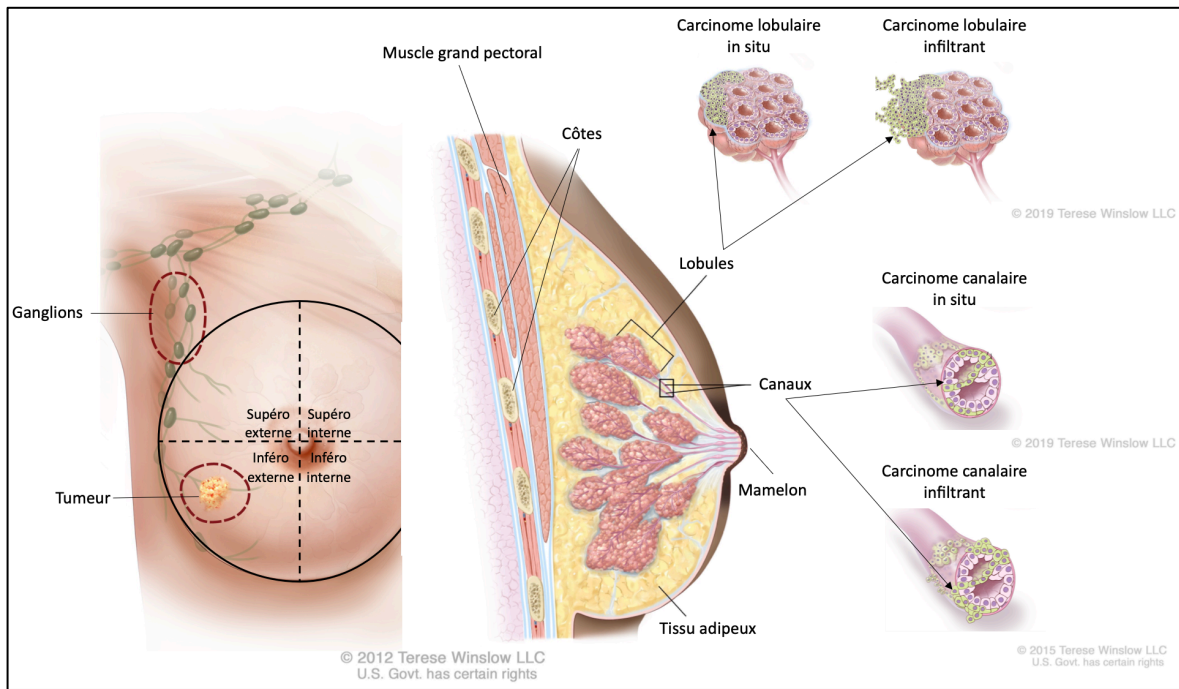


Figure 29 : anatomie du sein et types de cancer.

Extrait et adapté de Terese Winslow LLC avec autorisation. Cette figure illustre l'anatomie du sein et représente les différents types de cancer comme le carcinome lobulaire in situ ou infiltrant et le carcinome canalaire in situ ou infiltrant.

1.2. Épidémiologie

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent, tous sexes confondus, avec 2.3 millions de nouveaux cas dans le monde, soit 11.7% des cancers (Figure 30) (Sung *et al.*, 2021). Cette maladie entraîne chaque année environ 700 000 décès, soit 6.9% des morts liées au cancer (Sung *et al.*, 2021). Plus spécifiquement chez la femme, le cancer du sein concerne presque 1 patiente sur 4 (24.5%) et 15.5% des décès (Sung *et al.*, 2021). En France, le taux de survie d'un cancer du sein à 5 ans est de 87% (Allemani *et al.*, 2018).

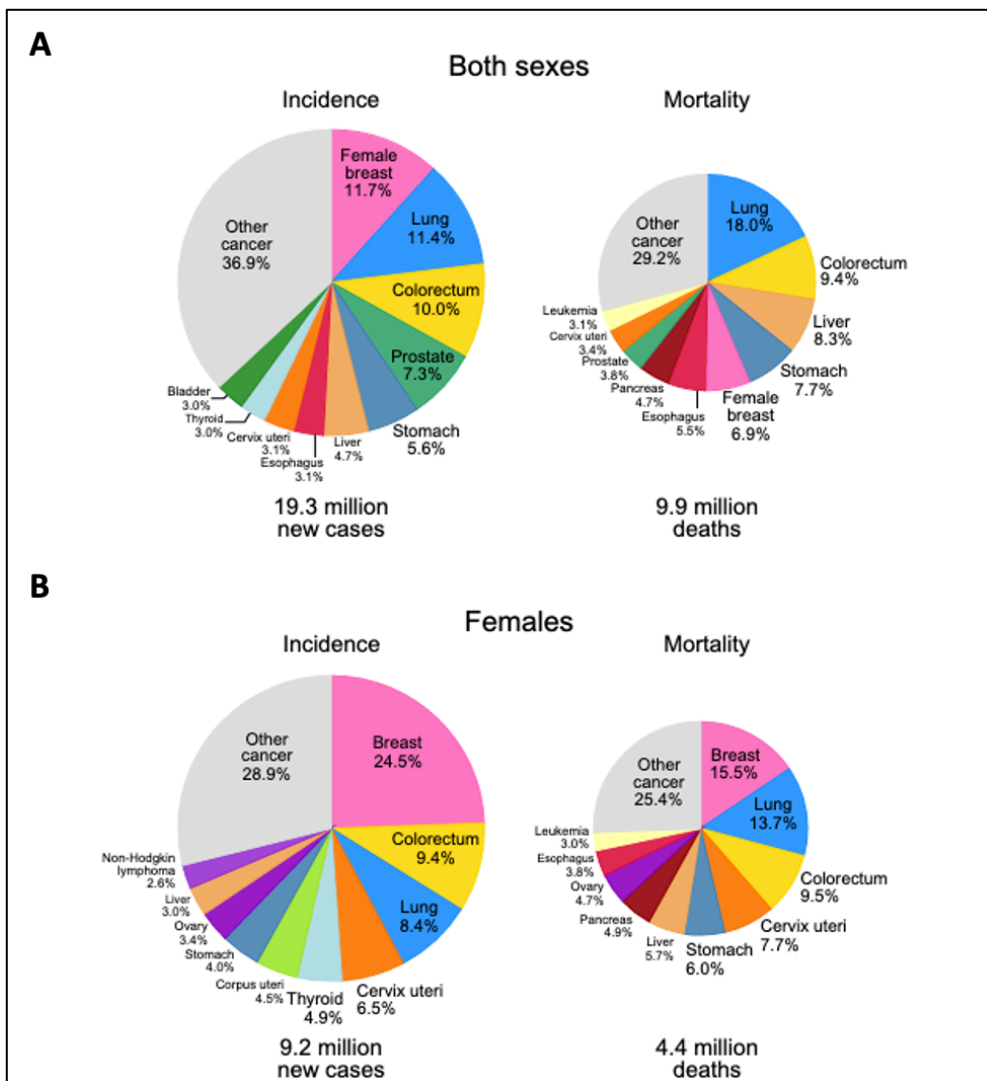


Figure 30 : incidence et mortalité des cancers en 2020 pour les deux sexes (A) et spécifiquement chez la femme (B).

Extrait de Sung et al., (2021). Cette figure, qui indique le cancer du sein est le plus fréquent et le plus meurtrier chez la femme, provient de la base de données GLOBOCAN.

À partir de 50 ans, le risque de développer un cancer du sein est plus élevé (DeSantis et al., 2014). En effet, le cancer du sein est le plus souvent diagnostiqué entre 55 et 64 ans avec un âge médian au diagnostic de 61 ans (Figure 31) (Rojas & Stuckey, 2016). Moins de 5% des cancers sont diagnostiqués avant 50 ans et comme la plupart des tumeurs malignes, le risque augmente avec l'âge. Néanmoins, le rythme auquel croît le risque avec l'avancée en âge diminue après la ménopause (Rojas & Stuckey, 2016).

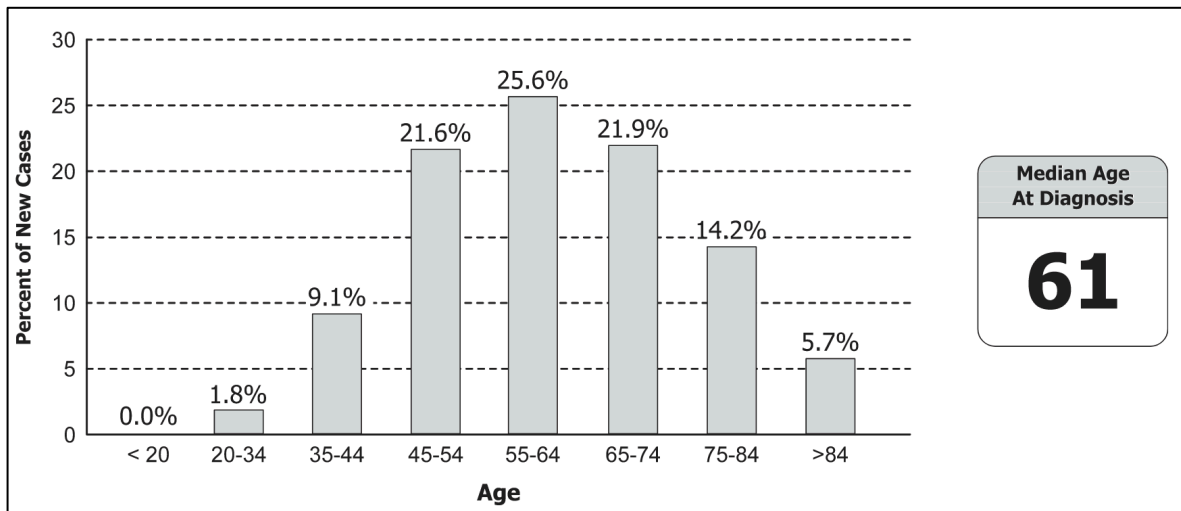


Figure 31 : incidence du cancer du sein selon l'âge.

Extrait de Rojas & Stuckey (2016). Cette figure, qui indique que le cancer du sein est le plus fréquent entre 55 et 64 ans, se base sur des données provenant du National Cancer Institute dont l'une des missions est de fournir des informations sur les statistiques du cancer aux États-Unis.

1.3. Facteurs de risques

Il existe de nombreux facteurs de risques de développer un cancer du sein (Figure 32). Comme mentionné précédemment, l'âge est l'un des facteurs de risques les plus importants (Y.-S. Sun *et al.*, 2017). Si moins de 10% des cancers du sein sont attribuables à des mutations génétiques héréditaires, comme les mutations du gène BRCA1/2 (Harbeck *et al.*, 2019; Rojas & Stuckey, 2016), beaucoup de cancers peuvent donc être attribuables à des facteurs environnementaux. Encore discutable, l'exposition prolongée aux œstrogènes (*i.e.* avec une contraception orale) semblerait être un facteur de risques de développer un cancer du sein (Rojas & Stuckey, 2016; Y.-S. Sun *et al.*, 2017). Les facteurs liés à la reproduction tels que les ménarches précoces, la ménopause tardive et l'âge tardif de la première grossesse peuvent aussi augmenter le risque de cancer du sein (Y.-S. Sun *et al.*, 2017). Par exemple, chaque année de retard de la ménopause augmente le risque de développer un cancer du sein de 3 % (Horn & Vatten, 2017; Y.-S. Sun *et al.*, 2017).

Les habitudes de vie sont également des causes majeures de développement d'un cancer du sein. Si la consommation régulière d'alcool et de tabac est un facteur de risques indiscutable (Rojas & Stuckey, 2016; Y.-S. Sun *et al.*, 2017), la sédentarité et le manque

d'activité physique sont également des éléments déterminants. Effectivement, l'activité physique régulière diminue le risque de cancer du sein de 14% chez des femmes de 35 ans (McTiernan *et al.*, 2003). De manière plus frappante, les femmes très actives pratiquant plus de 8000 MET minutes/semaines diminueraient le risque de développer un cancer du sein de 21% (Kyu *et al.*, 2016). Étroitement lié au manque d'activité physique, l'obésité est aussi un facteur de risque important et les femmes ménopausées ayant un IMC >25 auraient un risque de développer un cancer de 20% (Benn *et al.*, 2016). Parmi les patientes, les femmes obèses présentent un risque accru de récurrence et de décès par cancer du sein, respectivement de 12,2 % et 6,9 %, dans les 10 ans suivant le diagnostic (Friedenreich *et al.*, 2021). Ensemble, les modifications des habitudes de vie pourraient prévenir le risque de développer toute sorte de cancer de 30 à 40% (Friedenreich *et al.*, 2021; Kulhánová *et al.*, 2020; Parkin, 2011; Poirier *et al.*, 2019; Whiteman *et al.*, 2015).

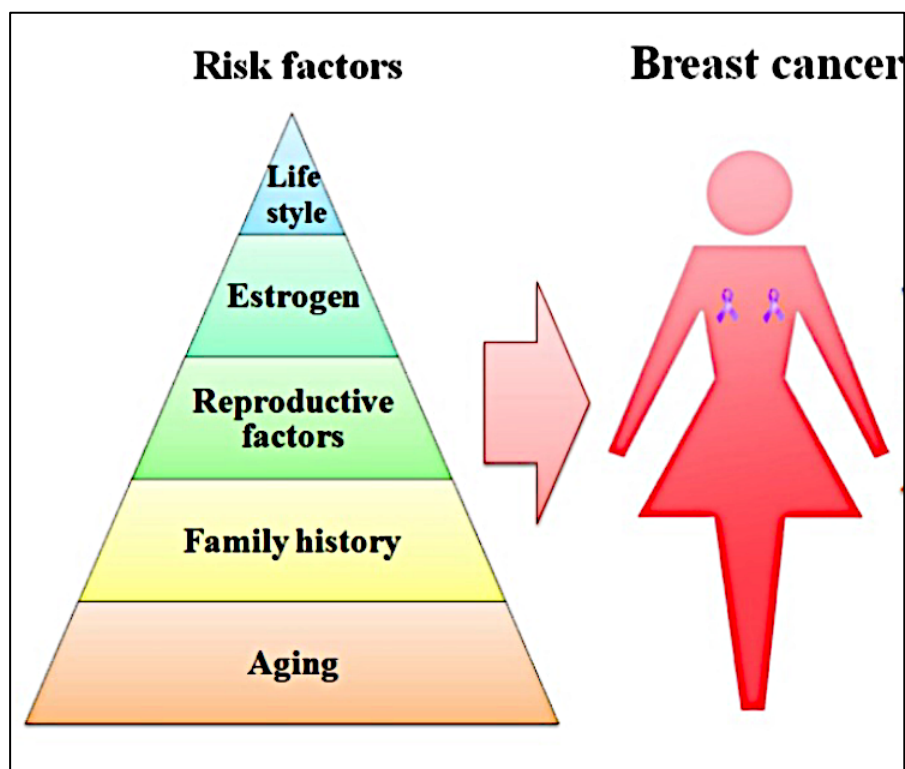


Figure 32 : facteurs de risque du cancer du sein.

Extrait et adapté d'Y.-S. Sun et al., (2017). Cette figure synthétise et hiérarchise le rôle des facteurs de risque dans le développement du cancer du sein.

1.4. Type de cancers du sein

1.4.1. Localisation de la tumeur

Les cancers du sein peuvent être classés selon la localisation de la tumeur et le développement du cancer. Si la tumeur reste localisée au niveau des lobules ou des canaux, il s'agit d'un carcinome *in situ* (Obeng-Gyasi *et al.*, 2016). À l'inverse, lorsque les cellules tumorales se développent dans les tissus avoisinants, comme les ganglions lymphatiques, on parle de carcinome infiltrant (avec envahissement ganglionnaire) (H. Zhao, 2021). Ainsi, on distingue les carcinomes lobulaires *in situ* ou infiltrant et les carcinomes canauxiers *in situ* ou infiltrant (Figure 28). Il existe également un autre type de cancer du sein, il s'agit du cancer du sein inflammatoire caractérisé par la présence des cellules cancéreuses dans les vaisseaux lymphatiques de la peau et du sein, ce qui entraîne un sein rouge et enflé. Si d'autres parties du corps sont touchées à distance, il s'agit d'un cancer métastatique. Le développement de métastases à distance du cancer primitif nécessite le passage des cellules cancéreuses par voie sanguine ou lymphatique pour atteindre un nouvel organe.

1.4.2. Sous-types moléculaires

Les cancers du sein peuvent être classés au niveau moléculaire selon leurs récepteurs : récepteurs aux œstrogènes (ER), récepteurs aux progestérones (PR) et récepteur HER2. Ainsi, il existe 4 sous-types de cancer du sein (Rojas & Stuckey, 2016) :

- Luminal A : ER+ et/ou PR+, HER2- et Ki-67 faible (30 à 70% des cas)
- Luminal B : ER+ et/ou PR+, HER2+ ou Ki-67 élevé (10 à 20% des cas)
- HER 2 : HER 2+++ et ER- et PR- (5 à 15% des cas)
- Triple négatif : ER-, PR- et HER2- (15 à 20% des cas)

Un autre élément doit être pris en compte, il s'agit de l'indice de prolifération des cellules cancéreuses mesuré via l'antigène Ki-67.

1.4.3. Stade, classification TNM et grade

L'état d'avancement du cancer du sein peut se décrire selon trois catégories : le stade, la classification TNM et le grade (Hortobagyi *et al.*, 2018; J. Li *et al.*, 2015; Rakha *et al.*, 2010). Le stade fait référence à la propagation du cancer : un stade 0 correspond à un cancer *in situ*, un stade I correspond à un cancer *in situ* avec une tumeur <2cm, un stade II et III décrivent une tumeur localement avancée avec envahissement des tissus voisins tandis qu'un stade IV correspond à la présence de métastases.

Afin de donner plus de précisions, un système de classification international, initialement proposé par le Dr Pierre Denoix, a été créé. Il s'agit de la classification TNM pour laquelle le T (tumor) de la classification, qui s'étend de 0 à 4, correspond à la taille de la tumeur et à l'envahissement des tissus avoisinants. Le N (nodes) correspond à l'envahissement des ganglions lymphatiques et peut se décrire de N0 à N3. Enfin, le M (métastases) est utilisé pour décrire la présence de métastases et se décline comme suit : M0 correspond à l'absence de métastase et M1 à la présence de métastases.

Enfin, une classification histologique de la tumeur peut être réalisée et permet de caractériser l'apparence des cellules cancéreuses et leur agressivité. Il s'agit du grade Scarff-Bloom-Richardson (SBR) qui s'étend de 1 à 3 (Bansal *et al.*, 2012). Trois critères sont pris en compte : l'apparence des cellules, la rapidité de division des cellules cancéreuses et la région de la tumeur avec nécrose. Plus le grade est élevé, plus les cellules cancéreuses sont différentes des cellules saines et plus elles se propagent rapidement.

2. Traitements du cancer du sein

Le choix du traitement dépend d'une multitude de facteurs dont le type de cancer du sein, sa classification et son grade, mais prend aussi en compte les comorbidités de la patiente comme l'âge ou la présence d'une pathologie aggravante. Chaque schéma de traitement est décidé en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP). Ces réunions sont issues du plan cancer de 2003 et qu'elles soient thérapeutiques ou diagnostiques, les RCP doivent se faire en présence de 3 médecins de spécialités différentes (*e.g.* oncologue

médical, chirurgien, oncologue radiothérapeute). Étant donné la complexité pour choisir la stratégie thérapeutique la plus efficace et adaptée, nous détaillerons uniquement les différents types de traitements qui existent (Pondé *et al.*, 2019), sans parler des différentes combinaisons possibles. La Figure 33 résume les stratégies thérapeutiques existantes pour les cancers du sein de stade précoce (*i.e.* non métastatiques).

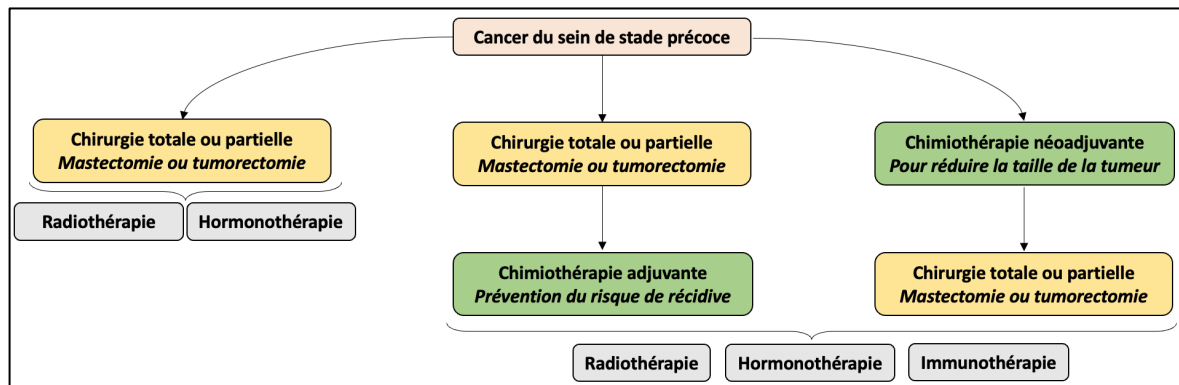


Figure 33 : stratégies thérapeutiques pour la prise en charge d'un cancer du sein de stade précoce.

2.1. Chirurgie

La chirurgie est souvent le traitement premier proposé dans la prise en charge du cancer du sein (Apantaku, 2002; Matsen & Neumayer, 2013). Il existe deux types de chirurgie : la tumorectomie (*i.e.* chirurgie conservatrice) qui vise à retirer uniquement la tumeur pour conserver le sein, et la mastectomie (*i.e.* chirurgie non conservatrice) qui relève de l'ablation totale du sein. En cas de cancer du sein infiltrant, il peut également être nécessaire d'enlever les ganglions lymphatiques axillaires : il s'agit d'une exérèse du ganglion sentinelle ou d'un curage ganglionnaire. La chirurgie peut être suivie d'un traitement adjuvant qui vise à prévenir le risque de récurrence (*e.g.* chimiothérapie, hormonothérapie ou radiothérapie), ou peut être précédée d'un traitement néoadjuvant qui permet de réduire la taille de la tumeur pour rendre l'opération possible.

2.2. Radiothérapie

La radiothérapie correspond à l'utilisation de rayons ionisants qui ont pour but de détruire les cellules cancéreuses (Auri, 2017; Castaneda & Strasser, 2017). Il existe deux types de radiothérapie : la radiothérapie externe qui utilise une source externe de rayons et la curiethérapie qui consiste en l'utilisation d'une source interne radioactive. Que ce soit en radiothérapie externe ou en curiethérapie, les rayons traitent une zone spécifique (*e.g.* la glande mammaire ou le lit tumoral) tout en épargnant les tissus ou organes alentour.

2.3. Hormonothérapie

Les cancers luminaux A ou B, qui répondent aux récepteurs aux œstrogènes et/ou aux récepteurs aux progestérones, sont des cancers hormonodépendants, *i.e.* que les hormones facilitent leur développement (Rojas & Stuckey, 2016). Ainsi, l'hormonothérapie a pour but d'empêcher l'action de ces hormones sur les cellules cancéreuses. Les deux molécules utilisées dans l'hormonothérapie sont les anti-aromatases comme le létrozole (pour les femmes ménopausées) et les anti-œstrogènes comme le tamoxifène (pour les femmes non ménopausées) (Ruhstaller *et al.*, 2019).

2.4. Thérapie ciblée

La cancérologie moderne a permis le développement de traitements qui visent à bloquer des mécanismes spécifiques impliqués dans le développement du cancer : il s'agit des thérapies ciblées (Emens, 2018). La thérapie ciblée la plus utilisée dans le cancer du sein est le trastuzumab, un anticorps monoclonal indiqué pour les cancers du sein qui surexpriment le récepteur HER2, un facteur de croissance impliqué dans la croissance tumorale (Cameron *et al.*, 2017). Dans certains cas, un autre anticorps monoclonal nommé pertuzumab peut être associé au trastuzumab pour bloquer le récepteur HER2 (von Minckwitz *et al.*, 2017). D'autres thérapies ciblées peuvent être utilisées pour les cancers du sein métastatiques comme le bévacizumab (anti-VEGF), le lapatinib (inhibiteur de protéine kinase) et l'évérolimus (inhibiteur de protéine kinase) (Kunte *et al.*, 2020; Richards *et al.*, 2019).

2.5. Chimiothérapie

Même si elle n'est pas utilisée de façon systématique, la chimiothérapie reste un traitement de référence dans la prise en charge du cancer. Il s'agit d'un traitement cytotoxique visant à provoquer la mort des cellules cancéreuses. Il existe de nombreuses molécules de chimiothérapie et une multitude d'associations différentes (Denduluri *et al.*, 2021). Les molécules les plus utilisées sont :

- L'épirubicine ou la doxorubicine. Il s'agit d'un agent intercalant de la famille des anthracyclines ayant pour but de se mettre entre les paires de bases de l'ADN (liaison G-C) pour le détruire.
- Le paclitaxel et docétaxel. Il s'agit de poisons de fuseau de la famille des taxanes visant à empêcher la division cellulaire.
- La cyclophosphamide. Il s'agit d'un immunosuppresseur appartenant à la famille des agents alkylants. Il permet de rajouter un groupe alkyle à l'ADN pour empêcher la division cellulaire.
- Le fluoro-uracile ou le méthotrexate. Il s'agit d'inhibiteurs de la synthèse des nucléotides.

Un schéma classiquement utilisé correspond à l'administration de 3 EC + 9 paclitaxels. Dans ce cas, cela signifie que l'épirubicine (E) est couplée à la cyclophosphamide (C) pour des administrations entrecoupées de 3 semaines de repos, puis que le paclitaxel est administré toutes les semaines pendant 9 semaines.

3. Effets secondaires principaux liés à la chimiothérapie

3.1. Alopécie

Contrairement à la thérapie ciblée, la chimiothérapie vise à détruire les cellules cancéreuses, mais touche également les cellules saines, entraînant alors de nombreux effets secondaires. Parmi eux, le plus connu est aujourd'hui l'alopécie (Lemieux *et al.*,

2008). Cette alopecie est fréquemment associée à une image de soi dégradée ou à une altération de la qualité de vie, à tel point qu'il a été reporté que 8% des patientes refusaient la chimiothérapie par peur de la perte de cheveux (Tierney *et al.*, 1992).

3.2. Cardiotoxicité

Un autre effet secondaire important causé par l'utilisation d'anthracyclines et de trastuzumab est la toxicité cardiaque (Rochette *et al.*, 2015; Tao *et al.*, 2015). Une étude a rapporté une prévalence de dysfonction du ventriculaire gauche de 9% (Cardinale *et al.*, 2015). Parmi ces dysfonctions, 98% apparaissaient au cours de l'année suivant l'arrêt des anthracyclines (Cardinale *et al.*, 2015). De manière similaire, l'utilisation de trastuzumab entraîne une dysfonction ventriculaire gauche chez 13% des patientes et une insuffisance cardiaque chez 1.9% des patientes (Bria *et al.*, 2008).

3.3. Neurotoxicité

Si l'utilisation de taxanes semble avoir moins d'effets secondaires, cette famille de chimiothérapie est associée à une neurotoxicité importante qui se caractérise par des neuropathies périphériques (Staff *et al.*, 2020). Effectivement, 60 à 70% des patientes sont touchées par des neuropathies au cours du traitement par taxanes, qui se manifestent par un engourdissement et des picotements au niveau des doigts et des orteils et qui sont, dans certains cas, irréversibles (Staff *et al.*, 2020).

3.4. Troubles cognitifs

En plus des manifestations physiques, les chimiothérapies utilisées dans le cancer du sein peuvent entraîner des plaintes de troubles cognitifs chez plus de 50% des patientes, dont 15 à 25% présentent réellement une diminution des capacités cognitives (Ahles *et al.*, 2012; Lange *et al.*, 2019). Ces troubles cognitifs sont d'autant plus élevés chez les patientes présentant des troubles anxieux et dépressifs et sont associés à une altération de la qualité de vie (Rodríguez Martín *et al.*, 2020).

3.5. Troubles alimentaires et digestifs

Des troubles alimentaires et digestifs sont également fréquemment rapportés par les patientes. Il peut s'agir de mucites qui gênent pour l'alimentation, mais aussi de nausées, de vomissements et de diarrhées (Naito *et al.*, 2020). Ces troubles peuvent expliquer en partie les pertes de poids qui sont observées chez plus d'un tiers des patientes (Al-Hajeili *et al.*, 2021; Dewys *et al.*, 1980; Fukui *et al.*, 2021).

3.6. Troubles liés à la ménopause et à la reproduction

Les effets secondaires de la chimiothérapie peuvent se manifester par une aménorrhée chez 91.5% des patientes (Ravi *et al.*, 2020). Il existe également un risque d'infertilité post-chimiothérapie ainsi qu'un risque de fausse couche ou d'accouchement prématuré (Kasum *et al.*, 2014). Enfin, des troubles sexuels comme des problèmes de libido sont également rapportés par les patientes (Streicher & Simon, 2018).

3.7. Troubles psychosociaux

Plus d'un tiers des patientes rapportent des troubles anxieux et dépressifs liés à la maladie et aux traitements, ainsi qu'une instabilité émotionnelle (Tsaras *et al.*, 2018). Ceux-ci sont fréquemment associés à une altération de la qualité de vie (J. Zhang *et al.*, 2018), ce qui affecte grandement la vie quotidienne des patientes.

3.8. Fatigue liée au cancer

Si les effets secondaires liés à la chimiothérapie sont variés et ne concernent pas l'ensemble des patientes, la fatigue est le symptôme majeur rapporté chez la plupart d'entre elles (Mao *et al.*, 2018). Ce symptôme perdure même chez un quart des patientes des années après l'arrêt du traitement (Berger *et al.*, 2015; Hofman *et al.*, 2007). La fatigue liée au cancer peut être associée à une inactivité physique et un mode de vie sédentaire, ce qui renforce finalement le sentiment de fatigue (Kwan *et al.*, 2012; Phillips *et al.*, 2016;

M. E. Schmidt *et al.*, 2017). D'autre part, la fatigue et l'inactivité peuvent également renforcer le déconditionnement musculaire qui est majoritairement causé par la chimiothérapie chez les patientes atteintes d'un cancer du sein (Figure 34) (Mallard *et al.*, 2020). L'ensemble de ces altérations aboutit finalement à une diminution de la qualité de vie.

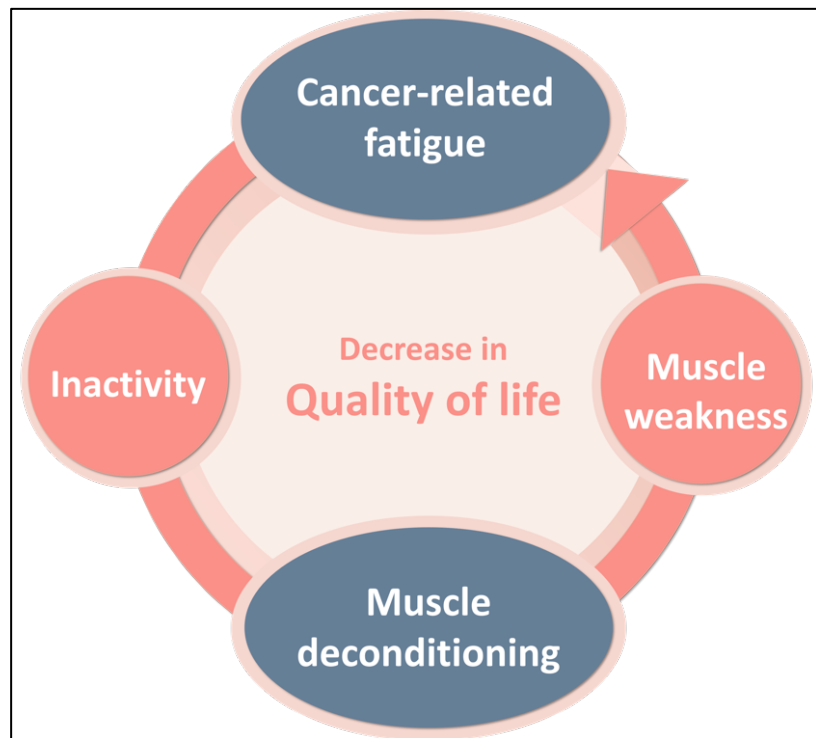


Figure 34 : cercle vicieux du déconditionnement chez les patients atteints de cancer.
Adapté de Mallard et al., (2020).

4. Déconditionnement musculaire dans le cancer du sein : connaissances actuelles et parallèle avec les autres cancers

Cette partie a fait l'objet de la publication d'une revue de littérature dans *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (IF : 6.1 ; voir travail supplémentaire 1). Nous nous sommes intéressés spécifiquement à l'effet de la chimiothérapie sur le muscle squelettique des patientes atteintes d'un cancer du sein.

4.1. Altérations macroscopiques du muscle squelettique

Le déconditionnement musculaire dans le cancer du sein est associé à une altération de la qualité de vie, une augmentation de la toxicité du traitement et une augmentation du risque de mortalité (Cespedes Feliciano *et al.*, 2019; Deluche *et al.*, 2018; Huh *et al.*, 2020; Rier *et al.*, 2016; Shachar *et al.*, 2017; Trestini *et al.*, 2018). À ce jour, plusieurs altérations structurales et fonctionnelles des muscles squelettiques ont été identifiées (*i.e.* diminution de la masse musculaire, de la force et de la qualité musculaire) avec des conséquences majeures sur la capacité d'exercice (Figure 35).

4.4.1. Masse musculaire

Même s'il est bien admis que la chimiothérapie induit une perte de masse musculaire dans le cancer du sein, très peu d'études l'ont clairement démontré. En effet, en excluant les études qui n'étaient pas longitudinales et les études ayant mesuré uniquement la masse maigre (qui ne permet pas d'isoler la masse musculaire), seules deux études ont été identifiées (Rossi *et al.*, 2020; Wiederin *et al.*, 2020). Ces deux études ont montré une diminution de la surface du muscle pectoral après la chimiothérapie. Plus précisément, Wiederin *et al.*, (2020) ont trouvé via une évaluation par CT-scan une diminution de 10% dans une cohorte de 221 patientes atteintes d'un cancer du sein, 115 patients atteints de sarcome et 216 patients atteints de lymphome. De la même manière, Rossi *et al.*, (2020) ont trouvé, à l'aide d'imagerie par résonance magnétique (IRM), une réduction de 15% de la surface occupée par le muscle pectoral chez des patientes atteintes d'un cancer du sein et soignées par chimiothérapie. De façon surprenante, nous n'avons pas trouvé d'autres études longitudinales s'intéressant à l'ensemble de la masse musculaire ou aux muscles locomoteurs. De plus, il existe un manque de données concernant l'évolution de la masse musculaire alors qu'il est bien admis dans les modèles de déconditionnement que la perte de masse musculaire n'est pas linéaire et survient rapidement (Kawashima *et al.*, 2004; Seynnes *et al.*, 2008). Étant donné que la masse musculaire est fortement associée aux capacités fonctionnelles (Aleixo, Deal, *et al.*, 2020; Baracos *et al.*, 2018; Cruz-Jentoft *et al.*, 2019; Fearon *et al.*, 2011) et à l'efficacité de la chimiothérapie chez les patientes atteintes d'un cancer du sein (Caan *et al.*, 2018; B. M. Lee

et al., 2021), d'autres études sont nécessaires pour mieux caractériser la perte de masse musculaire afin de la contrecarrer de manière efficace.

4.4.1. Force musculaire

L'impact des chimiothérapies utilisées dans le cancer du sein sur la force musculaire est davantage documenté. De nombreuses études, avec différents protocoles d'évaluation de la force (force de préhension, extension isométrique du genou, force de l'épaule, *etc.*), ont trouvé des résultats contradictoires chez des patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie. En effet, certaines études longitudinales n'ont rapporté aucune modification de la force musculaire isométrique tant au niveau des membres inférieurs (muscle quadriceps) que des membres supérieurs (muscles grand dorsal, pectoral et handgrip) (Schmidt *et al.*, 2015 ; Ramos da Silva *et al.*, 2021), tandis que d'autres études ont trouvé une réduction significative de -4 à -17 % de la force musculaire pour la force de préhension ou les extenseurs du genou (Cešeko *et al.*, 2020; Gadéa, Thivat, Dubray-Longeras, Arbre, Van-praagh, *et al.*, 2018; Mijwel *et al.*, 2018b; Toth *et al.*, 2020; van Waart *et al.*, 2015). Des divergences dans les protocoles d'étude (*e.g.* durée de l'étude, points de mesure et traitements administrés) et dans les méthodes d'évaluation de la force (*e.g.* contractions isométriques vs. isocinétiques, différents groupes musculaires testés) peuvent expliquer ces résultats contrastés. D'autres études ont également mis en évidence une force musculaire plus faible de patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie par rapport à des femmes en bonne santé (Klassen *et al.*, 2017; Marques *et al.*, 2020), renforçant le fait que les chimiothérapies semblent affecter la production de force. Néanmoins, comme la masse musculaire, aucune étude n'a évalué l'évolution de la force musculaire et il est possible que ce paramètre décline également rapidement étant donné qu'il est fortement lié à la masse musculaire.

4.4.1. Qualité musculaire

Une réduction de la qualité musculaire a été observée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie. Dans une étude longitudinale (Rier *et al.*, 2018), des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique présentaient une

altération de l'atténuation musculaire, évaluée par CT-scan, après une chimiothérapie à base de taxanes, indiquant une diminution de la qualité musculaire. Dans une étude transversale, des patientes ayant reçu des anthracyclines ont été comparées à des sujets contrôles et une quantité d'IMAT supérieure au niveau de la cuisse (~30%) a été constatée et a été corrélée de manière intéressante avec une altération de la fonction cardiorespiratoire (Beaudry *et al.*, 2020). Une autre étude transversale a mis en évidence une augmentation du contenu d'IMAT chez des patients atteints de cancer (dont des cancers du sein) par rapport à des sujets contrôles et a également montré une corrélation avec une diminution de la capacité d'exercice (Reding *et al.*, 2019).

4.4.1. Capacité d'exercice

Comme une conséquence des altérations des muscles squelettiques mentionnée ci-dessus, combinées à une cardiotoxicité bien connue (Bird & Swain, 2008; Jerusalem *et al.*, 2019; Kazemi-Bajestani *et al.*, 2014; Nicolazzi *et al.*, 2018; Varricchi *et al.*, 2018), la chimiothérapie a également un fort impact sur la capacité d'exercice. En milieu clinique, le test de marche de six minutes (TDM6) représente un test de référence pour l'évaluation de la capacité d'exercice (Agarwala & Salzman, 2020; Enright, 2003) chez les patients atteints de cancer (Galiano-Castillo *et al.*, 2016; Wesolowski *et al.*, 2020). Une récente revue systématique a rapporté, à travers l'analyse de 21 études originales utilisant le TDM6, que 1084 patientes atteintes d'un cancer du sein présentaient une réduction de la capacité d'exercice de 24% par rapport à 878 femmes en bonne santé (But-Hadzic *et al.*, 2021). Néanmoins, l'évaluation de la $\dot{V}O_{2max}$ représente la mesure de référence de la capacité d'exercice (Astrand & Saltin, 1961; Schumacher *et al.*, 2019). Il est intéressant de noter que des résultats cohérents entre le TDM6 et la $\dot{V}O_{2max}$ ont été trouvés chez les patientes atteintes de cancer du sein. En effet, une autre revue systématique a rapporté, à partir de l'analyse de 27 essais cliniques, une réduction significative de la $\dot{V}O_{2max}$ de 25 % chez des patientes ayant reçu un traitement par chimiothérapie par rapport à des femmes actives en bonne santé (Peel *et al.*, 2014). Néanmoins, comme la masse et la force musculaire, aucune étude n'a étudié de la capacité d'exercice au cours du traitement. Toutefois, il semblerait que ce déconditionnement cardiorespiratoire renforce le développement de la fatigue liée au cancer, et particulièrement le développement de la fatigue neuromusculaire

(Neil *et al.*, 2013), avec des conséquences sur la capacité d'exercice. En effet, il a été constaté que la fatigue neuromusculaire, évaluée par la réduction de la force lors de répétitions de contractions maximales volontaires, est exacerbée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein sous chimiothérapie par rapport à des sujets contrôles (Klassen *et al.*, 2017). Avec la diminution de la masse musculaire squelettique, la réduction de la capacité d'exercice est également fortement associée à un risque plus élevé d'effets indésirables tels que la toxicité induite par le traitement, la mortalité ou la diminution des capacités fonctionnelles (Foulkes *et al.*, 2019; L. W. Jones *et al.*, 2012; Peel *et al.*, 2014; A. F. Yu *et al.*, 2020).

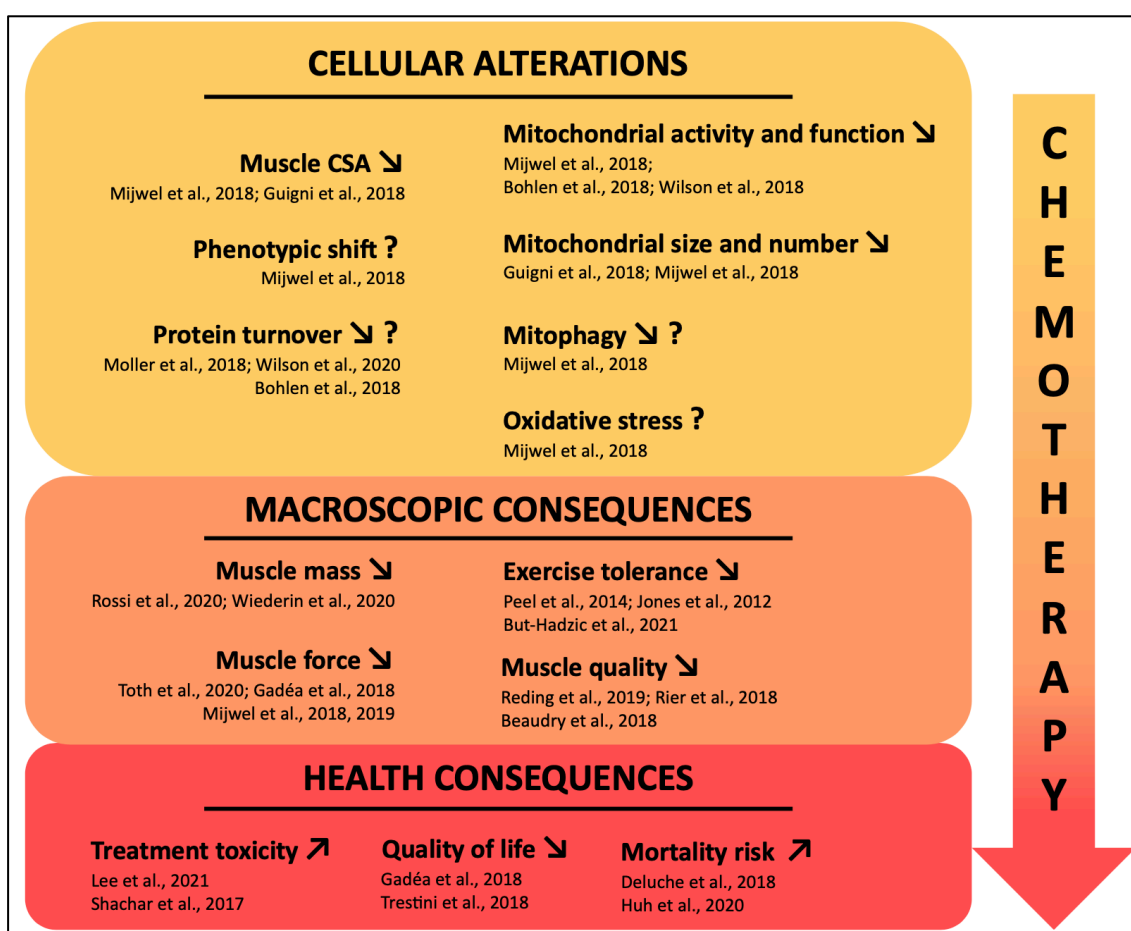


Figure 35 : connaissances actuelles du déconditionnement musculaire dans le cancer du sein.

Extrait de Mallard et al., (2021). L'utilisation de chimiothérapie dans le cancer du sein affecte directement le tissu musculaire squelettique, entraînant un déconditionnement musculaire majeur. À ce jour, peu d'études cliniques se sont intéressées aux mécanismes cellulaires sous-jacents pouvant être responsables des changements macroscopiques mis en évidence chez les patientes atteintes d'un cancer du sein, qui affectent la fonction musculaire et entraînent de graves conséquences sur la santé. Le point d'interrogation indique que des résultats sont incohérents ou qu'un mécanisme nécessite d'être consolidé par d'autres études.

4.2. Mécanismes cellulaires connus du déconditionnement musculaire dans le cancer du sein

La biopsie musculaire (e.g. par aiguille de Bergström ; Figure 36) est la seule technique permettant une investigation complète des mécanismes cellulaires du déconditionnement musculaire (Bergstrom, 1975; Tarnopolsky *et al.*, 2011). À ce jour, seules six études cliniques, publiées dans sept articles différents, ont réalisé des biopsies musculaires chez des patientes atteintes d'un cancer du sein de stade précoce (stade I à III) afin d'investiguer les mécanismes du déconditionnement musculaire (Bohlen *et al.*, 2018; Guigni *et al.*, 2018; Lønbro *et al.*, 2017; Mijwel *et al.*, 2018a; Møller *et al.*, 2019; Toth *et al.*, 2020; Wilson *et al.*, 2020). Dans l'ensemble, ces études ont mis en évidence plusieurs aspects importants du qui sont détaillés ci-dessous et présentés dans la Figure 37.

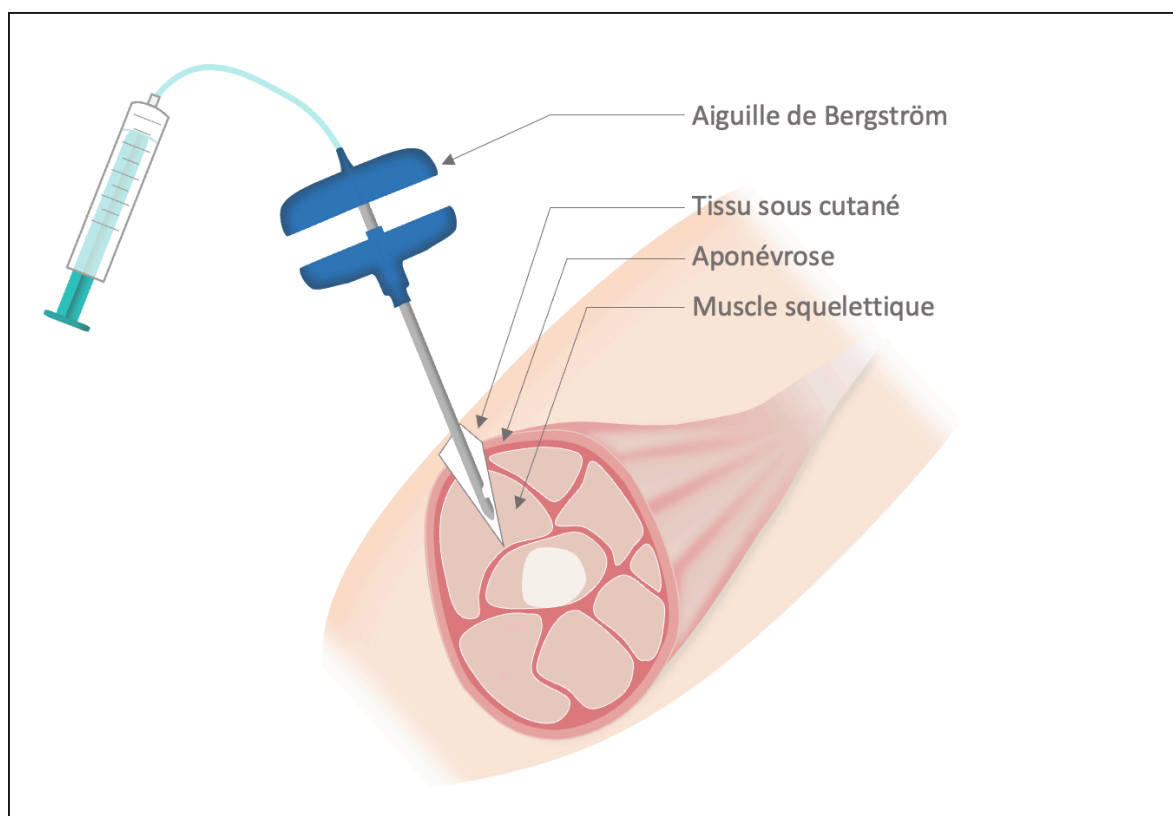


Figure 36 : représentation schématique d'une biopsie musculaire à l'aiguille de Bergström.

4.2.1. Diminution de la CSA et shift phénotypique

La CSA des fibres musculaires est l'une des mesures les plus caractéristiques du déconditionnement musculaire au niveau cellulaire. Récemment, Mijwel *et al.*, (2018a) (étude longitudinale) et Guigni *et al.*, (2018) (comparaison patientes vs. sujets contrôles) ont montré une diminution de la CSA des fibres musculaires du vaste latéral d'environ 30% après un traitement par chimiothérapie à base d'anthracycline-cyclophosphamide et de taxanes. Pour souligner l'ampleur de la diminution de la CSA, il est important de noter qu'elle était comparable à l'effet de 60 années de vieillissement sain au niveau cellulaire (Lexell *et al.*, 1988). Néanmoins, deux autres études longitudinales n'ont pas trouvé de réduction de la CSA des fibres musculaires du vaste latéral pendant la chimiothérapie (Lønbro *et al.*, 2017; Toth *et al.*, 2020). Cette absence de changement peut s'expliquer par un nombre restreint de sujets (N=6 pour Lønbro *et al.*, (2017)) ou par le fait que la deuxième biopsie musculaire ait été réalisée après 5 à 8 semaines de traitement. En effet, il semble possible que les effets des chimiothérapies sur les muscles squelettiques soient cumulatifs. Il est important de noter que des études *in vitro* et *in vivo* ont également démontré l'impact négatif des chimiothérapies (Barreto *et al.*, 2016; Gouspillou *et al.*, 2015; Guigni *et al.*, 2018; McLoon *et al.*, 1998; Min *et al.*, 2015) et du cancer (Hesse *et al.*, 2019; R. Wang *et al.*, 2021) sur la structure du muscle squelettique, renforçant ainsi les résultats obtenus dans les études cliniques.

Concernant la distribution des types de fibres, seuls Mijwel *et al.*, (2018a) ont rapporté des changements significatifs, avec une proportion réduite de fibres musculaires de type I après un traitement par chimiothérapie. Ce shift phénotypique potentiel des fibres de type I vers les fibres de type II est classiquement retrouvé dans les modèles d'atrophie musculaire liée à l'hypoactivité (Baldwin *et al.*, 2013) alors que l'inverse est observé lors de l'avancée en âge (Larsson *et al.*, 2019). Cela suggère que le déconditionnement musculaire chez les patientes atteintes d'un cancer du sein pourrait également être expliqué par une diminution du niveau d'activité physique global (De Groef *et al.*, 2018; Gadéa, Thivat, Dubray-Longeras, Arbre, Van-praagh, *et al.*, 2018; Yildiz Kabak *et al.*, 2020), un phénomène bien connu pour induire un dysfonctionnement du turnover protéique.

4.2.2. Turnover protéique

Si un grand nombre d'excellentes revues ont déjà discuté du rôle critique du turnover protéique dans l'atrophie musculaire (Bodine, 2013; Bonaldo & Sandri, 2013; Brioché *et al.*, 2016; Chopard *et al.*, 2009; Larsson *et al.*, 2019; Sandri, 2008; Sartori *et al.*, 2021a; Schiaffino *et al.*, 2013; Vainshtein & Sandri, 2020), et également dans la cachexie cancéreuse (Argilés *et al.*, 2014; Baracos *et al.*, 2018; Bowen *et al.*, 2015; Dolly *et al.*, 2020; Petruzzelli & Wagner, 2016; S. P. da Silva *et al.*, 2020), on en sait que trop peu dans le cancer du sein. En effet, seules quatre études ont étudié les mécanismes du turnover protéique chez les patientes atteintes d'un cancer du sein (Bohlen *et al.*, 2018; Mijwel *et al.*, 2018a; Møller *et al.*, 2019; Wilson *et al.*, 2020). Deux publications de la même équipe de recherche ont montré, par une analyse RNAseq sur le muscle pectoral, une surexpression des gènes liés au système ubiquitine-protéasome et une expression réduite des gènes liés aux ribosomes (Bohlen *et al.*, 2018; Wilson *et al.*, 2020). Ces résultats indiquent potentiellement une altération du turnover protéique, avec une synthèse protéique réduite et une dégradation augmentée. Mijwel *et al.*, (2018a) n'ont en revanche pas trouvé de changement dans l'expression protéique de MuRF1 (une ligase E3 clé impliquée dans le système ubiquitine-protéasome) chez des patientes atteintes d'un cancer du sein et soignées par chimiothérapie, ni de changement pour les protéines liées à l'autophagie (*i.e.* p-Ulk1, LC3B-II/LC3B-I, beclin-1). Ces résultats pourraient s'expliquer par le moment "tardif" de la seconde biopsie, étant donné que les processus cellulaires déclenchant l'atrophie musculaire, en particulier ceux liés à la dégradation des protéines, ont tendance à revenir à des profils d'expression "normaux" lorsque l'atrophie musculaire est installée (Atherton *et al.*, 2016; Ferreira *et al.*, 2008; Hanson *et al.*, 2013; Kawanishi *et al.*, 2018). Enfin, l'étude menée par Møller *et al.*, (2019) a également investigué les protéines impliquées dans le turnover protéique au niveau du muscle vaste latéral. De manière très surprenante, ils ont constaté une diminution de l'expression protéique des E3 ligases MAFbx et MuRF1 ainsi qu'une augmentation de l'expression de p62 et d'Ulk1, suggérant respectivement une diminution de l'activité du système ubiquitine-protéasome et de l'autophagie. Cependant, il est important de souligner que 9 des 10 patients inclus dans cette étude ont effectué la biopsie initiale après au moins un cycle de chimiothérapie composée d'épirubicine et de doxorubicine (Lønbro *et al.*, 2017). Compte tenu de

l'agressivité des traitements par chimiothérapie, il s'agit d'un biais méthodologique important qui a probablement modifié les mesures "de base" et, par conséquent, les conclusions. Une autre limite réside dans la population hétérogène de patients atteints de cancers étudiés (*i.e.* 7 patients atteints de cancer du sein, 1 patient atteint de cancer ORL, 1 patient atteint de cancer du rectum et 1 patient atteint de sarcome). En résumé, il existe de fortes divergences entre les études qui ont examiné les voies de synthèse et de dégradation des protéines chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie. D'autres études sont nécessaires étant donné que la compréhension de ces processus est essentielle pour contrer l'atrophie musculaire.

4.2.3. Altérations mitochondriales

Les altérations mitochondriales représentent à ce jour l'un des aspects les plus étudiés du déconditionnement musculaire dans le cancer du sein. Dans des études cliniques, l'analyse RNAseq utilisée par Bohlen *et al.*, (2018) et Wilson *et al.*, (2020) a montré une altération des gènes impliqués dans la fonction mitochondriale et la phosphorylation oxydative. De manière intéressante, les auteurs ont également montré une diminution de multiples gènes impliqués dans la chaîne de transport des électrons, la capacité antioxydante et la signalisation PPAR (dont PGC-1 α), soulignant ainsi que l'homéostasie mitochondriale peut être perturbée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie. Guigni *et al.*, (2018) ont confirmé une diminution du contenu et de la taille des mitochondries pour les patientes atteintes de cancer du sein par rapport à des sujets contrôles, à la fois au niveau intermyofibrillaire et sous-sarcolemmal. Les auteurs ont conclu que ces altérations, dues aux effets mitotoxiques des chimiothérapies, peuvent constituer une explication possible de la réduction de la capacité d'exercice et de la prévalence élevée de la fatigue dans tous les types de cancer, y compris ceux qui ne sont pas typiquement sujets à la cachexie comme les patientes atteintes de cancer du sein. Enfin, l'étude longitudinale de Mijwel *et al.*, (2018a) a mis en évidence une diminution de l'activité de la citrate synthase suite à la chimiothérapie. Cette diminution, qui reflète une réduction de la quantité de mitochondries (Larsen *et al.*, 2012), est en accord avec les résultats de Guigni *et al.*, (2018) et confirme que la diminution du contenu mitochondrial est une caractéristique majeure des patientes atteintes d'un cancer du sein.

Cette étude a également rapporté une diminution de l'expression protéique de PINK1, une protéine essentielle impliquée dans les étapes finales de la mitophagie, suggérant donc un processus mitophagique plus faible chez les patientes atteintes de cancer du sein. De plus, aucune variation des niveaux de protéines de Parkin et des protéines impliquées dans l'autophagie n'a été détectée dans cette étude, ce qui indique finalement que la mitophagie n'était pas régulée à la hausse et que de futures études devraient examiner ce mécanisme de dégradation. Enfin, une augmentation de l'expression protéique de la SOD2, une enzyme antioxydante responsable de la production d'H₂O₂ (Zou *et al.*, 2017), a également été trouvée. Seul, ce résultat ne permet pas de conclure s'il s'agit d'une augmentation des défenses antioxydantes ou, au contraire, d'une compensation liée à l'augmentation de la production de ROS et probablement de stress oxydant. Il est clair que des études futures avec une analyse précise de l'équilibre redox dans le déconditionnement musculaire des patientes atteintes de cancer du sein sont nécessaires.

4.3. Autres mécanismes cellulaires potentiels du déconditionnement musculaire dans le cancer du sein : parallèle avec les autres cancers

Sur la base des connaissances accumulées au cours des dernières décennies, cette partie vise à identifier les mécanismes cellulaires potentiellement responsables du déconditionnement musculaire chez les patientes atteintes d'un cancer du sein, en établissant un parallèle avec les études précliniques et cliniques réalisées dans d'autres cancers. Comme le résume la Figure 37, cette partie est limitée aux principaux mécanismes bien admis de l'atrophie musculaire dans le cancer. Parmi la grande variété d'études discutées ci-après, nous avons trouvé peu d'études relatives à la plasticité musculaire menées sur des modèles murins de cancer du sein, même si plusieurs études précliniques ont exploré l'effet de l'administration de la doxorubicine sur des animaux en bonne santé. Ce manque d'investigations spécifiques indique un déséquilibre majeur par rapport à d'autres cancers.

4.3.1. Turnover protéique

La synthèse protéique est principalement régulée par la voie PI3K-Akt-mTOR et les patients cachectiques atteints de carcinome pancréatique ou de cancer du poumon sont concernés par une altération de cette voie (Murton *et al.*, 2017; Schmitt *et al.*, 2007), un résultat également retrouvé dans divers modèles précliniques (Bohnert *et al.*, 2016; Chacon-Cabrera *et al.*, 2017; M.-C. Chen *et al.*, 2016; de Lima Junior *et al.*, 2016; Gallot *et al.*, 2014; Martin *et al.*, 2022; Nissinen *et al.*, 2018; Padrão *et al.*, 2013; Puppa *et al.*, 2014; Quan-Jun *et al.*, 2017; Salazar-Degracia *et al.*, 2018; R. Sun *et al.*, 2016; J. P. White *et al.*, 2011). Il est important de noter que des études cliniques (Bennegård *et al.*, 1984; Dworzak *et al.*, 1998; Emery *et al.*, 1984) et précliniques (Antoun & Raynard, 2018; Beck *et al.*, 1991; Constantinou *et al.*, 2011; Costamagna *et al.*, 2020; Cruz *et al.*, 2019; Martin *et al.*, 2022; Nissinen *et al.*, 2016, 2018; Samuels *et al.*, 2001; H. J. Smith *et al.*, 2004; K. L. Smith & Tisdale, 1993; Toledo *et al.*, 2016) ont mis en évidence une réduction directe de la synthèse protéique musculaire, soulignant que ce mécanisme peut expliquer, au moins en partie, le déconditionnement musculaire des patients atteints de cancer. Parmi toutes ces études, seules deux ont travaillé sur des rongeurs traités à la doxorubicine et ont montré une réduction de la voie PI3K-Akt-mTOR (de Lima Junior *et al.*, 2016; Nissinen *et al.*, 2016). De plus, par le biais d'une analyse RNAseq, Wilson *et al.*, (2019) ont également constaté une altération de la voie mTOR dans les muscles squelettiques de souris porteuses d'un cancer du sein. Ces études ont ainsi démontré que le cancer du sein *per se* et les chimiothérapies utilisées peuvent altérer la principale voie de synthèse des protéines dans le muscle squelettique, entraînant *in fine* un déséquilibre dans le turnover protéique.

Par ailleurs, de nombreuses études précliniques ont observé une augmentation de la dégradation des protéines au niveau du muscle squelettique (Baracos *et al.*, 1995; Beck *et al.*, 1991; Samuels *et al.*, 2001; K. A. S. Silva *et al.*, 2015; H. J. Smith *et al.*, 2004; K. L. Smith & Tisdale, 1993; Temparis *et al.*, 1994; Toledo *et al.*, 2016), démontrant qu'une diminution de la synthèse protéique n'est pas le seul mécanisme pouvant expliquer la perte de masse musculaire. Il est presque unanimement constaté que le système ubiquitine-protéasome est augmenté chez les patients atteints de cancer, en particulier pour MAFbx, MuRF1 et le profil d'ubiquitination totale (Bossola *et al.*, 2003; Constantinou *et al.*, 2011;

DeJong *et al.*, 2005; Khal *et al.*, 2005; Martin *et al.*, 2022; Puig-Vilanova *et al.*, 2015; Williams *et al.*, 1999; Y. Zhang *et al.*, 2020). Il est important de noter que l'augmentation de l'activité du système ubiquitine-protéasome est également constatée de manière systématique dans un grand nombre d'études précliniques (Acharyya *et al.*, 2005; Bae *et al.*, 2020; Baracos *et al.*, 1995; Bohnert *et al.*, 2016; Chacon-Cabrera *et al.*, 2014, 2017; L. Chen *et al.*, 2019; M.-C. Chen *et al.*, 2016; Damrauer *et al.*, 2018; Gallot *et al.*, 2014; Gomes *et al.*, 2001; D. Guo *et al.*, 2017; Hatakeyama *et al.*, 2016; Huot *et al.*, 2020; Johnston *et al.*, 2015; Julienne *et al.*, 2012; Khal *et al.*, 2005; Lecker *et al.*, 2004; H. Lee *et al.*, 2019; D. Liu *et al.*, 2019; Moore-Carrasco *et al.*, 2007; Padrão *et al.*, 2013; Pin *et al.*, 2018; Ranjbar *et al.*, 2019; Salazar-Degracia *et al.*, 2018; K. A. S. Silva *et al.*, 2015; R. Sun *et al.*, 2016; Toledo *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2010), renforçant le fait que ce mécanisme joue un rôle majeur dans l'atrophie musculaire liée au cancer.

Concernant l'autophagie, les études cliniques ont démontré une augmentation de plusieurs marqueurs importants tels que beclin1, Atg5 ou le rapport LC3B-II/LC3B-I (Aversa *et al.*, 2016; de Castro *et al.*, 2019; Johns *et al.*, 2014; Op den Kamp *et al.*, 2012; Pigna *et al.*, 2016; Y. Zhang *et al.*, 2020). Avec des études précliniques montrant les mêmes résultats (Ballarò *et al.*, 2019; Bohnert *et al.*, 2016; Chacon-Cabrera *et al.*, 2014; Penna, Ballarò, Beltrà, *et al.*, 2019; Penna *et al.*, 2013; Ranjbar *et al.*, 2019; Salazar-Degracia *et al.*, 2016, 2018; Sirago *et al.*, 2017), il semblerait que l'autophagie joue également un rôle important dans la dégradation exacerbée des protéines chez les patients atteints de cancer. Cependant, il semble très important de souligner que la majorité de ces études ont également trouvé une augmentation de p62. Ce résultat suggère que si la formation d'autophagosomes est certainement augmentée chez les patients atteints de cancers, l'activité des lysosomes, et donc le niveau d'autophagie, pourrait être inchangé (Penna *et al.*, 2014 ; Klionsky *et al.*, 2021). De plus, différentes études ont montré que la dégradation des protéines du muscle squelettique est principalement ATP-dépendante (*i.e.* système ubiquitine-protéasome) dans les modèles précliniques de cachexie cancéreuse (Baracos *et al.*, 1995; Temparis *et al.*, 1994; J. P. White *et al.*, 2011), soulignant à nouveau que l'autophagie pourrait ne pas être impliquée ou avoir un rôle mineur dans l'atrophie musculaire liée au cancer. Comme il est bien connu que la diminution de l'autophagie entraîne aussi une l'atrophie musculaire (Vainshtein & Sandri, 2020), d'autres études sont

nécessaires pour investiguer les variations du niveau d'autophagie dans le cancer, qu'il s'agisse d'une augmentation ou d'une diminution.

Les facteurs de transcription de la famille FoxO (FoxO1 et FoxO3 en particulier) et NF- κ B sont connus pour être des facteurs de transcription essentiels de la dégradation des protéines dans divers modèles d'atrophie musculaire (Vainshtein & Sandri, 2020). Ces facteurs de transcription se sont avérés être régulés à la hausse dans différents modèles animaux de cachexie cancéreuse (Bae *et al.*, 2020; Chacon-Cabrera *et al.*, 2014; M.-C. Chen *et al.*, 2016; Gallot *et al.*, 2014; Lecker *et al.*, 2004; H. Lee *et al.*, 2019; Op den Kamp *et al.*, 2013; Puppa *et al.*, 2014; Salazar-Degracia *et al.*, 2018; Sirago *et al.*, 2017; R. Sun *et al.*, 2016; J. P. White *et al.*, 2011), et chez des patients atteints de cancer (Johns *et al.*, 2017; Puig-Vilanova *et al.*, 2015; Rhoads *et al.*, 2010; Skorokhod *et al.*, 2012). Néanmoins, aucune étude préclinique n'a été réalisée afin d'explorer la dégradation des protéines dans des modèles de cancer du sein. Certaines études ont tout de même exploré l'effet de la doxorubicine sur le muscle squelettique de rongeurs et une augmentation des voies du système ubiquitine-protéasome et de l'autophagie a été retrouvée. Cette augmentation était médiée par une régulation à la hausse de MAFbx, Beclin1, Atg12, Atg7, et du ratio LC3B-II/I (Hulmi *et al.*, 2018; Kavazis *et al.*, 2014; Montalvo *et al.*, 2020; Smuder *et al.*, 2011). Seuls Montalvo *et al.*, (2020) ont exploré les niveaux de protéine p62 et n'ont trouvé aucun changement dans son expression, soulignant à nouveau la nécessité d'obtenir une compréhension plus précise de l'autophagie. De plus, Yu *et al.*, (2014) ont également traité des souris avec de la doxorubicine et n'ont constaté aucun changement dans de nombreux marqueurs de l'autophagie. Dans l'ensemble, les études précliniques démontrent une altération du turnover protéique en réponse à l'administration de doxorubicine chez les rongeurs, soulignant une fois de plus que ces mécanismes pourraient induire une atrophie musculaire chez les patientes atteintes de cancer du sein.

4.3.2. Cytokines pro-inflammatoires et TGF- β

L'inflammation joue un rôle clé dans l'atrophie musculaire chez les patients atteints de cancer. En effet, qu'elles soient libérées par la tumeur ou par les cellules immunitaires, les cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- α , TWEAK, IL-6, IL-1 β , IL-8 et INF γ sont

régulées à la hausse au niveau systémique dans les modèles animaux (Bae *et al.*, 2020; Baltgalvis *et al.*, 2008; Bernardo *et al.*, 2020; T. Chen *et al.*, 2018; Costelli *et al.*, 1993; D. Guo *et al.*, 2017; Huot *et al.*, 2020; Toledo *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2010) et chez les patients atteints de cancer (DeJong *et al.*, 2005; Johns *et al.*, 2017; Moses *et al.*, 2009; Op den Kamp *et al.*, 2013; Puig-Vilanova *et al.*, 2015; Riccardi *et al.*, 2020; Scott *et al.*, 1996; Skipworth *et al.*, 2011). De manière importante, une étude incluant 661 patientes atteintes d'un cancer du sein a montré que l'augmentation des cytokines pro-inflammatoires était associée à une mortalité plus élevée (Cho *et al.*, 2018). Ces cytokines pro-inflammatoires étaient également régulées à la hausse dans le muscle squelettique de rongeurs (Bae *et al.*, 2020; L. Chen *et al.*, 2019; M.-C. Chen *et al.*, 2016; Hatakeyama *et al.*, 2016; Johnston *et al.*, 2015; H. Lee *et al.*, 2019; Skipworth *et al.*, 2011). Cependant, aucune étude n'a été réalisée dans des modèles de cancer du sein.

En plus des cytokines pro-inflammatoires, deux membres de la famille TGF- β ont été particulièrement explorés dans la cachexie cancéreuse : la myostatine et l'Activin A. La myostatine représente l'un des plus puissants régulateurs négatifs de la croissance musculaire en agissant par l'intermédiaire de son récepteur ActRIIB et l'activation de la cascade SMAD2/SMAD3 (Rodriguez *et al.*, 2014). Il a été constaté que la myostatine ou ses cibles en aval étaient régulées à la hausse dans de nombreux modèles de cachexie cancéreuse (Aversa *et al.*, 2012; Bonetto *et al.*, 2009; Chacon-Cabrera *et al.*, 2014; M.-C. Chen *et al.*, 2016, 2018; Costelli *et al.*, 2008; Huot *et al.*, 2020; H. Lee *et al.*, 2019; Murphy *et al.*, 2011; Padrão *et al.*, 2013; Salazar-Degracia *et al.*, 2018; K. A. S. Silva *et al.*, 2015; R. Sun *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2010), ainsi que dans des études précliniques explorant l'effet de la doxorubicine (Kavazis *et al.*, 2014; D. Liu *et al.*, 2019). Agissant par le même récepteur que la myostatine (*i.e.* ActRIIB), l'Activine A s'avère également être augmenté dans la cachexie cancéreuse (Barreto *et al.*, 2017; Bernardo *et al.*, 2020; J. L. Chen *et al.*, 2016; M.-C. Chen *et al.*, 2016; Leto *et al.*, 2006; Loumaye *et al.*, 2015; Matsuyama *et al.*, 2015; Zhong *et al.*, 2019) et représente un facteur indépendant de pronostic de survie chez les patients atteints de cancer (Loumaye *et al.*, 2017).

4.3.3. Altérations mitochondriales, stress oxydant et défaut de repliement des protéines

Les altérations mitochondriales représentent un aspect majeur du déconditionnement musculaire et ont déjà été associées à l'atrophie musculaire chez les patientes atteintes d'un cancer du sein (Bohlen *et al.*, 2018; Guigni *et al.*, 2018; Mijwel *et al.*, 2018a; Wilson *et al.*, 2020), ainsi que dans d'autres cancers comme les cancers gastriques ou pulmonaires (de Castro *et al.*, 2019; Op den Kamp *et al.*, 2015). Caractérisées par des altérations à la fois structurales et fonctionnelles, les perturbations mitochondriales ont été particulièrement investiguées dans les études précliniques. Tout d'abord, une morphologie altérée et/ou une diminution du nombre de mitochondries ont été constatées dans différents modèles animaux (Barreto *et al.*, 2016; Brown *et al.*, 2017; Fontes-Oliveira *et al.*, 2013; Shum *et al.*, 2012; Sorensen *et al.*, 2017; J. P. White *et al.*, 2012), ainsi que chez des patients atteints de cancer gastrique (Y. Zhang *et al.*, 2020). Dans l'ensemble, ces résultats renforcent ceux observés dans le cancer du sein (Guigni *et al.*, 2018; Mijwel *et al.*, 2018a) et indiquent que les altérations mitochondriales pourraient constituer une adaptation spécifique en réponse aux cancers et à leur traitement. Concernant la fonction mitochondriale, des études précliniques ont montré que la voie oxydative était affectée à la fois par le cancer et par les chimiothérapies (Brown *et al.*, 2017; Constantinou *et al.*, 2011; Crouch *et al.*, 2017; de Lima Junior *et al.*, 2016; Fermoselle *et al.*, 2013; Gilliam *et al.*, 2013, 2016; Gouspillou *et al.*, 2015; Hulmi *et al.*, 2020; Julienne *et al.*, 2012; Kunzke *et al.*, 2020; McLean *et al.*, 2014; Neyroud *et al.*, 2019; Op den Kamp *et al.*, 2015; Padrão *et al.*, 2013, 2013; Penna, Ballarò, Martinez-Cristobal, *et al.*, 2019; Pin *et al.*, 2018; Puig-Vilanova *et al.*, 2015; Z. C. Ryan *et al.*, 2018; Tzika *et al.*, 2013; Ushmorov *et al.*, 1999). Parmi ces études, seules deux ont montré l'impact négatif de la doxorubicine sur la respiration mitochondriale (Gilliam *et al.*, 2013; Gouspillou *et al.*, 2015) tandis que Crouch *et al.*, (2017) ont mis en évidence une diminution de la production d'ATP après l'administration de cyclophosphamide. De manière intéressante, différents auteurs ont également constaté dans la cachexie cancéreuse une altération de la dynamique mitochondriale, avec une diminution de la fusion et une augmentation de la fission, conduisant à une fragmentation des mitochondries (Barreto *et al.*, 2016; Brown *et al.*, 2017; de Castro *et al.*, 2019; Huot *et al.*, 2020; Marzetti *et al.*, 2017; Pin *et al.*, 2018; J. P.

White *et al.*, 2011, 2012). De manière surprenante, bien qu'il ait été constaté que les patientes atteintes de cancer du sein perdaient des mitochondries au cours de la chimiothérapie (Guigni *et al.*, 2018; Mijwel *et al.*, 2018a), la dynamique mitochondriale n'a jamais été étudiée à ce jour, même dans des modèles précliniques de cancer du sein. Bien qu'il soit admis que la fission des mitochondries soit une condition préalable à l'activation du processus de mitophagie, il semblerait que la mitophagie soit également altérée dans le cancer car plusieurs auteurs ont montré une diminution de marqueurs clés tels que PINK1 ou Parkin (Aversa *et al.*, 2016; Marzetti *et al.*, 2017). Cette affirmation a également été confirmée dans l'étude de Mijwel *et al.*, (2018a) avec des patientes atteintes de cancer du sein (diminution des niveaux de protéines PINK1).

En réponse à la dysfonction mitochondriale et à la réduction potentielle de la mitophagie, les mitochondries fragmentées et endommagées s'accumulent dans le muscle squelettique et, en plus d'être moins efficaces sur le plan bioénergétique, produisent des quantités excessives de ROS menant à une augmentation du stress oxydant. En effet, de nombreuses études ont retrouvé une augmentation des ROS (Ballarò *et al.*, 2019; Chacon-Cabrera *et al.*, 2017; Gilliam *et al.*, 2013, 2016; Gouspillou *et al.*, 2015; Min *et al.*, 2015; Montalvo *et al.*, 2020; Pin *et al.*, 2018). De manière unanime, plusieurs études ont rapporté que l'administration de doxorubicine chez les rongeurs entraînait une augmentation de la production d' H_2O_2 (Gilliam *et al.*, 2013, 2016; Min *et al.*, 2015; Montalvo *et al.*, 2020), alors qu'aucune étude clinique n'a été réalisée pour confirmer cette augmentation chez les patientes atteintes de cancer du sein. L'une des conséquences de l'augmentation de la production de ROS est l'altération du turnover protéique, avec une diminution de la synthèse des protéines, soutenue par une altération de la voie PI3k-Akt-mTOR, une augmentation des systèmes de dégradation des protéines ainsi qu'une augmentation de l'apoptose (H. W. Hyatt & Powers, 2021; Powers *et al.*, 2020). De nombreuses études ont montré une augmentation des marqueurs clés de l'apoptose dans divers modèles précliniques (Baltgalvis *et al.*, 2008; Belizário *et al.*, 2001; Chacon-Cabrera *et al.*, 2014; Figueras *et al.*, 2004; Ishiko *et al.*, 2001; Murphy *et al.*, 2011; Salazar-Degracia *et al.*, 2016, 2018; Schwarzkopf *et al.*, 2006; Smuder *et al.*, 2011; Tsang *et al.*, 2003; Yoshida *et al.*, 2001) et chez des patients atteints de cancer (Busquets *et al.*, 2007; de Castro *et al.*, 2019). Trois autres études ont également exploré l'effet du traitement par doxorubicine chez les

rongeurs ainsi qu'*in vitro* (C2C12) et ont trouvé une augmentation des niveaux de caspase 3 et de Bax (Gilliam *et al.*, 2012; Min *et al.*, 2015; A. P. Yu *et al.*, 2014). Enfin, l'étude d'Ahmadabadi *et al.*, (2020) a également observé une diminution du ratio Bcl-2/Bax chez les souris porteuses d'un cancer du sein, montrant une fois de plus que l'apoptose pourrait être régulée à la hausse chez les patientes atteintes d'un cancer du sein. Cela entraînerait une perte de cellules musculaires ou de noyaux musculaires et constituerait un mécanisme clé de l'atrophie musculaire (D. L. Allen *et al.*, 1997; Andrianjafiniony *et al.*, 2010; Borisov & Carlson, 2000; Chacon-Cabrera *et al.*, 2014; N. Cheema *et al.*, 2015; Dupont-Versteegden, 2005; B.-S. Guo *et al.*, 2012; Salazar-Degracia *et al.*, 2016; H. K. Smith *et al.*, 2000).

L'augmentation des ROS et par conséquent des niveaux de stress oxydant peut entraîner un stress du réticulum endoplasmique qui entraîne un défaut de repliement des protéines ou « unfolded protein response (UPR) », une autre inadaptation potentielle survenant au cours de la cachexie cancéreuse. Agissant par le biais de trois voies (PERK-elf2 α -ATF4, IRE1 α -sXBP1 et ATF6-ATF6N), l'UPR contribue à l'atrophie des muscles squelettiques en diminuant la synthèse des protéines, en augmentant leur dégradation et, finalement, en induisant l'apoptose (Gallot & Bohnert, 2021; Urbina-Varela *et al.*, 2020; Vainshtein & Sandri, 2020). Il a été démontré que l'UPR était régulée à la hausse dans plusieurs études précliniques de cachexie cancéreuse (Bohnert *et al.*, 2016, 2019; Gallot *et al.*, 2019; Straughn *et al.*, 2021) et en réponse au traitement à la doxorubicine (Montalvo *et al.*, 2020). Cependant, comme clairement décrit dans la revue de Gallot et Bohnert (2021), une augmentation spécifique de la voie PERK-elf2 α -ATF4 pourrait également être nécessaire pour contrer l'atrophie musculaire, car les traitements pharmacologiques (Bohnert *et al.*, 2016) ou génétiques (Gallot *et al.*, 2019), visant à inhiber cette voie, ont aggravé l'atrophie musculaire liée au cancer.

4.3.4. Cellules satellites

Dans le contexte de la cachexie cancéreuse, plusieurs études ont déjà montré que le tissu musculaire squelettique présentait des signes de cycles de dégénérescence/régénération, caractérisés par des dommages ultra-structuraux, une localisation centrale des noyaux, une augmentation des macrophages ainsi qu'une

prolifération des cellules satellites chez les patients (W. A. He *et al.*, 2013; Zampieri *et al.*, 2010) et dans des modèles précliniques (Chacon-Cabrera *et al.*, 2014, 2017; Judge *et al.*, 2018; Mehl *et al.*, 2005; Salazar-Degracia *et al.*, 2016, 2018), dont des modèles de cancer du sein (Ahmadabadi *et al.*, 2020). Ces signes de dommages et de régénération pourraient indiquer une fragilité accrue du muscle squelettique. Étant donné que plusieurs auteurs ont également mis en évidence une diminution de la capacité de régénération (Coletti *et al.*, 2016; Costamagna *et al.*, 2020; W. A. He *et al.*, 2013; Inaba *et al.*, 2018), l'atrophie musculaire liée au cancer pourrait également s'expliquer par ce mécanisme. Plus précisément, l'excellente étude de He *et al.*, (2013) a démontré que les cellules satellites étaient capables de proliférer et de s'engager dans une lignée myogénique, mais qu'elles étaient incapables de se différencier correctement en raison d'une augmentation de l'expression de Pax7 dépendante de NF- κ B. Cette augmentation de l'expression de Pax7 a également été constatée chez des souris porteuses d'un cancer du sein (Hesse *et al.*, 2019) ainsi que dans d'autres études précliniques (Coletti *et al.*, 2016; Costamagna *et al.*, 2020; Penna *et al.*, 2010), suggérant finalement un dysfonctionnement de la régénération musculaire. Il est important de noter que D'Lugos *et al.*, (2019) ont découvert que l'administration chronique de doxorubicine réduisait considérablement le contenu des cellules satellites chez les rats, ce qui signifie que si le cancer *per se* inhibe le processus de différenciation myogénique, la combinaison de la maladie et de l'administration de chimiothérapie pourrait entraîner un dysfonctionnement et une perte globale des cellules satellites chez les patientes atteintes d'un cancer du sein. Cependant, comme nous l'avons souligné dans la partie consacrée aux études cliniques chez les patientes atteintes d'un cancer du sein, seuls Mijwel *et al.*, (2018a) ont étudié les cellules satellites par un marquage de Pax7 et n'ont constaté aucun changement dans leur nombre. Par conséquent, d'autres études sont nécessaires pour clarifier le rôle des cellules satellites et leur implication chez les patientes atteintes de cancer du sein et/ou dans les modèles précliniques.

4.3.5. Progéniteurs fibroadipogéniques et IMAT

Nous n'avons pas trouvé d'étude explorant les mécanismes cellulaires liés au développement d'IMAT dans des modèles précliniques de cancer du sein ou en réponse à l'administration de chimiothérapie. Dans le contexte de la cachexie cancéreuse, une étude

a néanmoins trouvé une présence accrue de FAPs dans l'environnement musculaire des patients atteints de cancer du pancréas (Judge *et al.*, 2018), ce qui pourrait expliquer le développement d'IMAT chez les patients atteints de cancer (Biferali *et al.*, 2019; Brioche *et al.*, 2016; Theret *et al.*, 2021). Étant donné l'augmentation des IMAT constatée chez les patientes atteintes de cancer du sein (Beaudry *et al.*, 2020; Reding *et al.*, 2019; Rier *et al.*, 2018), il apparaît essentiel d'explorer le rôle des FAPs dans ce contexte spécifique.

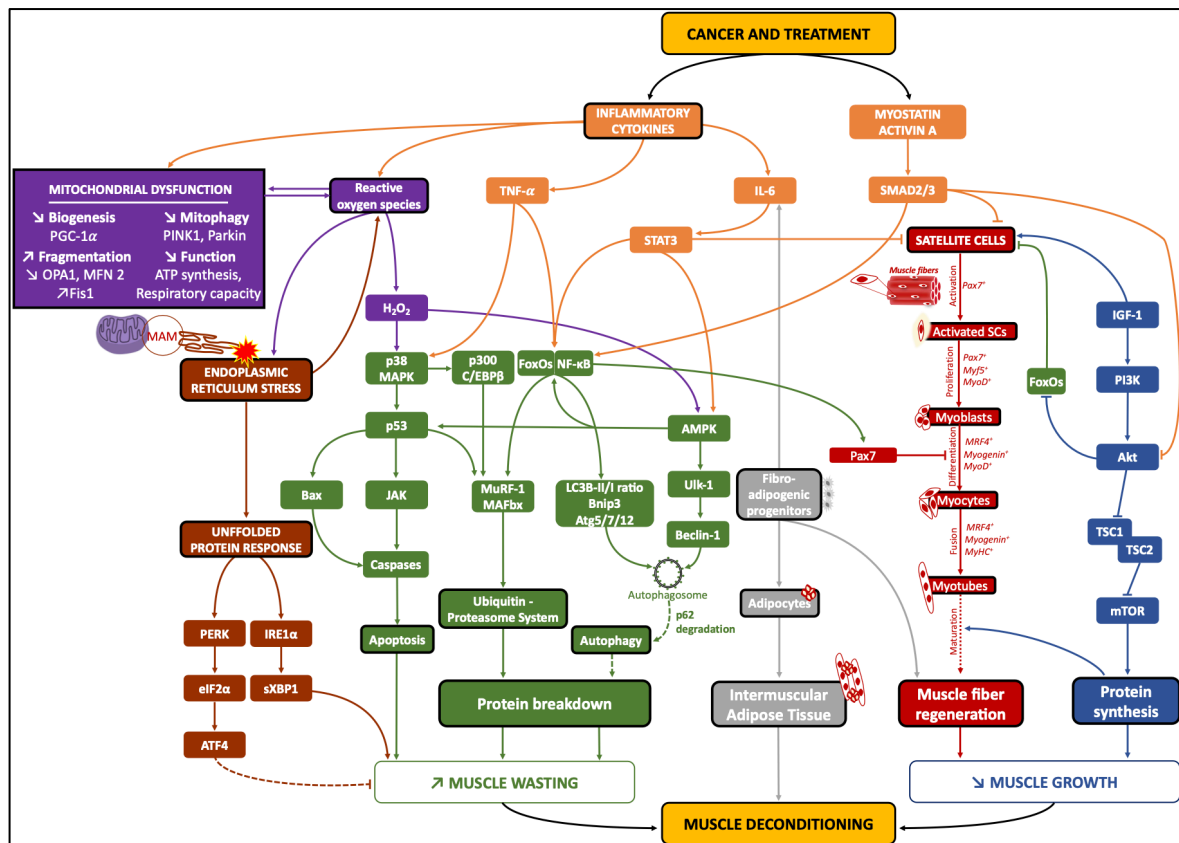


Figure 37 : mécanismes potentiels du déconditionnement musculaire dans le cancer du sein.

Extrait de Mallard *et al.*, (2021). Grâce à l'analyse des études cliniques et précliniques portant sur tous les types de cancers, plusieurs voies de signalisation peuvent être impliquées dans le déconditionnement musculaire chez les patientes atteintes d'un cancer du sein.

4.4. Résumé

Les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie semblent présenter un déconditionnement musculaire dont les caractéristiques, *i.e.* l'atrophie musculaire et la diminution des capacités fonctionnelles, nécessitent d'être davantage

étudiées. Bien que les mécanismes du déconditionnement musculaire soient connus dans de nombreux autres modèles d'atrophie musculaire ou dans des modèles précliniques de cancers, ils restent encore relativement inconnus chez les patientes atteintes d'un cancer du sein. Certaines études réalisant des biopsies musculaires ont tout de même mis en évidence un turnover protéique altéré et une diminution du contenu mitochondrial chez les patientes atteintes de cancer du sein, mais d'autres études sont clairement nécessaires pour obtenir une compréhension plus précise des mécanismes cellulaires associés. Ce manque de connaissances entraîne inévitablement des difficultés pour la mise en place de stratégies préventives efficaces telles que l'exercice, la nutrition ou les traitements pharmacologiques.

5. L'exercice comme moyen de prévention du déconditionnement musculaire dans le cancer du sein ?

5.1. Généralités

Si les stratégies préventives pour lutter contre le déconditionnement musculaire dans le cancer du sein sont limitées étant donné le manque d'études mécanistiques (Clarkson & Kaufman, 2010; Mallard *et al.*, 2021), l'exercice chronique représenterait néanmoins une piste prometteuse. En effet, l'exercice est connu comme un régulateur positif de l'homéostasie musculaire (Damas *et al.*, 2015; Egan & Zierath, 2013; Schoenfeld, 2010). De par les nombreux stimulus qu'il induit, notamment au niveau métabolique et mécanique, l'exercice permet d'initier la biogénèse mitochondriale et la synthèse des protéines (Figure 38). Si l'exercice aigu entraîne une augmentation rapide et transitoire de l'expression relative de l'ARNm d'un gène donné, c'est la répétition chronique qui permet d'avoir des adaptations par l'accumulation progressive de protéines en réponse à des augmentations répétées d'ARNm (Egan & Zierath, 2013). Ainsi, les changements induits par l'entraînement au niveau du contenu protéique ou mitochondrial entraînent finalement une amélioration de la performance (Egan & Zierath, 2013).

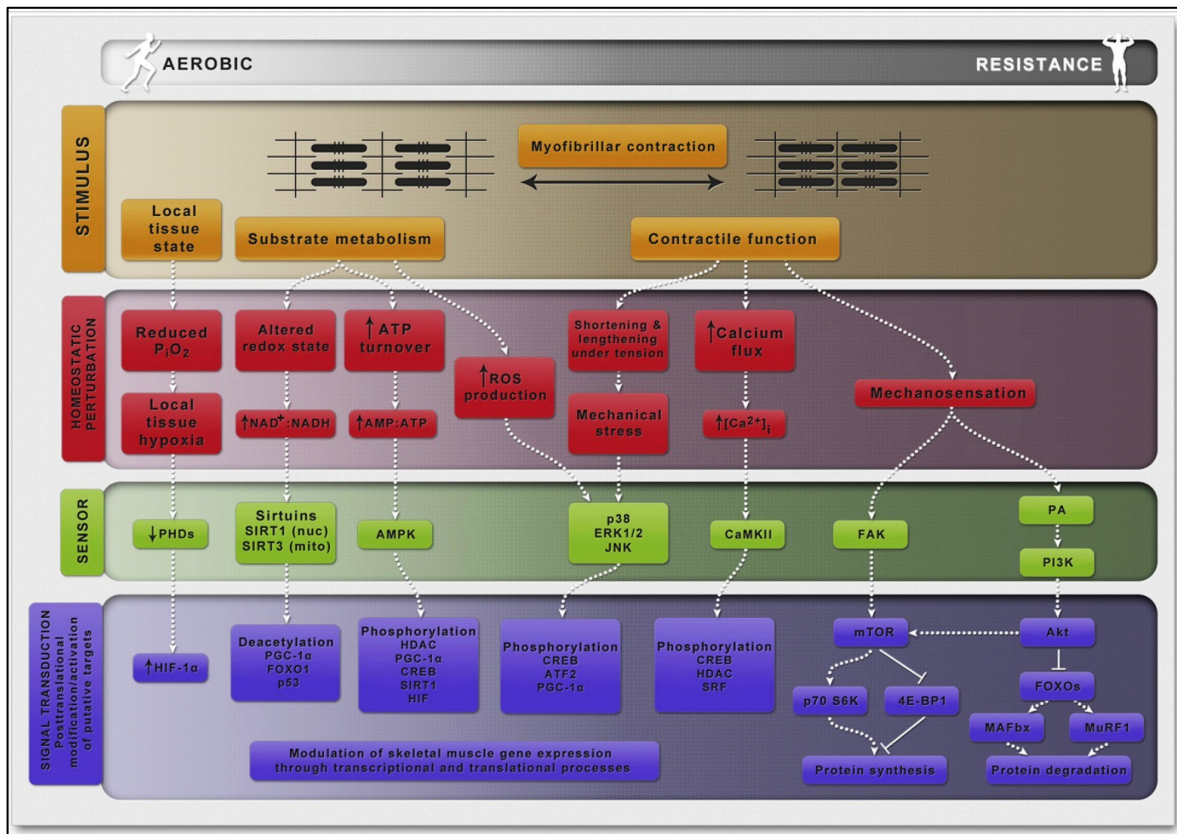


Figure 38 : effets de l'exercice aérobie et en résistance sur l'homéostasie musculaire.
 Extrait de Egan & Zierath (2013). Cette figure décrit les événements cellulaires survenant à la suite d'un stimulus induit par de l'exercice aérobie ou en résistance.

5.2. Exercice et cancer du sein

5.2.1. Recommandations générales

Plus spécifiquement, l'exercice est recommandé avant, pendant et après un cancer (Campbell *et al.*, 2019; Schmitz *et al.*, 2019). Sa pratique régulière pourrait prévenir l'apparition de certains cancers (*i.e.* prévention primaire) (McTiernan *et al.*, 2019), limiter certains effets secondaires comme la fatigue (Mustian *et al.*, 2017) et prévenir le risque de récurrence. En effet, la pratique d'une activité physique après diagnostic d'un cancer du sein diminuerait de 24 % le risque de récurrence et de 28 % le risque de décès par cancer (Ibrahim & Al-Homaidh, 2011; Schmid & Leitzmann, 2014). C'est dans ce contexte que l'exercice, et plus généralement l'activité physique, a été intégré dans le parcours de soin du patient en tant que soin de support, défini par l'Institut National du Cancer (INCa) comme « l'ensemble des soins et soutiens nécessaires aux personnes malades tout au long de la maladie ». En parallèle, des politiques nationales de santé publique comme les différents

« Plan Cancer » ont recommandé la pratique d'activité physique et l'INCa a publié une synthèse sur les bénéfices de l'activité physique pendant et après un cancer (INCa, 2017). Ces engagements politiques forts soulignent l'intérêt porté à la pratique d'une activité physique chez les patients atteints de cancer. Néanmoins, malgré les recommandations et l'existence de milliers d'articles scientifiques, il n'existe toujours pas à l'heure actuelle de recommandations spécifiques aux patients atteints de cancer (Hayes *et al.*, 2019; Schmitz *et al.*, 2019 ; Stout *et al.*, 2021).

5.2.2. Effets sur la force musculaire

Plusieurs études se sont intéressées à l'effet de l'exercice en résistance seul ou combiné à l'exercice aérobie dans le cancer du sein et des résultats intéressants ont été trouvés sur la force musculaire, malgré une diversité de protocole, une absence de consensus et un manque de détails dans les protocoles d'entraînement (B. S. Cheema *et al.*, 2014; Lopez *et al.*, 2020; Montaña-Rojas *et al.*, 2020). Dans une méta-analyse regroupant 5 études sur l'entraînement en résistance portant sur 621 patientes, il a été rapporté que pour une durée de programme de 16.7 semaines, avec une fréquence de 2.7 séances par semaine, un volume de 470 répétitions et une intensité de 75% du 1RM, l'augmentation moyenne de la force musculaire était de $25.4 \pm 9.6\%$ pour les membres supérieurs et inférieurs (Lopez *et al.*, 2020). Il est important de noter que toutes les études ont rapporté une augmentation de la force, ce qui indique donc que l'exercice en résistance est un moyen fiable et efficace pour lutter contre une partie du déconditionnement musculaire chez les patientes.

5.2.3. Effets sur les capacités cardiorespiratoires

De la même manière que pour la force musculaire, il a été montré que l'exercice, et particulièrement l'exercice aérobie, permettait d'améliorer les capacités cardiorespiratoires chez les patientes atteintes d'un cancer du sein pendant la chimiothérapie (Maginador *et al.*, 2020). En effet, une méta-analyse portant sur 9 essais randomisés contrôlés ayant inclus 493 patientes a rapporté qu'un entraînement aérobie pendant la chimiothérapie à base d'anthracycline, une drogue connue pour induire un

déconditionnement musculaire (Mallard *et al.*, 2021), entraînait un gain moyen de $\dot{V}O_{2max}$ d'environ 10% (Maginador *et al.*, 2020). Plus précisément, un entraînement entre 64 et 90% de la $\dot{V}O_{2max}$ serait plus efficace qu'un entraînement entre 46 et 63% de la $\dot{V}O_{2max}$. Si 8 des 9 études ont rapporté des gains de $\dot{V}O_{2max}$, suggérant donc que l'exercice aérobie est un bon moyen de lutter contre le déconditionnement cardiorespiratoire, aucune différence n'a été rapportée entre l'entraînement continu et l'entraînement intermittent. Néanmoins, il est important de noter que de nombreux biais méthodologiques ont été soulignés dans les 9 études et qu'une revue de littérature a rapporté qu'un entraînement intermittent à haute intensité induisait des gains au niveau cardiorespiratoire plus importants qu'un entraînement continu à intensité moyenne chez des patients atteints de maladies chroniques (Ross *et al.*, 2016)

5.2.4. Effets sur la masse musculaire

Contrairement à la force et à la capacité d'exercice, il existe une absence de preuve concernant l'effet de l'exercice en résistance sur la masse musculaire globale (Bland *et al.*, 2022), comme le rapporte une revue de littérature ayant inclus 9 essais randomisés contrôlés portant sur 1046 patientes (Lopez *et al.*, 2020). Cette absence de preuve pourrait s'expliquer par la grande hétérogénéité de patientes incluses dans les études et le manque de précision et de consensus sur le type d'exercice, l'intensité, la fréquence et la durée (Furmaniak *et al.*, 2016). Effectivement, il a été rapporté qu'aucune étude dans le cancer du sein ne suivait les recommandations sur les principes de prescription de l'entraînement (Figure 39), ce qui peut expliquer le manque de résultats sur la masse musculaire (Neil-Sztramko *et al.*, 2019). Néanmoins, une étude a mis en évidence qu'un entraînement pendant la chimiothérapie, d'une durée de 12 semaines, d'une fréquence de 2 séances par semaine, avec un volume de 4 séries de 4 répétitions et une intensité de 90% du 1RM, permettait de maintenir la masse musculaire au niveau du quadriceps (Cešeiko *et al.*, 2020). Il est tout de même important de noter que la masse musculaire a été évaluée de manière indirecte, *i.e.* calculée à l'aide d'une formule nécessitant des mesures anthropométriques du tour du quadriceps à différents endroits.

De manière encourageante, plusieurs études sur des centaines de patientes ont rapporté qu'un entraînement en résistance pouvait améliorer la masse maigre (Adams *et al.*, 2016; Battaglini *et al.*, 2007; de Jesus Leite *et al.*, 2021; Madzima *et al.*, 2017; Santagnello *et al.*, 2020; Schmitz *et al.*, 2005; Winters-Stone *et al.*, 2013), *i.e.* l'ensemble de la composition corporelle sans la masse grasse. À titre d'exemple, une étude sur 200 patientes a montré qu'un entraînement en résistance pendant toute la durée d'une chimiothérapie adjuvante (~17 semaines) permettait de réduire la prévalence de la sarcopénie évaluée à partir de la masse maigre, contrairement à l'exercice aérobie (Adams *et al.*, 2016). Plus spécifiquement, l'entraînement en résistance s'effectuait avec une fréquence de 3 séances par semaine, un volume de 16 à 24 répétitions sur 9 exercices et une intensité d'exercice modérée (60-70% du 1RM). Néanmoins, les effets spécifiques de l'entraînement en résistance sur la masse musculaire restent inconnus et les revues de littérature soulignent le manque d'études mécanistiques (Clarkson & Kaufman, 2010; Mallard *et al.*, 2021).

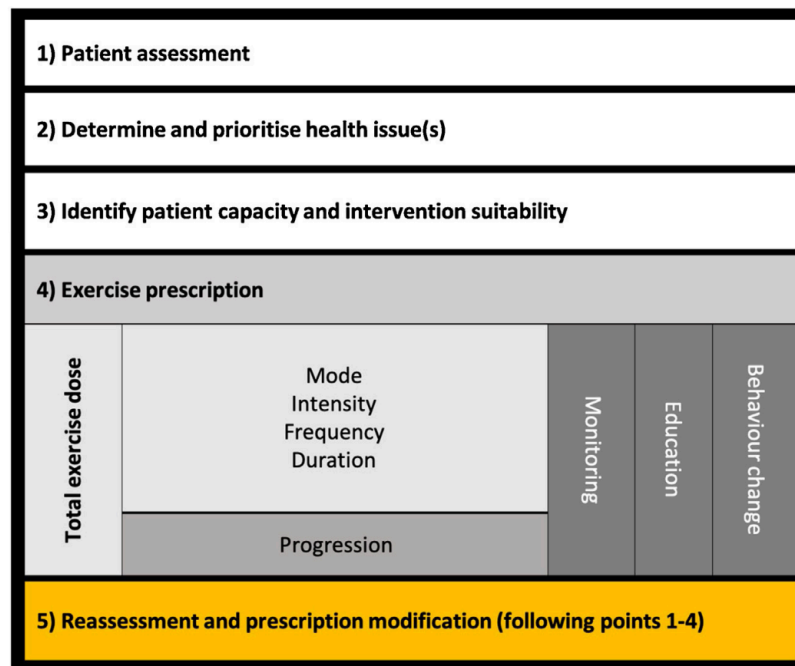


Figure 39 : recommandations de prescription d'exercice individualisé chez des patients atteints de cancer.

Extrait de Hayes et al., (2019). Ce schéma est une synthèse de la prise de position de « l'Exercise and Sports Science Australia ».

5.2.5. Effets au niveau cellulaire : surface de section transversale des fibres musculaires et contenu mitochondrial

À ce jour, malgré un manque de précision dans le monitoring de l'intensité d'exercice, une seule étude a investigué les effets de l'exercice au niveau cellulaire chez 23 patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie (Mijwel *et al.*, 2018a). Avant le début du traitement, les patientes étaient réparties en trois groupes : groupe contrôle (N=10) ; groupe entraînement résistance + entraînement aérobie à haute intensité (N=7) ; groupe entraînement aérobie modérée + entraînement aérobie à haute intensité (N=6).

La durée totale du programme était de 16 semaines avec une fréquence de 2 séances par semaine. Le volume de la partie résistance correspondait à 2-3 séries de 8-12 répétitions sur 9 exercices sollicitant l'ensemble du corps et l'intensité était comprise entre 70 et 80% du 1RM. La partie aérobie modérée correspondait à 20 minutes de pédalage basé sur un ressenti d'effort des patientes « modéré » et la partie à haute intensité était intermittente et composée de 3 séries de 3 minutes de pédalage à un niveau « élevé » de perception d'effort. Aucun monitoring précis de l'intensité de l'exercice aérobie, *i.e.* basé sur des variables physiologiques, n'a été effectué. De plus, moins de 70% des séances ont été réalisées par les patientes ce qui correspond à un taux d'adhésion moyen (Mijwel *et al.*, 2018c).

Des biopsies musculaires au niveau du muscle vaste latéral ont été réalisées avant et après le programme et ont permis de mettre en évidence que : i) l'exercice préservait la quantité de mitochondries (évaluée par l'activité de la citrate synthase) dans les deux groupes d'entraînement et ii) préservait la CSA des fibres musculaires du vaste latéral pour le groupe aérobie et augmentait la CSA des fibres musculaires du vaste latéral pour le groupe résistance + aérobie (Figure 40). Cette étude a également montré dans un échantillon plus important de patientes n'ayant pas bénéficié de biopsie musculaire (N=146) que les deux groupes entraînés ont également préservé leur $\dot{V}O_{2peak}$ et seul le groupe résistance + aérobie à haute intensité a progressé en force au niveau du membre inférieur (quadriceps) et du membre supérieur (force de préhension) (Mijwel *et al.*, 2018b).

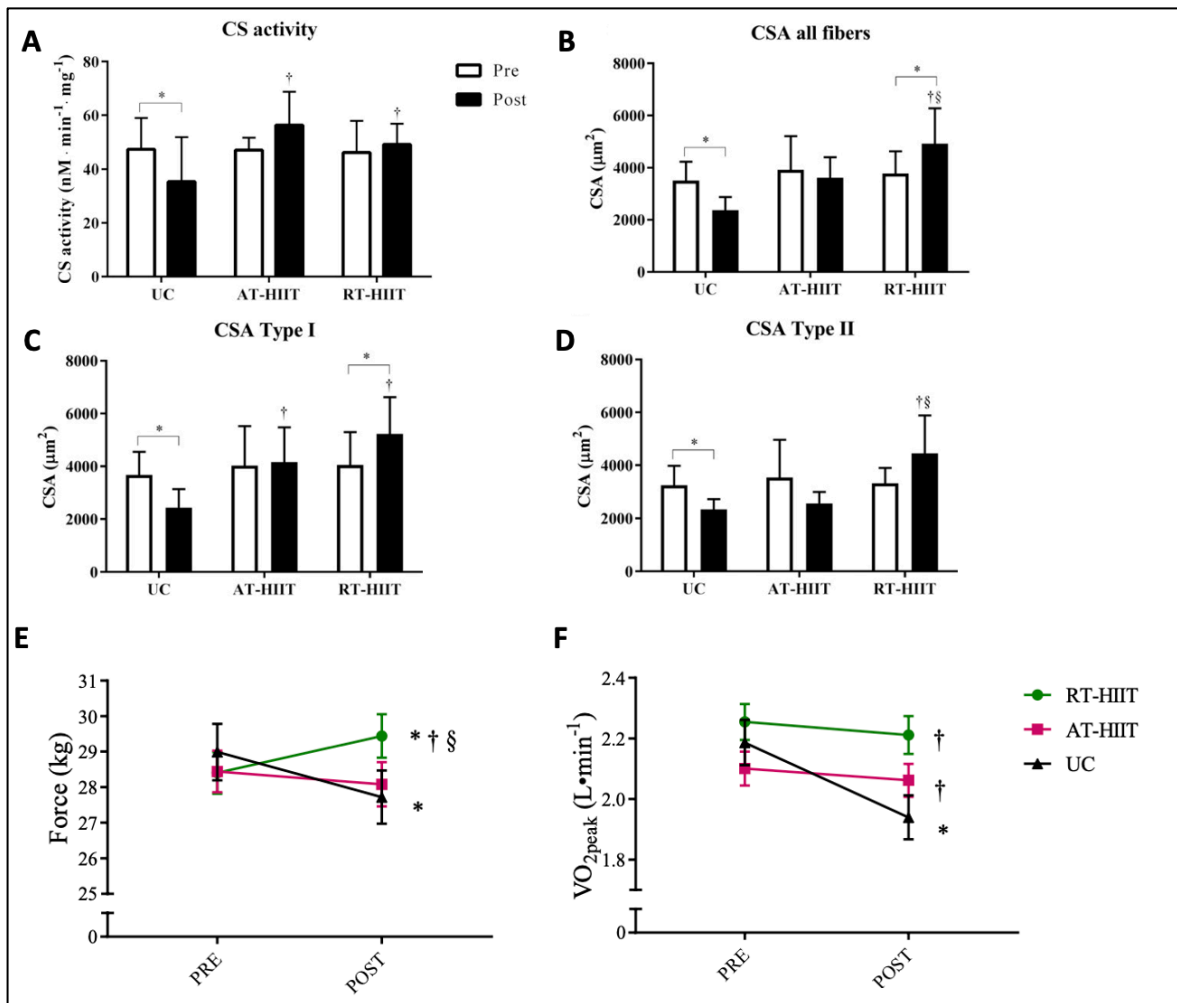


Figure 40 : effets de l'exercice sur le déconditionnement musculaire pendant un cancer du sein notamment sur l'activité citrate synthase (A), la CSA globale des fibres du muscle vaste latéral (B), la CSA des fibres de type I (C), la CSA des fibres de type II (D), et la consommation maximale d'oxygène (F).

Extrait de Mijwel *al.*, (2018a; 2018b). Ce schéma reprend les résultats principaux du projet OptiTrain publiés dans deux articles par l'équipe de Sara Mijwel du Karolinska Institute. CS : citrate synthase ; CSA : cross-sectional area ; RT-HIIT : resistance training – high intensity interval training ; AT-HIIT : aerobic training – high intensity interval training ; UC : usual care.

Ces résultats encouragent donc la mise en place d'exercice pendant la chimiothérapie du cancer du sein, notamment avec de l'exercice en résistance couplé à de l'exercice en aérobie. Néanmoins, des bénéfices supérieurs pourraient être envisagés, notamment sur le contenu mitochondrial et la capacité d'exercice, avec un monitoring plus précis de l'intensité de l'exercice aérobie et un entraînement en résistance plus spécifique et centré sur les muscles locomoteurs. À l'heure de la cancérologie moderne qui vise à individualiser les traitements, l'exercice devrait suivre cette logique et devrait être prescrit

avec la meilleure posologie (Mallard *et al.*, 2020; Twomey *et al.*, 2018; van der Leeden *et al.*, 2018), *i.e.* la bonne intensité, durée et fréquence. Pour ce faire, l'étude des mécanismes liés à l'impact de la chimiothérapie sur le muscle semble inévitable afin d'identifier l'origine du déconditionnement musculaire pour le contrecarrer de façon ciblée.

PROBLÉMATIQUE ET OBJECTIFS DE LA THÈSE

Si le déconditionnement musculaire semble être un effet secondaire majeur de la chimiothérapie chez les patientes atteintes d'un cancer du sein (Mallard *et al.*, 2021), sa caractérisation reste néanmoins nécessaire. En effet, il n'a été mis en évidence qu'après la chimiothérapie ou chez des patientes en rémission comparées à des sujets contrôles (Gadéa, Thivat, Dubray-Longeras, Arbre, Van-Praagh, *et al.*, 2018; Klassen *et al.*, 2017; Peel *et al.*, 2014; Rossi *et al.*, 2020; van Waart *et al.*, 2015; Wiederin *et al.*, 2020). Pourtant, dans les modèles expérimentaux humains de déconditionnement musculaire, les altérations surviennent rapidement et de manière non linéaire (Kawashima *et al.*, 2004; Seynnes *et al.*, 2008). Dès lors, les patientes atteintes d'un cancer du sein pourraient également présenter des altérations précoces au cours du traitement. Ainsi, la première étude de cette thèse s'est intéressée à la caractérisation de l'évolution du déconditionnement musculaire au cours de la chimiothérapie dans une cohorte de 100 patientes atteintes d'un cancer du sein. Nous avons alors réalisé des mesures avant, pendant, et après le traitement (**étude 1**).

Cette première étude nous a donné des informations essentielles sur le déconditionnement musculaire, mais les mécanismes cellulaires sous-jacents restaient peu connus, ce qui nous a amenés à la deuxième partie de cette thèse. À partir de biopsies musculaires réalisées chez 13 patientes avant et après l'ensemble du traitement par chimiothérapie, nous avons dans un premier temps décidé d'étudier les mécanismes impliqués dans les altérations mitochondriales (**étude 2**) afin de comprendre deux phénomènes : i) pourquoi les patientes perdent-elles des mitochondries au cours du traitement ? et ii) est-ce que la fonction mitochondriale (*i.e.* la respiration et la production de ROS) était, comme dans les modèles animaux, altérée chez les patientes ? En plus d'une diminution du contenu mitochondrial, il a aussi été montré que les patientes pouvaient présenter un contenu d'IMAT, évalué par imagerie, plus important que des sujets contrôles. Nous avons alors réalisé des investigations (**étude 3**) pour i) mesurer l'évolution de la quantité d'IMAT au niveau cellulaire pendant la chimiothérapie et ii) comprendre les mécanismes impliqués, notamment via l'étude des FAPs. Enfin, nous avons étudié les mécanismes liés à l'atrophie musculaire en se focalisant sur le turnover protéique (**étude 4**), *i.e.* la balance entre la synthèse et la dégradation des protéines par l'autophagie et le système ubiquitine-protéasome. Néanmoins, il est bien admis dans beaucoup de modèles

de déconditionnement musculaire que les mécanismes cellulaires impliqués surviennent de façon aiguë et retrouvent un état basal lorsque l'atrophie est installée. Ainsi, nous avons lancé une étude visant à comprendre les mécanismes aigus du déconditionnement musculaire en réalisant des biopsies avant et 4 jours après l'administration d'une seule séance de chimiothérapie (**étude 5**). L'objectif est de comparer les effets d'une séance d'épirubicine-cyclophosphamide (EC) aux effets d'une séance de paclitaxel (TAX), les deux molécules les plus utilisées dans le cancer du sein de stade précoce, sur le muscle strié squelettique. Étant donné que cette étude est toujours en cours, seuls des résultats préliminaires seront présentés dans cette thèse.

En parallèle de ces études, j'ai aidé Elyse Hucteau en tant que co-investigateur principal à mener une expérimentation chez 30 sujets (voir travail supplémentaire 3) pour caractériser et comprendre l'origine de la fatigue neuromusculaire chez les patientes atteintes d'un cancer du sein, une caractéristique souvent associée au déconditionnement musculaire. Ensemble, ces études mécanistiques allant du système nerveux central jusqu'à la cellule musculaire ont permis de mieux comprendre le déconditionnement et d'identifier une contremesure potentielle. Nous avons alors proposé, au cours de la dernière partie de cette thèse, de tester la faisabilité d'une modalité d'exercice (**étude 6**) qui pourrait lutter contre le déconditionnement musculaire. Il s'agit du pédalage excentrique, *i.e.* un mode d'entraînement basé sur l'allongement du complexe muscle-tendon qui permet d'induire un stimulus mécanique élevé associé à un coût métabolique faible. Nous avons caractérisé les réponses physiologiques aiguës et testé la faisabilité de cet entraînement chez 9 patientes avant d'envisager au cours de nos post-doctorats respectifs, l'implémentation de ce type d'entraînement tout au long de la chimiothérapie.

Pour résumer, mon projet de thèse s'articule autour des études suivantes :

Étude 1 : caractérisation de l'évolution du déconditionnement musculaire au cours de la chimiothérapie du cancer du sein

Étude 2 : investigation des mécanismes cellulaires impliqués dans les altérations mitochondriales après un traitement par chimiothérapie

Étude 3 : investigation des mécanismes cellulaires impliqués dans le développement d'IMAT après un traitement par chimiothérapie

Étude 4 : investigation des mécanismes cellulaires impliqués dans l'atrophie musculaire et le turnover protéique après un traitement par chimiothérapie

Étude 5 : résultats préliminaires des mécanismes cellulaires aigus du déconditionnement musculaire survenant 4 jours après l'administration de la première séance de chimiothérapie

Étude 6 : faisabilité et réponses physiologiques aiguës d'une séance de pédalage excentrique chez des patientes atteintes d'un cancer du sein

PRINCIPES MÉTHODOLOGIQUES GÉNÉRAUX

L'ensemble des études de cette thèse a nécessité l'inclusion de 132 patientes dont les caractéristiques sont brièvement décrites dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3 : caractéristiques des patientes incluses dans les différentes études de cette thèse.

	Étude 1	Étude 2	Étude 3	Étude 4	Étude 5		Étude 6
	N=100	N=13			Groupe EC N=7	Groupe TAX N=3	N=9
Caractéristiques (moy ± ET)							
Âge (années)	52 ± 11	56 ± 12			49 ± 17	46 ± 27	53 ± 13
Poids (kg)	71 ± 16	73 ± 16			72 ± 16	67 ± 8	76 ± 25
IMC (kg/m ²)	27 ± 6	28 ± 6			27 ± 7	27 ± 6	28 ± 8
Tumeur (n, %)							
Triple négatif	19 (19%)	3 (27%)			1 (14%)	1 (33%)	-
Luminal (A/B)	57 (57%)	5 (46%)			4 (57%)	2 (67%)	6 (67%)
HER2+	24 (24%)	3 (27%)			2 (29%)	0 (0%)	3 (33%)
Traitement (n, %)							
Adjuvant	53 (53%)	6 (55%)			2 (29%)	2 (67%)	5 (55%)
Néoadjuvant	47 (47%)	5 (45%)			5 (71%)	1 (33%)	4 (45%)

Moy : moyenne ; ET : écart-type ; EC : épirubicine-cyclophosphamide ; TAX : paclitaxel.

Les évaluations réalisées dans chaque étude sont résumées dans le tableau 4 et les principes méthodologiques de chaque évaluation sont décrits ci-après.

Tableau 4 : liste des évaluations et expérimentations réalisées par étude.

	Étude 1	Étude 2	Étude 3	Étude 4	Étude 5	Étude 6
Force des extenseurs du genou	X					X
Force de préhension	X					
Test de marche de 6 minutes	X					
$\dot{V}O_{2max}$						X
Masse musculaire	X					
Architecture musculaire			X			
Biopsies musculaires		X	X	X	X	
Western Blots		X	X	X	X	
Respiration mitochondriale		X			X	
Production d'H ₂ O ₂		X			X	
Production d'anion superoxyde		X			X	X
Histologie et immunohistochimie			X	X		
Prise de sang et activités enzymatiques						X
Fatigue neuromusculaire						X

Force maximale isométrique des extenseurs du genou

La force maximale isométrique des extenseurs du genou (MVC) a été mesurée à l'aide d'un capteur de force (Force sensor kit, Chronojump, Barcelone, Espagne). Les patientes étaient en position assise (Figure 41) avec un angle articulaire au niveau de la hanche de 100° et au niveau du genou de 90° (180° représente une extension complète). Après un échauffement, 3 contractions d'une durée de 3 secondes étaient réalisées avec 30 secondes de récupération entre chaque contraction. Si le coefficient de variation entre les mesures était supérieur à 5%, une 4^{ème} contraction était réalisée. La moyenne des trois essais était ensuite retenue pour les analyses.

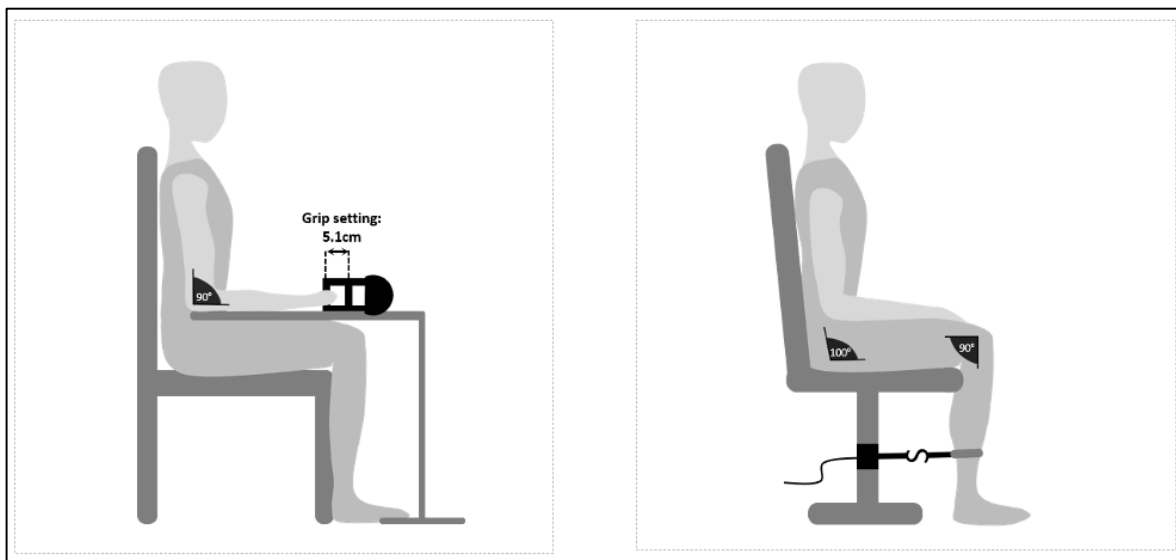


Figure 41 : dispositifs d'évaluations de la force maximale isométrique des extenseurs du genou et de la force maximale de préhension.

Extrait de Mallard et al., (2020).

Force maximale de préhension

La force maximale de préhension a été mesurée avec un dynamomètre handgrip dont la distance avec la poignée était standard et réglée à 5.1cm (Takeï, TK200, Takeï Scientific Instruments, Tokyo, Japon). Les patientes étaient assises et le bras dominant était placé sur une table avec le coude fléchi à 90°, avec l'avant-bras et la main en position neutre (Figure 41). Après un échauffement, 3 contractions d'une durée de 3 secondes étaient réalisées avec 30 secondes de récupération entre chaque contraction. Si le coefficient de

variation entre les mesures était supérieur à 5%, une 4^{ème} contraction était réalisée. La moyenne des trois essais était ensuite retenue pour les analyses.

Capacité d'exercice

La capacité d'exercice a été évaluée à l'aide du test de marche de 6 minutes en suivant les recommandations de l'American Thoracic Society (ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories, 2002). Les patientes ont marché seules dans un couloir de 20m et des encouragements standards ont été donnés. La distance maximale de marche a ensuite été retenue pour les analyses.

Consommation maximale d'oxygène et puissance maximale aérobie

La consommation maximale d'oxygène ($\dot{V}O_{2max}$) a été évaluée avec un test incrémental sur ergomètre (vélo) réalisé jusqu'à épuisement. Ce test a été validé chez des patientes atteintes d'un cancer du sein (Vincent *et al.*, 2013). Après une phase d'échauffement de 2 minutes à 25W et 60 tours/minute, l'intensité était fixée à 40W puis augmentée de 10W toutes les minutes jusqu'à ce que les patientes ne soient plus capables de maintenir la cadence (± 10 tours/minute) pendant cinq secondes. Les critères maximaux suivants ont été vérifiés : 1) plateau de $\dot{V}O_2$ malgré une nouvelle augmentation de la puissance, 2) quotient respiratoire supérieur à 1,15 et 3) fréquence cardiaque maximale supérieure à 95% de la valeur maximale théorique (Howley *et al.*, 1995). La puissance maximale aérobie (PMA) correspondait à la puissance développée à $\dot{V}O_{2max}$. Après une période de récupération de 10 minutes, un deuxième test constant (105% de la puissance maximale à 60 tours/minute) était ensuite réalisé pour s'assurer que les patientes avaient atteint leur $\dot{V}O_{2max}$ (Rossiter *et al.*, 2006).

Masse musculaire

La masse musculaire, et plus généralement la composition corporelle, a été évaluée à l'aide d'une balance à impédancemétrie (SECA mBCA 515, SECA, Hambourg, Allemagne ; Figure 42), validée par rapport aux méthodes gold standard (pléthysmographie, DEXA *etc.*) (Bosy-Westphal *et al.*, 2013), et recommandée en oncologie (Aleixo, Shachar, *et al.*, 2020).

Nous avons utilisé les variables suivantes : masse musculaire, masse musculaire par membre, masse grasse et eau extracellulaire.



Figure 42 : évaluation de la composition corporelle par balance à impédancemétrie.
Cette photographie a été réalisée avec accord de la patiente dans le cadre de l'étude 1.

Architecture musculaire

L'architecture musculaire du muscle vaste latéral de la jambe droite a été évaluée à l'aide d'un échographe (Toshiba Aplio XV ; Toshiba Medical Systems, Tochigi, Japon) équipé d'une sonde linéaire de 58 mm (PLT-805AT 8.0-MHz). Les patientes étaient allongées et leurs jambes étaient tendues (Figure 43). Un gel de transmission hydrosoluble a été appliqué sur la sonde, placée perpendiculairement à la peau et longitudinalement à 62,5 % entre l'épine iliaque antérosupérieure et le condyle latéral du fémur. L'épaisseur du muscle (*i.e.* la distance entre le bord supérieur de l'aponévrose superficielle et le bord supérieur de l'aponévrose profonde) et la longueur des fascicules (*i.e.* la longueur d'un fascicule entre deux aponévroses) ont été calculées comme décrit par Ando *et al.*, (2014). L'échogénicité a été utilisée comme un reflet indirect de la qualité du muscle et du contenu d'IMAT (Park *et al.*, 2020), via l'analyse en niveaux de gris de chaque pixel contenu dans trois carrés de longueur similaire. Cinq images différentes ont été analysées par deux investigateurs

indépendants à l'aide du logiciel ImageJ (version 1.8.0) et la moyenne a été calculée et utilisée pour les analyses statistiques.

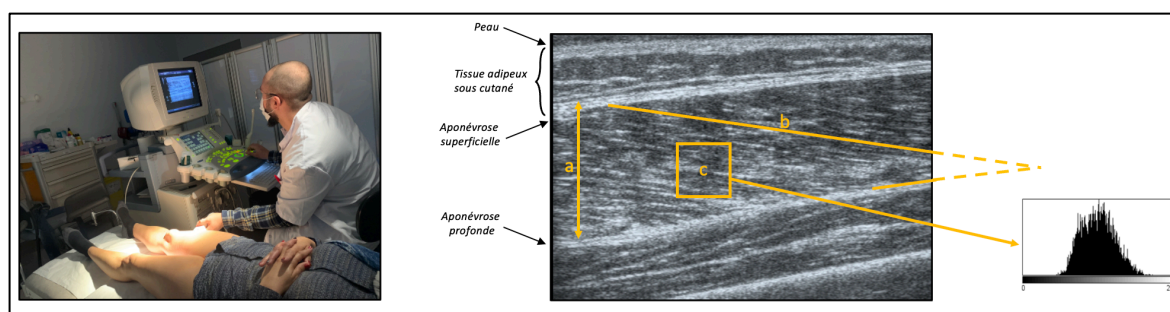


Figure 43 : échographie musculaire du vaste latéral et paramètres analysés.

Cette photographie a été réalisée avec accord de la patiente dans le cadre de l'étude 3. Les paramètres analysés sur le cliché de droite sont l'épaisseur musculaire (a), la longueur des fascicules (b) et l'échogénicité (c).

Biopsies musculaires

Les biopsies musculaires ont été obtenues à partir du muscle vaste latéral de la jambe gauche et réalisées à 62,5% de la distance entre l'épine iliaque antérosupérieure et le condyle latéral du fémur (Figure 44). Une aiguille de Bergström de 5 mm a été utilisée (Bergstrom, 1975) dans des conditions stériles et sous anesthésie locale (lidocaïne 1 %). Pour chaque étude, deux biopsies par patientes ont été réalisées à différents intervalles, à la même heure pendant le matin. Il a été demandé aux patientes de ne pas pratiquer d'exercice au moins 24 heures avant chaque visite. Il leur a également été demandé de prendre le même petit-déjeuner pour les deux visites et les sources de protéines, la caféine et la théine étaient interdites. Les tissus destinés aux analyses histologiques ont été enrobés dans de petits moules en silicone remplis d'un agent cryoprotecteur (OCT, Sakura, Finetek), immédiatement refroidis dans du 2-méthylbutane plongés dans de l'azote liquide et conservés à -80°C. Les tissus musculaires destinés aux analyses par western blots ont été immédiatement congelés dans de l'azote liquide et stockés à -80°C.



Figure 44 : biopsie musculaire à l'aiguille de Bergström.

Ces photographies ont été réalisées avec accord de la patiente dans le cadre de l'étude 2.

Western blots

Les échantillons musculaires dédiés aux Western Blots ont été homogénéisés dans 10 volumes de tampon de lyse [50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 150 mM NaCl, 1 mM d'acide égyptien, 1 mM d'EDTA, 100 mM NaF, 5 mM Na₃VO₄, 1 % de Triton X-100, 1 % de dodécylsulfate de sodium (SDS), 40 mM de β-glycérophosphate et un mélange d'inhibiteurs de protéase (P8340 ; Sigma-Aldrich)] puis centrifugés à 10 000 x g pendant 10 minutes (4°C). Quarante microgrammes de protéines ont été chargés sur des gels de SDS-polyacrylamide à 5-15 % et transférés sur des membranes de nitrocellulose ou de PVDF (iBlot 2 Dry Blotting System, Invitrogen). Les membranes ont été bloquées pendant 1 heure à température ambiante avec 50 mM Tris-HCl (pH 7,5), 150 mM NaCl et 0,1 % de Tween 20 (TBS-T) contenant 5 % de lait. Les membranes ont été incubées pendant une nuit à 4°C avec les anticorps primaires. Les membranes ont ensuite été lavées trois fois avec du TBS-T et incubées avec des anticorps secondaires anti-lapin (Cell Signaling, 1:4000 #7074S) ou anti-souris (Cell Signaling, 1:4000 #7076S) à température ambiante pendant 1 heure. Les blots ont été révélés à l'aide d'un kit ECL de Pierce (Thermo Fisher Scientific) ou d'un kit SupraSignal Femto (Thermo Fisher Scientific), et les protéines ont été visualisées par chimiluminescence (système d'imagerie iBright 1500, Invitrogen) et quantifiées avec le

logiciel ImageJ (version 1.8.0). La coloration au rouge Ponceau a été utilisée comme contrôle de charge pour effectuer la normalisation.

Histologie et immunohistochimie

Des coupes transversales en série (7 μm d'épaisseur) d'échantillons de vaste latéral ont été obtenues à l'aide d'un cryostat maintenu à -20°C . Les sections de muscle squelettique ont ensuite été bloquées à l'aide d'un tampon de blocage (1X PBS/5 % de sérum normal/0,3 % de Triton X-100), et l'anticorps primaire anti-laminine (Thermo Fisher Scientific, MA1-06100, 1:100) a été dilué dans un tampon de dilution (1X PBS/1 % de BSA/0,3 % de Triton X-100) et incubé pendant la nuit à 4°C . Trois lavages avec du PBS ont été effectués avant d'appliquer l'anticorps secondaire (Abcam, ab175476, 1:1000) à température ambiante pendant 1h. Le montage antifade ProLong diamond a enfin été utilisé (Thermo Fisher Scientific, 36961). Les lames ont été numérisées à l'aide du microscope Zeiss Apotome.2 avec un objectif x20 (Hamamatsu), et la CSA des myofibrilles a été quantifiée de manière semi-automatique à l'aide de l'application SMASH du logiciel MATLAB (version R2021b) (L. R. Smith & Barton, 2014). D'autre part, la typologie musculaire a été déterminée comme recommandé récemment (Murach *et al.*, 2019) à l'aide des anticorps suivants: BA-D5 (MyHC-I) et SC-71 (MyHC-IIa). Nous avons également étudié le contenu lipidique par coloration Oil Red O (Merck Millipore, 102419). Plus précisément, les lames ont été hydratées avec du PBS 1X pendant 2 minutes puis placées dans une solution d'Oil Red O diluée dans du propan-2-ol (99%) pendant 3 minutes avec agitation. Les lames ont ensuite été rincées avec du propan-2-ol (60%) pendant 30 secondes puis à l'eau pendant 1 minute. Enfin, les lames ont été immergées dans une solution de Harris (Merck Millipore, HHS32) pendant 3 minutes. Un nouveau rinçage à l'eau a été effectué pendant 2 minutes et un montage Aquatex (Merck Millipore, 108562) a été utilisé. Les lames ont été numérisées avec un microscope Zeiss Apotome.2 et un objectif x20 (Hamamatsu). Seuls les lipides situés à l'extérieur des fibres musculaires ont été quantifiés à l'aide du logiciel MATLAB version R2021b afin d'exclure le contenu en triglycérides myocellulaire et refléter les IMAT. Enfin, nous avons déterminé le contenu en collagène par coloration au trichrome de Masson modifié (Gabe, 1968). Une post-fixation a été réalisée au bouin-hollande (PFA 37%, acide acétique 100%, acide picrique 30%,

acétate de cuivre 98%) pendant 1 heure, puis du gomori bleu a été appliqué pendant 7 minutes avec une différenciation de 10 secondes dans l'eau acétifiée. Les lames ont été numérisées avec un microscope Zeiss Apotome.2 et un objectif x20 (Hamamatsu). Le collagène bleu a été quantifié à l'aide du logiciel MATLAB version R2021b.

Respiration mitochondriale

Dans l'heure suivant la biopsie, une partie du muscle a été disséquée et les fibres musculaires ont été perméabilisées par incubation avec agitation pendant 30 min à 4°C dans un tampon S (CaK₂EGTA 2,77 mM ; K₂EGTA 7,23 mM ; Na₂ATP 6,04 mM ; MgCl₂ 6,56 mM ; taurine 20 mM, Na₂ Phosphocréatine 12,3 mM ; imidazole 20 mM ; dithiothréitol 0,5 mM, K-méthane sulfonate 50 mM ; pH 7,0 à 4°C) avec de la saponine (50 µg/mL). Ensuite, les fibres musculaires ont été incubées avec agitation pendant 10 min à 4°C dans le tampon S sans saponine. La respiration mitochondriale a été analysée à l'aide d'une électrode de Clark dans une chambre oxygraphique à 37°C avec agitation continue (Oxygraph-2k, Oroboros instruments, Innsbruck, Autriche). Les fibres (2-3 mg de poids humide) ont été placées dans 2 mL de tampon dans une chambre d'oxygraphie et la consommation basale d'oxygène liée au complexe I (CI) due à la fuite de protons en présence de glutamate (10 mM) et de malate (2,5 mM) a été mesurée. La phosphorylation oxydative (OXPHOS) par CI a été enregistrée après l'ajout de quantités saturantes d'ADP (2 mM), l'OXPHOS par CI&CII après l'ajout de succinate (25 mM) et l'OXPHOS par CII après l'ajout de roténone (0,5 µM). L'expérimentation a été faite en duplicat et l'analyse des données a été effectuée à l'aide du logiciel Oxygraph-2k-DatLab version 6.2, et les résultats étaient exprimés en pmol/s/mg de poids humide.

Production d'H₂O₂

La production d'H₂O₂ dans les fibres musculaires perméabilisées avec de la saponine a été déterminée avec 20 µM d'Amplex Red (Sigma), qui réagit avec l'H₂O₂ dans une stœchiométrie 1:1 catalysée par la peroxydase de raifort (HRP ; 1 U/mL, Sigma) pour produire le composé fluorescent résorufine et un équivalent molaire de H₂O₂. La fluorescence a été mesurée pendant la respiration mitochondriale. Ainsi, l'Amplex Red (20

μM) et l'HRP (1 U/mL) ont été ajoutés aux chambres Oroboros au début de l'expérimentation. Les résultats étaient exprimés en pmol/s/mg de poids humide.

Production d'anion superoxyde

La résonance paramagnétique électronique (RPE) a été réalisée pour déterminer la production d'anion superoxyde en utilisant la sonde de spin spécifique 1-hydroxy-3-méthoxycarbonyl-2,2,5,5-tétraméthylpyrrolidine hydrochloride (CMH). Les échantillons de muscle ont été lavés deux fois avec du tampon Krebs HEPES contenant 25 μM deferoxamine et 5 $\mu\text{mol/L}$ de diethyldithiocarbamate (DETC) pour minimiser l'auto-oxydation du CMH. Ensuite, les échantillons ont été incubés à 37°C avec du CMH (200 μM) pendant 30 min sous une pression partielle d'oxygène de 20 mmHg (mimant les conditions physiologiques) en utilisant un contrôleur de gaz (Noxygen Sciences Transfer). Le surnageant (40 μL) a été injecté dans un tube capillaire jetable et placé dans un spectromètre RPE E-SCAN (Bruker-Biopsin, Rheinstetten, Allemagne) à 15°C. La détection des électrons non appariés a été réalisée avec les paramètres RPE suivants : champ central de 3461,144 G, puissance micro-ondes de 21,85 mW, amplitude de modulation de 2,40 G, durée de balayage de 5,24 s (10 balayages), largeur de balayage de 60 G et nombre de points de courbe de retard de 1. Les tissus ont finalement été séchés à 150°C pendant 15 minutes puis pesés. L'expérimentation a été conduite en duplicat et les analyses de la production d'anion superoxyde ont été effectuées en utilisant le logiciel du spectromètre Bruker BioSpin WinEPR version 4.5, et les résultats étaient exprimés en $\mu\text{mol/min/mg}$ de poids sec.

Prise de sang et activités enzymatiques

Des échantillons de sang ont été prélevés au repos dans une veine du bras au niveau du pli du coude. Les échantillons de sang ont été collectés dans des tubes d'acide éthylènediamine-tétraacétique (EDTA) de 2x4 ml. La mesure de l'anion superoxyde a été immédiatement effectuée sur du sang total frais en utilisant la résonance paramagnétique électronique comme décrit précédemment. Le reste des échantillons de sang a été immédiatement centrifugé (10 min à 2000 x g), et le plasma a été collecté et conservé à -80°C. Le kit de dosage de l'activité de la créatine kinase (CK) (Sigma-Aldrich, MAK116) et le

kit de dosage de l'activité du lactate déshydrogénase (LDH) (Sigma-Aldrich, MAK066) ont ensuite été réalisés dans des plaques de 96 puits selon les instructions du fabricant.

Fatigue neuromusculaire

Toutes les techniques évoquées ci-dessous et dans la figure 45 font référence à la thèse d'Elyse Hucteau à laquelle j'ai pris part en tant que co-investigateur principal pour les études associées (voir travail supplémentaire 3). Ces techniques secondaires à ma thématique de travail mais complémentaires sont détaillées dans l'article de l'étude 6 et ont toutes été réalisées en binôme. L'ensemble des analyses a ensuite été effectué par Elyse Huceau à l'aide du logiciel MATLAB (version R2021b).

La fatigue neuromusculaire a été évaluée par la perte de force maximale au cours d'une tâche de fatigue (pédalage excentrique dans l'étude 6 et 60 contractions maximales volontaires dans le travail supplémentaire 3). Afin de dissocier les paramètres centraux (*i.e.* activation volontaire) et périphériques (*i.e.* secousse musculaire), des stimulations électriques au niveau du nerf moteur ont été délivrées respectivement pendant une contraction maximale volontaire et au repos. Une courbe de recrutement (intensité initiale de 60mA et incrémentation de 10 mA) a été réalisée afin de déterminer l'intensité de stimulation optimale. L'intensité de stimulation était alors fixée à 120% de l'intensité minimale de stimulation afin de garantir un recrutement spatial complet des unités motrices (Neyroud *et al.*, 2014). D'autre part, la stimulation magnétique transcrânienne a été utilisée afin pour mesurer l'excitabilité corticospinale en appliquant des stimulations au niveau du cortex moteur. Parallèlement, l'activité électrique des muscles a été recueillie par EMG de surface au niveau des trois chefs musculaires superficiels du quadriceps (vaste latéral, vaste médial et droit fémoral) et d'un chef musculaire des ischiojambiers (biceps fémoral).

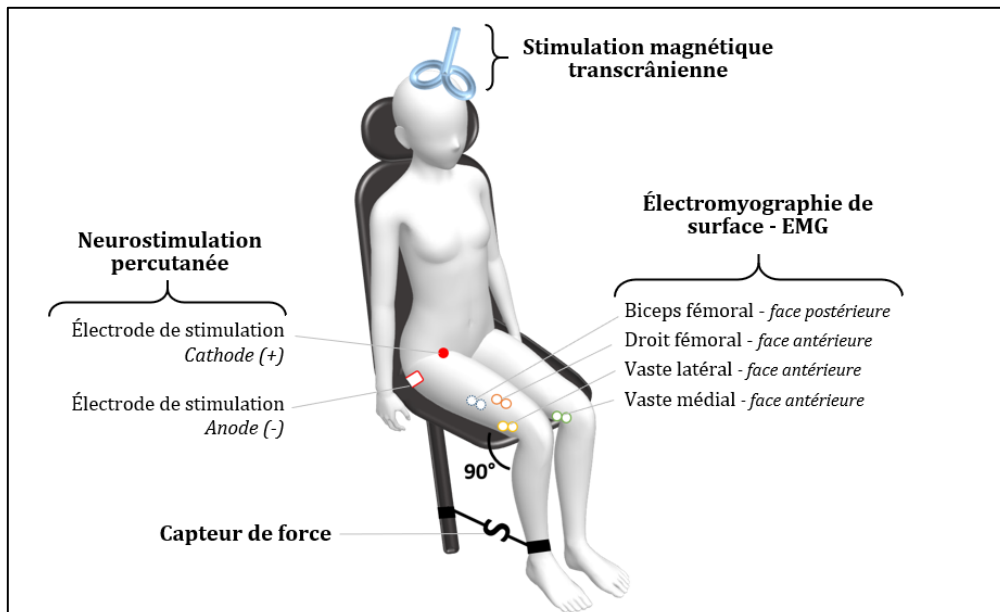


Figure 45 : investigations neuromusculaires chez la patiente atteinte d'un cancer du sein. Cette figure représente l'ensemble des techniques neuromusculaires utilisées chez la patiente atteinte d'un cancer du sein : stimulation magnétique transcrânienne, neurostimulation percutanée et électromyographie de surface.

RÉSULTATS DES ÉTUDES

Étude 1 : Les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie souffrent d'un déconditionnement musculaire rapide

Implication personnelle

En tant que co-investigateur principal, j'ai participé à la conception de cette étude, à la rédaction de la demande d'autorisation auprès du comité de protection des personnes, à l'inclusion de l'ensemble des patientes, à la passation de toutes les évaluations, à la gestion de l'e-CRF, à l'analyse des données et à la rédaction de l'article dont je suis co-premier auteur et qui a été accepté pour publication dans *Cancer*. Cette étude a également été portée par Elyse Hucteau qui s'est intéressée aux aspects de fatigue perçue et de fatigue neuromusculaire, dont les résultats sont aussi présentés dans l'article ci-dessous. Un autre article dont je suis premier auteur et dédié au protocole a auparavant été publié dans *Frontiers in Oncology* (voir travail supplémentaire 2). En plus des 100 patientes atteintes d'un cancer du sein, ce protocole avait également pour objectif d'inclure 100 patients atteints de cancer du poumon métastatique et 100 patients atteints d'un cancer du côlon métastatique. Pour des raisons de faisabilité concernant le recrutement des patients, les cohortes métastatiques (*i.e.* cancer du côlon et du poumon) ont été annulées.

Early skeletal muscle deconditioning and reduced exercise capacity during (neo)adjuvant chemotherapy in patients with breast cancer

Joris Mallard[‡], Elyse Hucteau[‡], Roland Schott, Philippe Trenzsz, Carole Pflumio, Michal Kalish-Weindling, Fabrice Favret, Xavier Pivot, Thomas J Hureau[†], Allan F Pagano[†]

^{‡,†} Ces auteurs ont contribué de manière égale.


Article accepté et sous presse dans *Cancer* (IF : 6.9)

Contexte

L'utilisation de la chimiothérapie pour traiter le cancer du sein s'accompagne, comme mentionné dans le chapitre 3 et dans notre revue de littérature (Mallard *et al.*, 2021), d'un déconditionnement musculaire qui se caractérise par une perte de masse musculaire, une perte de force et une réduction de la capacité d'exercice. Cependant, ces altérations n'ont été mises en évidence qu'après la chimiothérapie ou chez des patientes en rémission comparées à des sujets contrôles (Gadéa, Thivat, Dubray-Longeras, Arbre, Van-Praagh, *et al.*, 2018; Klassen *et al.*, 2017; Peel *et al.*, 2014; Rossi *et al.*, 2020; van Waart *et al.*, 2015; Wiederin *et al.*, 2020). Si ces études étaient essentielles pour comprendre l'impact de l'ensemble du traitement sur le muscle, des évaluations du déconditionnement musculaire et de la capacité d'exercice pendant le traitement sont nécessaires pour caractériser l'évolution de ces paramètres. Étant donné qu'il a été reporté que le déconditionnement était rapide et non linéaire dans les modèles expérimentaux humains d'hypoactivité (Kawashima *et al.*, 2004; Seynnes *et al.*, 2008), il serait intéressant de déterminer si le déconditionnement musculaire survient également rapidement chez les patientes atteintes d'un cancer du sein. Une meilleure caractérisation du déconditionnement musculaire au cours du traitement par chimiothérapie chez les patientes atteintes d'un cancer du sein permettrait de déterminer le moment « optimal » pour mettre en place des stratégies préventives comme l'exercice. Ainsi, cette première étude de thèse avait pour objectif de caractériser l'évolution du déconditionnement musculaire en réalisant des mesures avant, pendant et après la chimiothérapie chez des patientes atteintes d'un cancer du sein de stade précoce.

ORIGINAL ARTICLE

Early skeletal muscle deconditioning and reduced exercise capacity during (neo)adjuvant chemotherapy in patients with breast cancer

Joris Mallard MSc^{1,2,3} | Elyse Hucteau MSc^{1,2,3} | Roland Schott MD³ |
 Philippe Trens MD³ | Carole Pflumio MD³ | Michal Kalish-Weindling MD³ |
 Fabrice Favret PhD^{1,2} | Xavier Pivot MD, PhD³ | Thomas J. Hureau PhD^{1,2} |
 Allan F. Pagano PhD^{1,2} 

¹Biomedicine Research Centre of Strasbourg (CRBS), Mitochondria, oxidative stress, and muscular protection laboratory (UR 3072), Strasbourg, France

²Faculty of Sport Sciences, European Centre for Education, Research and Innovation in Exercise Physiology (CEERIPE), University of Strasbourg, Strasbourg, France

³Institute of Cancerology Strasbourg Europe (ICANS), Strasbourg, France

Correspondence

Allan F. Pagano, Faculté des Sciences du Sport - Le Portique, bureau 310 - 14 rue René Descartes 67084 Strasbourg Cedex, France.
 Email: allan.pagano@unistra.fr

Funding information

Institut de Cancérologie Strasbourg Europe (ICANS); Université de Strasbourg

Abstract

Background: Fatigue is a hallmark of breast cancer and is associated with skeletal muscle deconditioning. If cancer-related fatigue occurs early during chemotherapy (CT), the development of skeletal muscle deconditioning and its effect on exercise capacity remain unclear. The aim of this study was to investigate the evolution of skeletal muscle deconditioning and exercise capacity in patients with early-stage breast cancer during CT.

Methods: Patients with breast cancer had a visit before undergoing CT, at 8 weeks, and at the end of chemotherapy (post-CT). Body composition was determined through bioelectrical impedance analysis. Knee extensor, handgrip muscle force and fatigue was quantified by performing maximal voluntary isometric contractions and exercise capacity using the 6-min walking test. Questionnaires were also administered to evaluate quality of life, cancer-related fatigue, and physical activity level.

Results: Among the 100 patients, reductions were found in muscle mass (-2.3% , $p = .002$), exercise capacity (-6.7% , $p < .001$), and knee extensor force (-4.9% , $p < .001$) post-CT, which occurred within the first 8 weeks of treatment with no further decrease thereafter. If muscle fatigue did not change, handgrip muscle force decreased post-CT only (-2.5% , $p = .001$), and exercise capacity continued to decrease between 8 weeks and post-CT (-4.6% , $p < .001$). Quality of life and cancer-related fatigue were impaired after 8 weeks ($p < .001$) and remained stable thereafter, whereas the physical activity level remained stable during chemotherapy.

Joris Mallard and Elyse Hucteau contributed equally to this work.

Thomas J. Hureau and Allan F. Pagano contributed equally to this work.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

© 2022 The Authors. Cancer published by Wiley Periodicals LLC on behalf of American Cancer Society.

Conclusions: Similar to cancer-related fatigue, skeletal muscle deconditioning and reduced exercise capacity occurred early during breast cancer CT. Thus, it appears essential to prevent these alterations through exercise training implemented during CT.

KEYWORDS

cancer-related fatigue, exercise capacity, muscle atrophy, muscle fatigue, muscle force

INTRODUCTION

Breast cancer is the most commonly diagnosed cancer worldwide,¹ and chemotherapy (CT) is extensively administered to treat this disease. However, CT is not devoid of side effects such as chronic fatigue,² defined as a persistent, subjective sense of tiredness related to cancer or cancer treatment that interferes with usual functioning and is not fully reversed by rest.^{3,4} Specifically, cancer-related fatigue is a highly prevalent symptom⁵ that is frequently experienced from CT initiation^{6,7} and can persist for years after treatment completion.⁸

Mechanistically, cancer-related fatigue is associated with skeletal muscle deconditioning, which is defined as a direct consequence of global muscle homeostasis perturbation, leading to a decrease in muscle mass and/or force, as well as an increase in muscle fatigue.^{9,10} It is known that both cancer-related fatigue and skeletal muscle deconditioning represent major actors in a vicious cycle in which cancer-related fatigue leads to a reduction in daily physical activity, resulting in skeletal muscle deconditioning that reinforces fatigue again.^{11,12} This vicious cycle leads to a decrease in exercise capacity⁹ and diminishes the quality of life⁶ of patients with breast cancer. However, although cancer-related fatigue increased quickly after the start of the CT (ie, between 2 and 7 days),^{13,14} alterations in the previously mentioned parameters were only documented post-CT or even later in cancer survivors.^{15–20}

A better characterization of skeletal muscle deconditioning development in patients with breast cancer undergoing CT will help in determining the optimal timing to implement efficient prevention strategies, such as exercise training interventions. In this context, the aim of the present study was to investigate the development of cancer-related fatigue, skeletal muscle deconditioning, and exercise capacity. We hypothesized that patients with breast cancer would experience, in parallel to the well-described increase in cancer-related fatigue, early skeletal muscle deconditioning and reduced exercise capacity during CT treatment.

METHODS

Participants and study design

We previously published the full description of the study design and assessments used in this cohort clinical study.¹¹ Patients with breast cancer from the Institut de Cancérologie Strasbourg Europe were

included in the PROTECT-01 study (NCT03956641). All patients provided written informed consent before enrollment, and the study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and ethics approval received from the national ethics committee (2019-A00848-49). The patients had three visits: (1) before the first CT administration (pre-CT), (2) 8 weeks after, and (3) within 2 weeks after CT completion (post-CT). All assessments are detailed here.

The eligibility criteria included nonpregnant women at least 18 years old with a World Health Organization performance status of 0 to 2 who were diagnosed with early-stage breast cancer and treated with (neo)adjuvant CT. Patients were excluded if they had psychiatric, musculoskeletal, or neurological disorders. Note that it was initially planned to include patient cohorts of lung and colorectal metastatic cancer²¹ but they were withdrawn because we were not able to recruit them in our hospital.

Body composition

Body composition was determined using a bioelectrical impedance analysis device (SECA mBCA 515, SECA, Germany).²² Body mass, lean mass, fat mass, extracellular water, and skeletal muscle mass (total, arm, trunk, leg) were measured. For the arms and legs, the mean between the right and left limbs was calculated. Body composition assessment was performed at the same time of day, in underwear and without water consumption 1 hour before.

Muscle force

Knee extensor muscle force was assessed in a seated position with the hip and knee joints fixed at 100° and 90°, respectively (where 180° represents a full knee extension) and aligned with the frontal axis. An ergometer connected to a force transducer (Force sensor kit, Chronojump, Spain) was strapped above the ankle to the lower right leg.

The handgrip muscle force was measured using a handgrip dynamometer (Takei, TK200, Takei Scientific Instruments, Japan).²³ Patients sat upright in a chair with their feet touching the ground. The dominant arm was placed with the elbow flexed at 90° on a table, and the forearm and hand were placed in a neutral position.

For each muscle group, after a familiarization and a standardized warm-up, patients were asked to perform three 3-s maximal voluntary

isometric contractions under verbal encouragement.^{24,25} There was a 30-s rest period between each contraction. The mean value of the three trials was used for further analysis.

Muscle fatigue

Patients were placed in the same position as in the muscle force assessment. For both knee extensors and handgrip muscles, muscle fatigue was assessed by performing ten 3-s maximal voluntary isometric contractions under verbal encouragement with a 2-s rest period between each contraction. Muscle fatigue was calculated as the percent difference in peak force between the first and the last contraction.²⁶

Exercise capacity

Exercise capacity was assessed using the 6-min walking test.²⁷ Patients walked alone with no disturbance in a covered, flat, straight, well-delineated, 20-m corridor. Instructions were systematically given to the patient, and the total distance walked during the test (in meters) was used to assess exercise capacity.

Questionnaires

Quality of life and perceived fatigue

The European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) quality of life core questionnaire 30 items (EORTC QLQ-C30) version 3²⁸ and the functional assessment of chronic illness therapy - fatigue (FACIT-F) version 4²⁹ were used to assess the quality of life. For the EORTC QLQ-C30, the questionnaire includes five functioning scales and three symptom scales. Additional cancer symptoms and financial difficulties were also reported by separate items. Higher scores on the global and functioning scales were considered to be better, and a lower score on the symptom scale was considered to be better. A score for each subdomain of the FACIT-F was calculated. Additionally, the fatigue subscale was used to reflect self-reported fatigue. For every scale, higher scores indicate better functioning or less fatigue.

Physical activity level

Physical activity level was assessed using the 16-item global physical activity questionnaire (GPAQ) version 2.³⁰ The GPAQ was used to collect information on sedentary behavior and physical activity in three domains (activity at work, travel to and from places, and recreational activities during a typical week). A global score was calculated in metabolic equivalents (min/week), in which the higher the score, the better the patient's physical activity level.

Sample size calculation and statistical analysis

The sample size calculation, fully described in Mallard et al.,²¹ was based on a reduction in 6-min walking test and resulted in 300 patients being included, equally divided into three groups of interest: 100 patients with breast cancer, 100 patients with lung metastatic cancer, and 100 patients with colorectal metastatic cancer. However, as mentioned previously, metastatic cohorts were cancelled, and we

TABLE 1 Participant characteristics at baseline

Participant characteristics	n = 100
Characteristic (mean ± SD)	
Age (year)	52 ± 11
Body mass (kg)	71 ± 16
Body mass index (kg/m ²)	27 ± 6
Physical activity level (n)	
Inactive/low	51
Moderate	43
High	6
Performance status WHO (n)	
0	77
1	22
2	1
Grading SBR (n)	
II	46
II to III	13
III	41
Tumor type (n)	
Triple negative	19
Luminal (A/B)	57
HER2-positive	24
Treatment setting (n)	
Adjuvant	53
Neoadjuvant	47
Chemotherapy regimen (n)	
Anthracycline-cyclophosphamide followed by paclitaxel	53
Anthracycline-cyclophosphamide followed by paclitaxel + trastuzumab	18
Paclitaxel followed by anthracycline-cyclophosphamide	5
Paclitaxel	9
Paclitaxel + trastuzumab	2
Docetaxel-cyclophosphamide	13

Abbreviations: HER2, human epidermal growth factor receptor 2; SBR, Scarff-Bloom-Richardson; WHO, World Health Organization performance status.

consequently performed a calculation of the effect size posteriori. Based on the decrease in the 6-min walking test observed post-CT in our cohort of patients with breast cancer, the effect size calculated was 0.95.

Normal distribution of the data was visually checked through QQ plots and was found to be normally distributed for each variable. Homogeneity of variances was then checked with the Levene test. A mixed model analysis of variance (ANOVA) with repeated measures was used to assess the time-course (pre-CT, 8 weeks, and post-CT) of each outcome. Two-way mixed-design ANOVAs with repeated measures (muscle [handgrip vs knee extensors] × time [pre-CT, 8 weeks and post-CT]) were used to compare the decline of muscle force according to each muscle group. To compare the effect of the CT administration (adjuvant vs neoadjuvant) and CT regimens (Table 1) on the same outcomes, a two-way mixed design ANOVA (condition × time) with repeated measures was used. In case of deviation from sphericity, a Greenhouse-Geisser correction was applied to meet requirements of compound symmetry.

If significant differences were found, multiple comparison analysis was performed with the Tukey post hoc test. Statistical significance was set at $p < .05$. Statistical analyses and graphs were made with GraphPad Prism 6 software, and all values are expressed as the mean ± SD.

RESULTS

Patient characteristics

A total of 147 patients were screened and 100 patients were included in the study (Figure 1). All patients were assessed pre-CT (-1 ± 1 week before the first chemotherapy administration); their baseline characteristics are shown in Table 1. Eighty-six patients

had a second visit after 8 weeks of CT (8 ± 1 weeks), and 79 patients had a third visit post-CT (1 ± 1 week after CT completion). More precisely, two patients declined the second visit only, nine declined the third visit only and 12 declined both. Reasons justifying dropouts are reported in Figure 1. The mean CT duration was 17 ± 5 weeks. For all data, there was no specific effect of the CT administrations (ie, adjuvant vs neoadjuvant) or the chemotherapy regimen (Table 1). Consequently, the following results are presented as the mean ± SD for all patients regardless of treatment options.

Skeletal muscle mass

Despite the lack of change in body mass ($p = .150$; Figure 2A), lean mass ($p = .065$; Figure 2B), and fat mass ($p = .545$; Figure 2C) during CT, we found a significant decrease in skeletal muscle mass (-2.3% , $p = .002$; Figure 2D) post-CT, which occurred within the first 8 weeks of CT treatment ($p < .001$) with no further decrease thereafter ($p = .964$). Specifically, this decrease in skeletal muscle mass was mainly located at the trunk level (-2.9% , $p < .001$; Figure 2E), with no change in the arms ($p = .647$; Figure 2F) or legs ($p = .758$; Figure 2G). Finally, an increase in water retention was reported, as evidenced by an increase in extracellular water post-CT ($+4.4\%$, $p < .001$; Figure 2H), which occurred within the first 8 weeks of treatment ($+2.7\%$, $p < .001$).

Muscle force

As illustrated in Figure 3, the knee extensor force decreased and reached -4.9% post-CT (318 ± 84 N vs 297 ± 80 N, $p < .001$; Figure 3A). This decrease occurred during the first 8 weeks of treatment ($p = .049$) with no further decrease thereafter ($p = .071$).

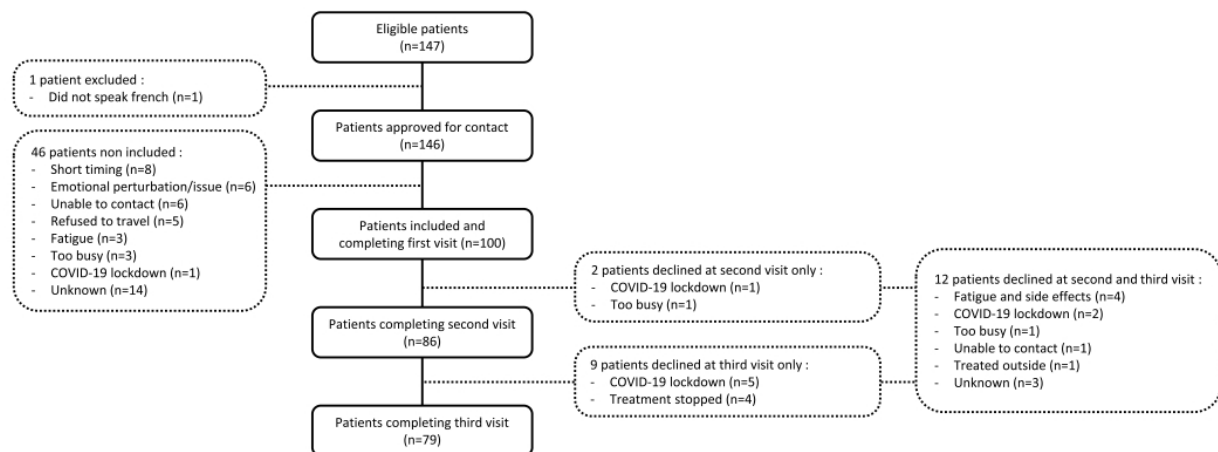


FIGURE 1 Flow chart of the participants

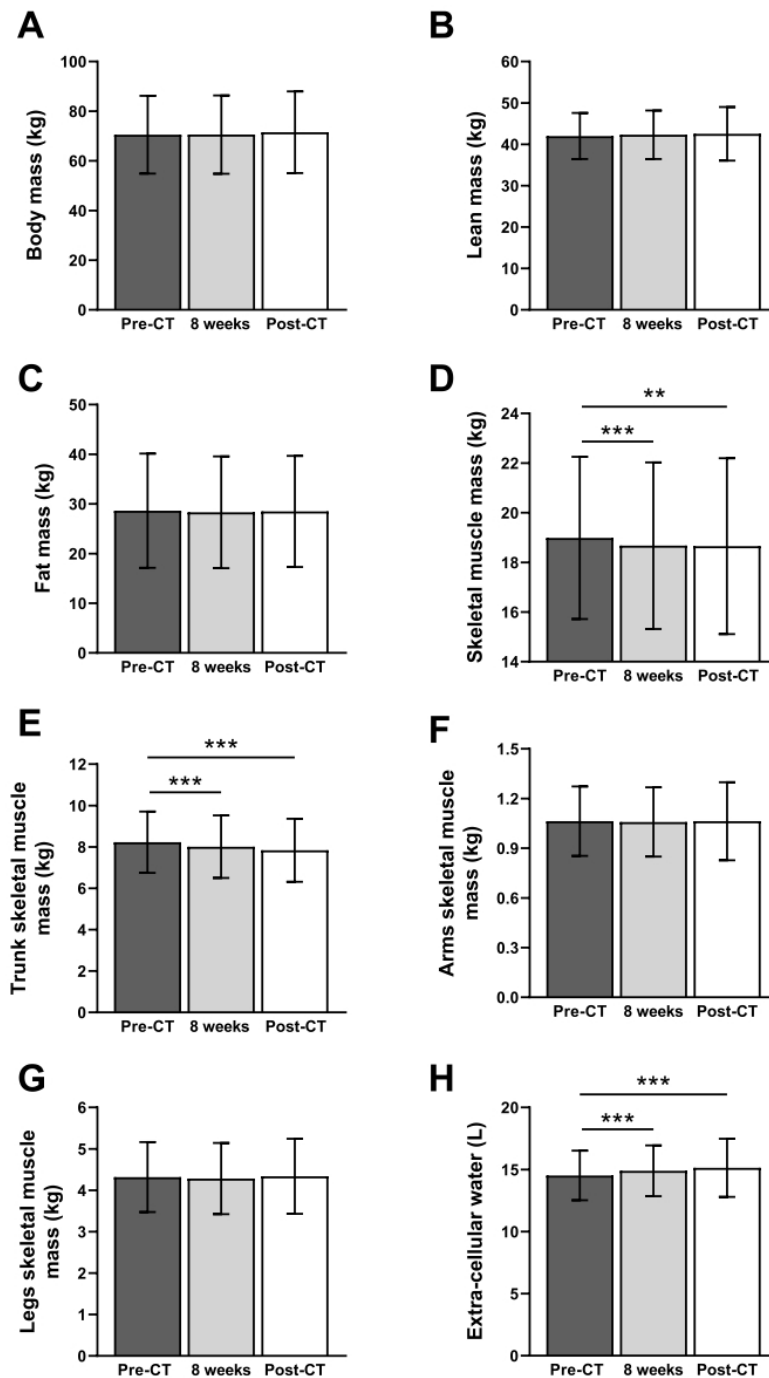


FIGURE 2 Body composition during chemotherapy. Body mass (A), lean mass (B), fat mass (C), skeletal muscle mass (D), trunk skeletal muscle mass (E), arm skeletal muscle mass (F), leg skeletal muscle mass (G), and extracellular water (H) assessed before (pre-CT, $n = 100$), after 8 weeks (8 weeks, $n = 86$), and at the end (post-CT, $n = 79$) of breast cancer CT. All values are expressed as the mean \pm SD. * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$. CT, chemotherapy

Handgrip muscle force decreased by 2.5% post-CT only (251 ± 53 N vs 241 ± 50 N, $p = .001$; Figure 3B). The two-way mixed-design ANOVAs showed significant muscle ($p < .001$) and time ($p < .001$) effect, without interaction effect ($p = .176$).

Muscle fatigue

No change in muscle fatigue was found post-CT for the knee extensors ($p = .543$, Figure 3C), whereas handgrip muscle fatigue

(Figure 3D) increased by 3.6% at 8 weeks ($p = .019$) and returned to baseline values at post-CT measurements ($p = .745$).

Exercise capacity

As documented in Figure 4, according to the distance achieved during the 6-min walking test, exercise capacity decreased after 8 weeks of CT (-2.8% , 540 ± 88 m vs 525 ± 81 m, $p = .021$) and continued to decrease to reach -6.7% post-CT (499 ± 77 m, $p < .001$).

Questionnaires: Physical activity level, perceived fatigue, and quality of life

The questionnaire scores and p values are reported in Table 2. The EORTC QLQ-C30 indicated substantial impairments after 8 weeks of

treatment in the global health status, all functional scales, and in the multiple symptom scales (including fatigue and dyspnea), with no further alteration thereafter. Pain increased post-CT, whereas constipation and loss of appetite increased after 8 weeks and then decreased post-CT. The FACIT-F showed alterations in quality of life after 8 weeks of CT, with no further alteration thereafter. More specifically, physical and social well-being decreased after 8 weeks of treatment, whereas emotional well-being improved compared with pre-CT. Using the GPAQ, no change was found in the total physical activity level throughout the treatment.

DISCUSSION

Thanks to measurements obtained pre-CT, during, and post-CT in patients with early-stage breast cancer, we showed different patterns in the development of cancer-related fatigue, skeletal muscle

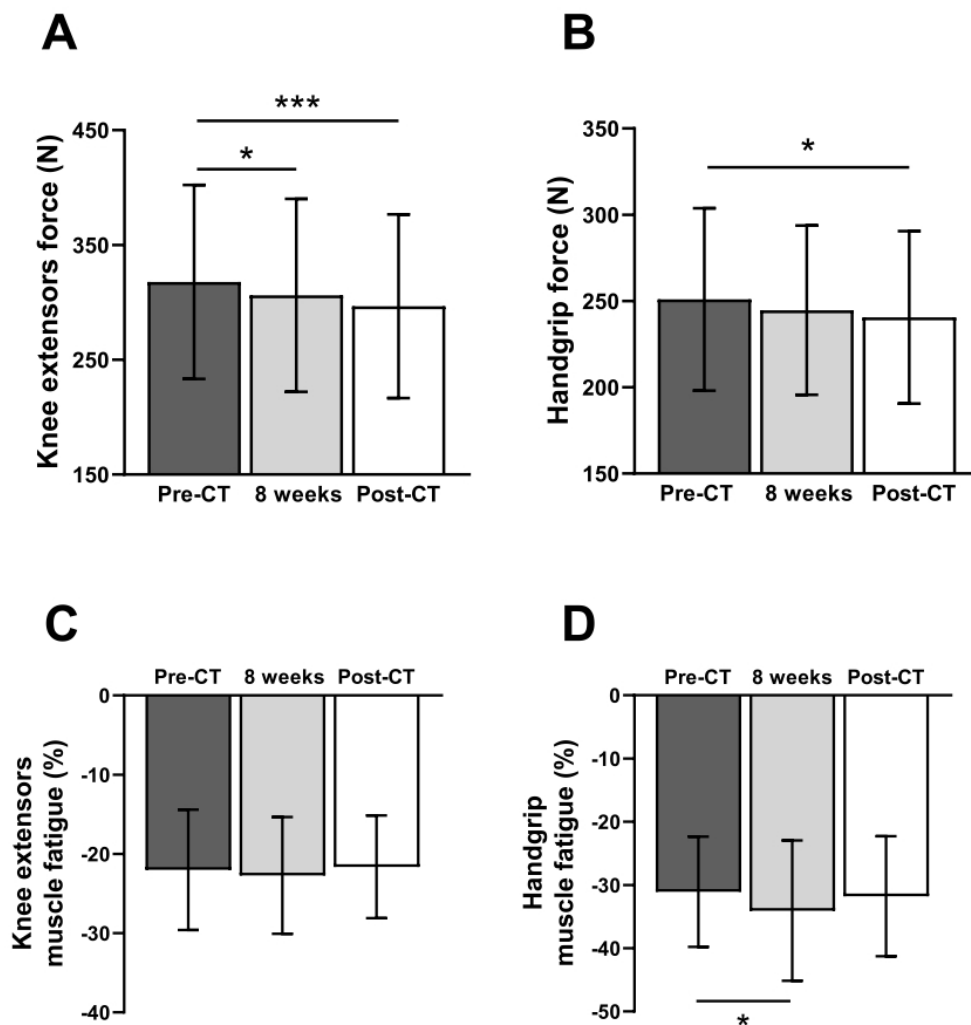


FIGURE 3 Muscle force and fatigue during chemotherapy. Knee extensor (A) and handgrip muscle (B) force and knee extensor (C) and handgrip (D) muscle fatigue assessed before (pre-CT, $n = 100$), after 8 weeks (8 weeks, $n = 86$), and at the end (post-CT, $n = 79$) of breast cancer CT. All values are expressed as the mean \pm SD. * $p < .05$, *** $p < .001$. CT, chemotherapy

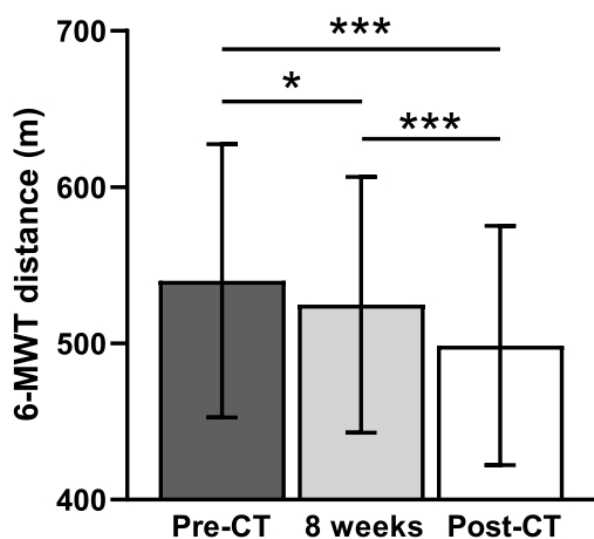


FIGURE 4 Exercise capacity during CT. Assessments were performed before (pre-CT, $n = 100$), after 8 weeks (8 weeks, $n = 86$), and at the end (post-CT, $n = 79$) of breast cancer CT. All values are expressed as the mean \pm SD. * $p < .05$, *** $p < .001$. 6-MWT, 6-min walking test; CT, chemotherapy.

deconditioning, and exercise capacity. Similar to the questionnaire scores used to assess cancer-related fatigue and quality of life, skeletal muscle mass, knee extensor muscle force, and exercise capacity decreased within the first 8 weeks of treatment, indicating early skeletal muscle deconditioning during CT. Interestingly, only exercise capacity continued to decrease from 8 weeks to the end of treatment, whereas handgrip muscle force was only reduced post-CT, indicating a dissociation between these variables.

Early skeletal muscle deconditioning during CT

Although previous investigations showed a decrease in skeletal muscle mass post-CT in patients with breast cancer,^{19,20} the present study reported that this decrease occurred within the first 8 weeks of treatment with no further changes up to the end of CT. This result highlights the nonlinearity of skeletal muscle atrophy in patients with breast cancer, which is consistent with observations in human models of physical inactivity.^{31,32} Of note, the 2.3% reduction in skeletal muscle mass found in the present study at the end of the CT treatment was equivalent to a 12-fold acceleration of the aging process,³³ illustrating the potent toxicity of CT.

In the present study, skeletal muscle mass was quantified by bioelectrical impedance analysis, which dissociated trunk and limb skeletal muscle mass. Our results showed a reduction in trunk muscle mass after 8 weeks of CT and are supported by previous studies conducted in patients with breast cancer.^{19,20} Surprisingly, no change in leg muscle mass was observed, whereas it described, using muscle biopsies, a striking reduction in the cross-sectional area of the *vastus lateralis* muscle fibers in patients with breast cancer.³⁴ Chemotherapy

treatment drastically affects tissue hydration,³⁵ and it is important to note that the skeletal muscle mass was calculated in our study with the conduction of an electrical signal in skeletal muscle (a water-composed tissue) using bioelectrical impedance analysis. Given the increase in extracellular water observed in our patients, this represents a limitation to the assessment of skeletal muscle mass that we might have overestimated in this specific context.

If a decrease in muscle force is classically observed in patients with breast cancer post-CT,^{36,37} we demonstrated that the reduction in knee extensor muscle force occurred within the first 8 weeks of treatment, emphasizing early skeletal muscle deconditioning. With no reduction in leg skeletal muscle mass during CT, the reduction in muscle force is likely explained by neural alterations.²⁶ In contrast, handgrip muscle force was only decreased post-CT and the decline was lower than that of knee extensors. Together, these results indicate that CT did not similarly affect the upper and lower limb muscle force capacity. Therefore, caution should be taken when using handgrip muscle force as an index of skeletal muscle deconditioning³⁸ or exercise capacity,³⁹ whereas knee extensor muscle force might be more insightful as a consequence of their involvement in exercise capacity in older people⁴⁰ or patients with cancer.⁴¹

In contrast to skeletal muscle mass and force, which decreased within the first 8 weeks of treatment and leveled off thereafter, exercise capacity assessed with the 6-min walking test distance decreased linearly throughout CT. If the decrease in knee extensor muscle force contributes to the decrease in exercise capacity within the first 8 weeks, we did not find a correlation between these two variables. In addition, we⁴² and others⁴³ reported a decrease in mitochondrial content post-CT and, given the strong relationship between aerobic capacity and skeletal muscle mitochondrial content,⁴⁴ it may also explain the decrease we observed in exercise capacity post-CT. In the absence of change in total physical activity level during the treatment (Table 2), the decrease in muscle mass, muscle force, and exercise capacity was attributed to the CT and its consequences, but likely not to behavioral changes. That said, it is important to note that total physical activity level was assessed using questionnaires and not directly with accelerometry and therefore needs to be interpreted with caution.

Muscle and perceived fatigue

Similar to the decrease in muscle mass and knee extensor muscle force, perceived fatigue increased drastically within the first 8 weeks of treatment and remained stable thereafter. Consistent with studies in which researchers highlight the relationship between perceived fatigue and quality of life,⁷ we also found a reduction in quality of life within the first 8 weeks of treatment. Although our results showed that the development of skeletal muscle deconditioning, cancer-related fatigue and quality of life degradation occurred concomitantly, we also found a linear reduction in exercise capacity throughout chemotherapy. This discrepancy shows the importance of measuring exercise capacity in clinical settings.

TABLE 2 Cancer-related fatigue, quality of life, and physical activity level during chemotherapy

Outcome variables	Pre-CT (n = 100) Mean ± SD	8 weeks (n = 86) Mean ± SD	Post-CT (n = 79) Mean ± SD	p Values		
				Pre-CT vs 8 wk	8 wk vs post-CT	Pre-CT vs post-CT
EORTC QLQ-C30 questionnaire score						
Functional scales						
Physical functioning	89 ± 14	81 ± 18	79 ± 19	<.001	.634	<.001
Role functioning	91 ± 15	81 ± 21	84 ± 17	<.001	.553	<.004
Emotional functioning	71 ± 21	77 ± 18	74 ± 20	.017	.306	.226
Cognitive functioning	89 ± 18	80 ± 23	79 ± 21	<.001	.936	<.001
Social functioning	88 ± 20	76 ± 27	77 ± 26	<.001	.868	<.001
Symptom scales						
Fatigue	27 ± 21	47 ± 24	50 ± 26	<.001	.523	<.001
Nausea and vomiting	3 ± 8	15 ± 20	10 ± 18	<.001	.171	<.001
Pain	20 ± 24	26 ± 25	32 ± 29	.066	.174	<.001
Dyspnea	12 ± 23	28 ± 29	31 ± 30	<.001	.550	<.001
Insomnia	33 ± 31	36 ± 34	38 ± 34	.539	.911	.376
Loss of appetite	8 ± 18	22 ± 29	14 ± 25	<.001	.016	.074
Constipation	8 ± 20	18 ± 25	16 ± 27	.008	<.001	.053
Diarrhea	7 ± 17	17 ± 26	18 ± 30	.003	.929	.009
Financial difficulties	7 ± 22	11 ± 23	12 ± 25	.143	.671	.072
Global health status	72 ± 15	62 ± 19	61 ± 19	<.001	.973	<.001
FACIT-F questionnaire score						
Quality of life						
Physical well-being	25 ± 3	19 ± 6	19 ± 5	<.001	.999	<.001
Social well-being	22 ± 4	21 ± 4	20 ± 5	.028	.051	<.001
Emotional well-being	17 ± 4	19 ± 4	19 ± 4	<.001	.578	<.001
Functional well-being	19 ± 4	17 ± 4	17 ± 5	<.001	.545	<.001
FACT-G total score	83 ± 11	77 ± 12	75 ± 14	<.001	.316	<.001
Fatigue subscale	43 ± 7	34 ± 10	34 ± 11	<.001	.954	<.001
FACIT-F total score	126 ± 15	111 ± 20	108 ± 23	<.001	.609	<.001
GPAQ questionnaire score						
Physical activity	1080 ± 1181	976 ± 991	1080 ± 1171	.593	.727	.999
Activity at work	139 ± 951	19 ± 181	0 ± 0	.043	.626	.437
Travel to and from places	309 ± 544	166 ± 314	275 ± 452	.034	.121	.885
Recreational activity	632 ± 684	791 ± 933	805 ± 1028	.223	.992	.293
Sedentary behavior	391 ± 157	416 ± 184	422 ± 180	.438	.941	.216

Note: The EORTC QLQ-C30, FACIT-F, and GPAQ questionnaires were administered before (pre-CT, n = 100), after 8 weeks (8 weeks, n = 86), and at the end (post-CT, n = 79) of breast cancer chemotherapy. All values are expressed as the mean ± SD.

Abbreviations: CT, chemotherapy; EORTC QLQ-C30, European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) quality of life core questionnaire 30 items (QLQ-C30); FACIT, functional assessment of chronic illness therapy - fatigue; FACT-G, functional assessment of cancer therapy - general; GPAQ, global physical activity questionnaire.

In contrast with perceived fatigue, muscle fatigue remained stable post-CT. However, the observation of similar muscle fatigue with respect to lower force capacity post-CT suggests that our patients with breast cancer are not devoid of alterations in muscle fatigue. Indeed, it is a classic observance that weaker individuals develop less muscle fatigue during exercise than their stronger counterparts.^{45,46} Therefore, although patients displayed a decrease in maximal force capacity for a given exercise task from pre- to post-CT, they developed similar, and not less, muscle fatigue post-CT. Mechanistically, muscle fatigue has a central and a peripheral origin,⁴⁷ and it has already been reported in other contexts that no change in "global" muscle fatigue can still be associated with alterations in central fatigue.^{48,49} Using noninvasive measurement methods,⁵⁰ further studies investigating central and peripheral fatigue in patients with breast cancer are needed.

Perspectives for clinical rehabilitation

Based on the early skeletal muscle deconditioning and the decrease in exercise capacity we have documented, preventive strategies such as exercise should be initiated from the beginning of CT treatment and not after, which is how it has been commonly performed.⁵¹ Indeed, it might be more interesting to prevent these side effects and to preserve patients' quality of life⁵² with exercise interventions during CT, instead of trying to recover from these side effects afterward.

In the present study, we assessed the consequences of both the disease and the associated side effects of the treatment. Therefore, it was not possible to isolate the effects of the disease vs the treatments on our measures. Regardless, it was more important to characterize the combined effect of these two stressors on the physical function of patients with breast cancer because this is ultimately what rehabilitation programs will have to counteract simultaneously.

Conclusion

Although the focus of many oncology studies has been on exercise training interventions in cancer survivors with the intention of reversing the negative side effects of treatment, we highlight that skeletal muscle deconditioning and decrease in exercise capacity appeared early in (neo)adjuvant CT treatment in patients with breast cancer. Thus, these findings suggest that it might be interesting to prevent these side effects from occurring rather than trying to recover from them afterward.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Joris Mallard: Conceptualization, methodology, software, validation, formal analysis, investigation, resources, data curation, writing – original draft preparation, writing – review and editing, visualization, and funding acquisition. **Elyse Hucteau:** Conceptualization, methodology, software, validation, formal analysis, investigation, resources,

data curation, writing – original draft preparation, writing – review and editing, visualization, and funding acquisition. **Roland Schott:** Conceptualization, validation, investigation, writing – review and editing, supervision, project administration, and funding acquisition. **Philippe Trens:** Investigation and writing – review and editing. **Carole Pflumio:** Investigation and writing – review and editing. **Michal Kalish-Weindling:** Investigation and writing – review and editing. **Fabrice Favret:** Methodology, writing – review and editing, and supervision. **Xavier Pivot:** Conceptualization, validation, investigation, writing – review and editing, supervision, project administration, and funding acquisition. **Thomas J. Hureau:** Conceptualization, methodology, validation, writing – original draft preparation, writing – review and editing, visualization, supervision, and funding acquisition. **Allan F. Pagano:** Conceptualization, methodology, validation, writing – original draft preparation, writing – review and editing, visualization, supervision, and funding acquisition.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the ICANS Clinical Research Department for their administrative and organizational support. We also thank our patients for their participation. This work was supported by the Institut de Cancérologie Strasbourg Europe (ICANS) and has been published under the framework of the IdEx Unistra, which is supported by investments in the future program of the French government.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design, execution, interpretation, or writing of the study.

ORCID

Allan F. Pagano  <https://orcid.org/0000-0003-0717-2377>

REFERENCES

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660
2. Abrahams HJG, Gielissen MFM, Schmits IC, Verhagen CAHVM, Rovers MM, Knoop H. Risk factors, prevalence, and course of severe fatigue after breast cancer treatment: a meta-analysis involving 12 327 breast cancer survivors. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2016;27(6):965-974. doi:10.1093/annonc/mdw099
3. Ahlberg K, Ekman T, Gaston-Johansson F, Mock V. Assessment and management of cancer-related fatigue in adults. *Lancet Lond Engl.* 2003;362(9384):640-650. doi:10.1016/s0140-6736(03)14186-4
4. Berger AM, Abernethy AP, Atkinson A, et al. NCCN Clinical Practice Guidelines Cancer-related fatigue. *J Natl Compr Cancer Netw JNCCN.* 2010;8:904-931. doi:10.6004/jnccn.2010.0067
5. Mao H, Bao T, Shen X, et al. Prevalence and risk factors for fatigue among breast cancer survivors on aromatase inhibitors. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990.* 2018;101(101):47-54. doi:10.1016/j.ejca.2018.06.009
6. Kim SH, Son BH, Hwang SY, et al. Fatigue and depression in disease-free breast cancer survivors: prevalence, correlates, and association with quality of life. *J Pain Symptom Manag.* 2008;35(6):644-655. doi:10.1016/j.jpainsymman.2007.08.012

7. Binotto M, Reinert T, Werutsky G, Zaffaroni F, Schwartzmann G. Health-related quality of life before and during chemotherapy in patients with early-stage breast cancer. *Eccancermedicalscience*. 2020; 14:1007. doi:10.3332/ecancer.2020.1007
8. Goldstein D, Bennett BK, Webber K, et al. Cancer-related fatigue in women with breast cancer: outcomes of a 5-year prospective cohort study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2012;30(15):1805-1812. doi:10.1200/jco.2011.34.6148
9. Mallard J, Hucteau E, Hureau TJ, Pagano AF. Skeletal muscle deconditioning in breast cancer patients undergoing chemotherapy: current knowledge and insights from other cancers. *Front Cell*. 2021;9:2550. doi:10.3389/fcell.2021.719643
10. Chopard A, Hillock S, Jasmin BJ. Molecular events and signalling pathways involved in skeletal muscle disuse-induced atrophy and the impact of countermeasures. *J Cell Mol Med*. 2009;13(9b): 3032-3050. doi:10.1111/j.1582-4934.2009.00864.x
11. Mallard J, Hucteau E, Schott R, et al. Evolution of physical status from diagnosis to the end of first-line treatment in breast, lung, and colorectal cancer patients: the PROTECT-01 Cohort Study Protocol. *Front Oncol Frontiers*. 2020;10. doi:10.3389/fonc.2020.01304
12. Piriaux E, Caty G, Aboubakar Nana F, Reyckler G. Effects of exercise therapy in cancer patients undergoing radiotherapy treatment: a narrative review. *SAGE Open Med*. 2020;8. doi:10.1177/2050312120922657
13. Jacobsen PB, Hann DM, Azzarello LM, Horton J, Balducci L, Lyman GH. Fatigue in women receiving adjuvant chemotherapy for breast cancer: characteristics, course, and correlates. *J Pain Symp Manag*. 1999;18(4):233-242. doi:10.1016/s0885-3924(99)00082-2
14. Kim H-J, Barsevick AM, Tulman L, McDermott PA. Treatment-related symptom clusters in breast cancer: a secondary analysis. *J Pain Symp Manag*. 2008;36(5):468-479. doi:10.1016/j.jpainsymman.2007.11.011
15. Klassen O, Schmidt ME, Ulrich CM, et al. Muscle strength in breast cancer patients receiving different treatment regimens. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2017;8(2):305-316. doi:10.1002/jcsm.12165
16. Gadéa E, Thivat E, Dubray-Longeras P, et al. Prospective study on body composition, energy balance and biological factors changes in post-menopausal women with breast cancer receiving adjuvant chemotherapy including taxanes. *Nutr Cancer*. 2018;70(7):997-1006. doi:10.1080/01635581.2018.1502330
17. Peel AB, Thomas SM, Dittus K, Jones LW, Lakoski SG. Cardiorespiratory fitness in breast cancer patients: a call for normative values. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(1):e000432. doi:10.1161/jaha.113.000432
18. van Waart H, Stuiver MM, van Harten WH, et al. Effect of low-intensity physical activity and moderate- to high-intensity physical exercise during adjuvant chemotherapy on physical fitness, fatigue, and chemotherapy completion rates: results of the PACES Randomized Clinical Trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2015;33(17): 1918-1927. doi:10.1200/jco.2014.59.1081
19. Rossi F, Torri L, Lambertini M, De Giorgis S, Calabrese M, Tagliafico AS. Muscle mass loss after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: estimation on breast magnetic resonance imaging using pectoralis muscle area. *Eur Radiol*. 2020;30(8):4234-4241. doi:10.1007/s00330-020-06799-5
20. Wiederin J, Gu C, Jewett P, Blaes AH. Pectoralis muscle wasting during chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2020;38(15_suppl):e24069-e24069. doi:10.1200/jco.2020.38.15_suppl.e24069
21. Mallard J, Hucteau E, Schott R, et al. Evolution of physical status from diagnosis to the end of first-line treatment in breast, lung, and colorectal cancer patients: the PROTECT-01 Cohort Study Protocol. *Front Oncol*. 2020;10. doi:10.3389/fonc.2020.01304
22. Bosy-Westphal A, Schautz B, Later W, Kehayias JJ, Gallagher D, Müller MJ. What makes a BIA equation unique? Validity of eight-electrode multifrequency BIA to estimate body composition in a healthy adult population. *Eur J Clin Nutr*. 2013;67(Suppl 1):S14-S21. doi:10.1038/ejcn.2012.160
23. Cadenas-Sanchez C, Sanchez-Delgado G, Martinez-Tellez B, et al. Reliability and validity of different models of TKK hand dynamometers. *Am J Occup Ther Off Publ Am Occup Ther Assoc*. 2016;70(4): 7004300010p1-7004300010p9. doi:10.5014/ajot.2016.019117
24. Millet GY, Martin V, Martin A, Vergès S. Electrical stimulation for testing neuromuscular function: from sport to pathology. *Eur J Appl Physiol*. 2011;111(10):2489-2500. doi:10.1007/s00421-011-1996-y
25. Hureau TJ, Weavil JC, Thurston TS, et al. Pharmacological attenuation of group III/IV muscle afferents improves endurance performance when oxygen delivery to locomotor muscles is preserved. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 2019;127(5):1257-1266. doi:10.1152/jappphysiol.00490.2019
26. Gandevia SC. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiol Rev*. 2001;81(4):1725-1789. doi:10.1152/physrev.2001.81.4.1725
27. ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166:111-117.
28. Aaronson NK, Ahmedzai S, Bergman B, et al. The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: a Quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 1993;85(5):365-376. doi:10.1093/jnci/85.5.365
29. Butt Z, Lai J, Rao D, Heinemann AW, Bill A, Cella D. Measurement of fatigue in cancer, stroke, and HIV using the functional assessment of chronic illness therapy – Fatigue (FACIT-F) Scale. *J Psychosom Res [Internet]*. 2013;74(1):64-68. doi:10.1016/j.jpsychores.2012.10.011 [cité 27 mars 2019] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3534851/>
30. Armstrong T, Bull F. Development of the World Health Organization Global Physical Activity Questionnaire (GPAQ). *J Public Health*. 2006;14(2):66-70. doi:10.1007/s10389-006-0024-x
31. Kawashima S, Akima H, Kuno S-Y, Gunji A, Fukunaga T. Human adductor muscles atrophy after short duration of unweighting. *Eur J Appl Physiol*. 2004;92(4-5):602-605. doi:10.1007/s00421-004-1184-4
32. Seynnes OR, Maganaris CN, de Boer MD, di Prampero PE, Narici MV. Early structural adaptations to unloading in the human calf muscles. *Acta Physiol Oxf Engl*. 2008;193(3):265-274. doi:10.1111/j.1748-1716.2008.01842.x
33. Auyeung TW, Lee SWJ, Leung J, Kwok T, Woo J. Age-associated decline of muscle mass, grip strength and gait speed: a 4-year longitudinal study of 3018 community-dwelling older Chinese. *Geriatr Gerontol Int*. 2014;14(Suppl 1):76-84. doi:10.1111/ggi.12213
34. Mijwel S, Cardinale DA, Norrbom J, et al. Exercise training during chemotherapy preserves skeletal muscle fiber area, capillarization, and mitochondrial content in patients with breast cancer. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2018;32(10):5495-5505. doi:10.1096/fj.201700968r
35. Aslani A, Smith RC, Allen BJ, Pavlakis N, Levi JA. Changes in body composition during breast cancer chemotherapy with the CMF-regimen. *Breast Cancer Res Treat*. 1999;57(3):285-290. doi:10.1023/a:1006220510597
36. Veni T, Boyas S, Beaune B, et al. Handgrip fatiguing exercise can provide objective assessment of cancer-related fatigue: a pilot study. *Support Care Cancer Off J Multinat Assoc Support Care Cancer*. 2019; 27(1):229-238. doi:10.1007/s00520-018-4320-0
37. Kim DY, Kim J-H, Park S-W. Aerobic capacity correlates with health-related quality of life after breast cancer surgery. *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2019;28(4):e13050. doi:10.1111/ecc.13050
38. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing*. 2019;48(4): 16-31. doi:10.1093/ageing/afz046

39. Cantarero-Villanueva I, Fernández-Lao C, Díaz-Rodríguez L, Fernández-de-las-Peñas C, Ruiz JR, Arroyo-Morales M. The handgrip strength test as a measure of function in breast cancer survivors: relationship to cancer-related symptoms and physical and physiologic parameters. *Am J Phys Med Rehabil*. 2012;91(9):774-782. doi:10.1097/phm.0b013e31825f1538
40. Martien S, Delecluse C, Boen F, et al. Is knee extension strength a better predictor of functional performance than handgrip strength among older adults in three different settings? *Arch Gerontol Geriatr*. 2015;60(2):252-258. doi:10.1016/j.archger.2014.11.010
41. Norman K, Stobäus N, Smoliner C, et al. Determinants of hand grip strength, knee extension strength and functional status in cancer patients. *Clin Nutr Edinb Scotl*. 2010;29(5):586-591. doi:10.1016/j.clnu.2010.02.007
42. Mallard J, Hucteau E, Charles A-L, et al. Chemotherapy impairs skeletal muscle mitochondrial homeostasis in early breast cancer patients. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2022;13(3):1896-1907. doi:10.1002/jcsm.12991
43. Guigni BA, Callahan DM, Tourville TW, et al. Skeletal muscle atrophy and dysfunction in breast cancer patients: role for chemotherapy-derived oxidant stress. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2018;315(5):C744-C756. doi:10.1152/ajpcell.00002.2018
44. Weibel ER, Bacigalupe LD, Schmitt B, Hoppeler H. Allometric scaling of maximal metabolic rate in mammals: muscle aerobic capacity as determinant factor. *Respir Physiol Neurobiol*. 2004;140(2):115-132. doi:10.1016/j.resp.2004.01.006
45. Enoka RM, Stuart DG. Neurobiology of muscle fatigue. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 1992;72(5):1631-1648. doi:10.1152/jappl.1992.72.5.1631
46. Lindström B, Lexell J, Gerdle B, Downham D. Skeletal muscle fatigue and endurance in young and old men and women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1997;52(1):B59-B66. doi:10.1093/gerona/52a.1.b59
47. Enoka RM, Duchateau J. Translating fatigue to human performance. *Med Sci Sports Exerc*. 2016;48(11):2228-2238. doi:10.1249/mss.0000000000000929
48. Huang Y-Z, Chang F-Y, Liu W-C, Chuang Y-F, Chuang L-L, Chang Y-J. Fatigue and muscle strength involving walking speed in parkinson's disease: insights for developing rehabilitation strategy for pd. *Neural Plast*. 2017;2017:e1941980.
49. Stackhouse SK, Stevens JE, Lee SC, Pearce KM, Snyder-Mackler L, Binder-Macleod SA. Maximum voluntary activation in nonfatigued and fatigued muscle of young and elderly individuals. *Phys Ther*. 2001;81(5):1102-1109. doi:10.1093/ptj/81.5.1102
50. Millet GY, Martin V, Martin A, Vergès S. Electrical stimulation for testing neuromuscular function: from sport to pathology. *Eur J Appl Physiol*. 2011;111(10):2489-2500. doi:10.1007/s00421-011-1996-y
51. Olsson Möller U, Beck I, Rydén L, Malmström M. A comprehensive approach to rehabilitation interventions following breast cancer treatment – a systematic review of systematic reviews. *BMC Cancer*. 2019;19(1):472. doi:10.1186/s12885-019-5648-7
52. van der Leeden M, Huijsmans RJ, Geleijn E, et al. Tailoring exercise interventions to comorbidities and treatment-induced adverse effects in patients with early stage breast cancer undergoing chemotherapy: a framework to support clinical decisions. *Disabil Rehabil*. 2018;40(4):486-496. doi:10.1080/09638288.2016.1260647

How to cite this article: Mallard J, Hucteau E, Schott R, et al. Early skeletal muscle deconditioning and reduced exercise capacity during (neo)adjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *Cancer*. 2022;1-11. doi:10.1002/cncr.34533

Discussion et perspectives

Cette première étude de thèse avait pour objectif de caractériser l'évolution du déconditionnement musculaire en réalisant des mesures avant, pendant et après la chimiothérapie chez des patientes atteintes d'un cancer du sein de stade précoce. Nous avons mis en évidence un déconditionnement rapide, caractérisé par une diminution de la masse musculaire, de la force des extenseurs du genou et de la capacité d'exercice au cours des 8 premières semaines de traitement. De manière intéressante, ces altérations survenaient en même temps que la diminution de la qualité de vie et l'augmentation de la fatigue perçue, ce qui suggère un lien entre les variables physiologiques et perceptives. Néanmoins, contrairement aux autres variables, seule la capacité d'exercice continuait de diminuer entre 8 semaines et la fin du traitement. Il est intéressant de noter qu'aucun changement de niveau d'activité physique total n'a été relevé, suggérant que c'est davantage la chimiothérapie qui a induit le déconditionnement musculaire plutôt que l'inactivité. Toutefois, ce résultat est à interpréter avec précaution étant donné que le niveau d'activité physique a été évalué à l'aide d'un questionnaire basé sur la déclaration des patientes.

Étant donné le développement rapide du déconditionnement musculaire, des stratégies préventives devraient être mises en place dès que possible. Ainsi, l'exercice devrait être initié dès le début du traitement par chimiothérapie, et non après comme cela est régulièrement pratiqué (Olsson Möller *et al.*, 2019). Cela permettrait de prévenir certains effets secondaires du traitement et préserver la qualité de vie des patientes, plutôt que de traiter les altérations une fois qu'elles sont installées (van der Leeden *et al.*, 2018). Si la perte de masse musculaire observée chez les patientes indique la prescription d'exercice en résistance (Egan & Zierath, 2013), la diminution progressive de la capacité d'exercice suggère la mise en place d'un entraînement aérobie (Egan & Zierath, 2013). Mijwel *et al.*, (2018a; 2018b) ont montré de manière intéressante qu'un entraînement composé d'exercice en résistance et d'exercice aérobie à haute intensité, à raison de 2 séances par semaines pendant 16 semaines, permettait de prévenir l'atrophie musculaire et la réduction de la capacité d'exercice. Néanmoins, comme discuté dans le chapitre 3, aucun monitoring de l'intensité d'exercice n'a été réalisé et des bénéfices supérieurs

auraient pu être attendus. Si l'exercice est considéré comme de la médecine en oncologie (Schmitz *et al.*, 2019), cela suggère qu'il doit être prescrit, à l'image d'un médicament, avec la bonne posologie. Il est donc nécessaire de déterminer la bonne « dose » d'entraînement, dont les facteurs principaux sont l'intensité, la durée et la fréquence. Étant donné que le frein principal à la pratique d'exercice pendant le traitement du cancer est la distance entre le domicile et le lieu de pratique (Ormel *et al.*, 2017), ce qui peut expliquer le taux d'adhésion moyen (70%) retrouvé dans l'étude de Mijwel *et al.*, (2018c), il pourrait être pertinent de réduire la fréquence d'entraînement, de diminuer le temps de pratique et d'augmenter l'intensité d'exercice avec un monitoring précis. Cela permettrait ainsi de réduire les déplacements des patientes, en proposant par exemple une séance avant chaque chimiothérapie. En effet, les chimiothérapies sont administrées en moyenne toutes les semaines. Une autre solution pourrait être de proposer un programme d'exercice à réaliser à domicile. Si cette modalité permettrait effectivement de réduire les déplacements des patientes et donc d'améliorer leur adhésion, il a été montré dans plusieurs pathologies comme les maladies vasculaires ou rhumatologiques que les programmes d'exercice étaient plus efficaces lorsqu'ils étaient supervisés, *i.e.* avec la présence d'un professionnel, par rapport à une pratique réalisée en autonomie (Bäck *et al.*, 2015; Hageman *et al.*, 2018; Liang *et al.*, 2020). D'autre part, si l'exercice apparaît comme un moyen de prévention du déconditionnement musculaire, d'autres stratégies préventives telles que la nutrition pourraient être développées. Néanmoins, bien qu'il existe de nombreuses preuves dans les modèles animaux de cancer, notamment sur les effets bénéfiques d'une supplémentation en isoflavone, en leucine, en fer ou en huile de poisson pour prévenir les altérations du tissu musculaire (Hirasaka *et al.*, 2016; Peters *et al.*, 2011; H. Wang *et al.*, 2015; Wyart *et al.*, 2022), les preuves sont limitées chez l'humain.

Toutefois, avant de proposer une contremesure adaptée au déconditionnement musculaire, cette étude 1 soulève plusieurs interrogations auxquelles il est nécessaire de répondre. Effectivement, de manière surprenante, nous n'avons pas trouvé de diminution de la masse musculaire au niveau du membre inférieur bien que d'autres études aient montré une atrophie musculaire, caractérisée au niveau cellulaire par une diminution de la CSA des fibres du vaste latéral (Guigni *et al.*, 2018; Mijwel *et al.*, 2018a). Cette divergence pourrait s'expliquer par un défaut de sensibilité de la balance à impédancemétrie à

détecter des variations de masse musculaire chez des patientes présentant une rétention d'eau. Il semble alors nécessaire de clarifier la présence ou non d'une atrophie musculaire au niveau du membre inférieur en réalisant davantage d'explorations chez les patientes, notamment au niveau cellulaire. En effet, selon la localisation de la perte de masse musculaire, le type d'exercice proposé pourra être différent. De plus, nous avons retrouvé une perte de force musculaire au niveau des extenseurs du genou et l'hypothèse d'une atrophie musculaire pourrait être un mécanisme explicatif. Néanmoins, nous ne pouvons pas exclure une altération du système neuromusculaire et cette hypothèse sera explorée dans une étude de la thèse d'Elyse Hucteau (voir travail supplémentaire 3). D'autre part, nous avons retrouvé une diminution de la capacité d'exercice qui pourrait s'expliquer, en plus d'une toxicité cardiaque liée aux traitements (Bird & Swain, 2008; Jerusalem *et al.*, 2019; Kazemi-Bajestani *et al.*, 2014; Nicolazzi *et al.*, 2018), par une diminution de la quantité de mitochondries. En effet, deux études ont précédemment montré qu'il existait une diminution de la quantité de mitochondries chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie (Guigni *et al.*, 2018; Mijwel *et al.*, 2018a). Cependant, les mécanismes sous-jacents sont inconnus bien qu'il soit nécessaire de les comprendre pour proposer une contremesure spécifique et adaptée. C'est dans ce contexte que nous avons mené une deuxième étude pour investiguer les mécanismes responsables des altérations mitochondriales chez les patientes pour tenter d'expliquer, au moins en partie, la diminution de la capacité d'exercice retrouvée dans l'étude 1 et très bien admise dans cette population (Peel *et al.*, 2014).

Étude 2 : la chimiothérapie altère l'homéostasie mitochondriale du muscle squelettique chez les patientes atteintes d'un cancer du sein de stade précoce

Implication personnelle

En tant que co-investigateur principal, j'ai participé à la conception de cette étude et à la rédaction de la demande d'autorisation auprès du comité de protection des personnes. De plus, j'ai également recruté l'ensemble des patientes, assisté le médecin lors des biopsies, participé au conditionnement des échantillons musculaires et réalisé l'ensemble des expérimentations liées à la mitochondrie, sauf la respiration mitochondriale qui se déroulait en même temps que la mesure de production d'anion superoxyde. Enfin, j'ai analysé les données et participé à la rédaction de l'article dont je suis premier auteur et qui a été publié dans *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*.

Chemotherapy impairs skeletal mitochondrial homeostasis in early breast cancer patients

Joris Mallard, Elyse Hucteau, Roland Schott, Philippe Trenzsz, Carole Pflumio, Michal Kalish-Weindling, Fabrice Favret, Xavier Pivot, Thomas J Hureau, Allan F Pagano

Article publié dans *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* (IF : 12.1)

doi: 10.1002/jcsm.12991


Contexte

Si notre première étude a permis de caractériser l'évolution du déconditionnement musculaire dans le cancer du sein traité par chimiothérapie, elle a aussi confirmé la présence d'une réduction de la capacité d'exercice. Celle-ci pourrait s'expliquer, comme mentionné précédemment, par des altérations mitochondriales. En effet, il a été montré que les patientes atteintes d'un cancer du sein présentaient en fin de traitement par chimiothérapie une diminution de la quantité et de la taille des mitochondries par rapport à des sujets contrôles, aussi bien au niveau intermyofibrillaire que subsarcolemmal (Guigni *et al.*, 2018). Cette diminution du contenu mitochondrial a été confirmée la même année dans une étude longitudinale chez des patientes avec une diminution de l'activité de la citrate synthase (Mijwel *et al.*, 2018a), un marqueur de la quantité de mitochondries (Larsen *et al.*, 2012).

Sur le plan mécanistique, des études antérieures ont mis en évidence une altération de la dynamique mitochondriale, notamment au niveau de la fusion et fission mitochondriale, dans des modèles animaux (Brown *et al.*, 2017; Pin *et al.*, 2018) et chez des patients atteints de cancer gastrique (Marzetti *et al.*, 2017). Bien qu'aucune étude n'ait exploré ces mécanismes chez les patientes atteintes d'un cancer du sein, il a été constaté que la mitophagie, un autre élément clef de la dynamique mitochondriale, était probablement régulée à la baisse ou inchangée chez les patientes (Mijwel *et al.*, 2018a). Un autre mécanisme pouvant expliquer la diminution du contenu mitochondrial est une réduction de la biogenèse mitochondriale. En effet, l'analyse RNAseq réalisée sur des patientes atteintes de cancer du sein (Bohlen *et al.*, 2018; Wilson *et al.*, 2020) a montré une altération pour de multiples gènes impliqués dans l'homéostasie mitochondriale globale, dont la voie de signalisation PPAR qui contient PGC-1 α , un co-activateur transcriptionnel de la biogenèse mitochondriale. Au-delà des aspects quantitatifs, la mitochondrie pourrait aussi être affectée au niveau de sa fonction. Effectivement, deux études précliniques ont montré que la doxorubicine avait un impact négatif sur la respiration mitochondriale et entraînait une production excessive de ROS comme l'H₂O₂ (Gilliam *et al.*, 2013; Gouspillou *et al.*, 2015). Néanmoins, aucune étude clinique n'a à ce jour été conduite chez les patientes atteintes d'un cancer du sein pour confirmer cette production accrue de ROS.

C'est dans ce contexte que cette étude a été menée pour explorer l'homéostasie mitochondriale des muscles squelettiques chez les patientes atteintes d'un cancer du sein de stade précoce et traitées par chimiothérapie. À partir de biopsies musculaires réalisées avant et après le traitement par chimiothérapie (néo)adjuvante, la quantité, la fonction et la dynamique mitochondriale ont été étudiées.

Chemotherapy impairs skeletal muscle mitochondrial homeostasis in early breast cancer patients

Joris Mallard^{1,2,3}, Elyse Hucteau^{1,2,3}, Anne-Laure Charles¹, Laura Bender³, Claire Baeza³, Mathilde Pélissie³, Philippe Trenzsz³, Carole Pflumio³, Michal Kalish-Weindling³, Bernard Gény^{1,2}, Roland Schott³, Fabrice Favret^{1,2}, Xavier Pivot³, Thomas J. Hureau^{1,2} & Allan F. Pagano^{1,2*} 

¹Faculté de médecine, maïeutique et sciences de la santé, "Mitochondrie, Stress oxydant, Protection musculaire", Université de Strasbourg, Strasbourg, France; ²Faculté des Sciences du Sport, Centre Européen d'Enseignement de Recherche et d'Innovation en Physiologie de l'Exercice (CEERIPE), Université de Strasbourg, Strasbourg, France; ³Institut de Cancérologie Strasbourg Europe (ICANS), Strasbourg, France

Abstract

Background Chemotherapy is extensively used to treat breast cancer and is associated with skeletal muscle deconditioning, which is known to reduce patients' quality of life, treatment efficiency, and overall survival. To date, skeletal muscle mitochondrial alterations represent a major aspect explored in breast cancer patients; nevertheless, the cellular mechanisms remain relatively unknown. This study was dedicated to investigating overall skeletal muscle mitochondrial homeostasis in early breast cancer patients undergoing chemotherapy, including mitochondrial quantity, function, and dynamics.

Methods Women undergoing (neo)adjuvant anthracycline-cyclophosphamide and taxane-based chemotherapy participated in this study (56 ± 12 years). Two muscle biopsies were collected from the vastus lateralis muscle before the first and after the last chemotherapy administration. Mitochondrial respiratory capacity, reactive oxygen species production, and western blotting analyses were performed.

Results Among the 11 patients, we found a decrease in key markers of mitochondrial quantity, reaching −52.0% for citrate synthase protein levels ($P = 0.02$) and −38.2% for VDAC protein levels ($P = 0.04$). This mitochondrial content loss is likely explained by reduced mitochondrial biogenesis, as evidenced by a decrease in PGC-1 α 1 protein levels (−29.5%; $P = 0.04$). Mitochondrial dynamics were altered, as documented by a decrease in MFN2 protein expression (−33.4%; $P = 0.01$), a key marker of mitochondrial outer membrane fusion. Mitochondrial fission is a prerequisite for mitophagy activation, and no variation was found in either key markers of mitochondrial fission (Fis1 and DRP1) or mitophagy (Parkin, PINK1, and Mul1). Two contradictory hypotheses arise from these results: defective mitophagy, which probably increases the number of damaged and fragmented mitochondria, or a relative increase in mitophagy through elevated mitophagic potential (Parkin/VDAC ratio; +176.4%; $P < 0.02$). Despite no change in mitochondrial respiratory capacity and COX IV protein levels, we found an elevation in H₂O₂ production ($P < 0.05$ for all substrate additions) without change in antioxidant enzymes. We investigated the apoptosis pathway and found an increase in the protein expression of the apoptosis initiation marker Bax (+72.0%; $P = 0.04$), without variation in the anti-apoptotic protein Bcl-2.

Conclusions This study demonstrated major mitochondrial alterations subsequent to chemotherapy in early breast cancer patients: (i) a striking reduction in mitochondrial biogenesis, (ii) altered mitochondrial dynamics and potential mitophagy defects, (iii) exacerbated H₂O₂ production, and (iv) increased initiation of apoptosis. All of these alterations likely explain, at least in part, the high prevalence of skeletal muscle and cardiorespiratory deconditioning classically observed in breast cancer patients.

Keywords Mitochondrial biogenesis; Mitochondrial dynamics; Apoptosis; Skeletal muscle deconditioning; Mitophagy; H₂O₂

Received: 13 October 2021; Revised: 22 February 2022; Accepted: 7 March 2022

*Correspondence to: Allan F. Pagano, Faculté des Sciences du Sport, Centre Européen d'Enseignement de Recherche et d'Innovation en Physiologie de l'Exercice (CEERPE), Université de Strasbourg, 14 rue René Descartes, 67084 Strasbourg, France. Phone: 03 68 85 60 44, Email: allan.pagano@unistra.fr

Introduction

Anthracycline/cyclophosphamide-based and taxane-based chemotherapies (CT) are commonly administered as (neo)adjuvant therapies to treat patients with early breast cancer.¹ Adverse events related to treatments have been extensively reported, including skeletal muscle deconditioning.^{2,3} Resulting from a global perturbation of muscle homeostasis, skeletal muscle deconditioning is characterized by both structural and functional alterations that will translate into a decrease in muscle mass and/or force as well as an increase in muscle fatigability.^{2,4,5} Skeletal muscle mitochondrial dysfunction and overall metabolic alterations represent another important aspect of skeletal muscle deconditioning,^{6–8} a maladaptation known to reduce the quality of life and contributing to an increased overall treatment-related toxicity that ultimately leads to a higher mortality risk.^{2,9–11}

Currently, mitochondrial alterations have been established as a frequent event related to muscle deconditioning in both pre-clinical^{12–14} and clinical settings.^{15–18} In breast cancer patients, a decrease in citrate synthase activity in the vastus lateralis muscle was observed in only one longitudinal study¹⁷ after chemotherapy exposure, reflecting a reduced mitochondrial content.¹⁹ When compared with healthy subjects, breast cancer patients also displayed a substantial reduction in mitochondrial content and size, both at intermyofibrillar and subsarcolemmal levels, at the end of CT treatment.¹⁶ Mitochondrial function also seemed directly impaired by chemotherapy. Indeed, two pre-clinical studies showed the potent negative impact of doxorubicin on mitochondrial respiratory capacity.^{12,20} As a consequence of mitochondrial dysfunction, fragmented and damaged mitochondria accumulate in skeletal muscle and, in addition to being less bioenergetically efficient, produce excessive amounts of reactive oxygen species (ROS). In pre-clinical models of doxorubicin administration in rodents, hydrogen peroxide (H₂O₂) production has been unanimously reported to be elevated.^{12,14} However, there is still no clinical study available in cancer patients to confirm this increased ROS production.

Mechanistically, previous studies highlighted altered mitochondrial dynamics, with decreased fusion and increased fission, leading to mitochondrial fragmentation, as observed in pre-clinical models,^{21,22} and in gastric cancer patients.²³ Mitochondrial remodelling by fission and fusion processes is essential for the removal of damaged mitochondria through mitophagy. In breast cancer patients, a decrease in PINK1 protein expression with no variation in Parkin protein levels was

found,¹⁷ suggesting that mitophagy was likely down-regulated or unchanged. However, if this study provided interesting insights through indirect evidence,¹⁷ no study directly investigated alterations in mitochondrial dynamics in breast cancer (neither pre-clinical nor clinical models). Another mechanism potentially explaining the decrease in mitochondrial content is a reduction in mitochondrial biogenesis. Indeed, RNAseq analysis performed on breast cancer patients^{15,18} showed a clear dysregulation of multiple genes implicated in overall mitochondrial homeostasis, including a reduction in PGC-1 α , the master regulator of mitochondrial biogenesis.

In this context, skeletal muscle mitochondrial alterations appear to represent a major event implicated in muscle deconditioning and may explain the high prevalence of cardiorespiratory deconditioning classically observed in patients treated for early breast cancer.² However, very few clinical studies have been conducted to explore the underlying mechanisms. Therefore, this study was dedicated to investigating overall skeletal muscle mitochondrial homeostasis in early breast cancer patients treated by CT, including mitochondrial quantity, function, and dynamics.

Material and methods

Participants and study design

Patients from the Institut de Cancérologie Strasbourg Europe (ICANS) were included in the PROTECT-03 study (NCT04638712). All participants provided written informed consent prior to enrolment, and the study was conducted in accordance with both the Declaration of Helsinki and the ethics approval received from the national ethics committee (2020-A01266-33). The participants performed two visits, including a muscle biopsy procedure: before the first CT administration (pre-CT) and within 1 week after the last CT administration (post-CT).

The eligibility criteria included non-pregnant women of at least 18 years old with a World Health Organization performance status of 0–2 who were diagnosed with breast cancer treated by anthracycline-cyclophosphamide and taxane-based (neo)adjuvant CT. Women were excluded if they had psychiatric, musculoskeletal, or neurological disorders and if they had already received chemotherapeutic agents. All patients received steroids the day of anthracycline administration and the two following days to prevent nausea and vomiting. The patients did not receive nutritional support or anabolic therapy.

Skeletal muscle biopsies

Skeletal muscle biopsy was obtained from the left *vastus lateralis* muscle and performed at 62.5% between the anterior superior iliac spine and the lateral condyle of the femur, according to a well-established method²⁴ using a 5 mm Bergström biopsy needle under sterile conditions and local anaesthesia (1% lidocaine). Pre-CT and post-CT biopsies were obtained from the same leg and at the same time in the morning. Patients were asked not to practice rigorous exercise at least 24 h prior to each visit. They were also asked to eat the same breakfast for the two visits while sources of proteins, caffeine, and theine were prohibited. Tissue for mitochondrial respiration, H₂O₂, and superoxide anion production measurements was immediately immersed in Krebs HEPES Buffer, and tissue for western blotting analysis was immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C.

Mitochondrial respiratory capacity recording

Within 1 h post-biopsy intervention, muscle was dissected, and muscle fibres were permeabilized by incubation under stirring for 30 min at 4°C in buffer S (CaK₂EGTA 2.77 mM, K₂EGTA 7.23 mM, Na₂ATP 6.04 mM, MgCl₂ 6.56 mM, taurine 20 mM, Na₂ Phosphocreatine 12.3 mM, imidazole 20 mM, dithiothreitol 0.5 mM, K-methane sulfonate 50 mM, pH 7.0 at 4°C) with saponin (50 µg/mL). Then, muscle fibres were incubated under stirring for 10 min at 4°C in buffer S without saponin. Mitochondrial oxygen respiratory capacity was analysed using a Clark electrode in a thermostated oxygraphic chamber at 37°C with continuous stirring (Oxygraph-2k, Oroboros instruments, Innsbruck, Austria). Briefly, fibres (2–3 mg wet weight) were placed in 2 mL of buffer in an oxygraphic chamber. Then, basal oxygen consumption of the complex I (CI)-linked substrate state due to proton leakage in the presence of glutamate (10 mM) and malate (2.5 mM) was measured. Oxidative phosphorylation (OXPHOS) by CI was recorded after the addition of saturating amounts of ADP (2 mM), OXPHOS by CI&CII after the addition of succinate (25 mM), and OXPHOS by CII after the addition of rotenone (0.5 µM). Data analysis was performed in duplicate using Oxygraph-2k-DatLab software version 6.2, and results are expressed in pmol/s/mg wet weight.

H₂O₂ measurement

H₂O₂ production in saponin-skinned muscle fibres was determined with 20 µM Amplex Red (Sigma), which reacts with H₂O₂ in a 1:1 stoichiometry catalysed by horseradish peroxidase (HRP; 1 U/mL, Sigma) to yield the fluorescent compound resorufin and a molar equivalent of H₂O₂. Fluorescence was measured simultaneously with mitochondrial respiratory

capacity recording on the high-resolution oxygraph. Thus, Amplex Red (20 µM) and HRP (1 U/mL) were added to the Oroboros chambers at the beginning of the experiment. The results are expressed in pmol/s/mg wet weight.

Superoxide anion measurement

Electron paramagnetic resonance (EPR) was performed to determine the production of superoxide anions using the specific spin probe 1-hydroxy-3-methoxycarbonyl-2,2,5,5-tetramethylpyrrolidine hydrochloride (CMH). Minced muscle samples were washed twice with Krebs HEPES Buffer containing 25 µM deferoxamine and 5 µmol/L diethyldithiocarbamate (DETC) to minimize CMH auto-oxidation. Then, samples were incubated in a plate at 37°C with CMH (200 µM) for 30 min under 20 mmHg oxygen partial pressure (mimicking physiological conditions) using a gas controller (Noxygen Sciences Transfer). Supernatant (40 µL) was injected in a disposable capillary tube and placed in an E-SCAN benchtop EPR spectrometer (Bruker-Biospin, Rheinstetten, Germany) at 15°C. Detection of ROS unpaired electrons was conducted under the following EPR settings: centre field 3461.144 G, microwave power 21.85 mW, modulation amplitude 2.40 G, sweep time 5.24 s (10 scans), sweep width 60 G, and number of lag curve points 1. Tissues were finally dried at 150°C for 15 min. Superoxide anion production analysis were performed in duplicate using Bruker BioSpin WinEPR Spectrometer Software version 4.5, and results are expressed in µmol/min/mg dry weight.

Western blotting and antibodies

Muscle samples were homogenized in 10 volumes of lysis buffer [50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 150 mM NaCl, 1 mM egtazic acid, 1 mM EDTA, 100 mM NaF, 5 mM Na₃VO₄, 1% Triton X-100, 1% sodium dodecyl sulfate (SDS), 40 mM β-glycerophosphate, and protease inhibitor mixture (P8340; Sigma-Aldrich)] and centrifuged at 10 000g for 10 min (4°C), as in the studies of Pagano *et al.*²⁵ and Arc-Chagnaud *et al.*²⁶ Forty micrograms of protein extracts was loaded into 5–15% SDS-polyacrylamide gels and transferred onto nitrocellulose or PVDF membranes (iBlot 2 Dry Blotting System, Invitrogen). The membranes were blocked for 1 h at room temperature with 50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 150 mM NaCl, and 0.1% Tween 20 (TBS-T) containing 5% skimmed milk. The membranes were incubated overnight at 4°C with the following primary antibodies: anti-4-HNE (Abcam, AB46545, 1:4000), anti-Bax (Santa Cruz, Sc-7480, 1:100), anti-Bcl-2 (Santa Cruz, Sc-7382, 1:200), anti-catalase (Genetex, GTX110704, 1:1000), anti-citrate synthase (Santa Cruz, Sc-390693, 1:200), anti-caspase 3 (Thermo Fisher Scientific, MA1-91637, 1:500), anti-COX IV (Santa Cruz, Sc-376731, 1:200), anti-p-DRP1 (Ser616, Cell Signalling,

#34555, 1:1000), anti-DRP1 (Cell Signalling, #5391S, 1:1000), anti-p-eiF2 α (Ser 51, Cell Signalling, #9722S, 1:1000), anti-eiF2 α (Cell Signalling, #3398S, 1:1000), anti GPx1 (Thermo Fisher Scientific, PA5-26323, 1:1000), anti-Fis1 (Santa Cruz, Sc-376447, 1:200), anti-MNF1 (Thermo Fisher Scientific, PA5-38042, 1:1000), anti-MFN2 (Santa Cruz, Sc-100,560, 1:200), anti-Mul1 (Abcam, AB209263, 1:1000), anti-p-p38 MAPK (Thr180/Tyr182, Cell Signalling, #9211, 1:1000), anti-OPA1 (Thermo Fisher Scientific, MA5-16149, 1:1000) anti-p38 MAPK (Cell Signalling, #9212 1:1000), anti-p-p53 (Ser15, Cell Signalling, #9286S, 1:1000), anti-p53 (Cell Signalling, #2524S, 1:1000), anti-Parkin (Abcam, AB77924, 1:2000), anti-PINK1 (Thermo Fisher Scientific, PA1-16604, 1:500), PGC-1 α 1 (Millipore, AB3242, 1:1000), anti-SOD2 (Genetex, GTX116093, 1:1000), and anti-VDAC (Santa Cruz, Sc-390996, 1:200). Then, the membranes were washed three times with TBS-T and incubated with anti-rabbit (Cell Signalling, 1:4000 #7074S) or anti-mouse (Cell Signalling, 1:4000 #7076S) secondary antibodies at room temperature for 1 h. The blots were revealed using a Pierce ECL kit (Thermo Fisher Scientific) or SupraSignal Femto kit (Thermo Fisher Scientific), and proteins were visualized by enhanced chemiluminescence (iBright 1500 Imaging System, Invitrogen) and quantified with the ImageJ Software (version 1.8.0). Ponceau coloration was used as the loading control.

Carbonylated protein determination

As described by Arc-Chagnaud *et al.*,²⁶ we determined carbonylated protein levels through immunoblot detection using an 'OxyBlot' protein oxidation kit (Millipore, MA, USA) according to the manufacturer's instructions. Total protein carbonyls were visualized by enhanced chemiluminescence (iBright 1500 Imaging System, Invitrogen) and quantified with the ImageJ software (version 1.8.0). Ponceau coloration was used as the loading control.

Sample size calculation and statistical analysis

Based on the study of Mijwel *et al.*¹⁷ showing a 30% ($\pm 30\%$) decrease in mitochondrial content (through indirect measurement) in breast cancer patients after chemotherapy treatment, we predicted a similar decrease in our study. We chose VDAC protein levels as marker of mitochondrial content^{27,28} and calculated our sample size with an effect size of 1.2, an α risk of 0.05 and a 1- β risk of 0.95. We found a total of 10 patients to include, and considering a 30% dropout, we finally enrolled 13 patients.

The Shapiro–Wilk test was used to check the data normality. Appropriate parametric or non-parametric analyses were then performed (t-test or Wilcoxon tests, respectively) to compare pre-CT and post-CT variables. Statistical significance was set at $P < 0.05$, and all values are expressed as the mean \pm standard deviation (SD). Statistical analyses and graphs were made with the GraphPad Prism 6 software.

Results

Patient characteristics

A total of 25 patients were screened, and 13 patients were included in the study (Figure 1). Participants' characteristics are shown in Table 1. Two patients were unwilling to undergo the second muscle biopsy, and they were excluded from the analysis. No adverse events of special interest occurred over chemotherapy. No clinical adverse events were reported following the investigational biopsy process. All samples were assessable for biological tests as scheduled. Pre-CT, the time-point for biopsy collection was 5 ± 6 days (all biopsies were performed before the first CT administration). Post-CT, namely, after 18 ± 1 weeks of treatment by CT, the time-point collection was 7 ± 3 days.

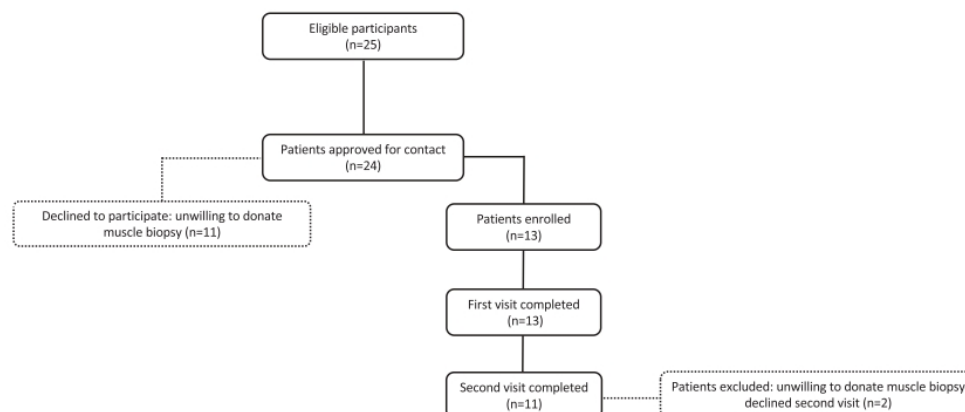


Figure 1 Flow chart of the participants.

Table 1 Participants characteristics

Participants characteristics	n = 11
Characteristic (mean ± SD)	
Age (year)	56 ± 12
Body mass pre-CT (kg)	75 ± 16
Body mass post-CT (kg)	74 ± 15
Body mass index pre-CT (kg/m ²)	29 ± 7
Body mass index post-CT (kg/m ²)	29 ± 6
WHO performance status pre-CT (n)	
0	9
1	2
WHO performance status post-CT (n)	
0	9
1	2
Tumour SBR grade (n)	
I	1
II	4
III	6
Tumour stage (n)	
1	2
2	4
3	5
Tumour type (n)	
Triple negative	3
Luminal (A/B)	5
HER2-positive	3
Treatment setting (n)	
Adjuvant	6
Neo-adjuvant	5
Chemotherapy regimen (n)	
Anthracycline-cyclophosphamide followed by paclitaxel	8
Anthracycline-cyclophosphamide followed by paclitaxel + trastuzumab	3

CT, chemotherapy; HER2, human epidermal growth factor receptor 2; SBR, Scarff-Bloom-Richardson; WHO, World Health Organization performance status.

Mitochondrial loss and reduced biogenesis

We found an important decrease in key markers of mitochondrial quantity, reaching –52% for citrate synthase protein levels ($P = 0.02$; Figure 2A) and –38% for VDAC protein levels ($P = 0.04$; Figure 2B). We therefore measured PGC-1 α 1 protein levels and found a reduction in its protein expression (–29.5%; $P = 0.04$; Figure 2C).

Mitochondrial dynamics and mitophagy

Mitochondrial dynamics were impaired, as showed by an important decrease in MFN2 protein expression (–33.4%; $P = 0.01$; Figure 3A), a key marker of mitochondrial outer membrane fusion, while MFN1 protein levels were unchanged ($P = 0.1$ and $P = 0.6$ for the 85 and 71 kDa isoforms, respectively, Figure 3B). Regarding OPA1, a marker of mitochondrial inner membrane fusion, we detected the long form (L-OPA1) and three short isoforms (S1, S2, and S3).²⁹ We only found a decrease in S3-OPA1 (–32.8%; $P = 0.04$) while the other isoforms remained stable ($P > 0.05$; Figure 3C). The mitochondrial fission process, investigated through Fis1 ($P = 0.9$; Figure 3D) and DRP1 ($P = 0.9$; Figure 3E) protein levels, remained unchanged. We also did not find any variations in Parkin ($P = 0.2$; Figure 3F) or PINK1 ($P = 0.3$; Figure 3G) protein levels, both essential proteins of the mitophagy process. Mul1, a mitochondrial E3 ubiquitin protein ligase implicated in the initiation of mitophagy, remained stable ($P = 0.6$; Figure 3H), emphasizing

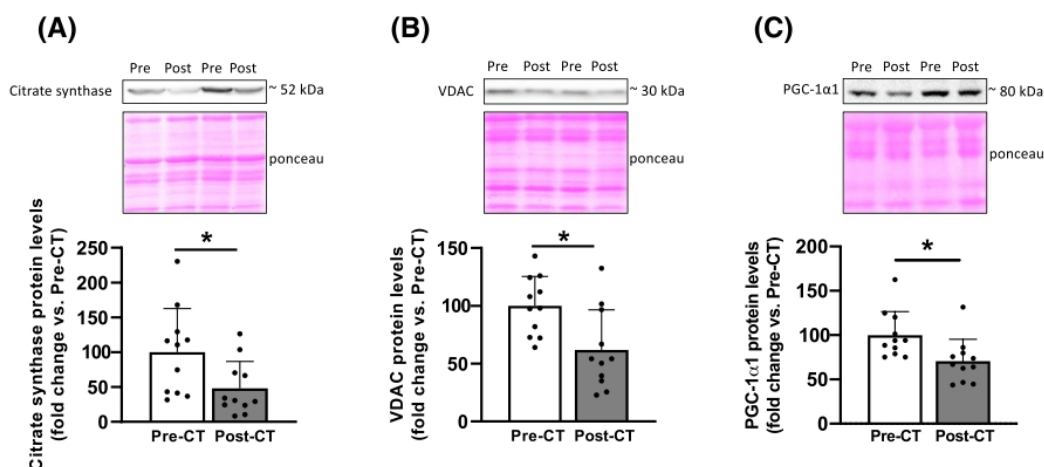


Figure 2 Changes in key markers of mitochondrial quantity and mitochondrial biogenesis. Citrate synthase (A), VDAC (B), and PGC-1 α 1 (C) protein levels from vastus lateralis muscle biopsies taken before (pre-CT) and after (post-CT) breast cancer chemotherapy (CT). Above each panel, western blots from two representative subjects are displayed. All values are expressed as the mean ± SD ($N = 11$). * $P < 0.05$.

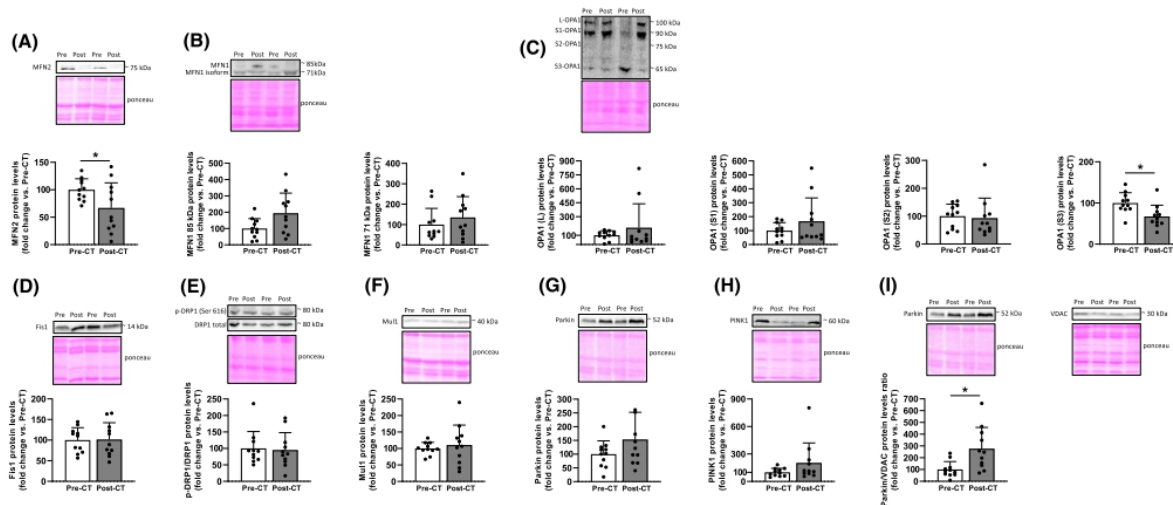


Figure 3 Changes in protein markers of mitochondrial dynamics and mitophagy. MFN2 (A); MFN1 85 and 71 kDa isoforms (B); OPA1 isoforms: L, S1, S2, and S3 (C); Fis1 (D); p-DRP1 (Ser616)/DRP1 (E); Mulin (F); Parkin (G); PINK1 (H); and Parkin/VDAC (I) protein levels from vastus lateralis muscle biopsies taken before (pre) and after (post) breast cancer chemotherapy (CT). Above each panel, western blots from two representative subjects are displayed. All values are expressed as the mean \pm SD ($N = 11$). * $P < 0.05$.

that mitophagy seemed to be unchanged in pre-CT vs. post-CT. However, we found an increase in mitophagic potential, reflected by the ratio of Parkin/VDAC (+176.4%; $P = 0.02$; Figure 3I) protein levels.³⁰

Mitochondrial respiration and reactive oxygen species production

We found no variation in the mitochondrial respiratory capacity for all complexes investigated between pre-CT and post-CT ($P > 0.05$ for all substrate additions; Figure 4A and 4B), demonstrating that O_2 consumption was not altered by CT. Similarly, we did not observe any variation in COX IV protein levels (Figure 4C). Importantly, we found a significant elevation in H_2O_2 produced at all stages of the experiment between pre-CT and post-CT (Figure 4D and 4E), with increases in H_2O_2 levels for the CI-linked substrate state (+26.8%; $P = 0.001$), OXPHOS by CI (+16.7%; $P = 0.009$), CI&CII (+23.9%; $P = 0.002$), and CII (+21.8%; $P = 0.02$). We also reported a 21% decrease in superoxide anion production ($P = 0.02$; Figure 4F), which is consistent with the H_2O_2 produced due to superoxide anion dismutation. Despite an increase in H_2O_2 production, we observed no significant change in the lipid peroxidation marker 4-HNE ($P = 0.18$; Figure 4G) or in the total carbonylated protein levels ($P = 0.68$; Figure 4H). Interestingly, the protein levels of the antioxidant enzymes SOD2 ($P = 0.8$; Figure 4I), catalase ($P = 0.4$; Figure 4J), and GPx1 ($P = 0.7$; Figure 4K) were also unchanged between pre-CT and post-CT. Additionally, H_2O_2 downstream signalling was not upregulated post-CT, as evidenced by eIF2 α

($P = 0.30$, Figure 4L), p38 MAPK ($P = 0.63$, Figure 4M), and p53 ($P = 0.21$, Figure 4N).

Induction of the apoptosis process

We investigated apoptosis, the programmed cell death process, which is mainly regulated by mitochondria.³¹ An increase in the protein levels of the proapoptotic marker Bax was found (+72.0%; $P = 0.04$; Figure 5A), whereas the protein levels of the antiapoptotic marker Bcl-2 remained stable ($P = 0.3$; Figure 5B) between pre-CT and post-CT. However, the increased active (cleaved)-caspase 3/pro-caspase 3 ratio did not reach significance (+68.8%; $P = 0.1$; Figure 5C).

Discussion

The aim of this study was to identify the cellular mechanisms involved in skeletal muscle mitochondrial homeostasis alterations in patients treated for early breast cancer through (neo)adjuvant chemotherapy. Chemotherapy treatment definitively reduced mitochondrial content and biogenesis, impaired mitochondrial dynamics and mitophagy, increased H_2O_2 production, as well as initiated apoptosis as a response to global mitochondrial homeostasis disruption (Figure 6).

Reduced mitochondrial content and biogenesis

We first confirmed that early breast cancer patients undergoing chemotherapy significantly lost mitochondria. Indeed, we

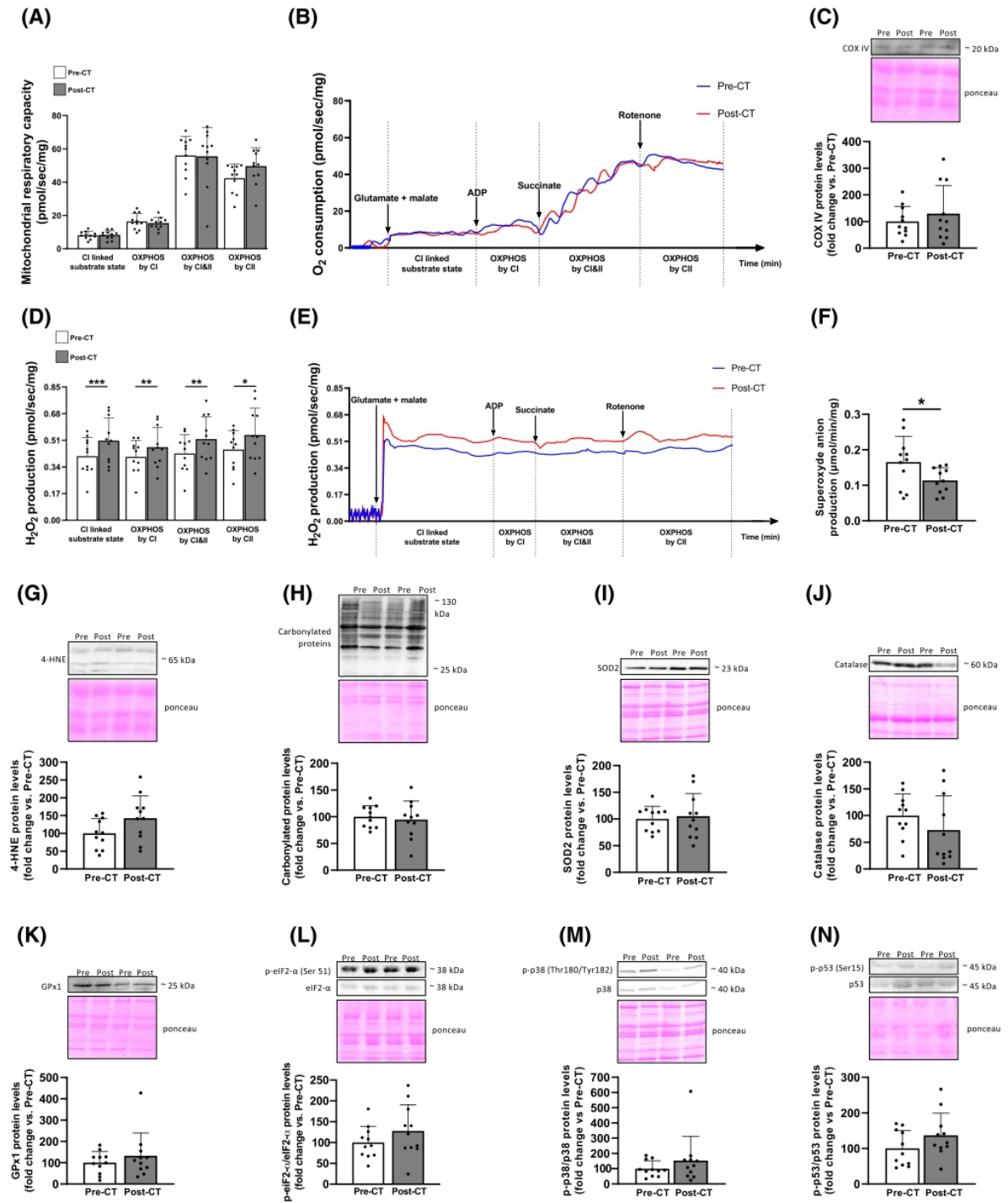


Figure 4 Changes in mitochondrial respiration, reactive oxygen species production, and redox signalling protein markers. Mitochondrial respiratory capacity quantification (A), and associated mean representative curves (B), for CI-linked substrate state, OXPHOS by CI, OXPHOS by CI&CII, and OXPHOS by CII on permeabilized fibres from vastus lateralis muscle biopsies taken before (pre) and after (post) breast cancer chemotherapy (CT). COX IV (C) protein levels in pre-CT vs. post-CT. H₂O₂ production quantification (D), and associated mean representative curves (E), for CI-linked substrate state, OXPHOS by CI, OXPHOS by CI&CII, and OXPHOS by CII in pre-CT vs. post-CT permeabilized fibres. Superoxide anion measurement (F) through electron paramagnetic resonance in pre-CT vs. post-CT minced muscle samples. 4-HNE (G), total carbonylated (H), SOD2 (I), catalase (J), GPx1 (K), p-eIF2 α (Ser51)/eIF2 α (L), p-p38 MAPK (Thr180/Tyr182)/p38 MAPK (M) and p-p53 (Ser15)/p53 (N) protein levels in pre-CT vs. post-CT. Above each panel with western blot analyses, two representative subjects are displayed. All values are expressed as the mean \pm SD ($N = 11$). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; CI: complex I; CII: complex II; OXPHOS: oxidative phosphorylation.

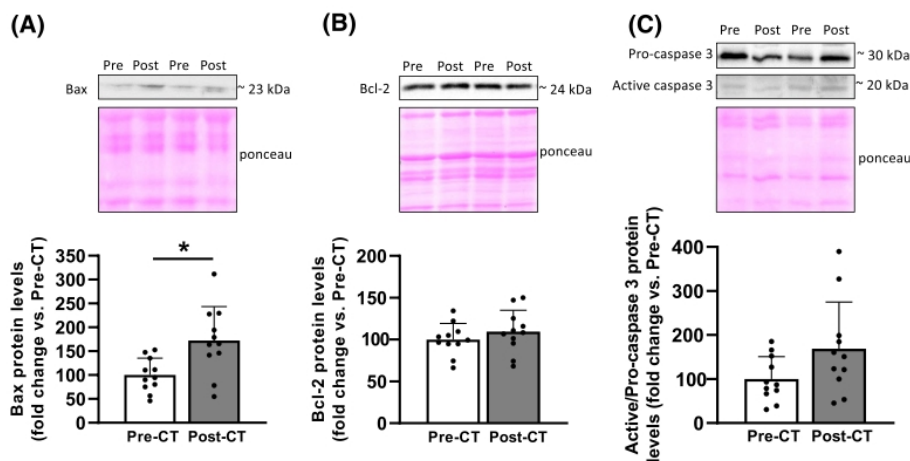


Figure 5 Changes in protein markers of apoptosis induction. Bax (A), Bcl-2 (B), and active/pro-caspase 3 (C) protein levels from vastus lateralis muscle biopsies taken before (pre) and after (post) breast cancer chemotherapy (CT). Above each panel, western blots from two representative subjects are displayed. All values are expressed as the mean \pm SD ($N = 11$). * $P < 0.05$.

found a substantial decrease in both citrate synthase and VDAC protein levels, two key markers of mitochondrial quantity.^{26,28,32} These results confirmed previous investigations showing reduced mitochondrial content in breast cancer patients at the end of their treatment compared with healthy matched controls¹⁶ and a decrease in citrate synthase activity in patients during CT.¹⁷ This mitochondrial loss appears to be a strong maladaptation consecutive to breast cancer and its treatment. Importantly, mitochondrial biogenesis (investigated through PGC-1 α 1 protein levels) was only investigated, to date, in pre-clinical models.^{21,22,28,33} In this clinical study, we documented a significant decrease in PGC-1 α 1 protein levels, suggesting that the chemotherapy-induced loss of mitochondria is explained, at least in part, by a reduction in mitochondrial biogenesis.

Impaired mitochondrial dynamics and the mitophagy paradox

The processes of mitochondrial fusion and fission form a delicate balance that results in highly dynamic structures.⁷ In the present study, we did not report any change in two

different fission markers (Fis1 and DRP1). However, we found a significant decrease in the mitochondrial fusion marker MFN2 without any change in MFN1 protein levels, documenting a dysregulation in the outer-membrane fusion process balance. If L-OPA1 protein levels were unchanged, suggesting that inner membranes fusion was preserved,³⁴ the coordination between outer and inner membranes fusion is needed to result in healthy mitochondria³⁵ and, altogether, our results suggest that the fusion process was impaired post-CT. Only documented in pre-clinical models of other cancers^{21,22} and in gastric cancer patients,²³ this impaired fusion process may indicate an overall altered mitochondrial dynamics, leading to fragmented mitochondria.^{21,33} This postulate is further supported by the reduction found in S3-OPA1 protein levels, which has been previously reported to cause mitochondrial fragmentation.³⁶ Mitophagy represents an essential process to remove fragmented and damaged mitochondria, and we found no change in the protein levels of different key markers (Parkin, PINK1, and Mu1). Consequently, two contradictory hypotheses can be suggested: defective mitophagy or a relative increase in mitophagy. The first hypothesis, most likely intuitive, is that the mitophagy process is defective in breast cancer patients

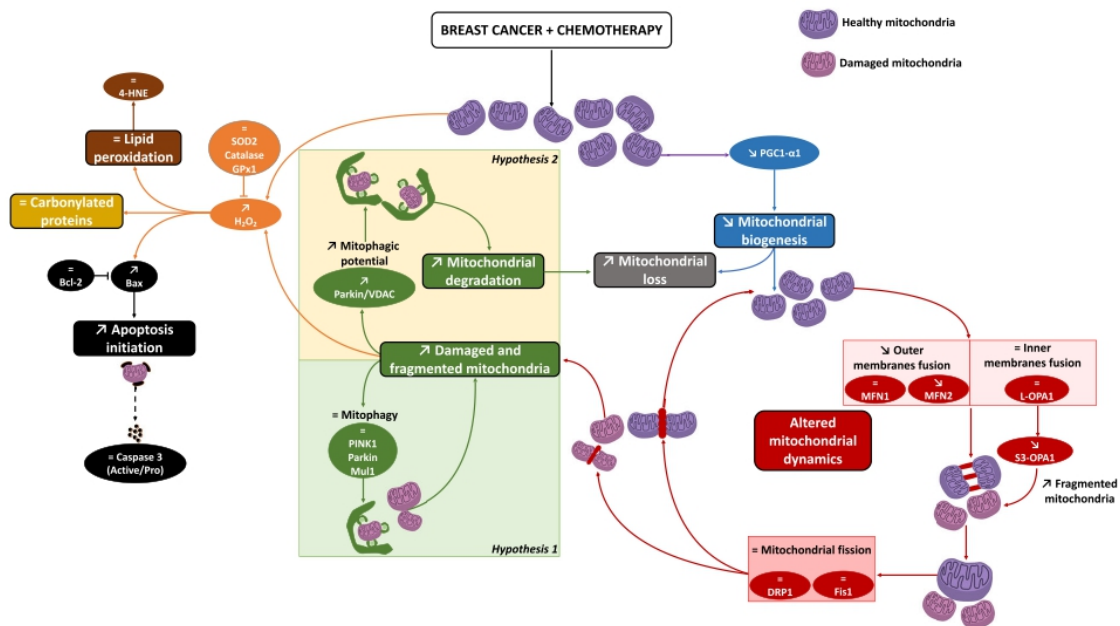


Figure 6 Summary of the mitochondrial alterations observed in early breast cancer patients undergoing chemotherapy. Through the analysis of vastus lateralis muscle biopsies taken before (pre) and after (post) breast cancer chemotherapy (CT), we identified an increased mitochondrial loss (grey box) that may be explained by a decrease in PGC-1 α 1 protein levels, reflecting a reduced mitochondrial biogenesis process (in blue). Mitochondrial dynamics (in red) were also impaired, as evidenced by a dysregulation in the fusion process, mediated by a decrease in the mitochondrial outer membrane fusion marker MFN2, without any change in MFN1 and OPA1. No change was observed in fission markers (Fis1 and DRP1), indicating a dysregulation in the mitochondrial fusion/fission balance. These alterations are likely leading to the accumulation of fragmented and damaged mitochondria (rose-coloured mitochondria), corroborated by the accumulation of S3-OPA1 isoform. As a consequence, fragmented and damaged mitochondria accumulate in skeletal muscle and produce excessive amounts of reactive oxygen species such as H₂O₂ (in orange). As mentioned above, we found no change in mitochondrial fission, a prerequisite step for the activation of mitophagy. Despite the absence of change in the expression of different mitophagy markers (Parkin, PINK1, and Mu1; in green), two contradictory hypotheses arise from these results: defective mitophagy (Hypothesis 1) or a relative increase in mitophagy (increased mitophagic potential reflected by the Parkin/VDAC ratio; Hypothesis 2). Antioxidant enzyme (in orange), lipid peroxidation (in brown), and carbonylated protein levels (in yellow) were unchanged. However, we found a large increase in Bax protein levels, a proapoptotic protein that initiates apoptosis, and no change was observed for Bcl-2, its antiapoptotic counterpart (in black). While several pre-clinical studies found increased levels in the active (cleaved)-caspase 3/pro-caspase 3 ratio, the slight increase observed in our study did not reach significance (in black dotted line).

undergoing CT. Indeed, the altered mitochondrial dynamics and the presumably increased number of damaged mitochondria should have led to the activation of the mitophagy process to remove these dysfunctional mitochondria. This hypothesis is strengthened by studies emphasizing that mitophagy is dysfunctional in cancer cachexia through a decrease in PINK1 or Parkin levels.^{12,17,23,37} In contrast, the second hypothesis is based on an increase in the relative activity of the mitophagy process. While we and others^{16,17} found a substantial decrease in mitochondrial content, the same amount of mitophagy should result in an increased mitophagic potential, reflected by the ratio between Parkin and VDAC protein levels.^{12,30,38} This ratio was dramatically increased in our study, suggesting a relative increase in mitophagy per mitochondrion. However, this ratio alone is only indicative and the localization of Parkin should be determined, considering that cytosolic p53 can sequester

Parkin and disturbs its translocation, leading to a reduced mitophagy, and promoting the accumulation of damaged mitochondria.^{39,40} These two hypotheses contradict each other and reflect the need to better understand mitochondrial dynamics and mitophagy in breast cancer patients.

Unchanged mitochondrial respiratory capacity and increased reactive oxygen species production

Since we found an alteration in mitochondrial content, biogenesis, and dynamics, we next investigated mitochondrial function and ROS production. We first measured COX IV protein levels, an essential protein implicated in the electron transport chain, and found no variation in its expression. We then explored mitochondrial respiratory capacity and also found no change from pre- to post-CT. While mitochondrial function

seems to be preserved, we found an increase in H₂O₂ production levels and expanded, in cancer patients, previous results obtained in pre-clinical models after CT administration.^{22,41,42} Although excessive ROS production is classically associated with impaired mitochondrial respiratory capacity,⁷ a significant increase in H₂O₂ without any change in mitochondrial respiratory capacity at 4 weeks of anthracycline-based CT treatment was previously shown in mice.¹² In the same study, a decrease in mitochondrial respiratory capacity was observed 12 weeks after the last CT administration, highlighting that CT may induce a long-term, and not a short-term, impairment of skeletal muscle mitochondrial respiration. Therefore, by extrapolating these results from mice to patients, the reduction in mitochondrial respiratory capacity might not develop immediately but would rather appear in the following weeks after CT completion. Further studies are needed to confirm this hypothesis and explore the extent of the severity and duration of mitochondrial dysfunction after CT.

In addition to excessive H₂O₂ production, a decrease in superoxide anion levels was observed. This could be explained by the dismutation of superoxide anion in the presence of SOD2, an important ROS scavenger. While Mijwel *et al.*¹⁷ observed an increase in SOD2 protein expression after CT, we did not find any variation in our study. This discrepancy may be explained by the later time point of post-CT biopsy collection in our study. Indeed, our post-CT measurement was performed ~7 days after the last CT to prevent any acute effect of CT, whereas Mijwel *et al.*¹⁷ performed the post-CT biopsy 24 to 72 h after CT. Together with the fact that we cannot exclude an increase in SOD2 enzymatic activity without any change in its protein levels, the biopsy time-point collection may explain the difference found in SOD2 protein levels. This may provide a reason for the absence of variation in key H₂O₂ downstream signalling pathways (eIF2 α , p38 MAPK, and p53). Indeed, these proteins were likely up-regulated and/or phosphorylated acutely after CT, as demonstrated in rodent studies with CT administration.^{33,43}

Altered oxidative balance without oxidative damage: A matter of reactive oxygen species production intensity?

Mitochondria have been identified as the main ROS generators in muscle cells,⁷ and considering the 'double-edged sword' nature of ROS, excessive levels of ROS production may induce oxidative stress and produce adverse modifications to cell components (DNA, proteins, and lipids). Under normal conditions, antioxidant defences and ROS counterbalance each other to maintain adequate oxidative balance and preserve cells against these oxidative damages. In this study, we then explored key antioxidant enzymes (catalase and GPx1) and found no increase in their protein expression.

Therefore, there is an altered oxidative balance in breast cancer patients undergoing CT, potentially resulting in an increased oxidative stress. In this context, we investigated both lipid peroxidation marker 4-HNE and carbonylated protein levels and found no change from pre-CT to post-CT. These results strongly emphasize that this increase in ROS production, 7 days after CT completion, might not be intense enough to induce oxidative stress and produce oxidative damages to proteins and lipids. However, two pre-clinical studies demonstrated increased lipid peroxidation and carbonylated proteins levels 24 and 48 h after doxorubicin administration,^{44,45} showing that oxidative damage may occur in the early stages after CT administration. Differences in ROS production intensity might represent an explanation to these discrepancies. Indeed, we found a 22% increase in H₂O₂ levels 7 days after the last CT administration while others showed larger increases (more than 100%) 2 and 24 h²⁰ as well as 48 h⁴⁵ after CT administration in rodents, indicating that ROS production intensity appears essential and might underlie the dose–response effect on oxidative stress damage. We therefore cannot exclude the possibility that breast cancer patients experienced substantial ROS production during their treatment, and consequently oxidative stress-related cellular damage, but further studies are needed in order to explore this hypothesis.

Increased apoptosis initiation as a response to global mitochondrial homeostasis disruption

We finally investigated the apoptosis pathway, a process mainly controlled by mitochondria,³¹ an organelle that we found to be substantially disrupted in breast cancer patients after CT. We found a significant increase in the protein levels of Bax, a proapoptotic protein that initiates apoptosis, and no change in Bcl-2, its antiapoptotic counterpart. Surprisingly, the initiation of apoptosis was not associated with an increase in active/pro caspase 3 protein level ratio ($P = 0.1$), which did not fully support the idea of an overactivated apoptosis pathway in breast cancer patients undergoing CT. Considering that many pre-clinical studies documented an overactivated apoptosis pathway,² further studies are needed to explore apoptosis in breast cancer patients skeletal muscle.

Conclusions

This clinical study, conducted in early breast cancer patients undergoing chemotherapy, highlighted severe skeletal muscle alterations. Specifically, this study identified four major mitochondrial alterations: (i) a striking reduction in the mitochondrial biogenesis marker PGC-1 α 1, (ii) altered

mitochondrial dynamics through weakened fusion process and potential mitophagy defects, (iii) exacerbated mitochondria-mediated H₂O₂ production, and (iv) an initiation of the apoptosis pathway. All of these alterations likely explain, at least in part, the high prevalence of cardiorespiratory deconditioning classically observed in breast cancer patients.² Therefore, the characterization of mitochondrial alterations may help researchers and clinicians identify appropriate therapeutic interventions to counteract skeletal muscle deconditioning.

Acknowledgements

We would like to thank Fabienne Goupilleau and Isabelle Georg for their help with mitochondrial respiration experiments. We also thank Thomas Briocche and Sophie Schubnel for their assistance in the investigation of carbonylated proteins. Many thanks to both the Oncobiology Platform (Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology) and Pathology and Cytology Department of the University Hospital of Strasbourg for their help with biopsy conditioning and

storage. We finally particularly acknowledge our patients for their participation. This work was supported by the Institut de Cancérologie Strasbourg Europe (ICANS) and has been published under the framework of the IdEx Unistra supported by investments in the future programme of the French government.

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Ethical guidelines statement

The authors of this manuscript certify that they have complied with ethical guidelines for authorship and publishing in the *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*.⁴⁶

References

- Denduluri N, Chavez-MacGregor M, Telli ML, Eisen A, Graff SL, Hassett MJ, et al. Selection of optimal adjuvant chemotherapy and targeted therapy for early breast cancer: ASCO clinical practice guideline focused update. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2018;**36**:2433–2443.
- Mallard J, Huceteau E, Hureau TJ, Pagano AF. Skeletal muscle deconditioning in breast cancer patients undergoing chemotherapy: current knowledge and insights from other cancers. *Front Cell Dev Biol* 2021;**9**:2550.
- Martin A, Freyssen D. Phenotypic features of cancer cachexia-related loss of skeletal muscle mass and function: lessons from human and animal studies. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2021;**12**:252–273.
- Briocche T, Pagano AF, Py G, Chopard A. Muscle wasting and aging: experimental models, fatty infiltrations, and prevention. *Mol Aspects Med* 2016;**50**:56–87.
- Chopard A, Hillock S, Jasmin BJ. Molecular events and signalling pathways involved in skeletal muscle disuse-induced atrophy and the impact of countermeasures. *J Cell Mol Med* 2009;**13**:3032–3050.
- Beltrà M, Pin F, Ballarò R, Costelli P, Penna F. Mitochondrial dysfunction in cancer cachexia: impact on muscle health and regeneration. *Cell* 2021;**10**:3150.
- Hyatt HW, Powers SK. Mitochondrial dysfunction is a common denominator linking skeletal muscle wasting due to disease, aging, and prolonged inactivity. *Antioxid Basel Switz* 2021;**10**:588.
- Kemp PR, Paul R, Hinken AC, Neil D, Russell A, Griffiths MJ. Metabolic profiling shows pre-existing mitochondrial dysfunction contributes to muscle loss in a model of ICU-acquired weakness. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2020;**11**:1321–1335.
- Mallard J, Huceteau E, Schott R, Petit T, Demarchi M, Belletier C, et al. Evolution of physical status from diagnosis to the end of first-line treatment in breast, lung, and colorectal cancer patients: the PROTECT-01 cohort study protocol. *Front Oncol* 2020;**10**:1304, <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01304>
- Caan BJ, Cespedes Feliciano EM, Prado CM, Alexeeff S, Kroenke CH, Bradshaw P, et al. Association of muscle and adiposity measured by computed tomography with survival in patients with nonmetastatic breast cancer. *JAMA Oncol* 2018;**4**:798–804.
- Baracos VE, Martin L, Korc M, Guttridge DC, Fearon KCH. Cancer-associated cachexia. *Nat Rev Dis Primers* 2018;**4**:17105.
- Gouspillou G, Scheede-Bergdahl C, Spendiff S, Vuda M, Meehan B, Mlynarski H, et al. Anthracycline-containing chemotherapy causes long-term impairment of mitochondrial respiration and increased reactive oxygen species release in skeletal muscle. *Sci Rep* 2015;**5**:8717.
- Nissinen TA, Degerman J, Räsänen M, Poikonen AR, Koskinen S, Mervaala E, et al. Systemic blockade of ACVR2B ligands prevents chemotherapy-induced muscle wasting by restoring muscle protein synthesis without affecting oxidative capacity or atrogenes. *Sci Rep* 2016;**6**:32695.
- Hiensch AE, Bolam KA, Mijwel S, Jeneson JAL, Huitema ADR, Kranenburg O, et al. Doxorubicin-induced skeletal muscle atrophy: elucidating the underlying molecular pathways. *Acta Physiol (Oxf)* 2020;**229**:e13400.
- Bohlen J, McLaughlin SL, Hazard-Jenkins H, Infante AM, Montgomery C, Davis M, et al. Dysregulation of metabolic-associated pathways in muscle of breast cancer patients: preclinical evaluation of interleukin-15 targeting fatigue. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2018;**9**:701–714.
- Guigni BA, Callahan DM, Tourville TW, Miller MS, Fiske B, Voigt T, et al. Skeletal muscle atrophy and dysfunction in breast cancer patients: role for chemotherapy-derived oxidant stress. *Am J Physiol Cell Physiol* 2018;**315**:C744–C756.
- Mijwel S, Cardinale DA, Norrbom J, Chapman M, Ivarsson N, Wengström Y, et al. Exercise training during chemotherapy preserves skeletal muscle fiber area, capillarization, and mitochondrial content in patients with breast cancer. *FASEB J* 2018;**32**:5495–5505.
- Wilson HE, Stanton DA, Rellick S, Geldenhuys W, Pistilli EE. Breast cancer-associated skeletal muscle mitochondrial dysfunction and lipid accumulation is reversed by PPAR γ . *Am J Physiol Cell Physiol* 2021;**320**(4):C577–C590.

19. Larsen S, Nielsen J, Hansen CN, Nielsen LB, Wibrand F, Stride N, et al. Biomarkers of mitochondrial content in skeletal muscle of healthy young human subjects. *J Physiol* 2012;**590**:3349–3360.
20. Gilliam LAA, Fisher-Wellman KH, Lin C-T, Maples JM, Cathey BL, Neuffer PD. The anticancer agent doxorubicin disrupts mitochondrial energy metabolism and redox balance in skeletal muscle. *Free Radic Biol Med* 2013;**65**:988–996.
21. Brown JL, Rosa-Caldwell ME, Lee DE, Blackwell TA, Brown LA, Perry RA, et al. Mitochondrial degeneration precedes the development of muscle atrophy in progression of cancer cachexia in tumour-bearing mice. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2017;**8**:926–938.
22. Pin F, Barreto R, Kitase Y, Mitra S, Erne CE, Novinger LJ, et al. Growth of ovarian cancer xenografts causes loss of muscle and bone mass: a new model for the study of cancer cachexia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2018;**9**:685–700.
23. Marzetti E, Lorenzi M, Landi F, Picca A, Rosa F, Tanganelli F, et al. Altered mitochondrial quality control signaling in muscle of old gastric cancer patients with cachexia. *Exp Gerontol* 2017;**87**:92–99.
24. Bergstrom J. Percutaneous needle biopsy of skeletal muscle in physiological and clinical research. *Scand J Clin Lab Invest* 1975;**35**:609–616.
25. Pagano AF, Brioché T, Arc-Chagnaud C, Demangel R, Chopard A, Py G. Short-term disuse promotes fatty acid infiltration into skeletal muscle. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2018;**9**:335–347.
26. Arc-Chagnaud C, Py G, Fovet T, Roumanille R, Demangel R, Pagano AF, et al. Evaluation of an antioxidant and anti-inflammatory cocktail against human hypoactivity-induced skeletal muscle deconditioning. *Front Physiol* 2020;**11**:71. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7028694/>
27. Jacob KJ, Sonjak V, Spendiff S, Hepple RT, Chevalier S, Perez A, et al. Mitochondrial content, but not function, is altered with a multimodal resistance training protocol and adequate protein intake in leucine-supplemented pre/frail women. *Front Nutr* 2021;**7**:619216.
28. Huot JR, Pin F, Narasimhan A, Novinger LJ, Keith AS, Zimmers TA, et al. ACVR2B antagonism as a countermeasure to multi-organ perturbations in metastatic colorectal cancer cachexia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2020;**11**:1779–1798.
29. Ju W-K, Lindsey JD, Angert M, Patel A, Weinreb RN. Glutamate receptor activation triggers OPA1 release and induces apoptotic cell death in ischemic rat retina. *Mol Vis* 2008;**14**:2629–2638.
30. Geisler S, Holmström KM, Skujat D, Fiesel FC, Rothfuss OC, Kahle PJ, et al. PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nat Cell Biol* 2010;**12**:119–131.
31. Estaquier J, Vallette F, Vayssière J-L, Mignotte B. The mitochondrial pathways of apoptosis. *Adv Exp Med Biol* 2012;**942**:157–183.
32. Shang H, Xia Z, Bai S, Zhang HE, Gu B, Wang R. Downhill running acutely elicits mitophagy in rat soleus muscle. *Med Sci Sports Exerc* 2019;**51**:1396–1403.
33. Barreto R, Wanig DL, Gao H, Liu Y, Zimmers TA, Bonetto A. Chemotherapy-related cachexia is associated with mitochondrial depletion and the activation of ERK1/2 and p38 MAPKs. *Oncotarget* 2016;**7**:43442–43460.
34. Lee H, Yoon Y. Mitochondrial fission and fusion. *Biochem Soc Trans* 2016;**44**:1725–1735.
35. Pernas L, Scorrano L. Mito-morphosis: mitochondrial fusion, fission, and cristae remodeling as key mediators of cellular function. *Annu Rev Physiol* 2016;**78**:505–531.
36. Wang R, Mishra P, Garbis SD, Moradian A, Sweredoski MJ, Chan DC. Identification of new OPA1 cleavage site reveals that short isoforms regulate mitochondrial fusion. *Mol Biol Cell* 2021;**32**:157–168.
37. Aversa Z, Pin F, Lucia S, Penna F, Verzaro R, Fazi M, et al. Autophagy is induced in the skeletal muscle of cachectic cancer patients. *Sci Rep* 2016;**6**:30340.
38. Gousspillou G, Sgarioto N, Kapchinsky S, Purves-Smith F, Norris B, Pion CH, et al. Increased sensitivity to mitochondrial permeability transition and myonuclear translocation of endonuclease G in atrophied muscle of physically active older humans. *FASEB J* 2014;**28**:1621–1633.
39. Koleini N, Kardami E. Autophagy and mitophagy in the context of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Oncotarget* 2017;**8**:46663–46680.
40. Hoshino A, Mita Y, Okawa Y, Ariyoshi M, Iwai-Kanai E, Ueyama T, et al. Cytosolic p53 inhibits Parkin-mediated mitophagy and promotes mitochondrial dysfunction in the mouse heart. *Nat Commun* 2013;**4**:2308.
41. Chacon-Cabrera A, Mateu-Jimenez M, Langohr K, Fermoselle C, García-Arumí E, Andreu AL, et al. Role of PARP activity in lung cancer-induced cachexia: effects on muscle oxidative stress, proteolysis, anabolic markers, and phenotype. *J Cell Physiol* 2017;**232**:3744–3761.
42. Puig-Vilanova E, Rodríguez DA, Lloreta J, Ausin P, Pascual-Guardia S, Broquetas J, et al. Oxidative stress, redox signaling pathways, and autophagy in cachectic muscles of male patients with advanced COPD and lung cancer. *Free Radic Biol Med* 2015;**79**:91–108.
43. Hulmi JJ, Nissinen TA, Räsänen M, Degerman J, Lautaoja JH, Hemanthakumar KA, et al. Prevention of chemotherapy-induced cachexia by ACVR2B ligand blocking has different effects on heart and skeletal muscle. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2018;**9**:417–432.
44. Smuder AJ, Kavazis AN, Min K, Powers SK. Exercise protects against doxorubicin-induced oxidative stress and proteolysis in skeletal muscle. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985 2011;**110**:935–942.
45. Min K, Kwon O-S, Smuder AJ, Wiggs MP, Sollanek KJ, Christou DD, et al. Increased mitochondrial emission of reactive oxygen species and calpain activation are required for doxorubicin-induced cardiac and skeletal muscle myopathy. *J Physiol* 2015;**593**:2017–2036.
46. von Haehling S, Morley JE, Coats AJS, Anker SD. Ethical guidelines for publishing in the Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle: update 2021. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2021;**12**:2259–2261.

Discussion et perspectives

L'objectif de cette étude était d'identifier les mécanismes cellulaires impliqués dans les perturbations de l'homéostasie mitochondriale des muscles squelettiques de patientes atteintes d'un cancer du sein de stade précoce et traitées par chimiothérapie. Ainsi, nous avons montré que le traitement par chimiothérapie entraînait une réduction de la quantité de mitochondries et de la biogénèse mitochondriale, altérait la dynamique mitochondriale et la mitophagie, augmentait la production d' H_2O_2 et initiait l'apoptose en réponse à la perturbation globale de l'homéostasie mitochondriale. Toutes ces altérations peuvent expliquer, au moins en partie, la diminution de la capacité d'exercice que nous avons trouvée dans l'étude 1 et qui classiquement observée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein (Peel *et al.*, 2014).

Effectivement, la diminution du contenu mitochondrial peut directement impacter la capacité d'exercice étant donné qu'il a été montré chez les mammifères que le volume mitochondrial corrélait de manière très importante avec la $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ ($R^2=0.99$) (Weibel *et al.*, 2004). De plus, il a été montré chez des patients atteints d'un cancer métastatique que les altérations mitochondriales pouvaient expliquer la baisse de la capacité d'exercice (Kunz *et al.*, 2022). Plus précisément, la réduction du nombre de mitochondries et de la biogénèse a été précédemment associée à un phénotype musculaire plus fatigable et donc à une moins bonne fonction musculaire (Brown *et al.*, 2017; VanderVeen *et al.*, 2018). De manière plus générale, il a été mis en évidence que les altérations mitochondriales contribuaient à la réduction de la vitesse de marche chez des personnes âgées (Coen *et al.*, 2013), ce qui pourrait expliquer la diminution de la distance parcourue au TDM6 dans l'étude 1.

Il semble donc pertinent de cibler les altérations mitochondriales pour pouvoir *in fine* améliorer la capacité d'exercice des patientes atteintes d'un cancer du sein. Si l'exercice en résistance est l'une des stratégies thérapeutiques les plus recommandées pour lutter contre l'atrophie musculaire (N. He & Ye, 2020), la diminution du contenu mitochondrial identifiée dans cette étude pourrait aussi être prévenue par ce type d'entraînement. En effet, l'exercice en résistance permettrait, en plus de participer au gain de masse musculaire, d'induire des adaptations mitochondriales chez des sujets non

entraînés (Egan & Zierath, 2013), comme cela a été montré chez des patients BPCO (Oberholzer *et al.*, 2022). Néanmoins, afin d'optimiser les bénéfices, ce type d'entraînement devrait être couplé à un exercice aérobie pour solliciter davantage la biogénèse et la dynamique mitochondriale, et plus généralement, la fonction mitochondriale (Memme *et al.*, 2021b). Si l'intensité optimale d'exercice est encore débattue, il semblerait qu'une intensité légère à modérée, *i.e.* au-delà de 50% de la $\dot{V}O_{2max}$, induit une augmentation de la quantité de mitochondries via une augmentation de la biogénèse mitochondriale chez des sujets non entraînés (Egan & Zierath, 2013; Menshikova *et al.*, 2007). À ce jour, une seule étude a montré, via un entraînement combiné en résistance et en aérobie, un maintien du contenu mitochondrial chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie, mais les mécanismes sous-jacents n'ont pas été complètement étudiés (Mijwel *et al.*, 2018a) (voir chapitre 3). Il semblerait alors intéressant de tester à nouveau l'effet d'un entraînement pour contrer les altérations mitochondriales induites par le traitement du cancer du sein et d'en étudier les mécanismes cellulaires associés. D'autre part, chez des patientes ne répondant pas aux stimulus induits par l'exercice ou celles chez qui l'exercice n'est pas possible en raison d'une contre-indication médicale, d'autres stratégies préventives pourraient être testées à condition de ne pas avoir d'effets concurrents avec la chimiothérapie. Il s'agirait par exemple d'une supplémentation en β -Hydroxy- β -methylbutyrate (HMB), un métabolite de la leucine, qui permet d'augmenter la biogénèse mitochondriale par une augmentation de PGC-1 α (X. He *et al.*, 2016) et donc probablement d'augmenter la quantité de mitochondries. Enfin, il est également intéressant de noter que des traitements pharmacologiques permettent d'améliorer la biogénèse mitochondriale dans des maladies impliquant la mitochondrie. Il s'agit par exemple du resveratrol, de l'AICAR, de la metoformin, du SRT1720, du bezafibrate, du thiazolidinediones et de l'azelaoyl PAF qui agissent sur l'activation de PGC-1 α soit de manière directe, soit par l'intermédiaire de Sirt1 ou AMPK (Sanchis-Gomar *et al.*, 2014).

En plus d'être réduites en nombre, les mitochondries semblaient avoir un fonctionnement altéré étant donné la production accrue de ROS que nous avons rapportée, notamment pour l' H_2O_2 . Une fois de plus, l'exercice aérobie pourrait être une contremesure efficace (de Sousa *et al.*, 2017). Effectivement, même si les études ne sont

pas unanimes, il semblerait que l'entraînement aérobic permette d'induire une augmentation des défenses antioxydantes telles que GPx1 et catalase, deux enzymes essentielles à la transformation de l' H_2O_2 en H_2O (de Sousa *et al.*, 2017). Une autre stratégie thérapeutique qui semble pertinente pour réduire la production accrue de ROS serait la supplémentation en antioxydants. Il a par exemple été montré qu'une supplémentation en MitoQ et CoQ10 pendant 6 semaines chez des hommes âgés de 50 ans permettait de réduire la production d' H_2O_2 (Pham *et al.*, 2020). Il est tout de même important de noter qu'il a aussi été rapporté qu'une supplémentation continue via un cocktail d'anti-inflammatoires et d'antioxydants ne permettait pas de prévenir le déconditionnement musculaire induit par deux mois de bed rest, mais au contraire, avait tendance à l'aggraver (Arc-Chagnaud *et al.*, 2020). Ces études soulignent donc la complexité de la balance redox et questionnent sur l'intérêt d'une supplémentation continue en antioxydants sur du long terme. Il serait certainement envisageable d'administrer des cures aiguës d'antioxydants, *e.g.* avant chaque chimiothérapie, mais il est nécessaire de i) caractériser les effets aigus d'une séance de chimiothérapie et ii) conduire des études précliniques pour déterminer l'absence d'effets concurrents entre antioxydants et chimiothérapie.

Étude 3 : développement de l'atrophie musculaire et des infiltrations graisseuses chez les patientes atteintes d'un cancer du sein de stade précoce et traitées par chimiothérapie

Implication personnelle

En tant que co-investigateur principal, j'ai participé à la conception de cette étude et à la rédaction de la demande d'autorisation auprès du comité de protection des personnes. J'ai également recruté l'ensemble des patientes, assisté le médecin lors des biopsies et conditionné les échantillons musculaires. J'ai réalisé l'ensemble des western blots, des expérimentations histologiques (sauf la coloration au Masson Trichrome) et des échographies. Enfin, j'ai analysé les données et participé à la rédaction de l'article dont je suis premier auteur et qui a été accepté pour publication dans *American Journal of Physiology – Cell Physiology*.

Development of skeletal muscle atrophy and intermuscular adipose tissue in early breast cancer patients treated with chemotherapy

Joris Mallard, Elyse Hucteau, Laura Bender, Anouk Charlot, Léa Debrut, Carole Pflumio, Philippe Trenszt, Roland Schott, Fabrice Favret, Xavier Pivot, Thomas J Hureau, Allan F Pagano

Article accepté et sous presse dans *American Journal of Physiology – Cell Physiology*
(IF : 5.3)

doi: 10.1152/ajpcell.00373.2022

Contexte

Nous avons montré dans notre étude 2 (Mallard *et al.*, 2022a) que la perturbation de l'homéostasie mitochondriale observée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie pouvait expliquer, au moins en partie, la diminution de la capacité d'exercice rapportée dans l'étude 1 et dans la littérature (Peel *et al.*, 2014). Néanmoins, d'autres facteurs comme les IMAT devraient être étudiés de par leurs conséquences sur la fonction musculaire. À ce jour, deux études transversales ont comparé des patientes atteintes d'un cancer du sein à des sujets contrôles et ont montré une quantité d'IMAT, évaluée par imagerie au niveau de la cuisse, plus importante chez les patientes (Beaudry *et al.*, 2020; Reding *et al.*, 2019). De manière intéressante, la quantité d'IMAT était négativement corrélée à la $\dot{V}O_{2max}$. Ces études soulignent donc le probable rôle des IMAT dans la réduction de la capacité d'exercice, mais il n'existe aucune donnée sur l'évolution de la quantité d'IMAT au cours du traitement. D'autre part, il a été montré dans une étude portant sur 479 patientes atteintes d'un cancer du sein que les IMAT représentaient un facteur pronostique de mortalité, indépendamment de la masse musculaire, soulignant ainsi l'importance du développement d'IMAT sur le devenir des patientes (Jeon *et al.*, 2021).

De manière surprenante, comme nous l'avons signalé dans notre revue de littérature (Mallard *et al.*, 2021) et dans le chapitre 3, nous n'avons trouvé aucune étude ayant exploré les mécanismes cellulaires impliqués dans le développement d'IMAT dans des modèles précliniques de cancer ou chez des patientes atteintes d'un cancer du sein. Si des études antérieures dans des modèles d'hypoactivité ou de dystrophie musculaire de Duchenne ont souligné le rôle important des FAPs dans le développement d'IMAT (Guilhot *et al.*, 2022; Ieronimakis *et al.*, 2016; Pagano *et al.*, 2018; Uezumi *et al.*, 2010, 2014), une compréhension des mécanismes cellulaires impliqués chez les patientes atteintes d'un cancer du sein est nécessaire pour développer des stratégies préventives afin d'améliorer, *in fine*, leur capacité d'exercice. Dans ce contexte, nous avons profité des biopsies de l'étude 2 pour étudier l'évolution de la quantité d'IMAT chez les patientes atteintes d'un cancer du sein précoce et traitées par chimiothérapie et investiguer les mécanismes cellulaires sous-jacents.

RAPID REPORT

Development of skeletal muscle atrophy and intermuscular adipose tissue in patients with early breast cancer treated with chemotherapy

Joris Mallard,^{1,2,3} Elyse Hucteau,^{1,2,3} Laura Bender,³  Anouk Charlot,¹ Léa Debrut,¹ Carole Pflumio,³ Philippe Trenz,³  Roland Schott,³  Fabrice Favret,^{1,2} Xavier Pivot,³  Thomas J. Hureau,^{1,2} and  Allan F. Pagano^{1,2}

¹Faculté de médecine, maïeutique et sciences de la santé, “Mitochondrie, Stress oxydant, Protection musculaire,” Université de Strasbourg, Strasbourg, France; ²Faculté des Sciences du Sport, Centre Européen d’Enseignement de Recherche et d’Innovation en Physiologie de l’Exercice (CEERIPE), Université de Strasbourg, Strasbourg, France; and ³Institut de Cancérologie Strasbourg Europe (ICANS), Strasbourg, France

Abstract

Chemotherapy is a common therapy to treat patients with breast cancer but also leads to skeletal muscle deconditioning. Skeletal muscle deconditioning is multifactorial and intermuscular adipose tissue (IMAT) accumulation is closely linked to muscle dysfunction. To date, there is no clinical study available investigating IMAT development through a longitudinal protocol and the underlying mechanisms remain unknown. Our study was dedicated to investigating IMAT content in patients with early breast cancer who were treated with chemotherapy and exploring the subsequent cellular mechanisms involved in its development. We included 13 women undergoing chemotherapy. Muscle biopsies and ultrasonography assessment were performed before and after chemotherapy completion. Histological and Western blotting analyses were conducted. We found a substantial increase in protein levels of three mature adipocyte markers (perilipin, +901%; adiponectin, +135%; FABP4, +321%; $P < 0.05$). These results were supported by an increase in oil red O-positive staining (+358%; $P < 0.05$). A substantial increase in PDGFR α protein levels was observed (+476%; $P < 0.05$) highlighting an increase in fibro-adipogenic progenitors (FAPs) content. The cross-sectional area of the vastus lateralis muscle fibers substantially decreased (–21%; $P < 0.01$), and muscle architecture was altered, as shown by a decrease in fascicle length (–15%; $P < 0.05$) and a decreasing trend in muscle thickness (–8%; $P = 0.08$). We demonstrated both IMAT development and muscle atrophy in patients with breast cancer who were treated with chemotherapy. FAPs, critical stem cells inducing both IMAT development and skeletal muscle atrophy, also increased, suggesting that FAPs likely play a critical role in the skeletal muscle deconditioning observed in patients with breast cancer who were treated with chemotherapy.

fatty infiltrations; fibro-adipogenic progenitors (FAPs); IMAT; muscle architecture; skeletal muscle deconditioning

INTRODUCTION

Chemotherapy is a common therapy to treat patients with early breast cancer that leads to severe off-target side effects that profoundly affect the patients’ quality of life and treatment tolerance. Among these side effects, skeletal muscle deconditioning is a significant adverse event in patients with breast cancer treated by chemotherapy and is characterized by a substantial decrease in muscle mass and force, ultimately leading to reduced exercise tolerance (1). If structural alterations such as a decrease in myofiber cross-sectional area (CSA) play a critical role in muscle atrophy, impairment in muscle quality drastically affects exercise tolerance (1, 2). In a previous study (3), we documented severe mitochondrial alterations in patients with breast cancer that may explain the decrease in cardiorespiratory fitness (4). Nevertheless, other factors should be

studied, such as intermuscular adipose tissue (IMAT) development (1, 2, 5).

IMAT is characterized by the presence of adipocytes between muscle fibers and groups (2). An exacerbated accumulation is considered as a characteristic of skeletal muscle deconditioning, leading to a decrease in muscle force and exercise tolerance (2, 5, 6). Interestingly, a preclinical study reported that even if IMAT accumulation occurs concomitantly with muscle atrophy, it has an independent impact on muscle contraction (7). To date, two cross-sectional studies compared patients with breast cancer to healthy subjects and showed, through magnetic resonance imagery, an increase in thigh IMAT content. In a recent study conducted in patients with breast cancer, it was concluded that IMAT was a significant prognostic factor of survival outcomes, highlighting the importance of IMAT development in patients’ health evolution (8).



Correspondence: A. F. Pagano (allan.pagano@unistra.fr).

Submitted 18 August 2022 / Revised 7 September 2022 / Accepted 7 September 2022

<http://www.ajpcell.org>

0363-6143/22 Copyright © 2022 The Authors. Licensed under Creative Commons Attribution CC-BY 4.0.

Published by the American Physiological Society
Downloaded from journals.physiology.org/journal/ajpcell (130.079.020.097) on October 12, 2022.



C1325

As reported in our recent review (1), we did not find any study exploring the cellular mechanisms involved in IMAT development in breast cancer. Previous studies in muscle disuse or pathological conditions consensually identified that fibro-adipogenic progenitors (FAPs) could differentiate into adipose and fibrotic tissue (9–11). FAPs represent a population of muscle-specific mesenchymal stem cells located in the interstitial space of muscle fibers (12). They are the primary cells expressing the cell surface receptor PDGFR α and trigger the development of IMAT (2, 13). In the context of patients with cancer, only one study reported that patients with cachectic pancreatic cancer displayed an increase in FAP content with exacerbated fibrotic tissue and lipids deposits (14).

To date, although patients with breast cancer experience increased IMAT content compared with healthy subjects (15, 16), there is no study investigating IMAT content through a longitudinal clinical study protocol. The underlying mechanisms remain unknown, and a more comprehensive understanding of the cellular processes is needed. Thus, our study was dedicated to investigating IMAT content in patients with early breast cancer who were treated with chemotherapy and exploring the subsequent cellular mechanisms involved in its development.

MATERIAL AND METHODS

Participants and Study Design

As fully described previously (3), 13 patients (56 \pm 12 yr; 76 \pm 15 kg) from the Institut de Cancérologie Strasbourg Europe (ICANS) were included in this study (NCT04638712). The eligibility criteria included nonpregnant women at least 18 yr old with early breast cancer treated with chemotherapy including an epirubicin-cyclophosphamide regimen followed by weekly paclitaxel. All patients provided written informed consent before enrollment, and the study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and the ethics approval received from the national ethics committee (Registration Number 2020-A01266-33). Two visits were performed: before the first chemotherapy (CT) administration (pre-CT) and within 1 wk after the last CT administration (post-CT).

Skeletal Muscle Biopsies

Skeletal muscle biopsies were obtained pre- and post-CT from the left vastus lateralis muscle using a 5-mm Bergström biopsy needle under local anesthesia (3). Tissue for histological analyses was embedded in small silicone casts filled with a cryoprotectant agent (OCT, Sakura, Finetek), immediately cooled in 2-methylbutane immersed in liquid nitrogen and stored at -80°C . Muscle tissue for Western blotting analysis was immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C .

Cryosectioning and Histological Analyses

Transverse serial cross sections (7 μm) were obtained using a cryostat maintained at -20°C . Sections were then blocked (1 \times PBS/5% normal serum/0.3% Triton X-100), and laminin primary antibody (Thermo Fisher Scientific, MA1-06100, 1:100) was diluted in dilution buffer (1 \times PBS/1% BSA/0.3% Triton X-100) and incubated overnight at 4°C . Three washes

with PBS were performed before applying secondary antibody (Abcam, ab175476, 1:1,000) at room temperature for 1 h, and ProLong diamond antifade mountant was used (Thermo Fisher Scientific, 36961). Stained slides were digitalized with the Zeiss Apotome.2 microscope with a $\times 20$ objective (Hamamatsu), and myofiber CSA was semiautomatically quantified using SMASH application on MATLAB software (v. R2021b) (17). In addition, we investigated the lipid content through oil red O staining. Only lipids outside muscle fibers were quantified (MATLAB software v. R2021b) to exclude myocellular triglyceride content and then reflect IMAT deposits. Finally, collagen area was investigated through modified Masson's trichrome staining (18) and quantified with MATLAB software (v. R2021b).

Western Blotting and Antibodies

Procedures of Western blotting were fully described previously (3). Primary antibodies from Cell Signaling were used: anti-adiponectin (No. 2789, 1:500), anti-C/EBP α (No. 8178S, 1:1,000), anti-PDGFR α (No. 3174S, 1:1,000), anti-perilipin (No. 9349S, 1:1,000); from Thermo Fisher Scientific: anti-collagen I (PA5-95137, 1:1,000), anti-FAPB4 (No. 710189; 1:500), anti-fibronectin (PA5-29578, 1:1,000); and from Santa Cruz: anti-PPAR γ (Sc-150, 1:200). Anti-rabbit (Cell Signaling, 1:4,000, No. 7074S) or anti-mouse (Cell Signaling, 1:4,000, No. 7076S) were used as secondary antibodies and protein ladder from Thermo Fisher Scientific was used (26620). Proteins were visualized by enhanced chemiluminescence (iBright 1500 Imaging System, Invitrogen) and quantified with ImageJ Software (v.1.8.0). Ponceau coloration was used as the loading control.

Ultrasonography

The muscle architecture of the right vastus lateralis muscle was investigated using an ultrasound scanner (Toshiba Aplio XV; Toshiba Medical Systems, Tochigi, Japan) with a 58-mm linear probe (PLT-805AT 8.0-MHz). Patients were lying down, and their knees were extended and relaxed. A water-soluble transmission gel was applied to the scanning head of the probe, placed perpendicular to the skin and longitudinally at 62.5% between the anterior superior iliac spine and the lateral condyle of the femur. Muscle thickness and fascicle length (through extrapolation of the visible part of the fascicle) were calculated as previously described (19). Echogenicity was used as an indirect reflection of muscle quality and IMAT content (20) and was determined based on the grayscale analysis of each pixel contained in three squares with similar length. Five different images were analyzed by two independent investigators using ImageJ software (v.1.8.0) and the mean was calculated and used for statistical analyses.

Sample Size Calculation and Statistical Analysis

As described previously (3), we conducted a sample size calculation and enrolled 13 patients. The Shapiro–Wilk test was used to test the normality of the data. Appropriate parametric or nonparametric analyses were then performed (*t* test or Wilcoxon tests, respectively) to compare pre- and post-CT variables. Statistical significance was set at $P < 0.05$, and all values are expressed as the means \pm standard

deviation (SD). Statistical analyses and graphs were made with GraphPad Prism 8 software.

RESULTS

The data collected in this study were part of the same experimental protocol as Mallard et al. (3). There is no overlap in the data presented apart from patient characteristics.

Patient Characteristics

We found no variation between the pre- and post-CT measurements for body weight (76 ± 15 kg vs. 75 ± 14 kg; $P = 0.7$). Two patients were unwilling to undergo the second muscle biopsy, and one patient declined the second ultrasonography procedure, resulting in $n = 11$ for muscle biopsy analyses and $n = 12$ for muscle architecture analyses.

IMAT, Adipogenesis, and Fibro-Adipogenic Progenitor Content

We found a substantial increase in mature adipocyte markers post-CT, reaching +901% for perilipin protein

levels ($P < 0.05$; Fig. 1A), +135% for adiponectin protein levels ($P < 0.05$; Fig. 1B), and +321% for FABP4 protein levels ($P < 0.05$; Fig. 1C). These results were supported by an increase in oil red O-positive staining quantified only between the muscle fibers (+358%; $P < 0.05$, Fig. 1D). Altogether, these results highlighted an increase in IMAT content. We therefore investigated late adipogenic transcription factors, and despite no change in PPAR γ protein levels ($P = 0.6$; Fig. 2A), an increase in C/EBP α protein levels was found (+114%; $P < 0.05$; Fig. 2B). Finally, a substantial increase in PDGFR α protein levels was observed post-CT, reaching +476% ($P < 0.05$; Fig. 2C) and highlighting an increase in FAP content following CT.

Fibrosis Markers Expression

Considering that FAPs are also able to differentiate into fibrotic tissue, we investigated key fibrosis markers. We did not report any changes in fibronectin protein levels ($P = 0.6$; Fig. 3A) or collagen I protein levels ($P = 0.5$; Fig. 3B). These results were further supported by the absence of change in collagen area ($P = 0.5$; Fig. 3C).

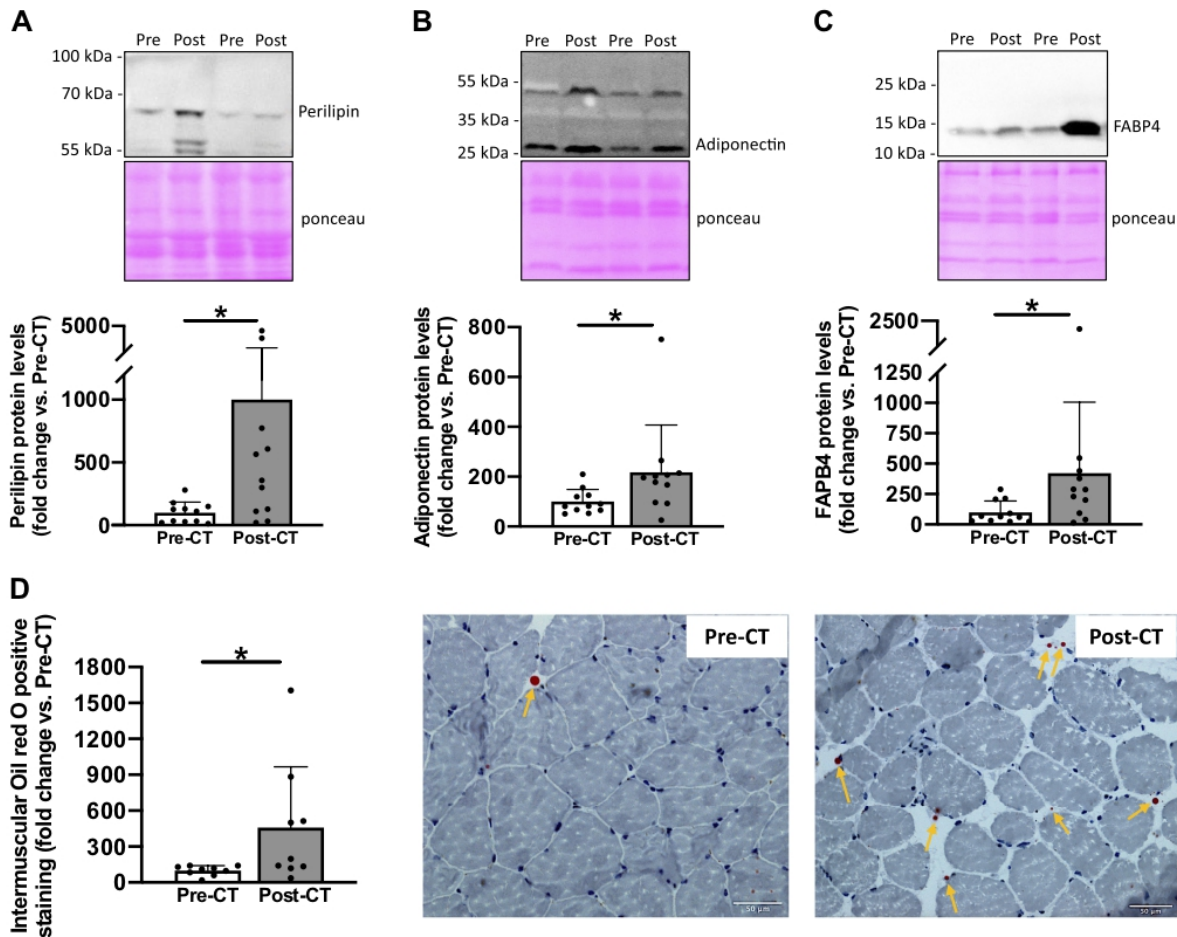


Figure 1. Changes in key markers of intermuscular adipose tissue content. Perilipin (A), adiponectin (B), and FABP4 (C) protein levels from vastus lateralis muscle biopsies taken before (Pre) and after (Post) chemotherapy (CT) ($n = 11$). For each Western blot, two representative subjects are displayed. Oil red O staining from transverse cross sections of vastus lateralis muscle biopsies pre- and post-CT and representative images of muscle transversal sections (D). Biopsy samples from two patients were of poor quality and were excluded from histological analysis ($n = 9$). All values are expressed as the means \pm SD. * $P < 0.05$.

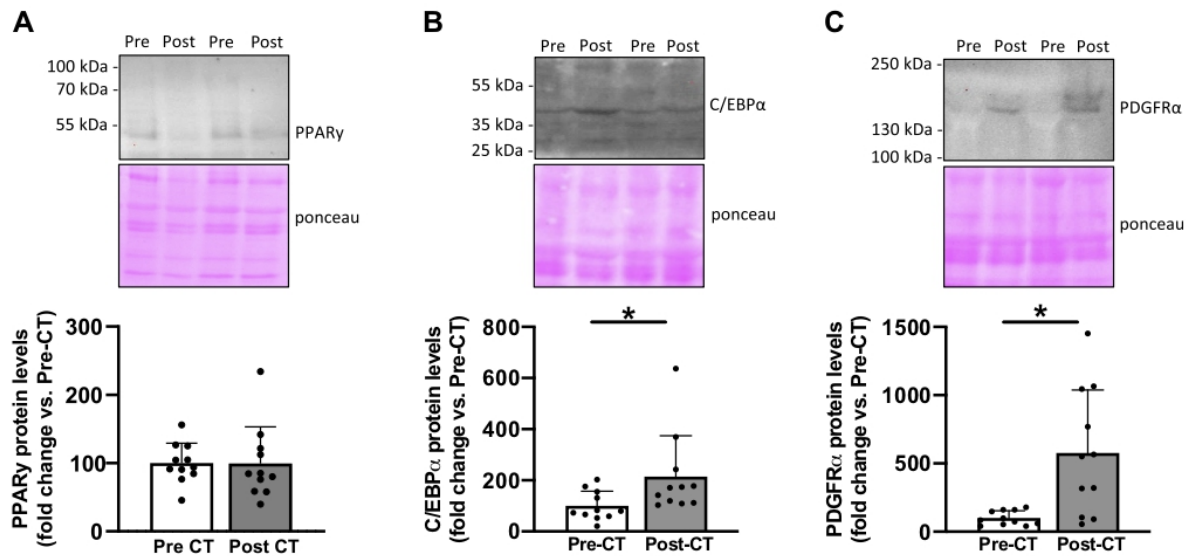


Figure 2. Changes in key markers of adipogenesis and fibro-adipogenic progenitor content. PPAR γ (A), C/EBP α (B), and PDGFR α (C) protein levels from vastus lateralis muscle biopsies taken before (Pre) and after (Post) chemotherapy (CT) ($n = 11$). For each Western blots, two representative subjects are displayed. All values are expressed as the means \pm SD. * $P < 0.05$.

Muscle Atrophy, Architecture, and Echogenicity

The CSA of the vastus lateralis muscle fibers substantially decreased post-CT ($3,830 \pm 648 \mu\text{m}^2$ vs. $3,031 \pm 508 \mu\text{m}^2$; -21% ; $P < 0.01$; Fig. 4A), showing muscle atrophy. Muscle architecture was also altered after CT treatment, as shown by a decrease in fascicle length (6.57 ± 0.62 vs. 5.61 ± 0.42 cm; -15% ; $P < 0.05$; Fig. 4B) and a decreasing trend in muscle thickness (1.85 ± 0.15 vs. 1.71 ± 0.35 cm; -8% ; $P = 0.08$; Fig. 4C). Echogenicity was not affected, suggesting no change in muscle quality over time ($P = 0.14$; Fig. 4D).

DISCUSSION

This longitudinal clinical study aimed to investigate IMAT content in patients with early breast cancer who were treated with chemotherapy (CT) and explore the subsequent cellular mechanisms. We concomitantly reported a skeletal muscle atrophy and an increase in IMAT content, probably as a consequence of FAP accumulation, as evidenced by the increase in PDGFR α protein levels. Importantly, our study design does not allow us to dissociate the specific effect of the cancer or the chemotherapy treatment, and the development of both skeletal muscle IMAT and atrophy may be the consequence of a delicate combination of physiological stressors, including the disease and its treatment.

Increase in Vastus Lateralis IMAT Content following Chemotherapy

We showed an increase in IMAT content, as evidenced by a substantial increase in protein levels of key mature adipocyte markers, such as perilipin, adiponectin, and FABP4 (5, 13). If their function is different, they represent commonly used markers of adipocytes (10, 13, 21). It should be noted that these mature adipocytes markers allow us to come to

the conclusion of increased IMAT content, but do not allow us to understand the exact role that these proteins might have in this IMAT development. The increase in IMAT content was also supported by the increase in intermuscular lipids content, as shown by the increase in oil red O positive staining quantified between the muscle fibers. Altogether, these results indicate an increase in IMAT content at the cellular level in the vastus lateralis muscle of patients with breast cancer who were treated with CT, and extend previous results from cross-sectional studies comparing patients with healthy controls (15, 16).

We next investigated key adipogenesis markers and found that C/EBP α slightly increased post-CT whereas PPAR γ remained unchanged. These results appear paradoxical as given the large increase in mature adipocyte markers post-CT, one could expect to observe an increase in adipogenesis markers. However, by drawing a parallel between the widely studied cellular mechanisms driving muscle atrophy and those of IMAT development, we could also hypothesize that adipogenesis markers might have been upregulated earlier during CT. Indeed, cellular processes triggering muscle atrophy usually return to “normal” expression values when muscle atrophy is established (22–24). In our study, following the completion of 18 wk of CT treatment, the mature adipocytes were well established without any residual upregulation of adipogenesis markers driving adipocyte differentiation. The knowledge that IMAT development mechanisms occur within days of muscle disuse further supports this interpretation (5).

IMAT Development and Fibro-Adipogenic Progenitor Accumulation: An Unwelcome Combination

Although the implication of FAPs in IMAT development was consensually admitted in various conditions (2, 9, 13, 21), we highlighted FAPs accumulation in patients with

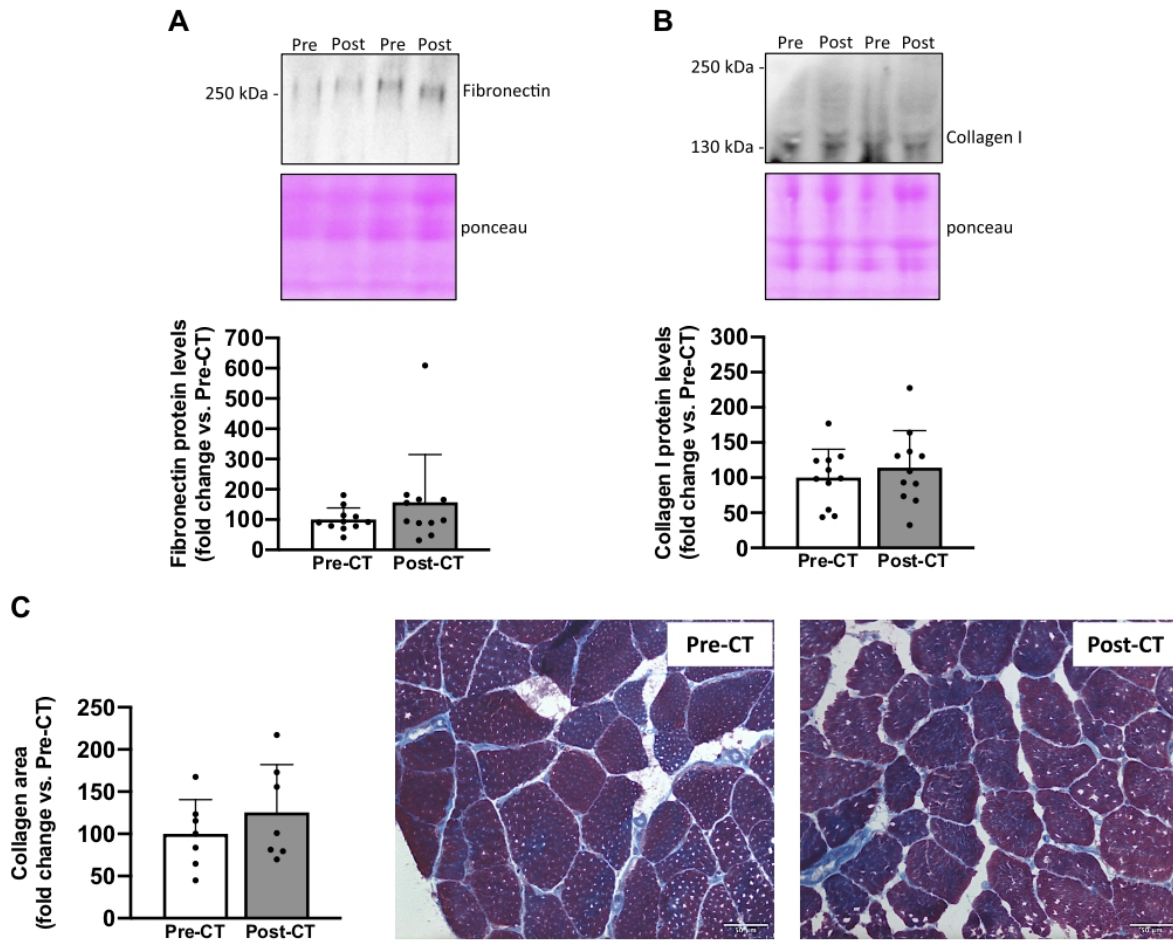


Figure 3. Changes in markers of fibrosis. Fibronectin (A) and collagen I (B) protein levels from vastus lateralis muscle biopsies taken before (Pre) and after (Post) chemotherapy (CT) ($n = 11$). For each Western blot, two representative subjects are displayed. Modified Masson's trichrome staining from transverse cross sections of vastus lateralis muscle biopsies pre- and post-CT and representative images of muscle transversal sections with collagen stained in blue (C). Biopsy samples from four patients were of poor quality and were excluded from histological analysis ($n = 7$). All values are expressed as the means \pm SD. * $P < 0.05$.

breast cancer. Indeed, we established a substantial increase in PDGFR α protein levels post-CT, and FAPs represent the primary cells expressing the cell surface receptor PDGFR α . Thus, our results may indicate that FAPs are implicated in IMAT accumulation in patients with breast cancer undergoing CT but preclinical investigations are necessary to highlight a direct mechanistic link.

Although FAPs essentially promote more fibrotic tissue formation than adipose tissue in various myopathies (10, 11, 25, 26), we did not observe changes in collagen area as well as fibrosis markers such as protein levels of fibronectin and collagen I. Our results suggest that FAPs differentiate into adipose tissue rather than fibrotic tissue in patients with breast cancer who were treated with CT. It will be of interest to determine whether CT directly promotes FAP differentiation into adipocytes, whether an unfavorable cellular microenvironment mediates it, or whether it could be a combination of both (13, 27). Isolation of FAPs from muscle biopsies would allow us to investigate, through in vitro experiments, whether the

chemotherapy, the tumor or the combination of both play a direct role in FAP differentiation into adipocytes.

Are Fibro-Adipogenic Progenitors Responsible for Both IMAT Accumulation and Muscle Atrophy?

We reported substantial muscle atrophy characterized by a decrease in the CSA of vastus lateralis muscle fibers, reaching -21% post-CT. This result is supported by previous studies showing a similar decrease in patients with breast cancer (28) and in preclinical models (29, 30). Undoubtedly, muscle atrophy appears to be a strong maladaptation consecutive to breast cancer treatment, and it negatively influences both treatment tolerance and disease-free survival (1). Using ultrasonography to investigate vastus lateralis muscle architecture, we found a significant reduction in fascicle length, combined with a trend for a decrease in muscle thickness ($P = 0.08$) post-CT. Notably, the decrease in vastus lateralis muscle fiber CSA was comparable with the considerable effect of 60 years of healthy aging (31), whereas the muscle

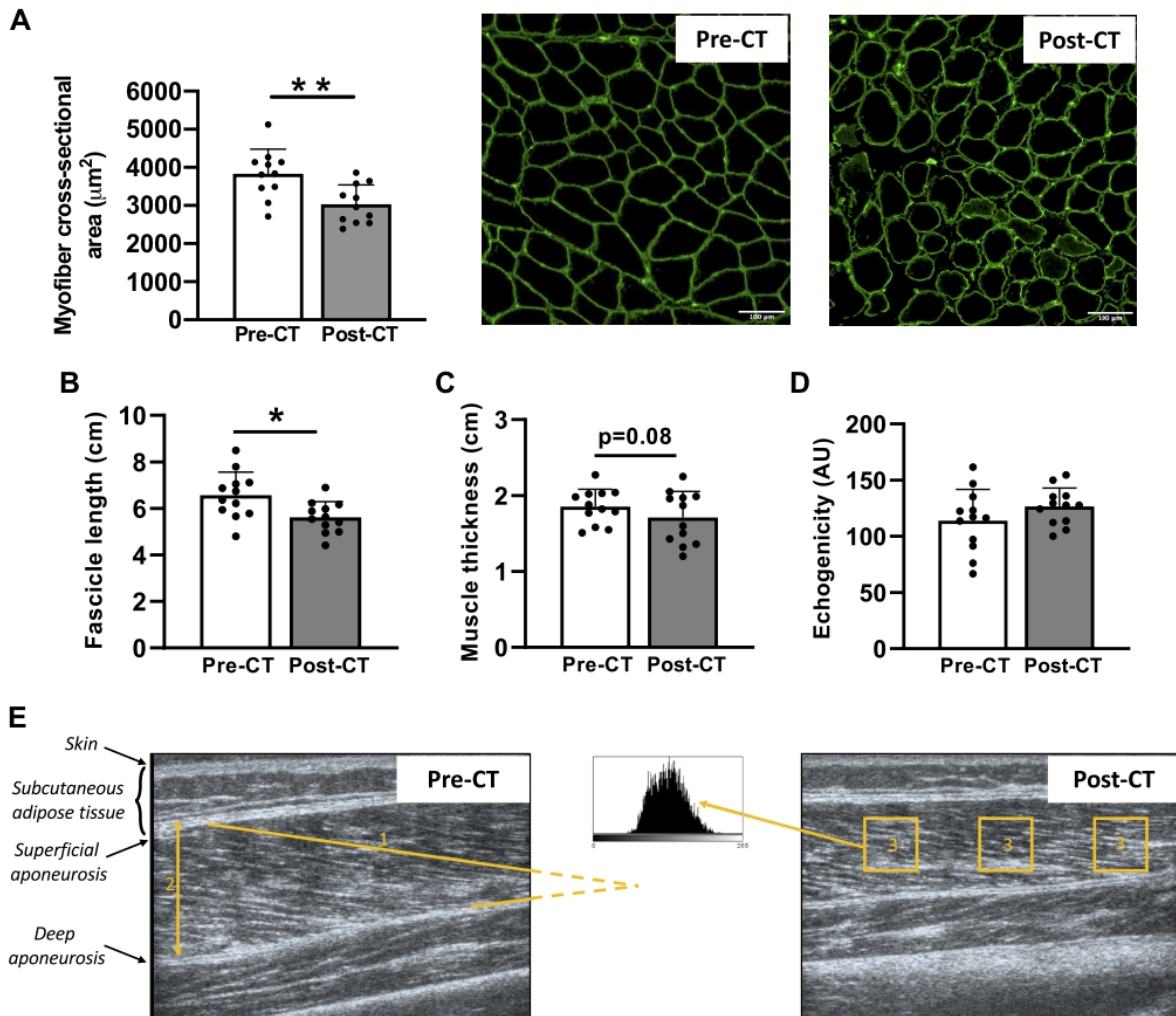


Figure 4. Changes in cross-sectional area, muscle architecture, and echogenicity of the vastus lateralis muscle. Cross-sectional area of vastus lateralis muscle fibers (A) before (Pre) and after (Post) chemotherapy (CT) and representative transversal muscle sections with laminin staining ($n = 11$). Fascicle length (B), muscle thickness (C), and echogenicity (D) of the vastus lateralis muscle obtained pre- and post-CT ($n = 12$). Representative ultrasonography images of the vastus lateralis pre- and post-CT (E) with the different parameters analyzed (1: fascicle length through extrapolation of the visible part of the fascicle; 2: muscle thickness; 3: echogenicity). All values are expressed as the means \pm SD. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

architecture reorganization was comparable with 5 wk of bedrest (32), an extreme muscle disuse model. Both comparisons strongly highlight the profound impact of breast cancer and its chemotherapy treatment on the skeletal muscle apparatus.

In this clinical study, we reported the simultaneous presence of IMAT accumulation and muscle atrophy in patients with breast cancer, as highlighted in many other human skeletal muscle deconditioning models (2, 5, 33, 34). If FAP accumulation plays a critical role in IMAT development, it may also represent an early marker of muscle atrophy. Indeed, FAPs have been recently identified to promote skeletal muscle atrophy in animal models through inflammatory pathways such as IL-6/STAT3 or IL-1 β (35, 36). Thus, if we speculate that FAPs represent a crucial initiator of skeletal muscle atrophy in patients with breast cancer, their specific

role in the cross talk between skeletal muscle atrophy and IMAT development needs to be extensively studied.

The Use of Echogenicity to Quantify IMAT Accumulation

Echogenicity, a parameter obtained noninvasively through ultrasonography, has been recommended to assess muscle quality and the indirect presence of IMAT (20). However, despite an increase in IMAT content evidenced in our cellular observations, we did not report any changes in echogenicity. This discrepancy might be explained because echogenicity was validated in the context of rotator cuff tears (20), an injury that can induce “more fat than muscle” according to the Goutallier Staging System for grading fatty infiltration (6). Even if the increase found in mature adipocyte markers is considerable in our experimental setting, our breast cancer patients did not experience the same magnitude of increase.

Therefore, echogenicity measured through ultrasonography may not be sensitive enough to detect “small” adaptations into a “large” muscle such as the vastus lateralis, and should be interpreted with caution.

Conclusions

This longitudinal clinical study showed IMAT development and skeletal muscle atrophy at the cellular level in patients with breast cancer who were treated with chemotherapy. Interestingly, skeletal muscle FAPs likely play a critical role in the skeletal muscle deconditioning observed in patients with breast cancer but further studies are required to decipher the underlying mechanisms and develop therapeutic interventions.

ACKNOWLEDGMENTS

Image acquisition and analysis was performed on the Imaging Platform of the CRBS, PIC-STRA UMS 38, Inserm, Unistra. We also thank Julien Graff from the Histology Institute of the faculty of medicine (University of Strasbourg) for performing the Masson’s trichrome staining. We specifically want to acknowledge our patients for participation.

GRANTS

This work was supported by the Institut de Cancérologie Strasbourg Europe (ICANS) and has been published under the framework of the IdEx Unistra supported by investments in the future program of the French government.

DISCLOSURES

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the authors.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

J.M., E.H., T.J.H., and A.F.P. conceived and designed research; J.M., E.H., L.B., and A.F.P. performed experiments; J.M., E.H., L.B., A.C., L.D., C.P., P.T., R.S., F.F., X.P., T.J.H., and A.F.P. analyzed data; J.M., E.H., L.B., A.C., L.D., C.P., P.T., R.S., F.F., X.P., T.J.H., and A.F.P. interpreted results of experiments; J.M. and E.H. prepared figures; J.M. and A.F.P. drafted manuscript; J.M., E.H., F.F., X.P., T.J.H., and A.F.P. edited and revised manuscript; J.M., E.H., L.B., A.C., L.D., C.P., P.T., R.S., F.F., X.P., T.J.H., and A.F.P. approved final version of manuscript.

REFERENCES

- Mallard J, Hucteau E, Hureau TJ, Pagano AF. Skeletal muscle deconditioning in breast cancer patients undergoing chemotherapy: current knowledge and insights from other cancers. *Front Cell Dev Biol* 9: 719643, 2021. doi:10.3389/fcell.2021.719643.
- Brioche T, Pagano AF, Py G, Chopard A. Muscle wasting and aging: experimental models, fatty infiltrations, and prevention. *Mol Aspects Med* 50: 56–87, 2016. doi:10.1016/j.mam.2016.04.006.
- Mallard J, Hucteau E, Charles A-L, Bender L, Baeza C, Péllissier M, Trens P, Pflumio C, Kalish-Weindling M, Gény B, Schott R, Favret F, Pivot X, Hureau TJ, Pagano AF. Chemotherapy impairs skeletal muscle mitochondrial homeostasis in early breast cancer patients. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 13: 1896–1907, 2022. doi:10.1002/jcsm.12991.
- Peel AB, Thomas SM, Dittus K, Jones LW, Lakoski SG. Cardiorespiratory fitness in breast cancer patients: a call for normative values. *J Am Heart Assoc* 3: e000432, 2014. doi:10.1161/JAHA.113.000432.

- Pagano AF, Brioche T, Arc-Chagnaud C, Demangel R, Chopard A, Py G. Short-term disuse promotes fatty acid infiltration into skeletal muscle. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 9: 335–347, 2018. doi:10.1002/jcsm.12259.
- Kuzel BR, Grindel S, Papandrea R, Ziegler D. Fatty infiltration and rotator cuff atrophy. *J Am Acad Orthop Surg* 21: 613–623, 2013. doi:10.5435/JAAOS-21-10-613.
- Biltz NK, Collins KH, Shen KC, Schwartz K, Harris CA, Meyer GA. Infiltration of intramuscular adipose tissue impairs skeletal muscle contraction. *J Physiol* 598: 2669–2683, 2020. doi:10.1113/JP279595.
- Jeon YW, Park HS, Ko Y, Sung YS, Shim BY, Suh YJ, Kim HA. Intermuscular fat density as a novel prognostic factor in breast cancer patients treated with adjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 189: 759–768, 2021. doi:10.1007/s10549-021-06322-4.
- Uezumi A, Ito T, Morikawa D, Shimizu N, Yoneda T, Segawa M, Yamaguchi M, Ogawa R, Matev MM, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S, Tsujikawa K, Tsuchida K, Yamamoto H, Fukada S. Fibrosis and adipogenesis originate from a common mesenchymal progenitor in skeletal muscle. *J Cell Sci* 124: 3654–3664, 2011. doi:10.1242/jcs.086629.
- Uezumi A, Fukada S, Yamamoto N, Ikemoto-Uezumi M, Nakatani M, Morita M, Yamaguchi A, Yamada H, Nishino I, Hamada Y, Tsuchida K. Identification and characterization of PDGFR α + mesenchymal progenitors in human skeletal muscle. *Cell Death Dis* 5: e1186, 2014. doi:10.1038/cddis.2014.161.
- Ieronimakis N, Hays A, Prasad A, Janebodin K, Duffield JS, Reyes M. PDGFR α signalling promotes fibrogenic responses in collagen-producing cells in Duchenne muscular dystrophy. *J Pathol* 240: 410–424, 2016. doi:10.1002/path.4801.
- Molina T, Fabre P, Dumont NA. Fibro-adipogenic progenitors in skeletal muscle homeostasis, regeneration and diseases. *Open Biol* 11: 210110, 2021. doi:10.1098/rsob.210110.
- Uezumi A, Fukada S, Yamamoto N, Takeda S, Tsuchida K. Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. *Nat Cell Biol* 12: 143–152, 2010. doi:10.1038/ncb2014.
- Judge SM, Deyhle MR, Neyroud D, Nosacka RL, D’Lugos AC, Cameron ME, Vohra RS, Smuder AJ, Roberts BM, Callaway CS, Underwood PW, Chrzanowski SM, Batra A, Murphy ME, Heaven JD, Walter GA, Trevino JG, Judge AR. MEF2c-dependent downregulation of Myocilin mediates cancer-induced muscle wasting and associates with cachexia in cancer patients. *Cancer Res*, 80: 1861–1874, 2020. doi:10.1158/0008-5472.CAN-19-1558.
- Beaudry RI, Kirkham AA, Thompson RB, Grenier JG, Mackey JR, Haykowsky MJ. Exercise intolerance in anthracycline-treated breast cancer survivors: the role of skeletal muscle bioenergetics, oxygenation, and composition. *Oncologist* 25: e852–e860, 2020. doi:10.1634/theoncologist.2019-0777.
- Reding KW, Brubaker P, D’Agostino R, Kitzman DW, Nicklas B, Langford D, Grodesky M, Hundley WG. Increased skeletal intermuscular fat is associated with reduced exercise capacity in cancer survivors: a cross-sectional study. *Cardiooncology* 5: 3, 2019. doi:10.1186/s40959-019-0038-5.
- Smith LR, Barton ER. SMASH—semi-automatic muscle analysis using segmentation of histology: a MATLAB application. *Skelet Muscle* 4: 21, 2014. doi:10.1186/2044-5040-4-21.
- Gabe M. *Techniques Histologiques*. Paris: Masson, 1968.
- Ando R, Taniguchi K, Saito A, Fujimiya M, Katayose M, Akima H. Validity of fascicle length estimation in the vastus lateralis and vastus intermedius using ultrasonography. *J Electromyogr Kinesiol* 24: 214–220, 2014. doi:10.1016/j.jelekin.2014.01.003.
- Park B-K, Hong S-H, Jeong W-K. Effectiveness of ultrasound in evaluation of fatty infiltration in rotator cuff muscles. *Clin Orthop Surg* 12: 76–85, 2020. doi:10.4055/cios.2020.12.176.
- Heredia JE, Mukundan L, Chen FM, Mueller AA, Deo RC, Locksley RM, Rando TA, Chawla A. Type 2 innate signals stimulate fibro/adipogenic progenitors to facilitate muscle regeneration. *Cell* 153: 376–388, 2013. doi:10.1016/j.cell.2013.02.053.
- Kawashima S, Akima H, Kuno S-Y, Gunji A, Fukunaga T. Human adductor muscles atrophy after short duration of unweighting. *Eur J Appl Physiol* 92: 602–605, 2004. doi:10.1007/s00421-004-1184-4.
- Hanson AM, Harrison BC, Young MH, Stodieck LS, Ferguson VL. Longitudinal characterization of functional, morphologic, and biochemical adaptations in mouse skeletal muscle with hindlimb

- suspension. *Muscle Nerve* 48: 393–402, 2013. doi:10.1002/mus.23753.
24. **Atherton PJ, Greenhaff PL, Phillips SM, Bodine SC, Adams CM, Lang CH.** Control of skeletal muscle atrophy in response to disuse: clinical/preclinical contentions and fallacies of evidence. *Am J Physiol Endocrinol Physiol* 311: E594–E604, 2016. doi:10.1152/ajpendo.00257.2016.
 25. **Bosnakovski D, Chan SSK, Recht OO, Hartweck LM, Gustafson CJ, Athman LL, Lowe DA, Kyba M.** Muscle pathology from stochastic low level DUX4 expression in an FSHD mouse model. *Nat Commun* 8: 550, 2017. [Erratum in *Nat Commun* 9: 856, 2018]. doi:10.1038/s41467-017-00730-1.
 26. **Hogarth MW, Defour A, Lazarski C, Gallardo E, Diaz Manera J, Partridge TA, Nagaraju K, Jaiswal JK.** Fibroadipogenic progenitors are responsible for muscle loss in limb girdle muscular dystrophy 2B. *Nat Commun* 10: 2430, 2019. doi:10.1038/s41467-019-10438-z.
 27. **Mozzetta C, Consalvi S, Saccone V, Tierney M, Diamantini A, Mitchell KJ, Marazzi G, Borsellino G, Battistini L, Sassoon D, Sacco A, Puri PL.** Fibroadipogenic progenitors mediate the ability of HDAC inhibitors to promote regeneration in dystrophic muscles of young, but not old Mdx mice. *EMBO Mol Med* 5: 626–639, 2013. doi:10.1002/emmm.201202096.
 28. **Mijwel S, Cardinale DA, Norrbom J, Chapman M, Ivarsson N, Wengström Y, Sundberg CJ, Rundqvist H.** Exercise training during chemotherapy preserves skeletal muscle fiber area, capillarization, and mitochondrial content in patients with breast cancer. *FASEB J* 32: 5495–5505, 2018. doi:10.1096/fj.201700968R.
 29. **Min K, Kwon O-S, Smuder AJ, Wiggs MP, Sollanek KJ, Christou DD, Yoo J-K, Hwang M-H, Szeto HH, Kavazis AN, Powers SK.** Increased mitochondrial emission of reactive oxygen species and calpain activation are required for doxorubicin-induced cardiac and skeletal muscle myopathy. *J Physiol* 593: 2017–2036, 2015. doi:10.1113/jphysiol.2014.286518.
 30. **Nissinen TA, Degerman J, Räsänen M, Poikonen AR, Koskinen S, Mervaala E, Pasternack A, Ritvos O, Kivelä R, Hulmi JJ.** Systemic blockade of ACVR2B ligands prevents chemotherapy-induced muscle wasting by restoring muscle protein synthesis without affecting oxidative capacity or atrogenes. *Sci Rep* 6: 32695, 2016. doi:10.1038/srep32695.
 31. **Lexell J, Taylor CC, Sjöström M.** What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *J Neurol Sci* 84: 275–294, 1988. doi:10.1016/0022-510x(88)90132-3.
 32. **de Boer MD, Seynnes OR, di Prampero PE, Pisot R, Mekjavic IB, Biolo G, Narici MV.** Effect of 5 weeks horizontal bed rest on human muscle thickness and architecture of weight bearing and non-weight bearing muscles. *Eur J Appl Physiol* 104: 401–407, 2008. doi:10.1007/s00421-008-0703-0.
 33. **Manini TM, Clark BC, Nalls MA, Goodpaster BH, Ploutz-Snyder LL, Harris TB.** Reduced physical activity increases intermuscular adipose tissue in healthy young adults. *Am J Clin Nutr* 85: 377–384, 2007. doi:10.1093/ajcn/85.2.377.
 34. **Wang H-L, Ding T-T, Lu S, Xu Y, Tian J, Hu W-F, Zhang J-Y.** Muscle mass loss and intermuscular lipid accumulation were associated with insulin resistance in patients receiving hemodialysis. *Chin Med J (Engl)* 126: 4612–4617, 2013.
 35. **Madaro L, Passafaro M, Sala D, Etxaniz U, Lugarini F, Proietti D, Alfonsi MV, Nicoletti C, Gatto S, De Bardi M, Rojas-García R, Giordani L, Marinelli S, Pagliarini V, Sette C, Sacco A, Puri PL.** Denervation-activated STAT3–IL-6 signalling in fibro-adipogenic progenitors promotes myofibres atrophy and fibrosis. *Nat Cell Biol* 20: 917–927, 2018. doi:10.1038/s41556-018-0151-y.
 36. **Parker E, Khayrullin A, Kent A, Mendhe B, Youssef El Baradie KB, Yu K, Pihkala J, Liu Y, McGee-Lawrence M, Johnson M, Chen J, Hamrick M.** Hindlimb immobilization increases IL-1 β and Cdkn2a expression in skeletal muscle fibro-adipogenic progenitor cells: a link between senescence and muscle disuse atrophy. *Front Cell Dev Biol* 9: 790437, 2021. doi:10.3389/fcell.2021.790437.

Discussion et perspectives

En utilisant des biopsies du muscle vaste latéral et grâce à la réalisation d'investigations cellulaires, cette étude clinique longitudinale a montré une augmentation de la quantité d'IMAT au niveau cellulaire, associée à une atrophie musculaire du muscle vaste latéral caractérisée par une diminution de la CSA des fibres, de la longueur des fascicules, et de l'épaisseur musculaire chez des patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie. De manière intéressante, nous avons trouvé une augmentation du niveau protéique de PDGFR α , suggérant une accumulation de FAPs. De par leur rôle dans le développement d'IMAT et de l'atrophie musculaire mis en évidence dans d'autres contextes, il semblerait que les FAPs jouent un rôle essentiel dans le déconditionnement musculaire observé chez les patientes atteintes de cancer du sein.

L'augmentation des FAPs identifiée dans notre étude offre ainsi de nouvelles perspectives pour développer des interventions thérapeutiques spécifiques afin de prévenir les altérations du muscle squelettique. Il a par exemple été montré de manière intéressante que la décorine, un inhibiteur de TGF- β , peut prévenir le développement d'IMAT, probablement par la restauration de l'apoptose des FAPs médiée par le TNF- α (Pagano *et al.*, 2019). Étant donné que la décorine est une myokine qui peut être "naturellement" sécrétée par le muscle en réponse aux contractions (Kanzleiter *et al.*, 2014), l'exercice chronique semble représenter une thérapie prometteuse pour lutter contre le développement d'IMAT (Bang *et al.*, 2018). Plus précisément, il semblerait que l'exercice en résistance permette d'augmenter la production de décorine au niveau systémique (Domin *et al.*, 2021; Kanzleiter *et al.*, 2014), indépendamment de l'intensité d'exercice (Bugera *et al.*, 2018). Il est important de noter que l'exercice en résistance précédé d'un exercice aérobic n'induit pas de changement des niveaux de décorine (Knuiman *et al.*, 2018), ce qui suggère la possibilité d'effets concurrents entre les modalités d'exercice. L'exercice aérobic seul permettrait quant à lui d'augmenter la production d'irisine par son précurseur FNDC5, une myokine qui induirait *in fine* une diminution de la quantité de tissu adipeux et de l'insulinorésistance (Leal *et al.*, 2018), une caractéristique des IMAT (Arrighi *et al.*, 2015; Sachs *et al.*, 2019). Dans l'ensemble, ces thérapies prometteuses basées sur l'exercice semblent particulièrement intéressantes pour diminuer

le contenu en FAPs et probablement prévenir l'accumulation d'IMAT chez les patientes atteintes d'un cancer du sein, qui représente un facteur pronostic de mortalité (Jeon *et al.*, 2021). Des études supplémentaires aideront les cliniciens à améliorer la prise en charge de leurs patientes.

Une autre perspective majeure de ce travail va être de comprendre pourquoi dans notre contexte, *i.e.* chez des patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie, les FAPs s'accumulent et se différencient uniquement en adipocytes sans former de tissu fibreux. L'une des hypothèses explicatives serait liée à l'expression plus ou moins marquée de SCA-1. En effet, SCA-1 est une protéine de surface exprimée par les FAPs et il a été montré dans un modèle murin de souris dystrophiques que les FAPs qui avaient une forte expression de SCA-1 étaient davantage enclin à se différencier en adipocytes (Giuliani *et al.*, 2021). Nous allons, à partir des biopsies musculaires, isoler les FAPs et réaliser plusieurs expérimentations de culture cellulaire. Nous pourrons ainsi étudier leur prolifération et leur différenciation avant et après le traitement par chimiothérapie. Nous pourrons également les mettre en co-culture avec des cellules cancéreuses afin de mesurer l'impact du cancer *per se* sur l'accumulation des FAPs ou les mettre en co-culture avec des myotubes afin d'étudier l'impact des FAPs sur l'atrophie musculaire. Ces futures études, qui feront partie de mon post-doctorat et qui sont davantage détaillées dans la partie perspective générale de cette thèse, permettront d'améliorer la compréhension des mécanismes impliqués dans la différenciation des FAPs en adipocytes dans le cancer du sein, mais aussi d'affiner les stratégies thérapeutiques pour prévenir le développement d'IMAT.

Étude 4 : perturbation du turnover protéique comme mécanisme de l'atrophie musculaire chez des patientes atteintes d'un cancer du sein de stade précoce et traitées par chimiothérapie

Implication personnelle

En tant que co-investigateur principal, j'ai participé à la conception de cette étude et à la rédaction de la demande d'autorisation auprès du comité de protection des personnes. J'ai également recruté l'ensemble des patientes, assisté le médecin lors des biopsies et conditionné les échantillons musculaires. J'ai réalisé l'ensemble des western blots et des expérimentations histologiques. Cette étude n'a pas encore fait l'objet de l'écriture d'un article dont je serai premier auteur, étant donné que les résultats seront couplés aux résultats de l'étude 5 (toujours en cours) qui vise à étudier les mécanismes aigus du déconditionnement musculaire. Un seul article couplant le modèle chronique (biopsie avant et après l'ensemble du traitement par chimiothérapie ; étude 4) et le modèle aigu (biopsie avant et 4 jours après l'administration d'une chimiothérapie ; étude 5) sera ainsi rédigé à la suite des expérimentations sur le turnover protéique. L'intérêt de coupler des mesures à long terme et à très court terme est majeur étant donné qu'il est bien admis que les processus cellulaires responsables de l'atrophie musculaire, en particulier ceux liés à la dégradation des protéines, reviennent à des niveaux de base lorsque l'atrophie musculaire est installée (Atherton *et al.*, 2016; Ferreira *et al.*, 2008; Hanson *et al.*, 2013; Kawanishi *et al.*, 2018). L'ensemble des résultats présentés ci-dessous est basé sur les mêmes principes méthodologiques décrits dans les articles précédents.

Contexte

Nous avons confirmé dans l'étude 3 la présence d'une atrophie musculaire chez les patientes atteintes d'un cancer du sein exposées à un traitement par chimiothérapie. Néanmoins, nous n'avons pas étudié la typologie musculaire alors que Mijwel *et al.*, (2018a) avaient rapporté un probable shift phénotypique, caractérisé par une diminution de la proportion de fibres de type I. Les auteurs avaient finalement conclu que l'atrophie était liée à une inactivité physique, bien qu'on ne puisse pas exclure que la chimiothérapie agisse préférentiellement sur les fibres de type I. Dans notre cas, les patientes ne présentaient pas de diminution du niveau d'activité physique dans l'étude 1. La caractérisation de l'atrophie musculaire par types de fibres est donc une étape nécessaire afin d'affiner la mise en place de stratégies préventives étant donné que les fibres de type I et II ne répondent pas au même stimulus.

D'autre part, si nous avons discuté du potentiel rôle des FAPs dans l'atrophie musculaire (Mallard *et al.*, 2022b), cela peut impliquer une altération du turnover protéique, *i.e.* la balance entre la synthèse et la dégradation des protéines. Nous avons rapporté dans notre revue de littérature d'importantes divergences sur l'étude du turnover protéique dans le cancer du sein (Mallard *et al.*, 2021). Comme mentionné dans le chapitre 3, quatre études ont étudié les mécanismes du turnover protéique chez les patientes atteintes d'un cancer du sein (Bohlen *et al.*, 2018; Mijwel *et al.*, 2018a; Møller *et al.*, 2019; Wilson *et al.*, 2020). Si deux publications de la même équipe de recherche ont montré, par une analyse RNAseq sur le muscle pectoral, une surexpression des gènes liés au système ubiquitine-protéasome et une expression réduite des gènes liés aux ribosomes (Bohlen *et al.*, 2018; Wilson *et al.*, 2020), Mijwel *et al.*, (2018a) n'ont en revanche pas trouvé de changement dans les mécanismes liés à la dégradation des protéines dans le muscle vaste latéral. Enfin, l'étude menée par Møller *et al.*, (2019) a également investigué les protéines impliquées dans le turnover protéique dans le muscle vaste latéral et de manière très surprenante, ils ont constaté une diminution de l'expression protéique des E3 ligases MAFbx et MuRF1 ainsi qu'une augmentation de l'expression de p62 et de la phosphorylation d'Ulk1 (Ser757), suggérant respectivement une diminution de l'activité du système ubiquitine-protéasome et de l'autophagie. Cependant, il est important de

souligner que 9 des 10 patients inclus dans cette étude ont effectué la biopsie initiale après au moins un cycle de chimiothérapie composée d'épirubicine et de doxorubicine (Lønbro *et al.*, 2017). Compte tenu de l'agressivité des traitements par chimiothérapie, il s'agit d'un biais méthodologique important qui a probablement modifié les mesures "de base" et, par conséquent, les conclusions.

À partir des biopsies musculaires réalisées chez les patientes dans les études précédentes, nous avons i) étudié la typologie des fibres musculaires et ii) exploré les mécanismes du turnover protéique en étudiant la synthèse des protéines, l'autophagie et le système ubiquitine-protéasome.

Résultats

Niveau d'activité physique

Aucun changement de niveau d'activité physique n'a été retrouvé post-chimiothérapie (Figure 1), que ce soit pour le niveau d'activité physique total ($p=0.23$), les déplacements ($p=0.46$), les activités physiques de loisirs ($p=0.13$) ou les comportements sédentaires ($p=0.18$).

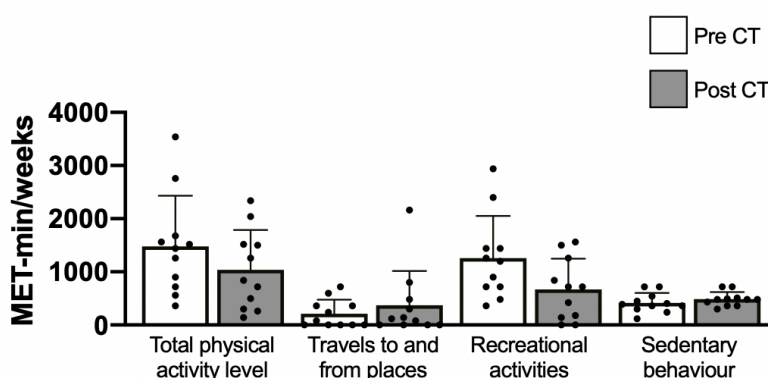


Figure 1 : changements de niveau d'activité physique.

Niveau d'activité physique total, niveau d'activité physique lié aux déplacements, niveau d'activité physique lié aux activités de loisirs et comportements sédentaires avant (Pre) et après (Post) la chimiothérapie du cancer du sein (CT), évalués par le questionnaire GPAQ version 2. Les activités physiques liées au travail ont été exclues étant donné que toutes les patientes étaient en arrêt ou à la retraite au moment de l'étude. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type ($N=11$). * $p<0.05$

Typologies des fibres musculaires et surface de section

Une diminution similaire de la CSA des fibres de type I ($4370 \pm 972 \mu\text{m}^2$ vs. $3585 \pm 910 \mu\text{m}^2$; -18% ; $p<0.05$; Figure 2A et 2B) et des fibres de type IIa ($3322 \pm 796 \mu\text{m}^2$ vs. $2588 \pm 531 \mu\text{m}^2$; -22% ; $p<0.05$; Figure 2A et 2B) a été retrouvée en fin de traitement, soulignant que l'atrophie musculaire est similaire pour tous les types de fibres musculaires. La proportion des fibres de type I ($43 \pm 9\%$) et de type IIa ($57 \pm 9\%$) n'a pas changé au cours du traitement et indique ainsi une absence de shift phénotypique (Figure 2C). Enfin, aucune fibre de type IIx n'a été retrouvée.

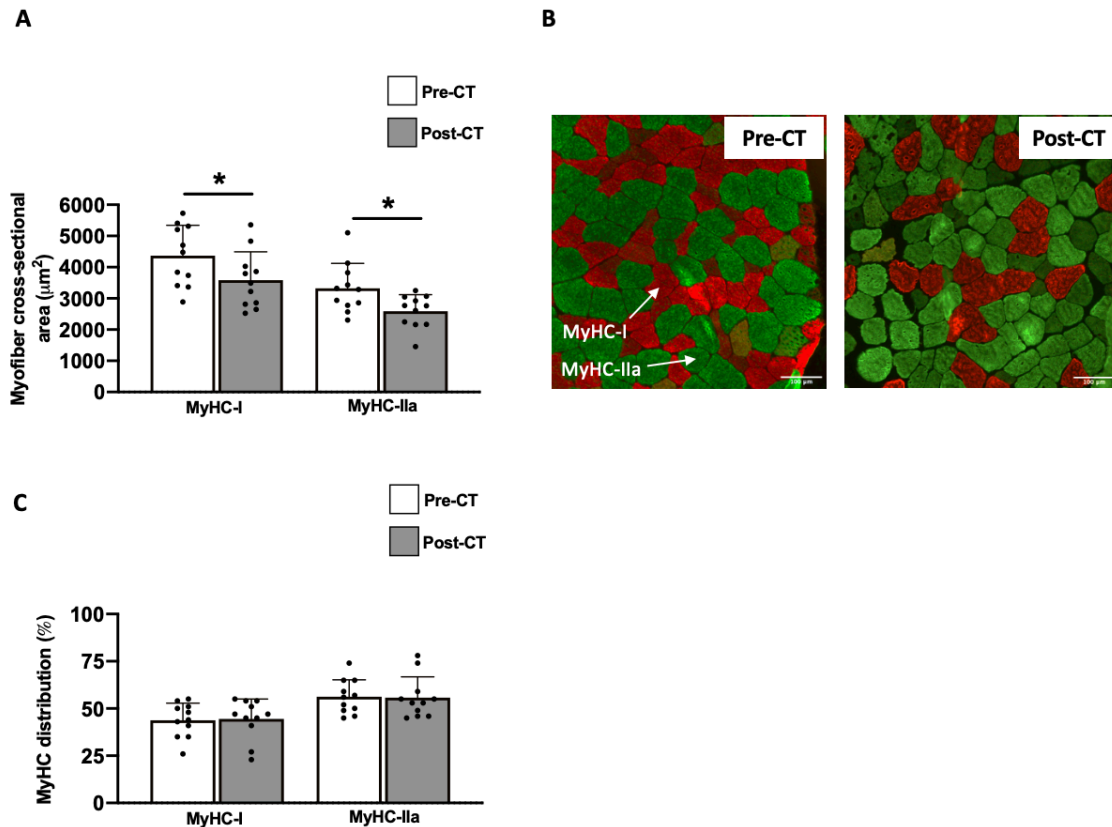


Figure 2 : changements de la CSA par types de fibres musculaires et distribution. CSA par types de fibres musculaires obtenues par biopsies musculaires du vaste latéral avant (Pre) et après (Post) la chimiothérapie du cancer du sein (CT) (A). Deux images représentatives avec un marquage immunofluorescent rouge pour les MyHC-I et vert pour les MyHC-IIa (B). Distribution des fibres de type I et IIa pré- et post-CT (C). Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type (N=11). * $p < 0.05$

Facteurs de transcription et facteurs de croissance

Nous avons ensuite étudié les facteurs de transcription impliqués dans la protéolyse et nous avons constaté une augmentation du niveau protéique de NF- κ B (+163% ; $p=0.04$; Figure 3A) post-chimiothérapie, ainsi qu'une diminution du ratio p-FoxO3/FoxO3-total, dont la phosphorylation sur la sérine 253 a pour but d'inhiber l'activité transcriptionnelle de FoxO3 (-43% ; $p=0.01$; Figure 3B). Aucun changement pour les niveaux de protéines de myostatine ($p=0.3$; Figure 3C) et de follistatine n'a été rapporté ($p=0.6$; Figures 3D).

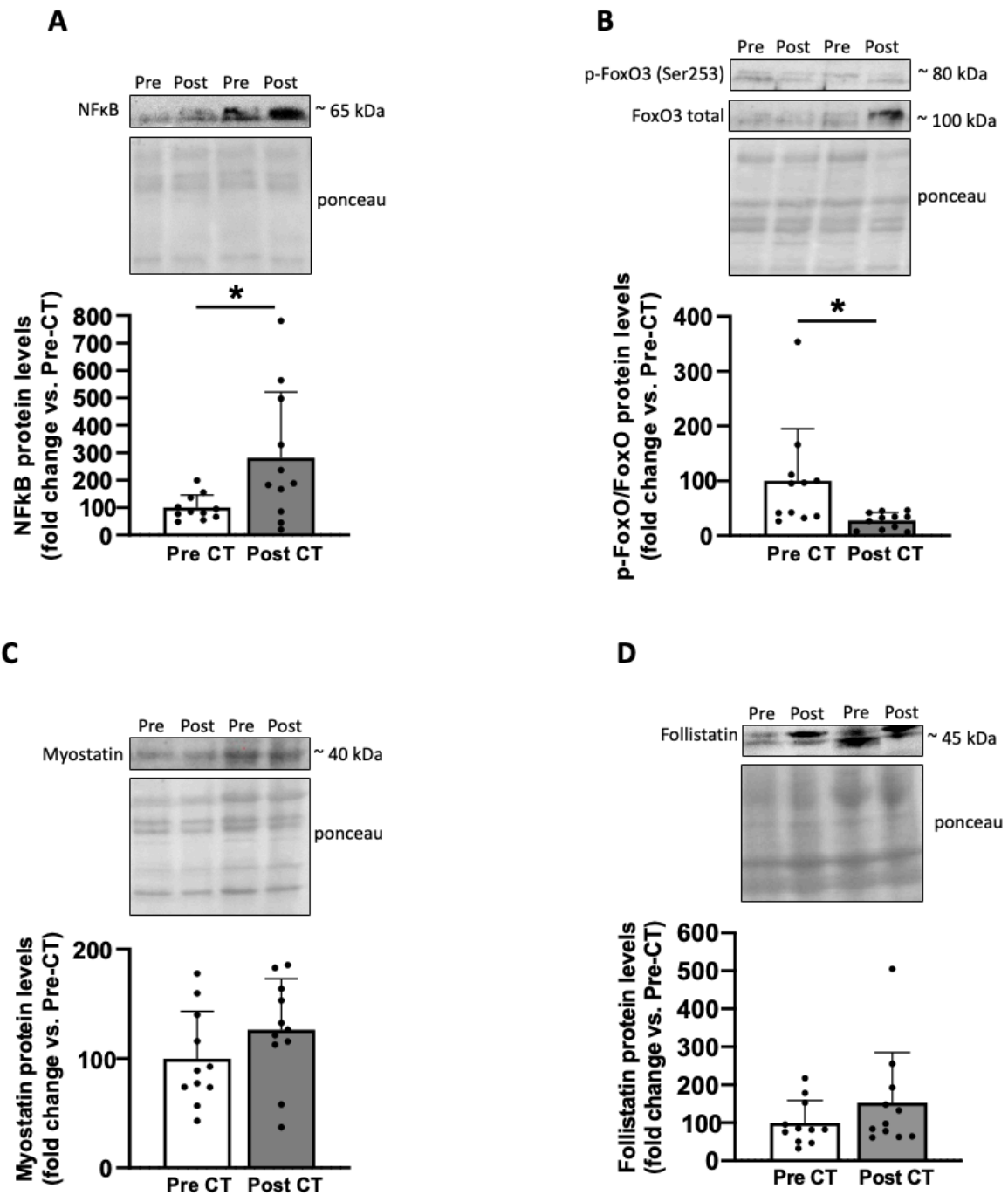


Figure 3 : Changements des niveaux de protéines de facteurs de transcription de la protéolyse et des facteurs de croissance.

Niveaux de protéines de NF-κB (A), p-FoxO3 (Ser 253)/FoxO3 (B), myostatine (C) et follistatine (D) obtenus à partir des biopsies du muscle vaste latéral réalisées avant (Pre) et après (Post) la chimiothérapie du cancer du sein (CT). Pour chaque western blot, deux sujets représentatifs ont été affichés. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne ± écart-type (N=11). * $p < 0.05$

Autophagie

Concernant nos résultats sur l'autophagie, une augmentation de l'expression protéique d'Atg7 post-chimiothérapie a été rapportée (+141% ; $p=0.04$; Figure 4A). Néanmoins, malgré cette augmentation, nous n'avons pas retrouvé de changement dans le ratio des niveaux de protéines LC3B-II/LC3B-I ($p=0.9$; Figure 4B). Enfin, les niveaux de protéines de p62 ont augmenté post-chimiothérapie (+122% ; $p=0.03$; Figure 4C).

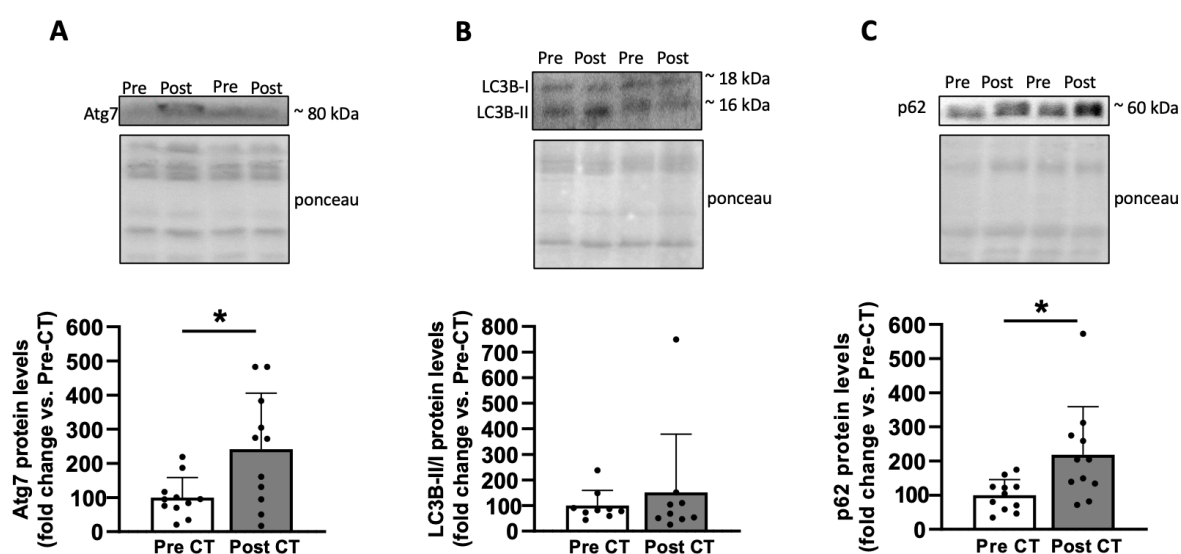


Figure 4 : Changements des niveaux de protéines liées à l'autophagie.

Niveaux de protéines d'Atg7 (A), LC3B-II/LC3B-I (B) et p62 (C) obtenus à partir des biopsies du muscle vaste latéral réalisées avant (Pre) et après (Post) la chimiothérapie du cancer du sein (CT). Pour chaque western blot, deux sujets représentatifs ont été affichés. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type ($N=11$). * $p<0.05$

Système ubiquitine-protéasome

L'étude du système ubiquitine-protéasome a révélé une augmentation des niveaux de protéines de MuRF1 post-chimiothérapie (+129% ; $p=0.03$; Figure 5A), sans changement pour les expressions protéiques de MAFbx ($p=0.8$; Figure 5B) et du profil d'ubiquitination totale ($p=0.8$; Figure 5C).

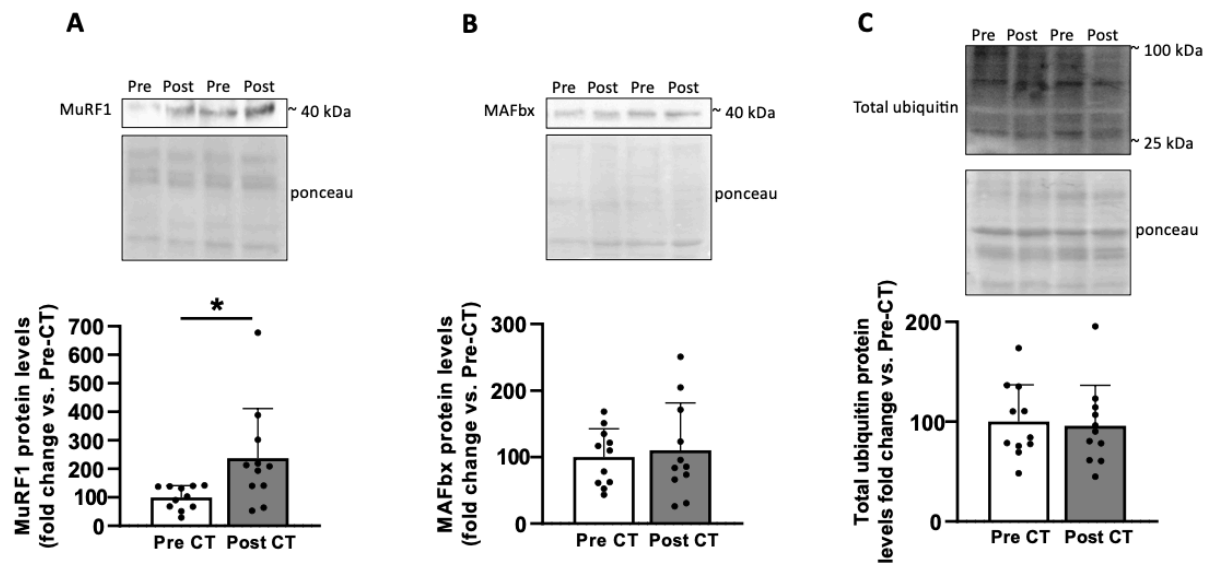


Figure 5 : Changements des niveaux de protéines liées au système ubiquitine-protéasome.

Niveaux de protéines de MuRF1 (A), MAFbx (B) et du profil d'ubiquitination totale (C) obtenus à partir des biopsies du muscle vaste latéral réalisées avant (Pre) et après (Post) la chimiothérapie du cancer du sein (CT). Pour chaque western blot, deux sujets représentatifs ont été affichés. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type (N=11). * $p < 0.05$

Synthèse des protéines et cellules satellites

Nous avons enfin étudié la synthèse des protéines et même si nous n'avons pas rapporté de changement pour les niveaux de protéines p-Akt/Akt (Figure 6A ; $p=0.2$), nous avons constaté une augmentation des ratios p-4EBP1/4EBP1-total (+42% ; $p=0.04$; Figure 6B) et p-rpS6/rpS6-total (+391% ; $p=0.02$; Figure 6C) post-chimiothérapie. De la même manière, les niveaux de protéines de PTEN ont augmenté à la fin du traitement (+177% ; $p=0.02$; Figure 6D). Concernant les cellules satellites, nous avons étudié les niveaux de protéines de Pax7 et MyoD et nous n'avons pas trouvé de variation en fin de traitement ($p > 0.1$; Figure 6E et 6F).

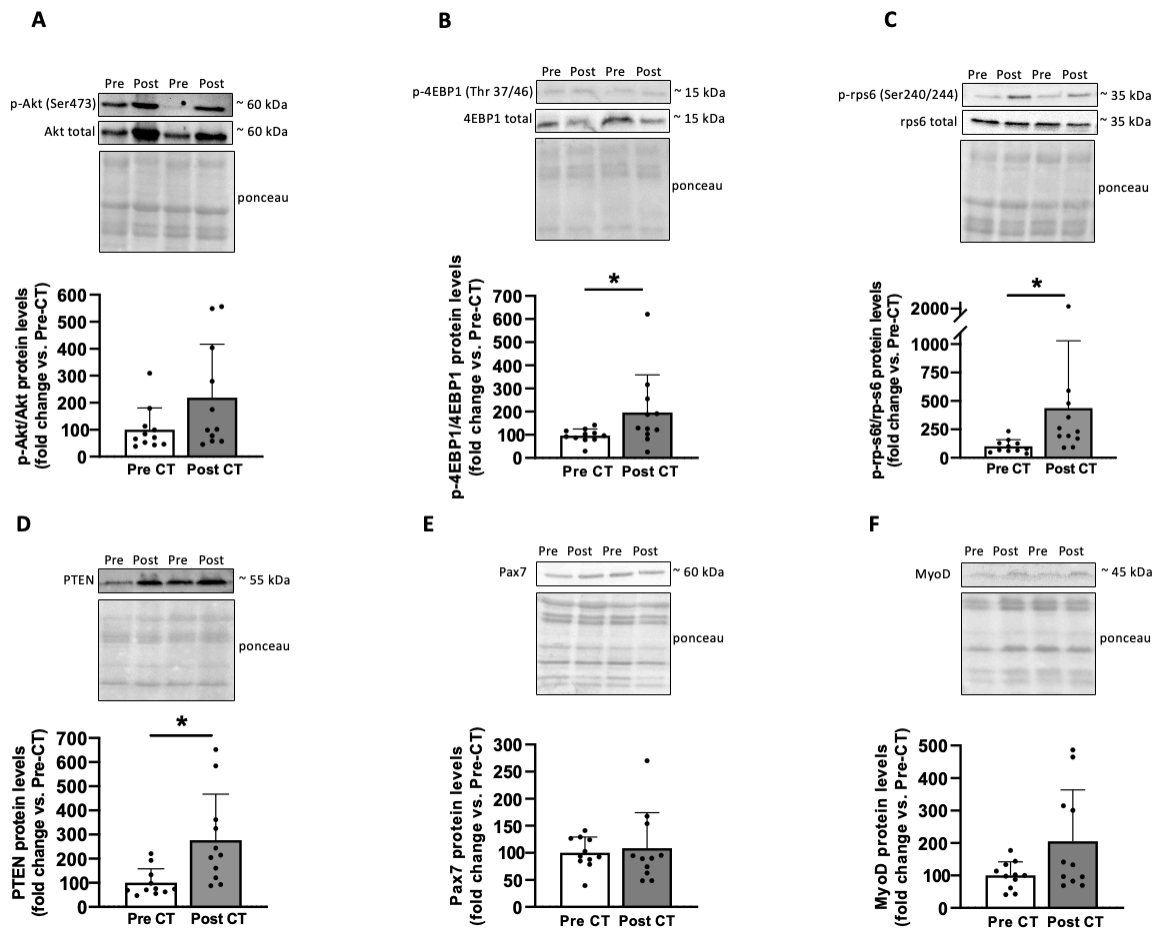


Figure 6 : Changements des niveaux de synthèse des protéines et des marqueurs de cellules satellites.

Niveaux de protéines de p-Akt (Ser473)/Akt (A), p-4EBP1 (Thr 37/46)/4EBP1 (B) ; p-rpS6 (Ser 240/244)/rpS6 (C) ; PTEN (D) ; Pax7 (E) et MyoD (F) obtenus à partir des biopsies du muscle vaste latéral réalisées avant (Pre) et après (Post) la chimiothérapie du cancer du sein (CT). Pour chaque western blot, deux sujets représentatifs ont été affichés. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type (N=11). *p<0.05

Discussion

Cette étude avait pour but de caractériser l'atrophie musculaire par types de fibres et d'investiguer les mécanismes cellulaires impliqués dans le turnover protéique chez les patientes atteintes d'un cancer du sein de stade précoce et traitées par chimiothérapie. De manière cohérente avec l'atrophie musculaire rapportée dans l'étude 3 (Mallard *et al.*, 2022b) et l'absence de changement significatif du niveau d'activité physique, nous avons souligné que la diminution de la CSA était similaire pour les fibres de type I et IIa et que le turnover protéique était perturbé.

La chimiothérapie affecte de la même façon l'ensemble des fibres musculaires

Si l'étude 3 avait permis de confirmer la présence d'une atrophie musculaire (Mallard *et al.*, 2022b), nous avons rapporté dans cette expérimentation une diminution de la CSA similaire pour les fibres de type I (-18%) et les fibres de type IIa (-22%), indiquant donc que la chimiothérapie affecte de la même façon l'ensemble des fibres musculaires. Ce résultat est renforcé par l'absence de shift phénotypique post-chimiothérapie, étant donné que la proportion de fibres de type I et IIa n'était pas modifiée. Si Mijwel *et al.*, (2018a) avaient rapporté une diminution de la proportion de fibres de type I chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et attribuaient ce résultat à une inactivité plutôt qu'à la chimiothérapie, notre absence de shift est supportée par l'absence de changement significatif du niveau d'activité physique, un résultat déjà retrouvé dans l'étude 1. Malgré les limites relatives à l'utilisation des questionnaires, nos résultats soulignent que l'atrophie musculaire semble principalement liée à la chimiothérapie et non à l'inactivité chez nos patientes.

Une dérégulation de l'autophagie comme un mécanisme de l'atrophie musculaire

Le flux autophagique des patientes atteintes d'un cancer du sein semble être diminué post-chimiothérapie. En effet, malgré une augmentation du niveau de protéines d'Atg7 post-chimiothérapie, traduisant une augmentation de la biogénèse de

l'autophagosome, nous n'avons pas trouvé que la formation d'autophagosomes matures était plus importante comme le souligne le ratio stable LC3B-II/LC3B-I. Ce phénomène, déjà observé chez les patientes atteintes d'un cancer du sein (Mijwel *et al.*, 2018a; Møller *et al.*, 2019), était associé à une augmentation du niveau de protéines de p62, qui est couramment utilisé comme marqueur pour caractériser le flux autophagique (Bjørkøy *et al.*, 2009). En effet, étant donné que p62 est contenu dans l'autophagosome et classiquement dégradé par celui-ci, cette protéine est utilisée comme un marqueur du flux d'autophagie (Bjørkøy *et al.*, 2009). Dans notre cas, avec la même quantité d'autophagosomes matures, l'augmentation du niveau de protéines de p62 indique que le flux autophagique était donc diminué (Klionsky *et al.*, 2021), comme dans des modèles animaux de cancer (Montalvo *et al.*, 2020; Penna *et al.*, 2014).

Si l'atrophie musculaire est causée dans beaucoup de modèles par une augmentation de la dégradation des protéines (Sartori *et al.*, 2021a), une diminution de l'autophagie peut aussi être un mécanisme explicatif (Vainshtein & Sandri, 2020). En effet, il a été montré qu'une diminution de l'autophagie avait des conséquences néfastes dans des modèles animaux de déconditionnement musculaire (Vainshtein & Sandri, 2020), comme une accumulation de protéines endommagées, conduisant *in fine* à la dégénérescence des myofibrilles et à une perte de force (Bujak *et al.*, 2015; Fuqua *et al.*, 2019; Masiero *et al.*, 2009; Nemazanyy *et al.*, 2013; Raben *et al.*, 2008; Theeuwes *et al.*, 2017). Chez l'humain, une étude chez des patients en réanimation a par exemple rapporté que l'atrophie musculaire était associée à une autophagie déficiente, un mécanisme qui entraînait une accumulation de protéines à dégrader (Vanhorebeek *et al.*, 2011). Ainsi, la probable diminution de l'autophagie observée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein post-chimiothérapie semble être un mécanisme pouvant expliquer l'atrophie musculaire.

Une augmentation de la dégradation des protéines par le système ubiquitine-protéasome : un autre mécanisme de l'atrophie musculaire ?

En plus d'une diminution de l'autophagie, une augmentation de la dégradation des protéines semblerait aussi être un mécanisme de l'atrophie musculaire chez les patientes atteintes d'un cancer du sein. Malgré un niveau stable de myostatine, un facteur de croissance qui limite la croissance du tissu musculaire, nous avons mis en évidence une augmentation de deux facteurs de transcription impliqués dans la protéolyse : NF- κ B et FoxO3. Étudié pour la première fois chez la patiente atteinte d'un cancer du sein, le niveau de protéines de NF- κ B était régulé à la hausse post-chimiothérapie. Ce résultat, déjà observé chez des patients atteints d'un cancer gastrique ou d'un cancer du poumon (Puig-Vilanova *et al.*, 2015; Rhoads *et al.*, 2010), est connu pour jouer un rôle central dans l'activation des systèmes de dégradation des protéines comme le système ubiquitine-protéasome (Schiaffino *et al.*, 2013; Vainshtein & Sandri, 2020). Par ailleurs, nous avons trouvé une diminution de l'expression protéique de p-FoxO3/FoxO3, principalement expliquée par une augmentation de l'expression protéique de la forme totale de FoxO3. Plus précisément, nous avons étudié la phosphorylation de FoxO3 par Akt sur sa sérine 253. La diminution du ratio reflète une diminution de l'activité inhibitrice de FoxO3 dans la protéolyse, indiquant donc de manière relative une plus grande activation de ce facteur de transcription (X. Wang *et al.*, 2017). L'augmentation relative de FoxO3 est, comme NF- κ B, un phénomène connu chez les patients atteints d'un cancer (Johns *et al.*, 2014; Skorokhod *et al.*, 2012) et joue un rôle déterminant dans l'activation du système ubiquitine-protéasome.

De manière intéressante, nous avons rapporté une augmentation de l'expression protéique de MuRF1, une E3 ligase du système ubiquitine-protéasome dont le rôle est d'ubiquitiner des protéines structurales musculaires comme la troponine I, les MyHC et l'actine (Cohen *et al.*, 2015). Ce résultat corrobore dans le cancer du sein les observations réalisées chez d'autres patients atteints de cancer (Bossola *et al.*, 2003; Constantinou *et al.*, 2011; DeJong *et al.*, 2005; Khal *et al.*, 2005; Puig-Vilanova *et al.*, 2015; Williams *et al.*, 1999). Si l'augmentation de MuRF1 est classiquement associée à une augmentation de la

dégradation protéique par le système ubiquitine-protéasome, la mesure directe de l'activité du protéasome est nécessaire pour confirmer cette hypothèse. Il est également important de noter que si que le profil d'ubiquitination total n'était pas modifié post-chimiothérapie, ce qui n'exclut pas une augmentation survenue plus tôt dans le traitement, MuRF1 n'est pas toujours associée à une augmentation de l'ubiquitination et peut perturber directement l'organisation du sarcomère et conduire à l'augmentation de la dégradation des protéines via l'activation d'autres E3 ligases (Baehr *et al.*, 2021). Dans l'ensemble, l'augmentation de l'expression protéique de MuRF1 suggère une probable augmentation de la dégradation protéique par le système ubiquitine-protéasome et semble confirmer que comme dans les modèles précliniques de cachexie cancéreuse (Baracos *et al.*, 1995; Temparis *et al.*, 1994; J. P. White *et al.*, 2011), la dégradation des protéines du muscle squelettique semble être principalement ATP-dépendante (*i.e.* système ubiquitine-protéasome). D'autre part, les niveaux de protéines de MAFbx, une autre E3 ligase dont le rôle est d'inhiber la synthèse protéique, n'étaient pas modifiés post-chimiothérapie. Si ce résultat peut paraître surprenant, une augmentation de l'expression de MuRF1 sans changement de MAFbx a déjà été rapportée lors d'une atrophie musculaire induite par une dry immersion (Fovet *et al.*, 2021) ou par une immobilisation (de Boer *et al.*, 2007). Ces études soulignent ainsi que MuRF1 semble davantage impliqué dans l'atrophie musculaire par une dégradation protéique exacerbée, plutôt que MAFbx par une inhibition de la synthèse. Cette hypothèse sur l'implication majeure de MuRF1 aux dépens de MAFbx est renforcée par nos résultats discutés ci-après, qui rapportent que ni les marqueurs de la synthèse protéique ni la quantité de cellules satellites n'étaient diminués en fin de traitement.

Augmentation de la synthèse protéique comme un mécanisme compensatoire à l'atrophie musculaire ?

La synthèse des protéines semblait être augmentée post-chimiothérapie, comme le montre l'augmentation du ratio p-4EBP1/4EBP1 (principalement expliquée par une diminution de l'expression protéique de la forme totale) et du ratio p-rpS6/rpS6 (principalement expliquée par une augmentation de l'expression protéique de la forme phosphorylée). Bien que ces cibles de mTOR soient impliquées dans l'efficacité

traductionnelle, il aurait été intéressant de mesurer directement le flux de synthèse protéique. Une hypothèse qui pourrait expliquer la probable augmentation de la synthèse protéique est liée à la dégradation des protéines. En effet, il est bien admis que la dégradation protéique est un mécanisme qui régule la synthèse des protéines (Schiaffino *et al.*, 2013). Plus précisément, les acides aminés provenant du protéasome entraînent classiquement une activation de mTOR et donc de ses cibles telles que 4EBP1 et rpS6 (Schiaffino *et al.*, 2013). Cette hypothèse pourrait être cohérente avec l'augmentation de l'expression protéique de MuRF1, qui suggère une augmentation de la dégradation par le système ubiquitine-protéasome. Cette hypothèse est aussi cohérente avec l'absence de variation des niveaux de protéines d'Akt. En effet, si Akt est connu pour permettre l'activation de mTOR via l'inhibition du complexe TSC1/TSC2, l'activation de la synthèse protéique par les acides aminés passerait par vps34, qui se situe en aval d'Akt (Kaur & Sharma, 2017; Yoon & Choi, 2016). De plus, nous avons trouvé une augmentation de PTEN post-chimiothérapie, une protéine connue pour inhiber la voie PI3K/Akt (Georgescu, 2010), ce qui semble indiquer que l'activité d'Akt n'était pas régulée à la hausse. Afin de confirmer cette hypothèse, il serait nécessaire de mesurer l'activité de vps34. Ces résultats indiquent donc qu'en réponse à l'atrophie musculaire post-chimiothérapie, la synthèse des protéines semble être augmentée comme un mécanisme compensatoire. Une autre hypothèse pouvant expliquer l'augmentation de la synthèse protéique serait liée à une potentielle dénervation qu'il serait nécessaire de vérifier au niveau histologique par un marquage NCAM. Effectivement, il a été montré dans des modèles de cachexie et chez des patients atteints de cancer, une atteinte de la jonction neuromusculaire qui entraînait *in fine* une dénervation (Sartori *et al.*, 2021b). De manière intéressante, plusieurs modèles animaux ont montré une régulation à la hausse de la synthèse de protéines en réponse à la dénervation (X. Liu *et al.*, 2012; MacDonald *et al.*, 2014). Néanmoins, il est important de noter que nous ne pouvons pas exclure que la synthèse des protéines ait été diminuée plus tôt dans le traitement, comme c'est le cas dans beaucoup de modèles de déconditionnement musculaire (Chopard *et al.*, 2009; Schiaffino *et al.*, 2013; Wall *et al.*, 2013).

La quantité de cellules satellites n'est pas affectée à la fin du traitement

À la fin du traitement, la quantité de cellules satellites n'était pas affectée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein. Effectivement, nous n'avons pas rapporté de changement pour les niveaux de protéines de Pax7, un marqueur des cellules satellites à l'état de quiescence, ni de changement pour MyoD, un marqueur des cellules satellites en prolifération classiquement inhibé par MAFbx. Si ces résultats sont différents des modèles précliniques pour lesquels il a été montré que l'administration de doxorubicine entraînait une diminution de la quantité de cellules satellites (D'Lugos *et al.*, 2019), ils confirment les observations précédentes réalisées chez des patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie (Mijwel *et al.*, 2018a; Møller *et al.*, 2019). Ils sont également cohérents avec le niveau stable de MAFbx et suggèrent donc que les cellules satellites ne semblent pas affectées par la chimiothérapie. Néanmoins, nous ne pouvons pas exclure que le processus de régénération musculaire ne soit pas altéré chez les patientes. Des expérimentations de culture cellulaire permettraient d'étudier le potentiel myogénique des cellules satellites des patientes et le processus de régénération musculaire.

Conclusion

Notre étude clinique longitudinale a mis en évidence que l'atrophie musculaire était similaire pour les fibres de type I et IIa chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie. Elle semble s'expliquer par une diminution de l'autophagie et une probable augmentation de la dégradation protéique par le système ubiquitine-protéasome étant donné l'augmentation des niveaux protéiques de MuRF1. Nous avons toutefois trouvé une augmentation de la synthèse protéique, ce qui semble être un mécanisme compensatoire pour pallier à l'atrophie, mais insuffisant pour la contrecarrer.

Perspectives

La masse musculaire étant principalement régulée par la balance entre la synthèse et la dégradation des protéines, il est nécessaire d'avoir une synthèse des protéines supérieure à la dégradation pour contrecarrer l'atrophie. Dans notre cas, malgré

l'augmentation de la synthèse protéique identifiée chez les patientes, elle semble insuffisante pour contrer l'atrophie musculaire. Compte tenu du fait que l'atrophie est similaire pour les fibres de type I et les fibres de type IIa, l'exercice en résistance apparaît parmi les meilleures stratégies préventives. En effet, l'exercice en résistance est la stratégie la plus efficace pour augmenter la masse musculaire (Fyfe *et al.*, 2022), quel que soit le type de fibre. Plus précisément, la synthèse protéique est dépendante de la contrainte mécanique imposée au muscle (Egan & Zierath, 2013). Ainsi, plus l'intensité est importante, plus les bénéfices sont importants (Schoenfeld, 2010). Dès lors, l'exercice en résistance à haute intensité devrait être proposé aux patientes dès que possible pour lutter contre l'atrophie musculaire.

D'autre part, si cette étude a permis l'investigation des mécanismes de l'atrophie musculaire, il est très bien admis que les processus cellulaires, en particulier ceux liés à la dégradation des protéines, sont régulés à la hausse de manière précoce dans les situations de déconditionnement musculaire (Atherton *et al.*, 2016; Ferreira *et al.*, 2008; Hanson *et al.*, 2013; Kawanishi *et al.*, 2018). Plus précisément, dans un modèle murin d'hypoactivité, il a été montré que l'atrophie musculaire était présente à partir du 7ème jour tandis que la régulation à la hausse des marqueurs de la dégradation musculaire tels que MuRF1 et MAFbx était présente dès 24h, avec un retour à l'état basal lorsque l'atrophie était installée (Hanson *et al.*, 2013). Pourtant, aucune étude, tous cancers confondus, ne s'est intéressée aux mécanismes aigus de l'atrophie musculaire, *i.e.* après une seule séance de chimiothérapie. Cette caractérisation à court terme du turnover protéique est une étape nécessaire pour optimiser les futures prises en charge en ciblant les mécanismes impliqués très tôt dans l'atrophie musculaire.

Étude 5 : mécanismes aigus du déconditionnement musculaire survenant 4 jours après l'administration de la première chimiothérapie (résultats préliminaires)

Implication personnelle

En tant que co-investigateur principal, j'ai participé à la conception de cette étude qui est toujours en cours et à la rédaction de la demande d'autorisation auprès du comité de protection des personnes. Je recrute actuellement l'ensemble des patientes, assiste le médecin lors des biopsies et conditionne les échantillons musculaires. J'ai réalisé les expérimentations liées à la mitochondrie et les western blots sur les premiers échantillons. Cette étude fera l'objet d'au moins deux publications dont je serai premier auteur : la principale sera centrée sur le turnover protéique avec l'association du modèle chronique tandis que la seconde s'intéressera à l'étude des altérations mitochondriales.

Contexte

Nos études précédentes ont été dédiées à l'investigation des mécanismes du déconditionnement musculaire chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie grâce à la réalisation de biopsies musculaires avant et après l'ensemble du traitement. Nous avons étudié les mécanismes impliqués dans trois caractéristiques majeures du déconditionnement musculaire : les altérations mitochondriales, l'augmentation du contenu d'IMAT et l'atrophie musculaire.

Si, comme mentionné plus haut, les mécanismes cellulaires impliqués dans l'atrophie musculaire semblent se manifester rapidement pour retrouver un niveau basal lorsque l'atrophie est installée (Atherton *et al.*, 2016; Hanson *et al.*, 2013), les mécanismes impliqués dans les altérations mitochondriales interviendraient également de manière précoce. En effet, il a par exemple été montré dans un modèle animal que la respiration mitochondriale était diminuée 72h après l'administration d'anthracycline (Gilliam *et al.*, 2013). Or, dans notre cas, nous n'avons pas trouvé de changement de respiration en fin de traitement (Mallard *et al.*, 2022a). De plus, si nous avons trouvé une diminution de la quantité de mitochondrie et une perturbation de la dynamique mitochondriale (Mallard *et al.*, 2022a), 5 jours de traitement à la cisplatine chez des rats sont suffisants pour réduire la quantité de mitochondries et la biogénèse mitochondriale, ainsi qu'altérer la dynamique mitochondriale (Sirago *et al.*, 2017). De la même manière, si nous avons trouvé une augmentation de l'apoptose à la fin du traitement (Mallard *et al.*, 2022a), il a également été montré que de 4h jusqu'à 4 jours de traitement à la doxorubicine entraînaient une augmentation de l'apoptose dans des modèles précliniques, notamment au niveau du marquage TUNEL ou de l'activité de la caspase 3 (Gilliam *et al.*, 2012; A. P. Yu *et al.*, 2014). Il semble donc nécessaire de déterminer si les effets aigus de la chimiothérapie sur l'homéostasie mitochondriale sont différents de ceux observés à la suite de l'ensemble du traitement, ou si au contraire, ils sont similaires. Cette caractérisation permettra d'améliorer la compréhension des mécanismes cellulaires et d'adapter les stratégies préventives.

D'autre part, bien que nous ayons trouvé une augmentation de la quantité d'IMAT après 18 semaines de traitement, les mécanismes cellulaires sous-jacents semblent également intervenir de manière précoce. En effet, il a été montré que 3 à 5 jours d'hypoactivité induits par une dry immersion étaient suffisants pour induire une augmentation de la quantité d'IMAT et de FAPs (Guilhot *et al.*, 2022; Pagano *et al.*, 2018). Dans ces études, les facteurs de transcription de l'adipogénèse étaient fortement régulés à la hausse. Or, dans l'étude 3 (Mallard *et al.*, 2022b), nos résultats étaient contrastés pour PPAR γ et C/EBP α . Ainsi, comme discuté précédemment, nous avons potentiellement manqué certains mécanismes de l'adipogénèse, ce qui ne nous permet pas totalement de comprendre les processus cellulaires impliqués dans le développement d'IMAT.

À ce jour, si certaines études sur modèle animal ont pu explorer les mécanismes du déconditionnement musculaire survenant de façon aiguë à la suite de l'administration d'une chimiothérapie, aucune étude n'a été réalisée chez la patiente atteinte d'un cancer du sein. Ce manque de données ne permet pas de proposer la meilleure stratégie préventive étant donné que la compréhension des processus cellulaires n'est pas totale. Afin d'étudier les mécanismes cellulaires aigus du déconditionnement musculaire, nous avons démarré cette 5^{ème} étude. L'objectif est d'étudier l'impact de la première séance de chimiothérapie sur le muscle en réalisant une biopsie musculaire avant et 4 jours (J4) après. Ce timing a été choisi étant donné que le pic d'effets secondaires, notamment pour la fatigue perçue, intervient à J4 (de Jong *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2008). Nous avons décidé d'étudier, au travers deux groupes de 10 patientes, les deux chimiothérapies principalement utilisées, *i.e.* l'épirubicine-cyclophosphamide (EC) et le paclitaxel (TAX). À ce jour, la période d'inclusion n'est pas terminée et nous avons recruté 7 patientes pour le groupe EC et 3 patientes pour le groupe TAX. Des résultats préliminaires sont présentés ci-dessous pour le groupe EC et sont basés sur les principes méthodologiques décrits précédemment.

Résultats préliminaires

Contenu mitochondrial et biogénèse

Quatre jours après la première administration d'EC, nous avons trouvé une diminution importante des marqueurs clés du contenu mitochondrial, atteignant -41% pour les niveaux de protéines de citrate synthase (Figure 1A ; $p=0.04$) et VDAC (Figure 1B ; $p=0.02$). En revanche, nous avons trouvé une augmentation des niveaux de protéines de PGC-1 α 1 (Figure 1C ; +204% ; $p=0.01$).

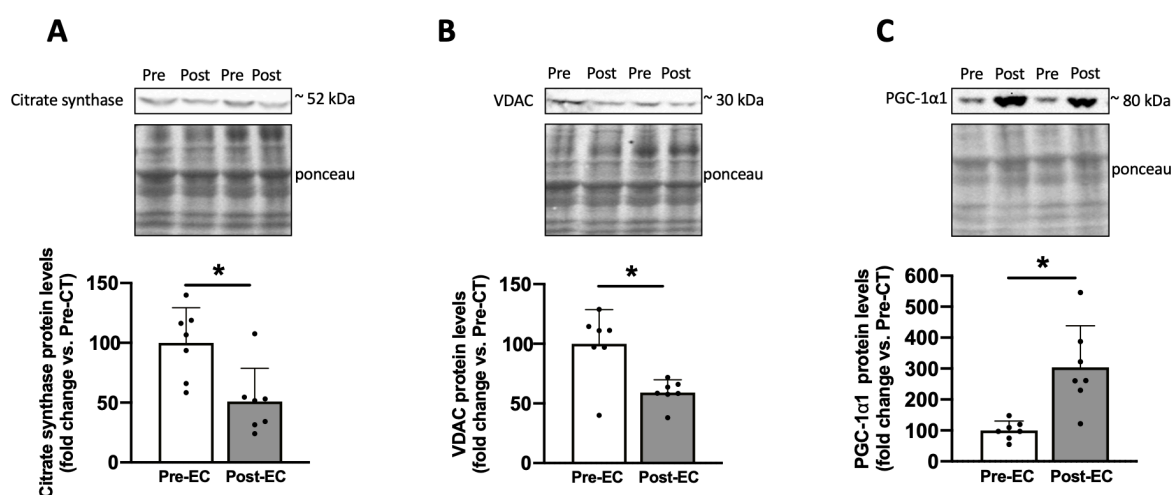


Figure 1 : Changements des niveaux de protéines des marqueurs clés de la quantité de mitochondries et de la biogénèse mitochondriale.

Niveaux de protéines de citrate synthase (A), VDAC (B) et de PGC-1 α (C) obtenus à partir des biopsies du muscle vaste latéral réalisées avant (Pre) et 4 jours après (Post) l'administration d'Epirubicine-Cyclophosphamide (EC) chez 7 patientes atteintes d'un cancer du sein. Pour chaque western blot, deux sujets représentatifs ont été affichés. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type. * $p<0.05$

Dynamique mitochondriale : fusion, fission et mitophagie

Nous avons trouvé que les niveaux de protéines de MFN2 étaient inchangés post-EC ($p=0.7$; figure 2A) tandis que les niveaux de protéines des isoformes L (-70% ; $p=0.02$) et S1 (-72% ; $p=0.04$) d'OPA1 étaient diminués (Figure 2B). Concernant la fission mitochondriale, si l'expression protéique de Fis1 (Figure 2C ; $p=0.9$) était stable post-EC, les niveaux de protéines de p-DRP1/DRP1 étaient régulés à la hausse (Figure 2D ; +139% ; $p=0.03$). Enfin, l'étude de la mitophagie a révélé une diminution post-EC des niveaux de

protéines de PINK1 (-63% ; $p=0.02$; Figure 2E), Parkin (-58% ; $p=0.02$; Figure 2F) et Mul1 (-60% ; $p=0.04$; Figure 2G) tandis que le potentiel mitochondrial, étudié par le ratio Parkin/VDAC, était inchangé ($p=0.4$; Figure 2H).

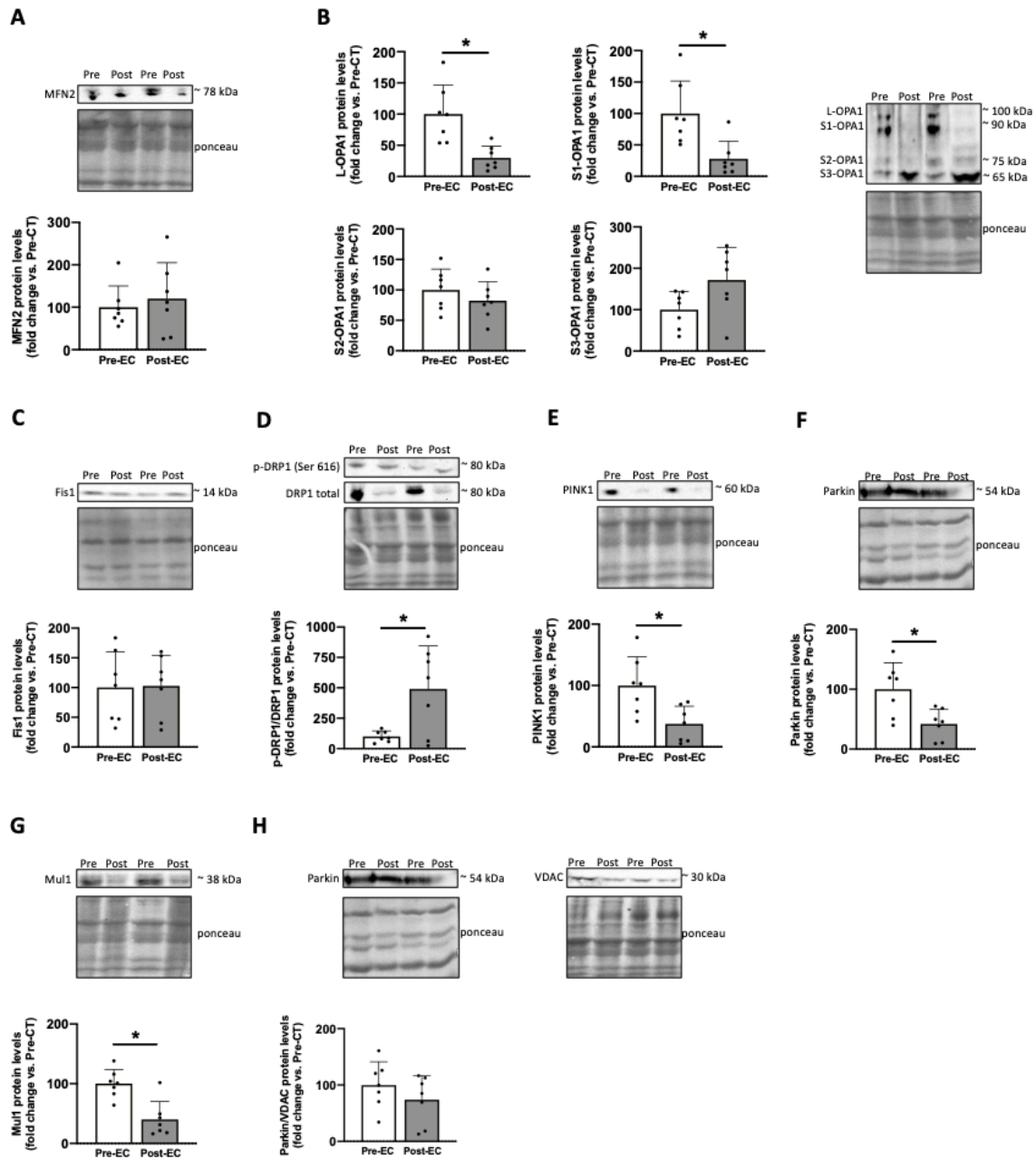


Figure 2 : Changements des niveaux de protéines impliquées dans la dynamique mitochondriale.

Niveaux de protéines de MFN2 (A), isoformes d'OPA1 : L, S1, S2 et S3 (B), Fis1 (C), p-DRP1 (Ser 616)/DRP1 (D), PINK1 (E), Parkin (F), Mul1 (G) et Parkin/VDAC (H) obtenus à partir des biopsies du muscle vaste latéral réalisées avant (Pre) et 4 jours après (Post) l'administration d'Epirubicine-Cyclophosphamide (EC) chez 7 patientes atteintes d'un cancer du sein. Pour chaque western blot, deux sujets représentatifs ont été affichés. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type. * $p < 0.05$

Respiration mitochondriale, production d'espèces réactives de l'oxygène et fatigue perçue

La respiration mitochondriale était diminuée post-EC (Figure 3A). Plus précisément, une diminution de la respiration mitochondriale a été rapportée pour le stade 2 (état de substrat lié au complexe I ; -36% ; $p < 0.05$) et pour la phosphorylation oxydative (stade 3) par le complexe I (-38% ; $p < 0.05$). Malgré une diminution de la phosphorylation oxydative par le complexe I et II (-28% ; $p = 0.15$) et par le complexe II (-23% ; $p = 0.21$), ainsi qu'une diminution du découplage par le complexe IV (-24% ; $p = 0.08$), les tests statistiques n'ont pas atteint le seuil de significativité. La période d'inclusion n'étant pas terminée, l'ajout de nouvelles patientes pourrait faire passer le seuil de significativité. Concernant la production d' H_2O_2 (Figure 3B), aucune augmentation n'a été rapportée post-EC, quel que soit le substrat ajouté. D'autre part, la production d'anion superoxyde était inchangée après l'administration d'EC (Figure 3C). Enfin, le score du FACIT-F a diminué post-EC (-29% ; $p < 0.05$; Figure 3D), témoignant d'une augmentation de la fatigue perçue.

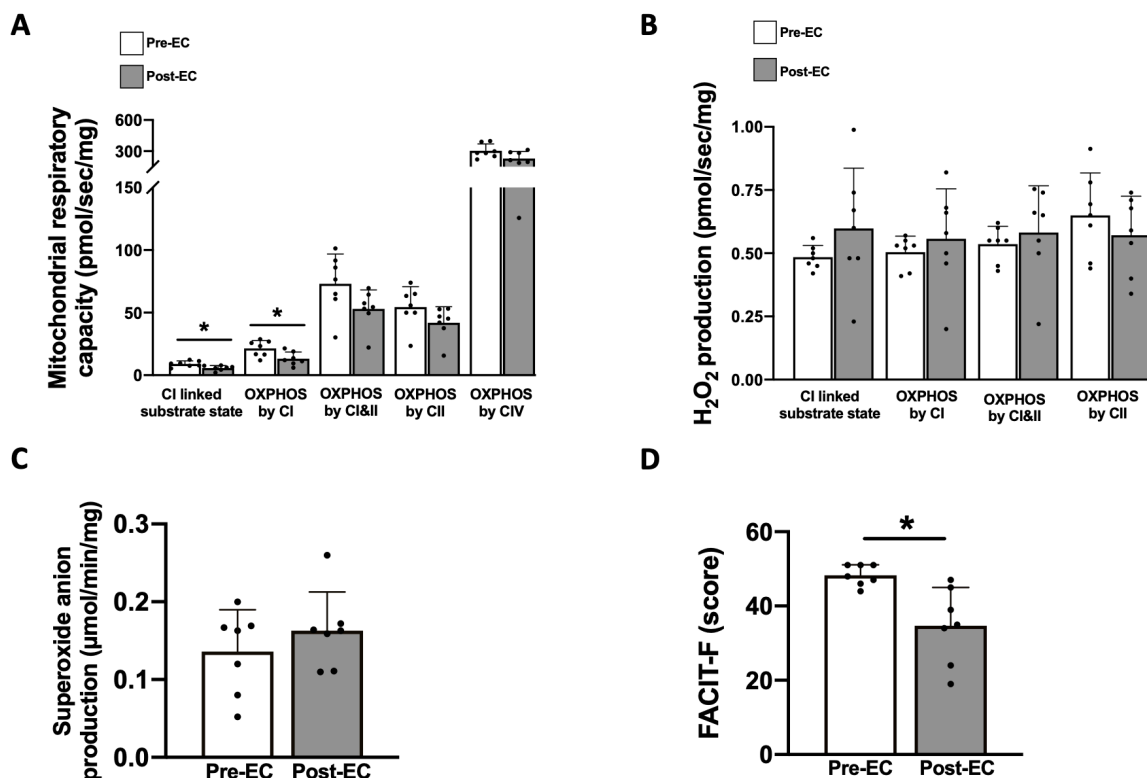


Figure 3 : Changements de la respiration mitochondriale, de la production d'espèces réactives de l'oxygène et de la fatigue perçue.

Respiration mitochondriale (A) en stade 2 (CI-linked substrate state), en phosphorylation oxydative (stade 3) par le complexe I, le complexe I et II, le complexe II et en découplage du

complexe IV sur des fibres musculaires du vaste latéral perméabilisées issues de biopsies réalisées avant (Pré) et 4 jours après la première administration d'épirubicine-cyclophosphamide (EC). Production d' H_2O_2 (B) en stade 2 et en phosphorylation oxydative par le complexe I, le complexe I et II et le complexe II pré- et post-EC. Production d'anion superoxyde (C) pré- et post-EC. Score au FACIT-F (D) pré- et post-EC. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type (N=7). * $p < 0.05$

Défenses antioxydantes

Une tendance à l'augmentation pour les niveaux de protéines de SOD2 a été retrouvée post-EC (+219% ; $p=0.08$; Figure 4A) tandis que les niveaux de protéines de catalase ($p=0.9$; Figure 4B) et GPx1 ($p=0.5$; Figure 4C), deux autres enzymes antioxydantes, étaient stables.

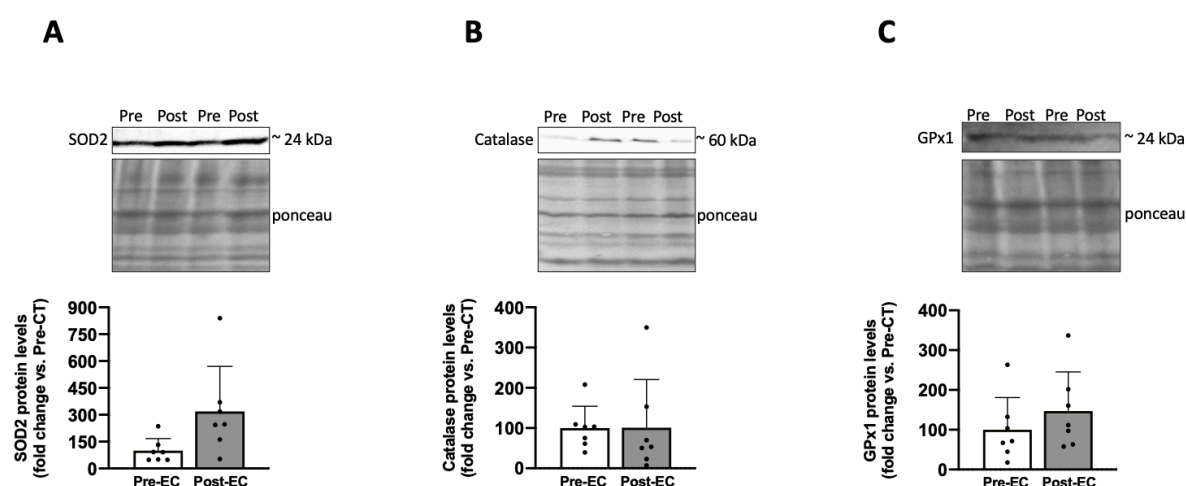


Figure 4 : Changements des niveaux de protéines des défenses antioxydantes

Niveaux de protéines de SOD2 (A), Catalase (B) et GPx1 (C) obtenus à partir des biopsies du muscle vaste latéral réalisées avant (Pre) et 4 jours après (Post) l'administration d'Epirubicine-Cyclophosphamide (EC) chez 7 patientes atteintes d'un cancer du sein. Pour chaque western blot, deux sujets représentatifs ont été affichés. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type.

Apoptose

Nous avons trouvé une augmentation de l'initiation de l'apoptose post-EC, comme en témoigne l'augmentation significative des niveaux de protéines de Bax (+394% ; $p=0.04$; Figure 5A) et la diminution des niveaux de protéines de Bcl-2 (-61% ; $p=0.002$; Figure 5B). Logiquement, le rapport Bax/Bcl-2 a très largement augmenté (+3786% ; $p=0.03$; Figure

5C). En revanche, les niveaux de protéines de caspase 3 étaient inchangés post-EC ($p=0.7$; Figure 5D).

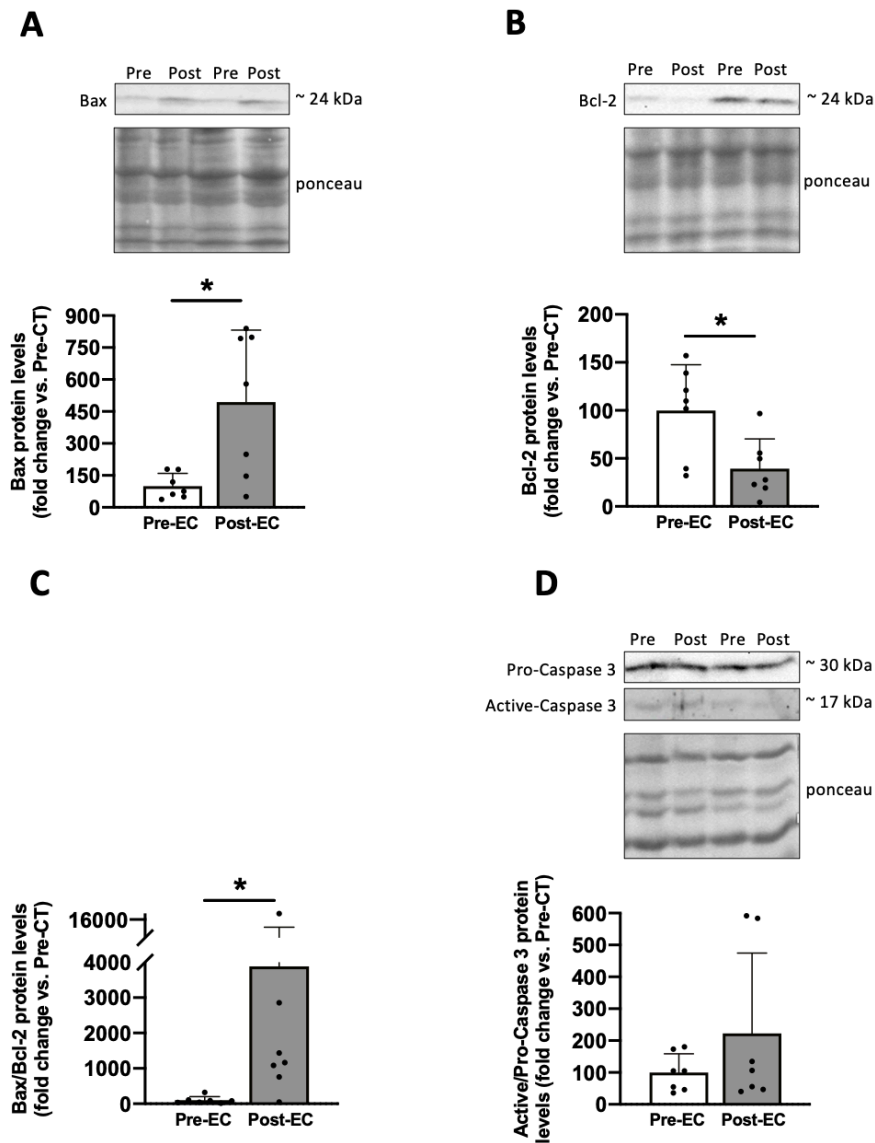


Figure 5 : Changements des niveaux de protéines des marqueurs de l'apoptose
 Niveaux de protéines de Bax (A), Bcl-2 (B) Bax/Bcl-2 (C) et Active/Pro-Caspase 3 (D) obtenus à partir des biopsies du muscle vaste latéral réalisées avant (Pre) et 4 jours après (Post) l'administration d'Epirubicine-Cyclophosphamide (EC) chez 7 patientes atteintes d'un cancer du sein. Pour chaque western blot, deux sujets représentatifs ont été affichés. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type. * $p<0.05$

Facteurs de transcription et facteurs de croissance

L'étude des facteurs de transcription impliqués dans la protéolyse a mis en évidence que les niveaux de protéines de NF- κ B ($p=0.16$; Figure 6A) et p-FoxO3/FoxO3 ($p=0.6$;

Figure 6B) étaient stables post-EC. Si les niveaux protéiques de myostatine étaient également stables post-EC ($p=0.8$; Figure 6C), les niveaux protéiques de follistatine, étaient diminués (-54% ; $p=0.04$; Figures 6D).

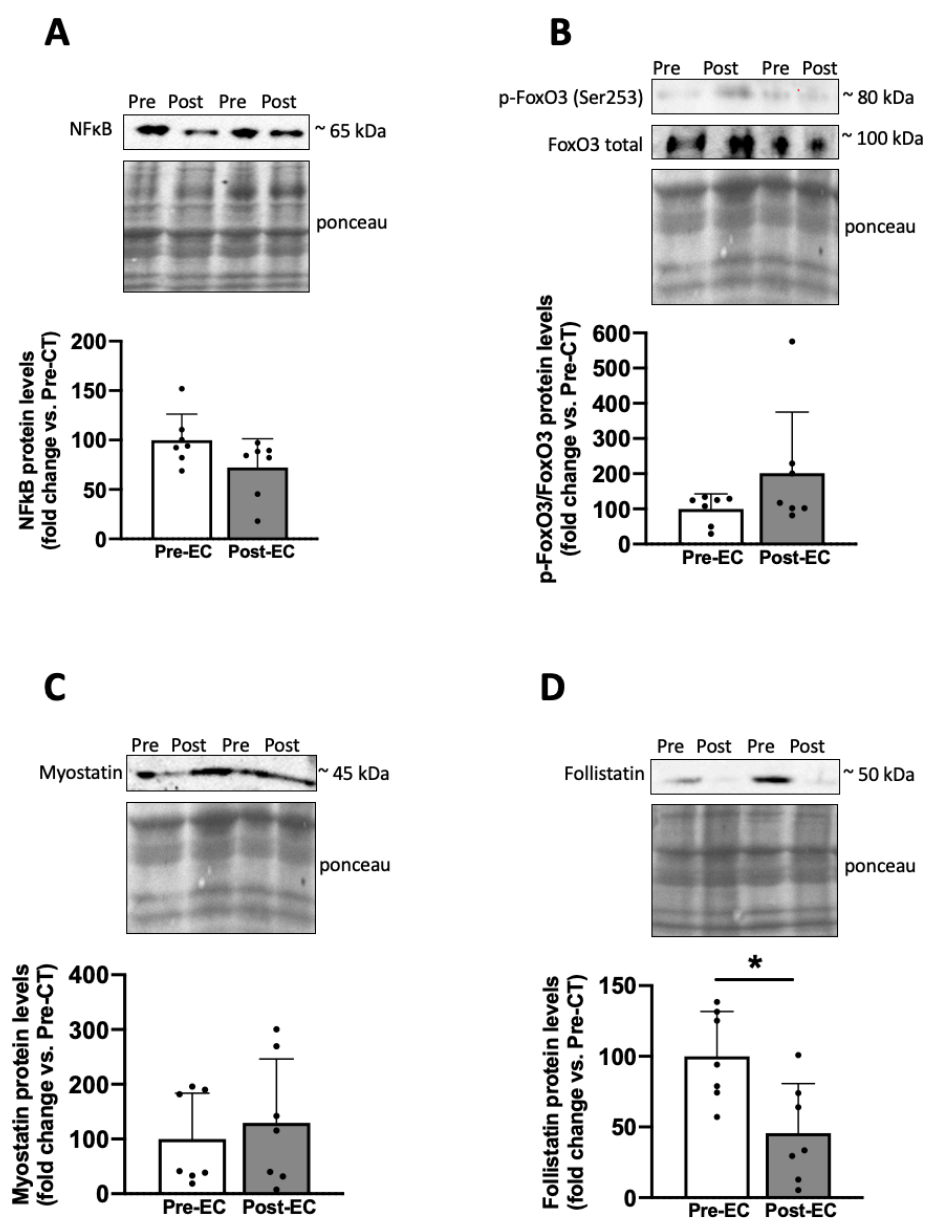


Figure 6 : Changements des niveaux de protéines de facteurs de transcription de la protéolyse et des facteurs de croissance.

Niveaux de protéines de NF- κ B (A), p-FoxO3 (Ser 253)/FoxO3 (B), myostatine (C) et follistatine (D) obtenus à partir des biopsies du muscle vaste latéral réalisées (Pre) et 4 jours après (Post) l'administration d'Epirubicine-Cyclophosphamide (EC) chez 7 patientes atteintes d'un cancer du sein. Pour chaque western blot, deux sujets représentatifs ont été affichés. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type. * $p<0.05$

Autophagie

Nos résultats sur l'autophagie témoignent d'une diminution de l'expression protéique d'Atg7 post-EC (-72% ; $p=0.02$; Figure 7A) et du rapport LC3B-II/I (-50% ; $p=0.04$; Figure 7B). En revanche, les niveaux de protéines de p62 étaient stables post-EC ($p=0.4$; Figure 7C).

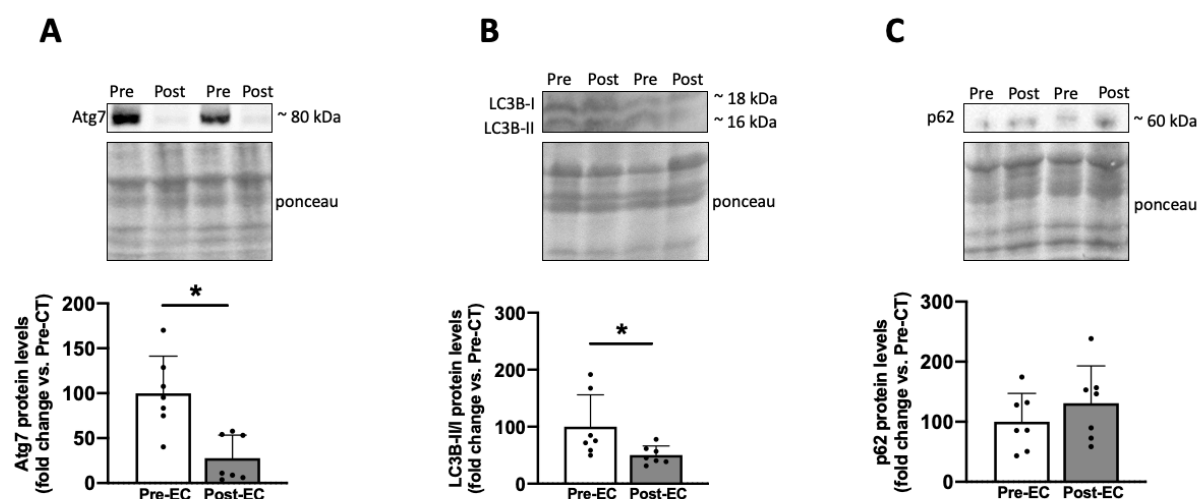


Figure 7 : Changements des niveaux de protéines des marqueurs de l'autophagie
Niveaux de protéines d'Atg7(A), LC3B-II/I (B) et p62 (C) obtenus à partir des biopsies du muscle vaste latéral réalisées (Pre) et 4 jours après (Post) l'administration d'Epirubicine-Cyclophosphamide (EC) chez 7 patientes atteintes d'un cancer du sein. Pour chaque western blot, deux sujets représentatifs ont été affichés. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type. * $p < 0.05$

Système Ubiquitine-Protéasome

L'étude du système ubiquitine-protéasome a révélé une augmentation des niveaux de protéines de MuRF1 4 jours après l'administration d'EC (+523% ; $p=0.04$; Figure 8A), sans changement pour les expressions protéiques de MAFbx ($p=0.2$; Figure 8B) et du profil d'ubiquitination totale ($p=0.6$; Figure 8C).

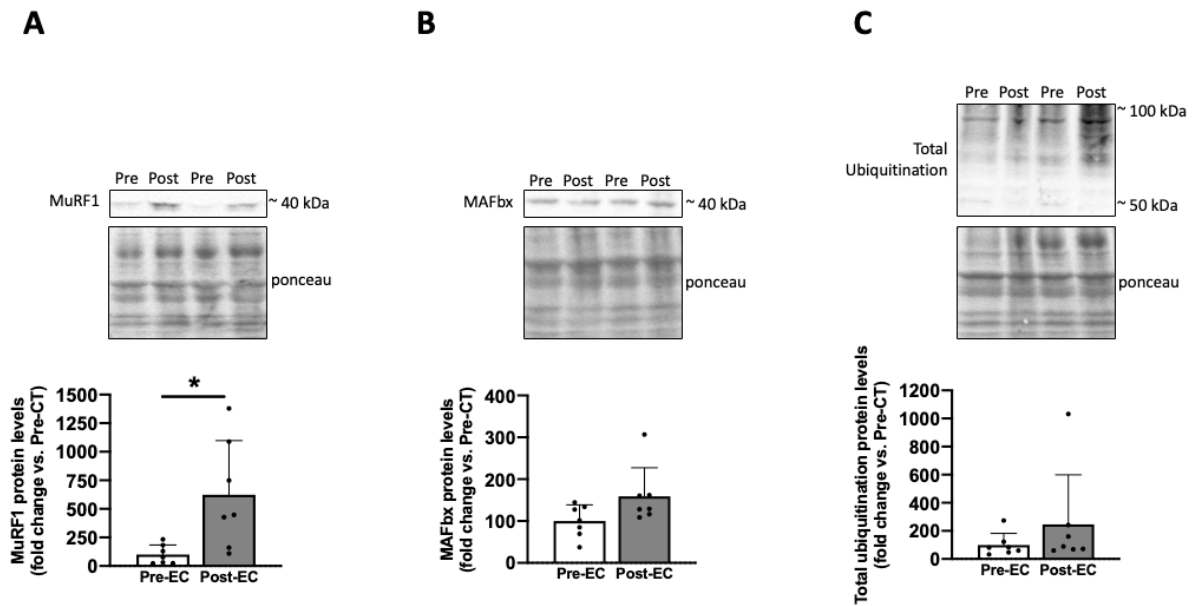


Figure 8 : Changements des niveaux de protéines liées au système ubiquitine-protéasome. Niveaux de protéines de MuRF1 (A), MAFbx (B) et de l'ubiquitination totale (C) obtenus à partir des biopsies du muscle vaste latéral réalisées (Pre) et 4 jours après (Post) l'administration d'Epirubicine-Cyclophosphamide (EC) chez 7 patientes atteintes d'un cancer du sein. Pour chaque western blot, deux sujets représentatifs ont été affichés. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type. * $p < 0.05$

Synthèse des protéines et cellules satellites

Malgré une absence de changement pour les niveaux de protéines de p-Akt/Akt (Figure 9A ; $p=0.7$), nous avons constaté une tendance à l'augmentation pour l'expression protéique de p-4EBP1/4EBP1 (+208% ; $p=0.08$; Figure 9B) et une augmentation des niveaux de protéines de p-rpS6/rpS6 (+908% ; $p=0.03$; Figure 9C) post-EC. Les niveaux de protéines de PTEN étaient quant à eux stables post-EC ($p=0.2$; Figure 6D). Concernant les cellules satellites, nous n'avons pas trouvé de changement pour les niveaux de protéines de Pax7 ($p=0.9$; Figure 9E) et MyoD ($p=0.9$; Figure 9F).

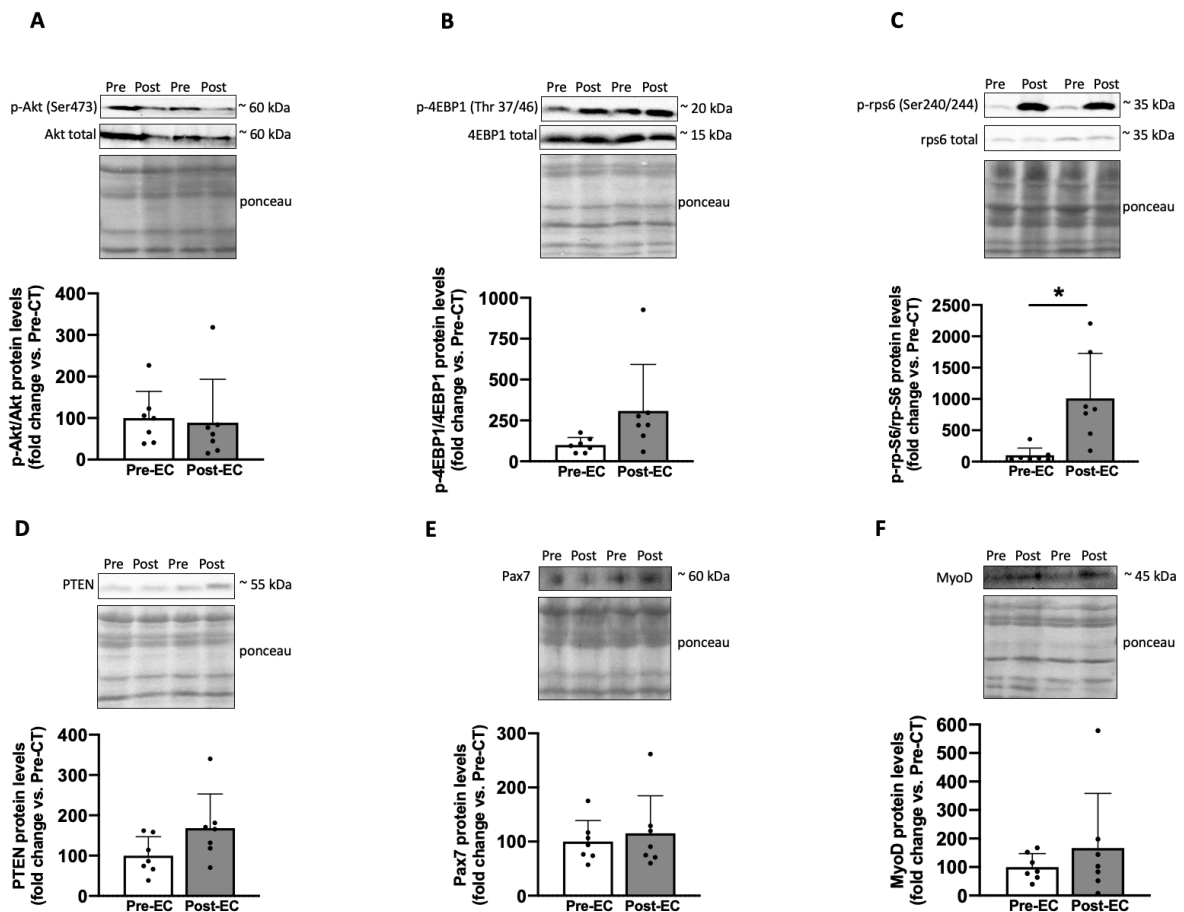


Figure 9 : Changements des niveaux de synthèse des protéines et des marqueurs de cellules satellites.

Niveaux de protéines de p-Akt (Ser473)/Akt (A), p-4EBP1 (Thr 37/46)/4EBP1 (B) ; p-rpS6 (Ser 240/244)/rpS6 (C) ; PTEN (D) ; Pax7 (E) et MyoD (F) obtenus à partir des biopsies du muscle vaste latéral réalisées (Pre) et 4 jours après (Post) l'administration d'Epirubicine-Cyclophosphamide (EC) chez 7 patientes atteintes d'un cancer du sein. Pour chaque western blot, deux sujets représentatifs ont été affichés. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type. * $p < 0.05$

Développement d'IMAT et de fibrose

La quantité d'adipocytes matures n'a pas augmenté post-chimiothérapie, comme en témoigne les niveaux de protéines stables de marqueurs clés tels que FABP4 ($p=0.2$; Figure 10A), périlipine ($p=0.4$; Figure 10B) et adiponectine ($p=0.4$; Figure 10C). Logiquement, le niveau de protéine de PDGFR α , un marqueur des FAPs, n'a pas augmenté ($p=0.8$; Figure 10D). Enfin, les niveaux de protéines des marqueurs de fibrose n'ont pas été modifiés, notamment pour collagen I ($p=0.3$; Figure 10E) et fibronectine ($p=0.1$; Figure 10F).

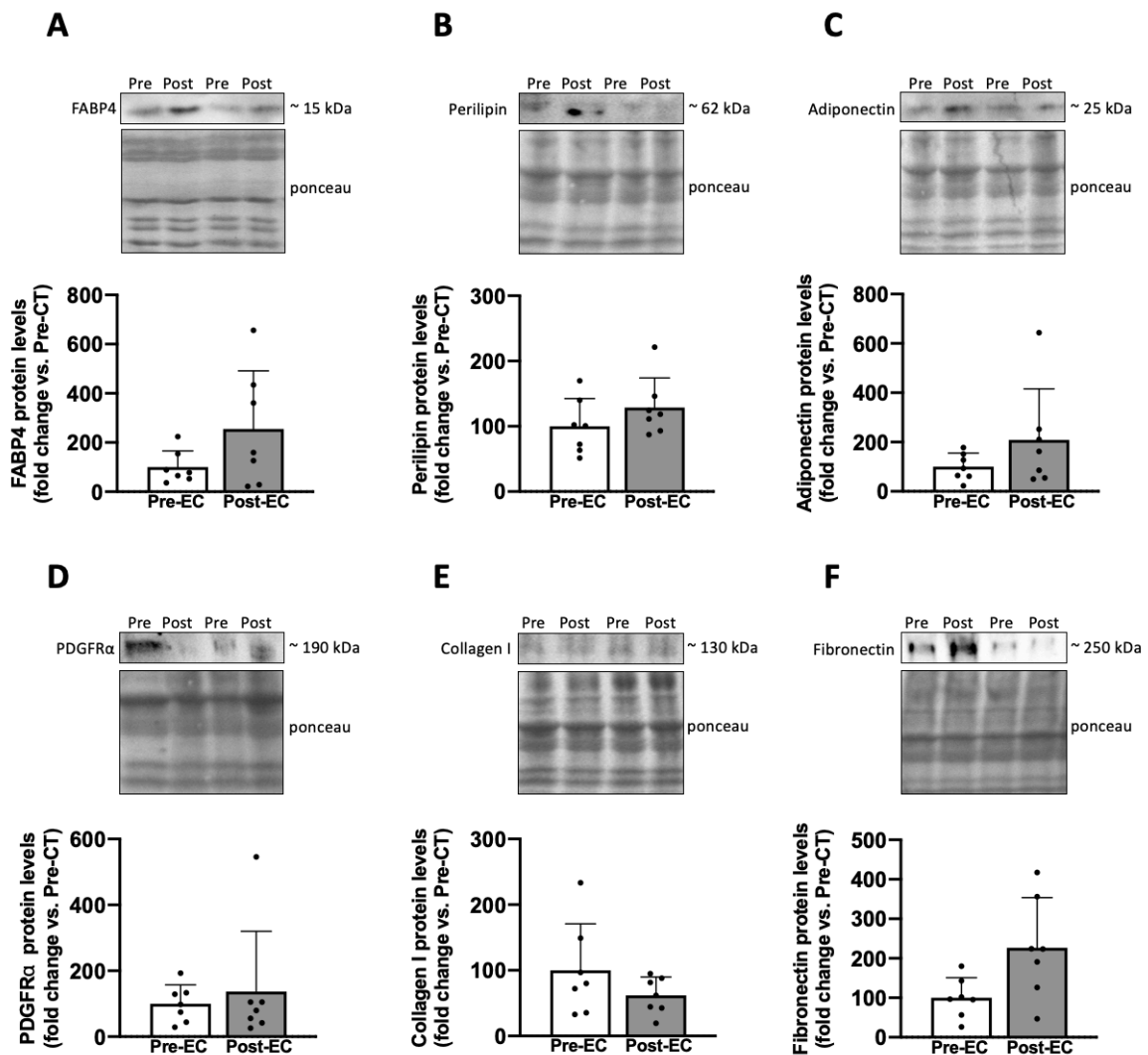


Figure 10 : Changements des niveaux de protéines impliqués dans le développement d'IMAT ou de fibrose.

Niveaux de protéines de FABP4 (A), Périlipine (B) ; Adiponectine (C) ; PDGFR α (D) ; Collagen I (E) et Fibronectine (F) obtenus à partir des biopsies du muscle vaste latéral réalisées (Pre) et 4 jours après (Post) l'administration d'Epirubicine-Cyclophosphamide (EC) chez 7 patientes atteintes d'un cancer du sein. Pour chaque western blot, deux sujets représentatifs ont été affichés. Toutes les valeurs sont exprimées en tant que moyenne \pm écart-type.

Discussion

La quantité de mitochondries diminue 4 jours après l'administration d'épirubicine-cyclophosphamide

Nous avons rapporté une diminution importante de la quantité de mitochondries 4 jours après l'administration d'EC. En effet, une large diminution des niveaux de protéines des marqueurs clefs du contenu mitochondrial tels que la citrate synthase et VDAC (Arc-Chagnaud *et al.*, 2020; Huot *et al.*, 2020; Mallard *et al.*, 2022a) a été rapportée. Ces résultats indiquent donc que si la perte du contenu mitochondrial a déjà été mise en évidence à la fin du traitement par chimiothérapie (Guigni *et al.*, 2018; Mallard *et al.*, 2022a; Mijwel *et al.*, 2018a), une seule séance de chimiothérapie est responsable d'une diminution de la quantité de mitochondries, renforçant ainsi la nécessité de mettre en place des stratégies préventives précoces. De manière assez surprenante, nous avons trouvé une augmentation des niveaux de protéines de PGC-1 α 1, suggérant finalement une augmentation des mécanismes de la biogénèse mitochondriale. Néanmoins, étant donné la diminution de la quantité de mitochondries, il semblerait que la biogénèse soit inefficace et que l'augmentation de PGC-1 α 1 agisse comme un mécanisme compensatoire. De plus, il est important de noter que si PGC-1 α 1 est largement connu pour être un coactivateur transcriptionnel de la biogénèse mitochondriale, d'autres mécanismes sont nécessaires pour aboutir à la formation de nouvelles mitochondries comme l'activation de NRF1/2 et des ERRs, qui vont à leur tour activer TFAM pour initier la réplication de l'ADN mitochondrial (Ploumi *et al.*, 2017). D'autre part, PGC-1 α 1 est aussi impliqué dans d'autres processus cellulaires comme la thermogénèse, l'absorption du glucose, la glycogénèse et la lipogénèse (Fontecha-Barriuso *et al.*, 2020), ce qui peut également expliquer son augmentation malgré une perte du contenu mitochondrial.

L'administration d'épirubicine-cyclophosphamide perturbe la dynamique mitochondriale à tous les niveaux : fusion, fission et mitophagie

Nous avons trouvé une dynamique mitochondriale largement perturbée post-EC, ce qui renforce les altérations trouvées en fin de traitement (Mallard *et al.*, 2022a). Plus

précisément, si les niveaux de protéines de MFN2 étaient inchangés, témoignant d'un processus de fusion des membranes externes préservé, la fusion des membranes internes était quant à elle diminuée. En effet, nous avons trouvé une diminution des niveaux de protéines de L-OPA1 et S1-OPA1. La coordination entre la fusion des membranes externes et internes est nécessaire pour obtenir des mitochondries saines et fonctionnelles (Pernas & Scorrano, 2016) et il est important de noter qu'en fin de traitement, c'est la fusion des membranes externes qui était réduite (Mallard *et al.*, 2022a). Néanmoins, nos résultats soulignent dans l'ensemble qu'à court et long terme, la fusion mitochondriale est altérée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie. En revanche, contrairement à la fin du traitement, la fission mitochondriale était augmentée 4 jours après l'administration d'EC comme en témoigne l'augmentation de l'expression protéique du ratio p-DRP1/DRP1 (principalement expliqué par une diminution de l'expression protéique de la forme totale). En effet, DRP1 est la protéine clef qui permet de séparer les mitochondries grâce à la phosphorylation sur la sérine 616. D'autre part, les niveaux protéiques de Fis1, l'un des activateurs de DRP1, étaient quant à eux inchangés, indiquant donc que d'autres mécanismes ont probablement conduit à la phosphorylation de DRP1 comme une augmentation de Mff, MiD49 ou MiD51 (Losón *et al.*, 2013). Une diminution de la fusion et une augmentation de la fission sont des caractéristiques largement retrouvées lors de cachexie cancéreuse (Barreto *et al.*, 2016; Brown *et al.*, 2017; de Castro *et al.*, 2019; Huot *et al.*, 2020; Marzetti *et al.*, 2017; Nissinen *et al.*, 2018; J. P. White *et al.*, 2011, 2012) et connues pour aboutir à la formation de mitochondries fragmentées (Barreto *et al.*, 2016; Brown *et al.*, 2017). Si la fission est une étape nécessaire à l'activation de la mitophagie, nous avons trouvé une mitophagie défectueuse comme en témoignent la diminution de PINK1, Parkin, Mul1 et le niveau stable de potentiel mitophagique (ratio Parkin/VDAC). Ces résultats permettent de valider l'hypothèse que nous avons formulée dans l'étude 2 sur le fait que la mitophagie était défectueuse chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie (Mallard *et al.*, 2022a). Cette hypothèse est également soutenue par le fait que de nombreuses études sur la cachexie cancéreuse ont retrouvé une diminution de PINK1 et Parkin (Aversa *et al.*, 2016; Gouspillou *et al.*, 2015; Marzetti *et al.*, 2017; Mijwel *et al.*, 2018a). Une mitophagie défectueuse, couplée à une altération du processus de fusion/fission, a très probablement conduit à l'accumulation de mitochondries fragmentées, qui sont connues pour être moins fonctionnelles.

Baisse de la respiration mitochondriale après l'administration d'épirubicine-cyclophosphamide

Si nous avons rapporté que la respiration mitochondriale des patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie n'était pas altérée à la fin du traitement (Mallard *et al.*, 2022a), nos résultats préliminaires sur l'effet aigu de la première chimiothérapie à base d'EC tendent à démontrer l'inverse. En effet, nous avons rapporté 4 jours après l'administration d'EC une diminution du stade 2 de la respiration mitochondriale ainsi qu'une réduction de la phosphorylation oxydative par le complexe I, ce qui semble en lien avec la réduction du contenu mitochondrial et l'accumulation de mitochondries fragmentées. La diminution de la respiration mitochondriale en stade 2 indique une réduction du transfert d'électrons de la voie du NADH, issus du cycle de Krebs, vers le complexe I de la mitochondrie, ce qui est ainsi cohérent avec la diminution de la phosphorylation oxydative par le complexe I. Nos résultats corroborent une étude sur modèle animal qui avait montré que la respiration mitochondriale était diminuée 72h après l'injection de doxorubicine (Gilliam *et al.*, 2013), une drogue appartenant, comme l'épirubicine, à la famille des anthracyclines. Étant donné que nous avons trouvé une diminution du contenu mitochondrial, il est possible que la baisse de la respiration soit liée à la diminution de la quantité de mitochondrie, un phénomène déjà observé chez des patients atteints de cancers métastatiques (Kunz *et al.*, 2022).

La diminution de la respiration mitochondriale observée de manière aiguë est particulièrement intéressante puisqu'elle pourrait être liée au pic de fatigue perçue classiquement observé chez les patientes 4 jours après l'administration d'anthracyclines (de Jong *et al.*, 2006). En effet, il a déjà été montré que des patients souffrant du syndrome de fatigue chronique (sans cancer) présentaient une altération de la respiration mitochondriale par rapport à des sujets contrôles, bien que l'on ne sache pas encore si ces perturbations sont le résultat de la fatigue ou la cause de la fatigue (Tomas *et al.*, 2017). De manière très intéressante, si la respiration mitochondriale a diminué post-EC, la fatigue perçue a également augmenté. D'autre part, la diminution de la respiration mitochondriale 4 jours après l'administration d'EC pourrait être un facteur contribuant à la réduction de la capacité d'exercice observée dès 8 semaines de traitement (étude 1). En effet, il a été

rapporté chez des patients souffrant d'insuffisance cardiaque que la diminution de la respiration mitochondriale pouvait expliquer plus de 50% de la variabilité de la $\dot{V}O_{2peak}$ (Knuiman *et al.*, 2021). Dès lors, des stratégies préventives visant à améliorer la respiration mitochondriale avant l'administration d'une chimiothérapie devraient donc être développées. Si l'exercice est une contremesure adaptée, même à des intensités légères (Granata *et al.*, 2018), il a été montré qu'une supplémentation en β glucanes, des polysaccharides issus de l'avoine et de l'orge, permettait d'améliorer la respiration mitochondriale dans un modèle animal de dystrophie musculaire de Duchenne (Brogi *et al.*, 2021). De la même manière, il a été montré en culture cellulaire qu'une supplémentation en acétate, un acide gras à chaîne courte, permettait d'améliorer la respiration mitochondriale (Hu *et al.*, 2020). Ainsi, il pourrait être intéressant de tester l'efficacité d'une supplémentation en β glucanes ou en acétate, couplée ou non avec de l'exercice, avant l'administration d'une chimiothérapie, pour prévenir la diminution de la respiration mitochondriale. Il serait tout de même nécessaire de vérifier l'absence d'effets concurrents avec la chimiothérapie.

D'autre part, nous avons rapporté que la production d'anion superoxyde et d' H_2O_2 était stable 4 jours après l'administration d'EC. De manière cohérente, les niveaux de protéines des enzymes antioxydantes telles que catalase et GPx1 étaient stables, tandis qu'une tendance à l'augmentation a été retrouvée pour l'expression protéique de SOD2, une enzyme qui permet la dismutation de l'anion superoxyde en H_2O_2 (Zou *et al.*, 2017). Dans l'ensemble, ces résultats sont eux aussi différents de la fin du traitement où nous avons rapporté une diminution de l'anion superoxyde et une augmentation de l' H_2O_2 pour la phosphorylation oxydative par le complexe I, I et II, et II (Mallard *et al.*, 2022a). Néanmoins, nous ne pouvons pas exclure une augmentation transitoire de la production d' H_2O_2 durant les 4 premiers jours suivant l'administration d'EC. En effet, s'il a déjà été rapporté une augmentation de la production d' H_2O_2 2h après l'administration de doxorubicine dans un modèle animal (Gilliam *et al.*, 2013), il a également été montré que les niveaux d' H_2O_2 diminuaient à l'issue dès 2h pour atteindre une production inférieure au niveau de base à 72h (Gilliam *et al.*, 2013). Cela suggère donc l'augmentation des ROS est transitoire et que si les biopsies musculaires permettent d'investiguer les mécanismes

cellulaires, elles reflètent un état à un instant donné et l'interprétation des résultats qui en découlent doit être menée avec précaution.

Augmentation de l'apoptose après l'administration d'épirubicine-cyclophosphamide

Comme à la fin du traitement (Mallard *et al.*, 2022a), nous avons trouvé une augmentation des niveaux de protéines de Bax, un initiateur apoptotique, et une diminution des niveaux de protéines Bcl-2, son homologue anti-apoptotique. Ces altérations ont logiquement conduit à une très large augmentation du ratio Bax/Bcl-2, témoignant finalement d'une augmentation de l'initiation de l'apoptose. En revanche, comme à la fin du traitement (Mallard *et al.*, 2022a), les niveaux de protéines de caspase 3 n'étaient pas significativement augmentés, ce qui ne permet de pas de valider complètement que l'apoptose était suractivée chez les patientes. Il serait intéressant de réaliser un marquage TUNEL afin de détecter directement la fragmentation de l'ADN en marquant les terminaisons 3'-hydroxyle dans les cassures d'ADN double brin générées pendant l'apoptose (Loo, 2011). Si l'apoptose peut être potentiellement impliquée dans l'atrophie musculaire retrouvée chez les patientes (étude 3), d'autres mécanismes, comme ceux liés au turnover protéique, nécessitent d'être explorés.

L'autophagie est diminuée 4 jours après l'administration d'épirubicine-cyclophosphamide

Si nous avons souligné en fin de traitement (étude 4) que le flux autophagique était probablement diminué chez les patientes, nous avons également trouvé une diminution de l'autophagie 4 jours après l'administration d'EC. En effet, nous avons trouvé une diminution importante des niveaux de protéines d'Atg7, témoignant d'une réduction de la biogénèse de l'autophagosome, ainsi qu'une diminution du ratio LC3B-II/I, indiquant que la formation d'autophagosomes matures était elle aussi réduite. Les niveaux protéiques de p62 étaient quant à eux stables. Or, étant donné que p62 est contenu dans l'autophagosome et classiquement dégradé par celui-ci, cette protéine est utilisée comme un marqueur du flux autophagique (Bjørkøy *et al.*, 2009). Par conséquent, si le nombre d'autophagosomes

diminue, avec le même niveau de p62, cela indique une accumulation relative de p62 et donc une diminution du flux autophagique. Ensemble, nos résultats sur l'autophagie sont cohérents avec ceux sur la diminution de la mitophagie, une forme d'autophagie sélective. Comme discuté précédemment, une diminution de l'autophagie est associée dans beaucoup de modèles à une atrophie musculaire (Vainshtein & Sandri, 2020), en raison d'une accumulation de protéines endommagées qui conduisent *in fine* à la dégénérescence des myofibrilles (Bujak *et al.*, 2015; Fuqua *et al.*, 2019; Masiero *et al.*, 2009; Nemazanyy *et al.*, 2013; Raben *et al.*, 2008; Theeuwes *et al.*, 2017).

Altération du couple myostatine/follistatine et augmentation du système ubiquitine-protéasome 4 jours après l'administration d'épirubicine-cyclophosphamide

La myostatine et la follistatine sont deux facteurs de croissance de la famille des TGF- β qui jouent un rôle crucial dans la régulation de la masse musculaire (X. Han *et al.*, 2019; Rodriguez *et al.*, 2014). Nous avons trouvé 4 jours après l'administration d'EC que les niveaux de protéines de la myostatine étaient stables tandis que ceux de la follistatine, son inhibiteur (Skrzypczak *et al.*, 2021), étaient largement diminués. Ce résultat est particulièrement intéressant puisqu'il pourrait suggérer une plus grande activité relative de la myostatine, de par le fait qu'il y ait moins d'inhibition. Étant donné que la myostatine est impliquée dans diverses conditions d'atrophie (Durieux *et al.*, 2007; Hayot *et al.*, 2011; Zimmers *et al.*, 2002), une moins grande inhibition pourrait ainsi expliquer une partie de l'atrophie musculaire retrouvée en fin de traitement. Plus précisément, si la myostatine est connue pour inhiber la croissance du tissu musculaire via l'inhibition d'Akt ou la prolifération des cellules satellites (Rodriguez *et al.*, 2014), elle est également connue pour augmenter la dégradation protéique via le système ubiquitine-protéasome et l'activation des E3 ligases comme MuRF1 et MAFbx (D.-T. Wang *et al.*, 2015). Toutefois, s'il est très bien reconnu que la follistatine est un puissant inhibiteur de la myostatine (Skrzypczak *et al.*, 2021), des expérimentations sur modèle animal ont également montré que la follistatine possédait un impact sur la masse musculaire de manière indépendante à la myostatine (S.-J. Lee, 2007; S.-J. Lee *et al.*, 2010). Ainsi, la diminution des niveaux de protéines de

follistatine observée post-EC pourrait avoir un impact direct sur l'atrophie musculaire, mais les mécanismes cellulaires sont à ce jour inconnus.

De manière intéressante, malgré un niveau stable des facteurs de transcription FoxO3 et NF- κ B, qui sont des activateurs du système ubiquitine-protéasome (Vainshtein & Sandri, 2020), nous avons trouvé une augmentation de MuRF1, une E3 ligase impliquée dans la dégradation des protéines structurelles musculaires (Cohen *et al.*, 2015). Ce résultat, déjà présent à la fin du traitement, suggère que la première administration d'EC est suffisante pour activer le système ubiquitine-protéasome et que la dégradation protéique est, comme dans les modèles précliniques de cachexie cancéreuse, non liée à l'autophagie, mais ATP-dépendante (*i.e.* système ubiquitine-protéasome) (Baracos *et al.*, 1995; Temparis *et al.*, 1994; J. P. White *et al.*, 2011). Néanmoins, il est tout de même important de nuancer ce résultat étant donné que le profil d'ubiquitination totale n'était pas significativement augmenté. Il serait alors intéressant de mesurer directement l'activité du protéasome afin de confirmer si la dégradation protéique par le système ubiquitine-protéasome est bien régulée à la hausse. Enfin, comme à la fin du traitement et dans les modèles d'hypoactivité (de Boer *et al.*, 2007; Fovet *et al.*, 2021), les niveaux de protéines de MAFbx, une autre E3 ligase dont le rôle est d'inhiber la synthèse protéique, n'étaient pas modifiés 4 jours après l'administration d'EC. Ce résultat est une fois de plus cohérent avec la synthèse des protéines qui n'était pas régulée à la baisse comme le souligne nos résultats ci-dessous.

La synthèse des protéines n'est pas diminuée après l'administration d'épirubicine-cyclophosphamide et la quantité de cellules satellites n'est pas affectée

Comme à la fin du traitement, la synthèse des protéines n'était pas diminuée après l'administration d'EC, mais au contraire, elle semblait à nouveau augmentée, bien que nous n'ayons pas mesuré le flux de synthèse. Nous avons une nouvelle fois trouvé une augmentation des cibles de mTOR impliquées dans l'efficacité traductionnelle, comme en témoigne l'augmentation des niveaux de protéines des ratios p-4EBP1/4EBP1 ($p=0.08$) et p-rpS6/rpS6, principalement expliquée par une augmentation de l'expression protéique

des formes phosphorylées. L'une des hypothèses explicatives serait, comme discuté dans l'étude 4, que la synthèse des protéines augmente comme un mécanisme compensatoire pour pallier à la dégradation protéique, ce qui est cohérent avec l'augmentation de MuRF1. En effet, il est classiquement admis que la dégradation des protéines régule la synthèse (Schiaffino *et al.*, 2013) (voir discussion étude 4). L'autre hypothèse, comme discuté dans l'étude 4, serait liée à une potentielle dénervation, un phénomène retrouvé chez des patients cachectiques (Sartori *et al.*, 2021b) et connu pour augmenter la synthèse des protéines (X. Liu *et al.*, 2012; MacDonald *et al.*, 2014). Dans l'ensemble, nos résultats cohérents avec la fin du traitement et suggèrent que le turnover protéique est en faveur d'une dégradation plus importante étant donné l'atrophie musculaire rapportée fin de traitement chez les patientes (Mallard *et al.*, 2022b).

Si la synthèse des protéines n'était pas diminuée post-EC, l'état des cellules satellites ne semblait pas non plus impacté. En effet, comme à la fin du traitement, les niveaux de protéines de Pax7, un marqueur des cellules satellites à l'état de quiescence, et de MyoD, un marqueur des cellules satellites en prolifération classiquement inhibé par MAFbx, n'étaient pas modifiés. Ces résultats confirment à nouveau les observations précédentes réalisées chez des patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie qui avait montré que la quantité de cellules satellites n'était pas diminuée (Mijwel *et al.*, 2018a; Møller *et al.*, 2019).

Une seule chimiothérapie n'est pas suffisante pour initier les mécanismes impliqués dans le développement d'IMAT

Si les mécanismes impliqués dans les altérations mitochondriales ou l'atrophie musculaire étaient déjà initiés 4 jours après l'administration d'EC, ceux liés au développement d'IMAT n'étaient en revanche pas impactés. En effet, contrairement à la fin du traitement (Mallard *et al.*, 2022b), ni la quantité d'adipocytes matures, explorés à travers les niveaux de protéines de FABP4, périlipine et adiponectine, ni la quantité de FAPs, investiguée avec les niveaux de protéines du récepteur de surface PDGFR α , n'étaient régulés à la hausse. Cela indique clairement que la première administration d'EC n'est pas suffisante pour induire les mécanismes qui engendrent le développement d'IMAT,

contrairement à certains modèles extrêmes de déconditionnement musculaire comme la dry immersion pour laquelle 3 à 5 jours sont suffisants (Guilhot *et al.*, 2022; Pagano *et al.*, 2018). Il semblerait donc que le développement d'IMAT chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie soit davantage lié à l'effet cumulé de plusieurs séances de chimiothérapie et/ou à l'atrophie musculaire retrouvée chez les patientes. En effet, le développement d'IMAT s'effectue majoritairement dans des contextes d'atrophie musculaire (Brioche *et al.*, 2016; Manini *et al.*, 2007; Pagano *et al.*, 2018; H.-L. Wang *et al.*, 2013), ce qui semblerait créer un micro-environnement cellulaire favorable à la différenciation des FAPs en adipocytes.

Conclusion et perspectives

Bien que préliminaires, les résultats de cette expérimentation permettent de mieux comprendre les mécanismes aigus impliqués dans le déconditionnement musculaire. Plus précisément, nous avons mis en évidence que les altérations mitochondriales étaient présentes 4 jours après l'administration de la première chimiothérapie à base d'épirubicine-cyclophosphamide, tout comme un dysfonctionnement du turnover protéique. Néanmoins, une seule chimiothérapie ne semble pas assez suffisante pour déclencher les mécanismes impliqués dans le développement d'IMAT.

Comme mentionné ci-dessus, ces résultats sont préliminaires et il est nécessaire de les compléter avec les 3 patientes manquantes pour le groupe EC. Il est aussi important de compléter ces résultats par des investigations histologiques afin de confirmer que les perturbations rapportées au niveau cellulaire précèdent les modifications structurelles. De plus, la comparaison avec le groupe TAX va être primordiale étant donné que les premiers résultats sur les 3 patientes de ce groupe (données non présentées ici) au niveau de la fonction mitochondriale tendent à montrer que la respiration mitochondriale n'est pas affectée post-TAX, alors que la production d'H₂O₂ est quant à elle augmentée. S'il s'avère que les mécanismes sont bien différents, cela permettrait d'adapter la prise en charge des patientes en fonction de la chimiothérapie qui leur est administrée et donc d'individualiser davantage la prise en charge. D'autre part, étant donné que les cancers du sein sont de plus en plus traités par immunothérapie, notamment avec du trastuzumab pour le cancer du

sein HER2 positif, il serait également intéressant de mesurer la toxicité de cet anticorps monoclonal au niveau du muscle strié squelettique, ce qui n'a pas encore été fait, même dans les modèles animaux. Il est intéressant de noter qu'à l'inverse, l'impact de cet anticorps sur le muscle cardiaque est bien connu (Jerusalem *et al.*, 2019; Nicolazzi *et al.*, 2018; Rochette *et al.*, 2015).

Étude 6 : faisabilité et réponses physiologiques d'une séance de pédalage excentrique chez des patientes atteintes d'un cancer du sein

Implication personnelle

En tant que co-investigateur principal, j'ai participé à la conception de cette étude et à la rédaction de la demande d'autorisation auprès du comité de protection des personnes. J'ai également recruté l'ensemble des patientes et participé à toutes les investigations. Plus précisément, j'ai participé aux évaluations neuromusculaires (*i.e.* préparation du sujet, placement des électrodes de stimulation électrique et des électrodes EMG, stimulation magnétique transcrânienne), métaboliques (mise en place de la $\dot{V}O_2$ et épreuve d'effort maximale), et aux investigations liées aux dommages musculaires (activités de la créatine kinase et du lactate déshydrogénase, production d'anion superoxyde). L'analyse des données neuromusculaires a été faite par Elyse Hucteau et nous avons rédigé ensemble l'article dont je suis deuxième auteur et qui sera soumis prochainement dans *Sports Medicine*.

Acute neuromuscular fatigue and muscle damage induced by eccentric cycling in breast cancer patients

Elyse Hucteau, **Joris Mallard**, Chiara Barbi, Guillaume P Ducrocq, Roland Schott, Fabrice Favret, Xavier Pivot, Stéphane P Dufour, Allan F Pagano, Thomas J Hureau

Article en cours de préparation pour une soumission dans *Sports Medicine* (IF : 11.9)

Contexte

Les études précédentes ont permis de mettre en évidence un déconditionnement musculaire rapide dans le cancer du sein traité par chimiothérapie, caractérisé par une perte de masse musculaire, une perte de force et une diminution de la capacité d'exercice. En parallèle, les travaux d'Elyse Hucteau ont mis en évidence une exacerbation de la fatigue centrale chez les patientes en comparaison à des sujets contrôles. La caractérisation de ces altérations et des mécanismes associés a permis d'identifier une contremesure qui semblerait être adaptée aux spécificités des patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie.

Il s'agit de l'exercice, et plus particulièrement du pédalage excentrique, une modalité d'entraînement basée sur l'allongement du complexe muscle-tendon, permettant d'induire un fort stimulus mécanique (*i.e.* une forte contrainte musculaire), associé à un coût métabolique (*i.e.* à une demande cardiorespiratoire) plus faible qu'en pédalage concentrique conventionnel (Dufour *et al.*, 2004, 2007; Lastayo *et al.*, 1999). Cette spécificité s'explique par le fait que la charge externe appliquée sur le muscle est supérieure à la force produite par le muscle en lui-même (Lindstedt *et al.*, 2001), *i.e.* que les ponts actines-myosines ne produisent pas assez de force pour résister à l'étirement, ce qui augmente finalement la longueur du sarcomère. De plus, la contraction excentrique est associée à une augmentation de la raideur du tendon qui entraîne un meilleur stockage d'énergie qui est restitué plus rapidement au muscle (Hill, 1950). D'autre part, étant donné que la force produite par une fibre musculaire est plus importante en excentrique, le recrutement du nombre de fibres musculaires est moins important (Duchateau & Baudry, 2014), ce qui permet finalement de réduire le coût énergétique.

De par le fort stimulus mécanique qu'il induit, ce type d'entraînement permettrait de lutter contre le déconditionnement musculaire observé chez les patientes. En effet, que ce soit chez des sujets sains (Leong *et al.*, 2014; Mavropalias *et al.*, 2022) ou chez des patients BPCO (Inostroza *et al.*, 2022), la pratique chronique du pédalage excentrique permet d'augmenter la masse musculaire, l'architecture musculaire, la CSA et la force. De plus, nous avons mentionné précédemment qu'indépendamment de l'intensité (Bugera *et*

al., 2018), l'exercice en résistance permettait d'augmenter la production de décorine au niveau systémique (Domin *et al.*, 2021; Kanzleiter *et al.*, 2014), une myokine connue pour lutter contre l'accumulation de FAPs (Pagano *et al.*, 2019). Ainsi, le pédalage excentrique pourrait également, via la forte contrainte musculaire qu'il induit, lutter également contre le développement d'IMAT observé chez les patientes.

Nous avons aussi montré que le déconditionnement musculaire était associé à une diminution de la capacité d'exercice chez les patientes (étude 1), et que cela pouvait s'expliquer par d'importantes altérations mitochondriales (Mallard *et al.*, 2022a). De plus, il a été montré que les patientes présentaient un déconditionnement cardiorespiratoire avant même le début du traitement, caractérisé par une $\dot{V}O_{2max}$ inférieure à des femmes actives du même âge (Peel *et al.*, 2014). Cela pourrait s'expliquer par une sédentarité accrue et la présence d'obésité, deux facteurs de risques de développer un cancer du sein (Benn *et al.*, 2016; Kyu *et al.*, 2016; McTiernan *et al.*, 2003). Il apparaît donc important de proposer un exercice avec une contrainte aérobie élevée pour contrecarrer cet aspect du déconditionnement (Egan & Zierath, 2013). Toutefois, afin d'optimiser les bénéfices d'un programme d'entraînement, il est nécessaire d'y faire adhérer l'ensemble des patientes. Dès lors, il semble pertinent de prendre en compte d'autres aspects que les facteurs physiologiques pour proposer une contremesure adaptée. En effet, il a été montré que les patientes préféraient la pratique d'exercice en résistance par rapport à la pratique d'exercice aérobie (Courneya, McKenzie, *et al.*, 2008; Courneya, Reid, *et al.*, 2008), et la motivation est un aspect déterminant pour l'adhésion des patientes à un programme d'exercice pendant les traitements (Ormel *et al.*, 2017). De plus, chez des sujets BPCO, la pratique du pédalage excentrique est préférée au pédalage classique (Ward *et al.*, 2021). Le faible coût métabolique associé au pédalage excentrique (Dufour *et al.*, 2004, 2007) présenterait donc un avantage pour minimiser la charge d'entraînement au niveau métabolique et aérobie, ce qui entraînerait une perception d'effort plus faible (Collado-Mateo *et al.*, 2021) et faciliterait l'adhésion des patientes. De plus, le faible coût métabolique permettrait d'augmenter la contrainte au niveau mécanique et neuromusculaire pour se concentrer sur les aspects de masse musculaire et de force. La possibilité d'induire une forte contrainte mécanique est particulièrement intéressante étant donné qu'il a été montré dans deux études qu'un programme d'entraînement en

résistance à haute intensité permettait d'augmenter la biogénèse et le contenu mitochondrial (Robinson *et al.*, 2017; Tang *et al.*, 2006). De plus, malgré un faible coût métabolique, un pédalage excentrique réalisé entre 75% et 80% de la puissance maximale aérobie (PMA) concentrique entraîne une consommation d'oxygène entre 40 et 50% de la $\dot{V}O_{2pic}$ chez des patients BPCO (Bourbeau *et al.*, 2020; Ward *et al.*, 2021), et permet tout de même une amélioration des capacités d'endurance de la même manière qu'en concentrique (Bourbeau *et al.*, 2020). Ce résultat est renforcé par une étude ayant rapporté qu'un programme d'entraînement excentrique réalisé chez des enfants obèses à 50% puis à 70% de la $\dot{V}O_{2max}$ entraîne une augmentation des capacités cardiorespiratoires similaire à un entraînement concentrique (Julian *et al.*, 2020). Ainsi, les gains de $\dot{V}O_{2max}$ sont attribuables à la contrainte métabolique imposée et non au type de contraction.

La pratique du pédalage excentrique induit donc un fort stimulus musculaire avec un stimulus métabolique léger, permettant *a priori* de lutter contre la plupart des aspects du déconditionnement musculaire. Cependant, malgré les nombreux avantages de cette modalité d'entraînement, les contractions excentriques peuvent entraîner des dommages musculaires et des douleurs (Proske & Morgan, 2001; Souron *et al.*, 2018). Plus précisément, l'allongement forcé du complexe muscle-tendon peut engendrer une dégradation du cytosquelette, entraînant une libération accrue et non contrôlée de Ca^{2+} dans le milieu intracellulaire. Ce mécanisme conduit finalement à une lyse des protéines structurelles et contractiles, une réaction inflammatoire, et par conséquent des douleurs (Hyldahl & Hubal, 2014; Proske & Morgan, 2001). Ces effets indésirables des contractions excentriques peuvent tout de même être prévenus par des séances de familiarisation couplées à une augmentation progressive de l'intensité de l'effort (T. C. Chen *et al.*, 2019; Coratella *et al.*, 2016). Plus précisément, si l'activité de la créatine kinase, le marqueur des dommages musculaires le plus utilisé au niveau systémique (Brancaccio *et al.*, 2010), augmente 24h après une séance de pédalage excentrique, la réalisation d'une deuxième séance n'entraîne pas de dommage musculaire (Coratella *et al.*, 2016). Ainsi, il est primordial de vérifier qu'une séance de pédalage excentrique, précédée d'une familiarisation, n'entraîne pas de dommages musculaires chez les patientes atteintes d'un cancer du sein qui représentent une population fragile. Cette étape nous permettra finalement de vérifier la faisabilité et la sécurité de ce type de séance.

D'autre part, ce type d'entraînement n'ayant pas encore été testé chez les patientes atteintes d'un cancer du sein, les réponses physiologiques, tant de manières aiguës que chroniques, restent inconnues dans cette population. Il existe un lien fort entre le niveau de fatigue neuromusculaire développé à l'exercice (*i.e.* de manière aiguë) et les adaptations obtenues à l'issue de cet entraînement (*i.e.* de manière chronique) (Burtin *et al.*, 2012; Flück, 2006; Rooney *et al.*, 1994). En effet, les bénéfices chroniques de l'exercice sont étroitement liés à la répétition des cycles de fatigue-récupération qui sont dépendants de l'intensité et la durée de l'exercice (Flück, 2006). Par conséquent, la mesure de la fatigue neuromusculaire aiguë induite par une séance de pédalage excentrique, aussi bien au niveau central (*i.e.* capacité du système nerveux central à activer le muscle) que périphérique (*i.e.* capacités musculaires contractiles), permettrait de caractériser le stimulus physiologique du pédalage excentrique pour valider son intérêt dans le cancer du sein avant d'envisager la mise en place d'un entraînement chronique.

Pour résumer, si les bénéfices du pédalage excentrique au niveau du déconditionnement musculaire semblent envisageables, il est nécessaire : i) de vérifier sa faisabilité par l'étude des dommages musculaires et ii) de caractériser les réponses physiologiques et la fatigue neuromusculaire aiguës avant d'envisager la pratique chronique. C'est dans ce contexte que nous avons mené cette étude de faisabilité et que nous avons comparé le pédalage excentrique au pédalage concentrique conventionnel réalisé à la même puissance mécanique, *i.e.* 80% de la PMA concentrique, ou à la même demande métabolique, *i.e.* à la même $\dot{V}O_2$. Nous avons décidé de réaliser une séance composée de 3 blocs de pédalage de 6min afin de nous rapprocher des contenus d'exercice réalisés dans le cancer (Mugele *et al.*, 2019).

Effects of eccentric versus concentric cycling exercise on neuromuscular fatigue and muscle damage in patients with breast cancer

Elyse Hucteau^{1,2,3}, Joris Mallard^{1,2,3}, Chiara Barbi^{3,4}, Roland Schott³, Xavier Pivot³, Fabrice Favret^{1,2}, Guillaume P Ducrocq^{1,2}, Stéphane P Dufour^{1,2}, Allan F Pagano^{1,2}, Thomas J Hureau^{1,2}

¹ Biomedicine Research Centre of Strasbourg (CRBS), UR 3072, “Mitochondrie, Stress oxydant, Protection musculaire”, University of Strasbourg, France

² Faculty of Sport Sciences, European Centre for Education, Research and Innovation in Exercise Physiology (CEERIPE), University of Strasbourg, Strasbourg, France.

³ Cancerology institute of Strasbourg Europe (ICANS), Strasbourg, France

⁴ Department of Neurosciences, Biomedicine, and Movement, University of Verona, Italy

Running title: Neuromuscular fatigue and eccentric cycling in breast cancer patients

Key words: central and peripheral fatigue; exercise intolerance; eccentric cycling; oxygen uptake; muscle soreness.

Corresponding author:

Thomas J. Hureau
Faculté des Sciences du Sport
4 rue Blaise Pascal, CS 90032
FR-67081 Strasbourg Cedex
Email: t.hureau@unistra.fr

INTRODUCTION

Exercise is currently considered as medicine in oncology to fight against treatment-related side effects (1) such as skeletal muscle deconditioning (2), a well-admitted consequence of breast cancer chemotherapy that reduces patients quality of life (3) and increases mortality risk (4,5). More precisely, skeletal muscle deconditioning is characterized by a substantial muscle atrophy (6-8), a decrease in muscle force (9,10), an alteration in neuromuscular fatigue (9), which collectively leads to exercise intolerance (11). However, it was reported contrasting and moderate benefits of exercise on these variables in patients with breast cancer (12-14). These discrepancies are mainly explained by the absence of specific exercise guidelines (15,16) and the diversity of exercise modalities, intensities, durations and frequencies used in clinical studies (17).

Among the large variety of exercise modalities, eccentric cycling offers an opportunity to induce high muscle mechanical constraints with a lower metabolic demand and energy cost than concentric cycling (18-20). Indeed, compared to concentric, the lengthening of muscle during eccentric contractions produces higher force (21), resulting in a greater increase in skeletal muscle mass and force after training in COPD patients (22,23).

On the other hand, when performed at similar power output to discriminate metabolic demand, eccentric cycling oxygen consumption has been reported to be only one fifth to seventh of that of concentric cycling (24,25). This low metabolic demand is particularly interesting given that breast cancer patients are intolerant to exercise at cancer diagnosis (26), which is emphasized at the end of chemotherapy treatment (26) and mainly explained by a decrease in mitochondrial content and biogenesis (6,27). This cardiorespiratory deconditioning, characterized by a $\dot{V}O_{2max}$ at least 20% lower than healthy sedentary women (26), should be taken into consideration for exercise prescription. Thus, the reduction of the metabolic constraints in eccentric cycling will benefit in the face of an increase in the mechanical constraints to probably counteract the skeletal muscle deconditioning due to the strong stimulation of the neuromuscular function. Interestingly, despite the lower metabolic demand, it is important to note that eccentric cycling improved exercise tolerance in COPD patients (28) or $\dot{V}O_{2max}$ in obese adolescent (29).

Nevertheless, eccentric cycling has not been tested yet in breast cancer patients and the subsequent neuromuscular responses remain unknown in comparison to conventional concentric cycling, while this is crucial and necessary to understand the long-term exercise effect. Indeed, there is a link between the neuromuscular fatigue response developed acutely after an exercise session and the chronic adaptations (30-32). Precisely, the chronic benefits of exercise are closely linked to the repetition of fatigue-recovery cycles which are dependent of the exercise intensity stimulus (31). Consequently, the measure of neuromuscular fatigue response, both at central (i.e., central nervous system) and peripheral level (i.e., contractile muscle properties), induced by one eccentric cycling session, is necessary to consider the potential adaptations to eccentric training.

The neuromuscular fatigue response not to be confused with muscle damage, a common feature of eccentric contractions, given that if neuromuscular fatigue is characterized by a decrease in muscle force, muscle damage also leads to a force reduction (33,34) with different mechanisms (35,36). Indeed, it is well known that the forced lengthening muscle structures during eccentric contractions is responsible for a cytoskeleton degradation characterized by structural micro-lesions, local inflammation and metabolites accumulation, thus resulting in muscle soreness (37) and muscle damage (36). In healthy population, it has been demonstrated that these alterations can be prevented by familiarization sessions (38,39). Therefore, the reduction of muscle damage is crucial for basic research to isolate the effect of eccentric contractions on neuromuscular fatigue, and also for clinical research to limit the patients' muscle pain. Thus, the determination of the muscle protection by eccentric familiarization is needed in a vulnerable population such as patients with breast cancer.

The present study aimed to assess the neuromuscular and cardiorespiratory responses induced by eccentric cycling exercise, compared to conventional concentric cycling, in patients with breast cancer. In order to achieve our goals, eccentric cycling and concentric cycling were performed at similar mechanical power output (i.e., power-matched), to discriminate metabolic effects, or at similar metabolic demand (i.e., $\dot{V}O_2$ -matched), to discriminate mechanical effects. Moreover, muscle damage was measured after each session. We hypothesized that eccentric cycling induced a higher neuromuscular fatigue than concentric conditions performed at power-matched or at $\dot{V}O_2$ -matched, with a lower

metabolic demand when power-matched. We also hypothesized that eccentric familiarization sessions prevent the muscle damage.

METHODS

Patients

Nine patients from the Institut de Cancérologie Strasbourg Europe (ICANS) were included in the present study (NCT05166148). All patients provided written informed consent prior to enrolment, and the study was conducted in accordance with both the Declaration of Helsinki and the ethics approval received from the national ethics committee (2021-A01624-37). Eligibility criteria included: French-speaking, nonpregnant, ≥ 18 years old, women with Scarff-Bloom-Richardson grade I – III and early-stage breast cancer, WHO performance status 0-2, within one year after the completion of (neo)adjuvant taxane-based chemotherapy. Women were excluded if they had psychiatric, musculoskeletal, or neurological disorders. Patients' characteristics are shown in Table 1.

Table 1. Participants characteristics.

Participants characteristics	Patient ($n=9$)
Characteristic (mean \pm SD)	
Age. year	53 \pm 13
Body mass. kg	76 \pm 25
Height. cm	165 \pm 1
Body mass index. kg/m ²	28 \pm 8
Tumor SBR grade (n)	
II	7
III	2
Tumor type (n)	
Luminal (A/B)	6
HER2+++	3
Treatment setting (n)	
Adjuvant	5
Neo-adjuvant	4

HER2. human epidermal growth factor receptor 2; SBR. Scarff-Bloom-Richardson.

Experimental design

The design of the study is represented in Figure 1. Each patient performed 10 visits, during a period of five weeks. The visits included: one $\dot{V}O_{2max}$ assessment followed by four eccentric familiarization sessions to acquire the specific coordination of eccentric cycling and minimize muscle damage, and six experimental sessions.

Visit 1: $\dot{V}O_{2max}$ assessment and first familiarization session

During the first visit, patients performed an incremental cycle ergometer test until exhaustion, validated in breast cancer patients (40), in order to determine maximal oxygen uptake ($\dot{V}O_{2max}$) and concentric peak power. After a 2-min warm-up stage at 25W and 60 rpm, the intensity of the workload was fixed at 40W and then increased by 10W every minute until patients were not able to maintain cadence (± 10 rpm) for five seconds. The following maximal criteria were verified: 1) plateau of $\dot{V}O_2$ despite further increase in mechanical power output, 2) respiratory exchange ratio greater than 1.15 and 3) maximal HR higher than 95% of the theoretical maximal value (41). After a 10-min recovery period, a second constant test (105% of peak power at 60 rpm) was then performed to ensure that the patients reached $\dot{V}O_{2max}$ (42). For every patient, the differences in peak $\dot{V}O_2$ between the incremental test and the constant test was not different (23.4 ± 6.0 mL.min.kg⁻¹ vs. 23.8 ± 5.7 mL.min.kg⁻¹, $P = 0.888$). At the end, patients also performed the first familiarization session to eccentric cycling consisting of 3 bouts of 2 min of cycling. The cadence was fixed from 40 to 60 rpm and patients were asked to apply a low resistance to discover the specific coordination.

Visit 2, 3 and 4: familiarization sessions

The second, third and fourth visit were dedicated to familiarization within the two weeks following the $\dot{V}O_{2max}$ assessment and were separated by 2 or 3 days of recovery. During these sessions, the patients were asked to maintain 60 rpm at a fixed power. Specifically, the second session consisted of 2 min at 50% of concentric peak power, 3 min at 50% of concentric peak power, and 3 min at 60% of concentric peak power. The third session consisted of 6 min at 60% of concentric peak power, 3 min at 65% of concentric peak power, and 3 min at 70% of concentric peak power. The fourth and last session consisted of 6 min at 70% of concentric peak power, 6 min at 75% of concentric peak power, and 4 min at 80% of concentric peak power. The between-bouts recovery period was free

but not exceeded 3 min. After each familiarization session (post-24 h and post-48 h), patients reported thigh muscle soreness (detailed below).

Visit 5, 6, 7, 8, 9, 10: experimental cycling sessions and post-24 h assessments

During experimental sessions, patients performed exercise consisting of eccentric, high concentric, or low concentric cycling (visit 5, 7 and 9) and the associated post-24 h assessments (visit 6, 8 and 10). To address the aim of the study, eccentric and high concentric sessions were power-matched, fixed to 80% of concentric peak power. Eccentric and low concentric sessions were $\dot{V}O_2$ -matched, determined after the eccentric session. The session orders were pseudo-randomized among the patients, given that a low concentric session was always performed after eccentric session.

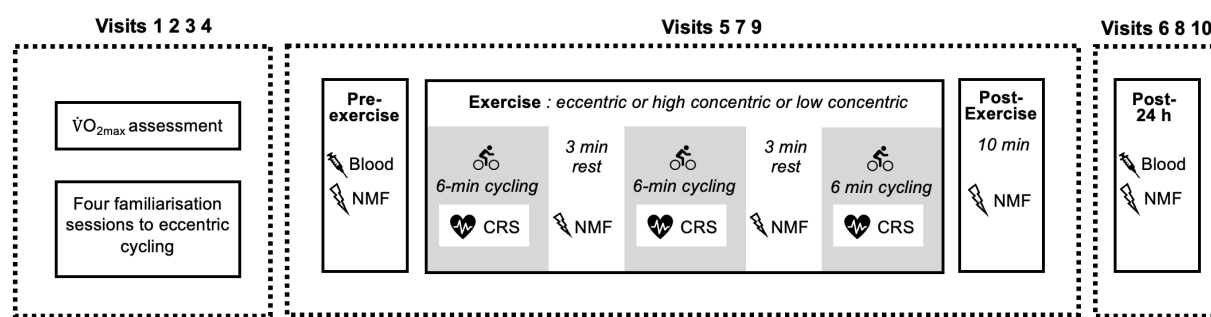


Figure 1. Study design. CRS: cardiorespiratory system; MVC: maximal voluntary contraction; NMF: neuromuscular function.

Experimental cycling protocol

All patients carried out the experiment protocol, conducted as follows: (1) pre-exercise assessments, (2) exercise task, (3) post-exercise assessments and (4) post-24 h assessments. Before exercise, blood samples were collected and neuromuscular testing was performed (detailed below). Patients were then required to perform the exercise task consisting of three 6 min cycling bouts at 60 rpm, separated by 3 min of recovery. During the 3 min recovery, neuromuscular testing was performed at 30 s and 2 min post-exercise. At the end of each bout, rate of perceived exertion (RPE) was asked to the patient using the Borg CR-10 scale (43). After the third bout, neuromuscular testing was performed at 30 s and 2, 3, 5, and 10 min post-exercise. During the post-24 h visit, blood samples were collected and neuromuscular testing was performed.

All patients performed cycling in a semi-recumbent ergometer both for eccentric (Cyclus II – Recumbent, RBM Electronics, Leipzig, Germany) and concentric (Ergoline GmbH, Ergoselect 600, Bitz, Germany) cycling. The seat position in each ergometer was adjusted to each patient's morphology and kept constant during each session.

Experimental assessments and analysis

Neuromuscular function

Force and electromyogram

Patients were tested in a seated position with the lower right leg strapped above the ankle to an ergometer connected to a force transducer. Knee extensors force of the right leg obtained from both evoked and voluntary contractions were collected using a calibrated force transducer (Force sensor kit, Chronojump, Barcelona, Spain). Surface electromyogram (EMG) recording electrodes (Ag-AgCl, 32x32mm) were placed bilaterally over the vastus lateralis (VL), vastus medialis (VM), rectus femoris (RF), and biceps femoris (BF) according to the SENIAM-recommended guidelines (44). EMG recordings were bandpass filtered (1 kHz – 10 Hz) and amplified with an isolated differential amplifier (Octal Bio Amp, AD Instruments, Colorado Springs CO). Electromyographic and mechanical signals were collected simultaneously at a sampling rate of 2000 Hz in LabChart Software (AD Instruments, Colorado Springs CO, Version 8). Electromyographic muscle activity was recorded during maximal voluntary isometric contractions (MVCs) and during cycling. During MVC, VL, VM, and RF muscle activation was calculated with RMS on EMG signals and RMS was determined for each contraction over a 500-ms interval corresponding to the peak force. During cycling, VL, VM and RF muscle activation was calculated by detecting each burst using a custom-made Matlab software algorithm (Matlab R2019b, Mathworks, Natick, MA, USA). The RMS of each burst was calculated then averaged every 30-s and normalized to the root mean square recorded during pre-exercise MVCs ($VL_{\%MVC}$, $VM_{\%MVC}$, and $RF_{\%MVC}$, respectively).

Electrical femoral nerve stimulation

A high-voltage (400 V) Digitimer stimulator (Model DS7-AH, Digitimer Ltd., Hertfordshire, UK) was used to generate single electrical stimulations (rectangular pulses of 200 μ s duration). Electrical stimulations were applied to the femoral nerve to evoke knee

extensors contractions. The cathode (32 mm diameter, Valu Trode, CF3200 models, Denmark) was positioned over the inguinal space on the femoral nerve and the anode (90 × 50 mm, Valu Trode, 895240 models, Denmark) in the gluteal fold. A recruitment curve was performed to determine the optimum stimulation intensity with increasing intensity at 10 mA initiated from 50 mA until maximal single twitch peak force (Q_{tw}) and compound muscle action potential (M-wave) were achieved. The maximal intensity was reached when no improvement in Q_{tw} and M-wave (M_{max}) was observed between the two stimulation intensities. A supramaximal stimulation intensity (i.e., 120% of the maximal stimulation intensity) was used to guarantee the complete recruitment of motor units.

Q_{tw} was calculated as the force amplitude between the baseline signal and the highest force value of the evoked potentiated twitch. Moreover, the following parameters of potentiated resting twitch, as indicators of muscle contractile properties, were also calculated: contraction time (CT), which is the time from the start of the contraction to Q_{tw} ; half relaxation time (HRT), which is the time from Q_{tw} to 50 % decline in Q_{tw} ; maximal rate of force development (MRFD), which is the steepest rate of torque development (i.e., highest positive derivative of the torque for an interval of 10 ms between two cursors placed either side of the torque rise). Voluntary activation was calculated using the twitch interpolation method (45), with the amplitude of the superimposed twitch (SIT) and Q_{tw} , using the following formula: Voluntary activation (%) = $[1 - (SIT \div Q_{tw}) \times 100]$.

Transcranial magnetic stimulation

A transcranial magnetic stimulator (Magstim 200², The Magstim Company Ltd, Dyfed, UK) was used to generate magnetic stimulation via a double-cone coil (diameter of 130 mm). Intensities are expressed as a percentage and function of the maximum output intensity (1.4 T). Stimulations were applied to the left motor cortex to evoke motor evoked potentials (MEPs) in the right knee extensors with the current flowing posterior to anterior direction. Coil position was determined by applying stimulations at 50% during 20% EMG-RMS isometric contraction registered from knee extensors MVC. The optimal position, where the greatest possible MEP in the VL and the lowest in the BF (<15% of raw VL MEP amplitude), was marked directly on the scalp for reproducibility during the experimental session. Then, the stimulation intensity was determined by the active motor threshold. Thus, the motor threshold was the minimum stimulus intensity to elicit a MEP (more than 50 μ V in 50% of trials) during 20% EMG-RMS isometric contraction. The stimulator intensity was

set to 120% of the active motor threshold to ensure a clear MEP. The MEP peak-to-peak amplitude were measured between maximum and minimum values and normalized to concomitant M_{\max} ($\text{MEP} \cdot cM_{\max}^{-1}$) for VL, VM and RF.

Neuromuscular protocol

Patients were first familiarized with the isometric knee extensors contractions and the associated experimental procedures. Neuromuscular assessment of the knee extensors was conducted at pre-exercise, between, and after the cycling bouts using a standardized set of contractions. In each set, patients performed a 3 s-MVC and stimulations were applied both during (superimposed twitch) and 1 s after (potentiated resting twitch, Q_{tw}) each MVC to assess knee extensors voluntary activation and muscle contractile properties, respectively. For all attempts, strong verbal encouragement was given. Corticospinal excitability was measured immediately after the potentiated twitch. Three TMS stimulations were delivered during a submaximal voluntary isometric contraction corresponding to 20% of each patient's maximal EMG root mean square (EMG-RMS) output (obtained from MVC). At pre-exercise, six sets separated by 30 s recovery to ensure potentiation were realized. Further attempts were realized if the variability of MVC exceeded 5%. Between bouts and post-exercise, the standardized set was used for the neuromuscular testing.

Cardiorespiratory assessments

Gas exchange and heart rate were measured concomitantly at rest and during each bout of cycling using the portable system Cortex Metamax 3B (Cortex Biophysik GmbH, Leipzig, Germany). Before each exercise session, the pneumotachograph was calibrated with a 3-L calibration syringe (model 5530, Hans Rudolph, Kansas City, MO). The gas analyzers were calibrated with reference gases of known O_2 and CO_2 concentrations (12% O_2 and 5% CO_2). $\dot{V}\text{O}_2$ and heart rate were averaged every 30 s.

Muscle soreness

Thigh muscle soreness was quantified using a visual analogue scale (VAS) based on 0-10 score (0 indicates “no pain” and 10 to “worst pain imaginable”) after three phases of sitting and standing from a chair.

Blood parameters

Venous blood samples were drawn at rest and before each exercise protocol session and post-24 h visit. Blood samples were collected in 2×4 mL ethylenediaminetetraacetic acid tubes. Superoxide anion measurement was immediately performed on fresh whole-blood using electron paramagnetic resonance as previously described (46). The rest of blood samples was immediately centrifuged (10 min at 2000g), and the plasma was collected and stored at -80°C. Creatine kinase (CK) activity assay kit (Sigma-Aldrich, MAK116) and lactate dehydrogenase (LDH) activity assay kit (Sigma-Aldrich, MAK066) were then performed in 96 well-plates according to the manufacturer's instructions.

Statistical analysis

All statistical tests were performed with Statistica 10 (Stat-Soft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA) and graphs were designed with GraphPad Prism version 8 Software (GraphPad Software, San Diego, California, USA). Data are presented as means ± SD. The Shapiro-Wilk test and the Levene test were used to check for the normality and variance homogeneity of the data, respectively. Two-way ANOVAs with repeated measures [condition (eccentric, high concentric, low concentric) × time (pre-exercise, 30s and 2 min post-first bout, 30s and 2 min post-second bout, post-30 s, 2, 3, 5, 10 min and 24 h)] were used to compare neuromuscular indices (i.e., MVC, voluntary activation, Q_{tw} , CT, HRT, MRFD, M_{max} , $MEP \cdot cM_{max}^{-1}$), biomarkers of muscle damage (superoxide anion production, CK and LDH activities) and subjective parameters (Borg RPE, muscle soreness). Three-way ANOVAs with repeated measures [condition (eccentric, high concentric, low concentric) × bout (first, second, third) × time (each 30 second per bout)] were used to compare muscle activation (VL, VM and $RF_{\%MVC}$) and cardiorespiratory parameters ($\dot{V}O_2$ and heart rate) during cycling. Particularly, statistical analysis for the cardiorespiratory parameters were performed during the steady state (i.e., last 3 min of each cycling bout). Multiple comparison analysis was performed with the Tukey post-hoc test, when a significant difference was found in the ANOVA. Statistical significance was set at $P < 0.05$.

RESULTS

The $\dot{V}O_{2\max}$ was 23.8 ± 5.7 mL.min.kg⁻¹, HR_{max} was 167 ± 13 bpm and concentric peak power was 121 ± 25 W. The average cycling power output was 95 ± 23 W for the eccentric and the high concentric conditions (80% of concentric peak power by design) and 29 ± 12 W for low concentric (24% of concentric peak power when $\dot{V}O_2$ -matched with the eccentric condition). Pre-exercise neuromuscular indices (MVC, voluntary activation, Q_{tw} , CT, HRT, MRFD, M_{\max} , MEP.c M_{\max}^{-1}), cardiorespiratory indices ($\dot{V}O_2$ and heart rate), and blood biomarkers production or activities (superoxide anion production, CK and LDH activities) did not differ from the three experimental cycling sessions.

Neuromuscular fatigue

Neuromuscular indices are presented in Figure 2 and Table 2. A significant condition \times time interaction effect was found for MVC ($P < 0.001$). MVC remained unchanged compared to pre-exercise throughout the low concentric session while significant reductions were evidenced in eccentric and high concentric conditions (Figure 2A). Eccentric resulted in a greater decrease in MVC compared to high concentric (30s post-exercise: $-25 \pm 12\%$ in eccentric vs. $-11 \pm 9\%$ in high concentric, $P < 0.001$). This difference in MVC between eccentric and high concentric conditions persisted during recovery ($P < 0.001$). MVC of 24 h post-exercise was still lower than pre-exercise in eccentric ($-17 \pm 8\%$, $P < 0.001$) while it fully recovered in high concentric ($P = 0.376$).

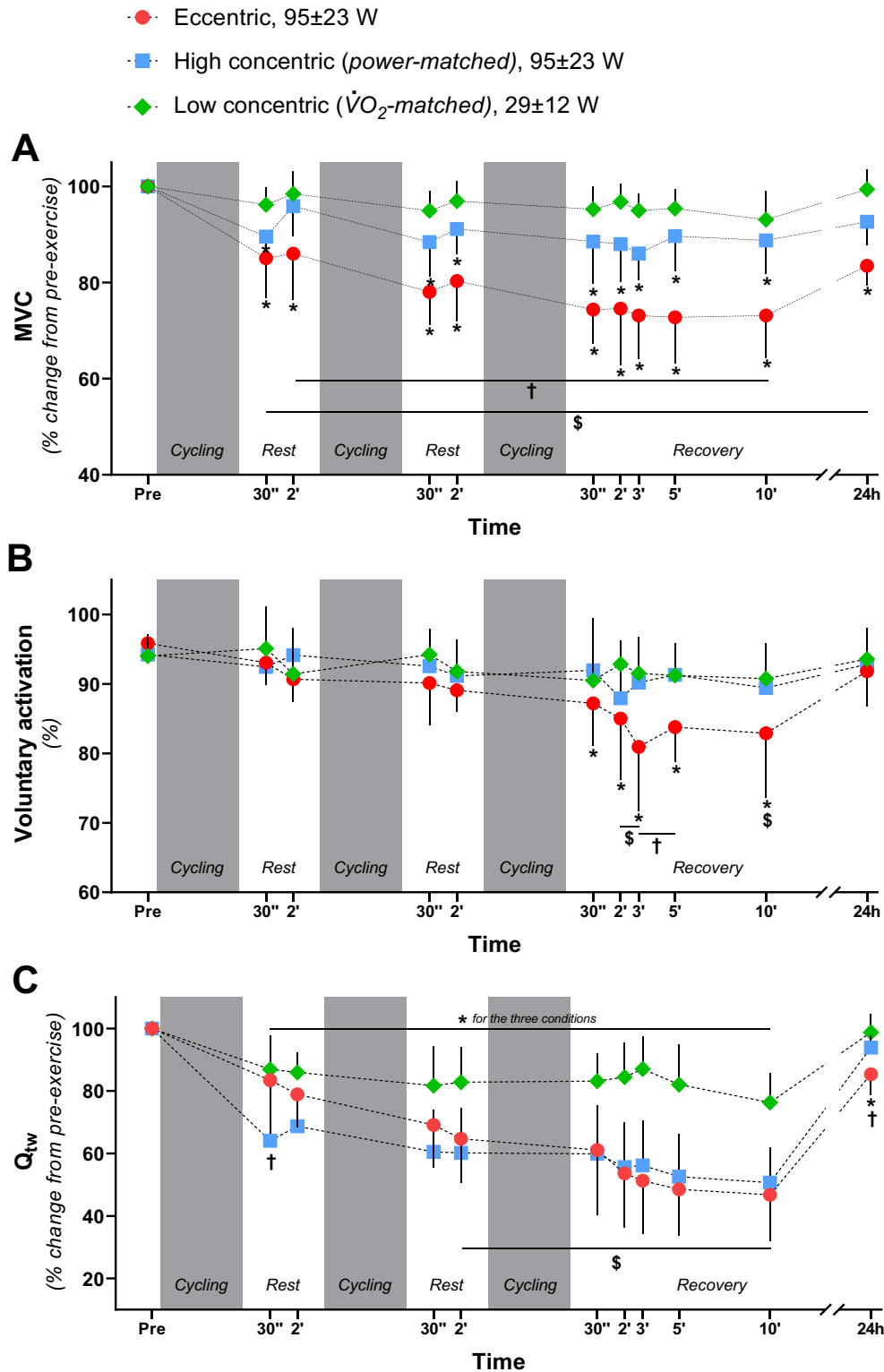


Figure 2. Evolution of the neuromuscular indices during and after exercise. Maximal voluntary contraction (MVC) expressed in relative unit (A), voluntary activation (B) and Q_{tw} expressed in relative unit (C) assessed during recovery between bouts and post-exercise recovery. Data are presented as mean \pm SD. * Significant difference from pre-exercise, $P < 0.05$. † Significant difference between eccentric and high concentric, $P < 0.05$. § Significant difference between eccentric and low concentric, $P < 0.05$.

A significant condition \times time interaction effect was found for voluntary activation ($P < 0.001$, Figure 2B). Voluntary activation decreased only in eccentric condition, reaching $-9 \pm 6\%$ at 30 s post-exercise ($P = 0.005$) and $-14 \pm 9\%$ at 10 min post-exercise ($P < 0.001$). Eccentric resulted in a greater decrease in voluntary activation compared to high concentric 3 min post-exercise ($P = 0.001$) to 5 min post-exercise ($P = 0.046$). Voluntary activation fully recovered in eccentric at 24 h post-exercise ($P = 0.981$).

The two-way ANOVA did not show significant interaction effect (condition \times time) in corticospinal excitability (Table 2) for MEP.cM_{max}⁻¹ in VL ($P = 0.196$), VM ($P = 0.558$) or RF ($P = 0.475$) muscle, while a significant time effect was found for MEP.cM_{max}⁻¹ in VL ($P < 0.001$) and RF muscle ($P = 0.019$).

VL, VM and RF muscle activations are presented in Figure 3. While a significant interaction effect (condition \times bout \times time) was found in muscle activation for VL RMS_{%MVC}, the three-way ANOVA revealed a significant mode \times time interaction for muscle activation of the three muscle groups ($P < 0.001$), as well as for the bloc \times time interaction effect (VL: $P = 0.007$; VM: $P = 0.001$; RF: $P = 0.004$). Eccentric resulted in a lower muscle activation compared to high concentric in the three muscle groups (VL: $P = 0.008$, VM: $P = 0.006$ and RF: $P = 0.026$), and a higher muscle activation compared to low concentric in VM and RF muscle ($P < 0.001$). Eccentric muscle activation in VL and VM significantly increased between the first and the third bout ($P < 0.001$).

Table 2. Neuromuscular function of quadriceps pre-, during and post-exercise in eccentric, high concentric and low concentric cycling session.

	Pre-exercise	Post-bout 1		Post-bout 2		Post-bout 3					
		30 s	2 min	30 s	2 min	30 s	2 min	3 min	5 min	10 min	24 h
CT. ms											
<i>Eccentric</i>	109 ± 10	112 ± 13	112 ± 15	109 ± 13	106 ± 8	110 ± 12	107 ± 7	112 ± 14	112 ± 11	122 ± 30	103 ± 11
<i>High concentric</i>	108 ± 11	113 ± 14	113 ± 16	114 ± 15	114 ± 15	117 ± 21	115 ± 15	118 ± 16	119 ± 23	116 ± 17	110 ± 10
<i>Low concentric</i>	109 ± 10	113 ± 12	115 ± 11	112 ± 11	114 ± 8	110 ± 11	114 ± 9	113 ± 11	111 ± 12	114 ± 11	104 ± 6
HRT. ms											
<i>Eccentric</i>	75 ± 20	36 ± 10 [†]	38 ± 8 [†]	32 ± 6 ^{**§}	35 ± 9*	28 ± 8 [§]	35 ± 8*	33 ± 7 [§]	32 ± 7*	34 ± 12*	76 ± 14
<i>High concentric</i>	74 ± 27	88 ± 46	64 ± 34	65 ± 30	54 ± 28	43 ± 27*	45 ± 27	39 ± 23*	49 ± 50	38 ± 20*	70 ± 33
<i>Low concentric</i>	83 ± 21	56 ± 26*	55 ± 19*	61 ± 29	55 ± 23*	63 ± 36	51 ± 22*	57 ± 28	57 ± 16	55 ± 14*	85 ± 22
MRFD. N.s⁻¹											
<i>Eccentric</i>	4241 ± 973	3856 ± 1136 [§]	3579 ± 1209*	3173 ± 1168*	2913 ± 1156*	2899 ± 1365*	2428 ± 985 [§]	2267 ± 1006 [§]	2032 ± 827 [§]	1963 ± 809 [§]	3598 ± 927*
<i>High concentric</i>	4752 ± 1521	2558 ± 1135*	2799 ± 1181*	2471 ± 1143*	2475 ± 1152*	2558 ± 1172*	2203 ± 1087*	2322 ± 1162*	2205 ± 1047*	2062 ± 874*	4423 ± 1070
<i>Low concentric</i>	4322 ± 1547	3646 ± 1248	3676 ± 1153	3428 ± 1121	3416 ± 1103	3442 ± 1019	3247 ± 1156	3444 ± 1012*	3341 ± 1182*	3031 ± 981*	4114 ± 1148
VL M_{max}. mV											
<i>Eccentric</i>	11.5 ± 3.7	10.7 ± 3.3	10.3 ± 3.3 ^{**}	10.5 ± 3.0 [†]	10.4 ± 3.0 ^{**}	10.4 ± 3.0*	10.3 ± 3.0*	10.4 ± 3.1*	10.2 ± 3.1*	10.2 ± 3.2*	11.3 ± 4.5
<i>High concentric</i>	11.3 ± 4.2	12.1 ± 4.0	12.1 ± 4.0	12.3 ± 4.1	12.2 ± 4.1	12.0 ± 4.7	11.8 ± 4.2	11.7 ± 4.2	11.3 ± 4.2	10.9 ± 4.1	10.9 ± 4.3
<i>Low concentric</i>	11.3 ± 4.3	11.1 ± 4.0	11.1 ± 4.0	11.3 ± 4.1	11.1 ± 4.1	11.2 ± 3.9	11.1 ± 3.9	11.2 ± 3.9	11.0 ± 3.9	10.8 ± 3.9	11.0 ± 4.3
VM M_{max}. mV											
<i>Eccentric</i>	12.8 ± 4.1	11.3 ± 3.3	10.6 ± 3.8 ^{**}	10.5 ± 3.3 [†]	11.0 ± 3.0 ^{**}	10.5 ± 3.2*	10.7 ± 3.0*	10.8 ± 3.1*	10.6 ± 3.2*	10.6 ± 3.2*	12.7 ± 4.2
<i>High concentric</i>	12.2 ± 4.0	12.0 ± 5.1	12.4 ± 5.2	12.0 ± 4.8	12.1 ± 4.3	11.5 ± 5.5	10.8 ± 5.1	11.1 ± 4.9	10.5 ± 5.0	10.3 ± 4.6	11.9 ± 4.5
<i>Low concentric</i>	12.3 ± 5.0	11.6 ± 5.0	11.6 ± 4.8	11.3 ± 5.2	11.6 ± 4.7	11.8 ± 4.6	11.7 ± 4.4	11.7 ± 4.5	11.8 ± 4.2	11.5 ± 4.3	12.6 ± 4.3
RF M_{max}. mV											
<i>Eccentric</i>	3.9 ± 1.3	3.5 ± 1.1	3.4 ± 1.0	3.3 ± 1.0 ^{**}	3.3 ± 1.1 [†]	3.3 ± 1.1*	3.3 ± 0.9	3.3 ± 1.0	3.4 ± 1.0	3.3 ± 1.0*	3.9 ± 1.1
<i>High concentric</i>	3.9 ± 1.3	3.8 ± 1.5	3.8 ± 1.3	3.9 ± 1.1	3.9 ± 1.1	3.7 ± 1.2	3.6 ± 1.1	3.7 ± 1.1	3.5 ± 1.2	3.5 ± 1.2	3.7 ± 1.4
<i>Low concentric</i>	4.0 ± 1.3	3.7 ± 1.1	3.8 ± 1.2	3.7 ± 1.2	3.7 ± 1.3	3.7 ± 1.2	3.7 ± 1.2	3.7 ± 1.2	3.6 ± 1.2	3.6 ± 1.2	4.2 ± 1.3
VL MEP.cM_{max}⁻¹											
<i>Eccentric</i>	0.19 ± 0.07	0.20 ± 0.07	0.20 ± 0.07	0.20 ± 0.10	0.23 ± 0.08	0.23 ± 0.08	0.24 ± 0.09	0.23 ± 0.09	0.26 ± 0.09	0.25 ± 0.11	0.21 ± 0.11
<i>High concentric</i>	0.24 ± 0.10	0.20 ± 0.08	0.22 ± 0.08	0.19 ± 0.08	0.22 ± 0.08	0.25 ± 0.09	0.27 ± 0.07	0.27 ± 0.09	0.28 ± 0.08	0.29 ± 0.07	0.22 ± 0.08
<i>Low concentric</i>	0.22 ± 0.07	0.21 ± 0.07	0.22 ± 0.09	0.22 ± 0.09	0.23 ± 0.13	0.24 ± 0.10	0.26 ± 0.08	0.25 ± 0.08	0.24 ± 0.09	0.26 ± 0.10	0.21 ± 0.06
VM MEP.cM_{max}⁻¹											
<i>Eccentric</i>	0.20 ± 0.10	0.22 ± 0.11	0.23 ± 0.11	0.21 ± 0.12	0.24 ± 0.10	0.24 ± 0.12	0.26 ± 0.12	0.24 ± 0.11	0.27 ± 0.13	0.27 ± 0.13	0.22 ± 0.11
<i>High concentric</i>	0.26 ± 0.11	0.31 ± 0.26	0.28 ± 0.14	0.27 ± 0.17	0.25 ± 0.10	0.45 ± 0.52	0.45 ± 0.37	0.44 ± 0.42	0.43 ± 0.27	0.44 ± 0.35	0.25 ± 0.11
<i>Low concentric</i>	0.31 ± 0.18	0.41 ± 0.18	0.30 ± 0.20	0.34 ± 0.25	0.30 ± 0.17	0.31 ± 0.14	0.32 ± 0.14	0.31 ± 0.12	0.27 ± 0.11	0.31 ± 0.14	0.24 ± 0.08
RF MEP.cM_{max}⁻¹											
<i>Eccentric</i>	0.31 ± 0.12	0.31 ± 0.09	0.31 ± 0.09	0.29 ± 0.12	0.34 ± 0.15	0.33 ± 0.17	0.34 ± 0.16	0.34 ± 0.12	0.37 ± 0.16	0.35 ± 0.18	0.30 ± 0.12
<i>High concentric</i>	0.35 ± 0.14	0.32 ± 0.14	0.34 ± 0.10	0.30 ± 0.08	0.32 ± 0.10	0.34 ± 0.09	0.42 ± 0.12	0.43 ± 0.13	0.42 ± 0.14	0.44 ± 0.13	0.38 ± 0.23
<i>Low concentric</i>	0.33 ± 0.10	0.31 ± 0.12	0.31 ± 0.15	0.33 ± 0.12	0.34 ± 0.15	0.36 ± 0.14	0.38 ± 0.15	0.38 ± 0.12	0.36 ± 0.13	0.38 ± 0.14	0.32 ± 0.12

Data are presented as means ± SD. CT, contraction time; HRT, half-relaxation time, MRFD, maximal rate of force development, VL, vastus lateralis; VM, vastus medialis; RF, rectus femoris; MEP: motor evoked potential; MEP.cM_{max}⁻¹, normalize MEP to concomitant M_{max}. *Significant difference from pre-exercise, $P < 0.05$. † Significant difference from high concentric, $P < 0.05$. § Significant difference from low concentric, $P < 0.05$.

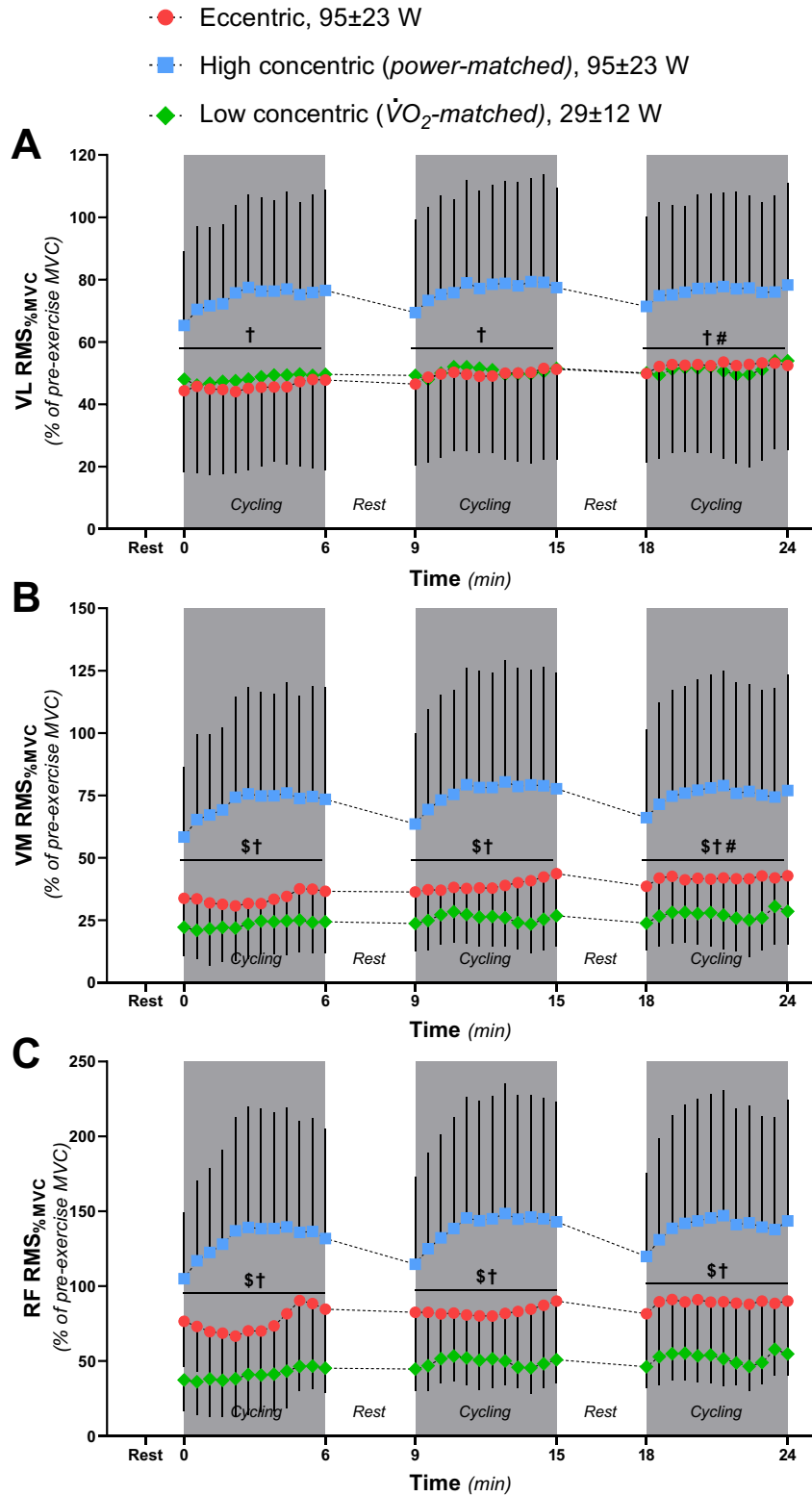


Figure 3: Evolution of muscle activation during exercise. Vastus lateralis (A), vastus medialis (B) and rectus femoris (C) muscle activation are normalized to the root mean square recorded during pre-exercise MVCs and expressed as a percentage from pre-exercise. Data are presented as mean \pm SD. † Significant difference between eccentric and high concentric, $P < 0.05$. \$ Significant difference between eccentric and low concentric, $P < 0.05$. # Significant difference from bout one, $P < 0.05$.

A significant condition \times time interaction effect was found for Q_{tw} ($-15 \pm 7\%$, $P < 0.001$, Figure 2C). Q_{tw} decreased throughout the session in the three-cycling conditions ($P < 0.001$). Firstly, eccentric resulted in a lower decrease in Q_{tw} compared to high concentric after the first bout (30 s post-bout one: $-17 \pm 10\%$ in eccentric vs. $36 \pm 13\%$ in high concentric, $P < 0.001$). Moreover, eccentric results in a higher decrease compared to low concentric after the third bout ($P < 0.001$) that persisted during recovery ($P < 0.001$). 24 h post-exercise Q_{tw} was still lower than pre-exercise in eccentric ($P < 0.001$) while it fully recovered in high concentric ($P = 0.940$) or low concentric ($P = 0.999$). Eccentric resulted in a greater decrease in Q_{tw} 24 h post-exercise compared to high concentric ($P = 0.003$).

Contractile properties of Q_{tw} , as CT, HRT and MRFD are reported in the Table 2. The two-way ANOVA did not show significant interaction effect (condition \times time) in CT ($P = 0.420$), while a significant time effect was found ($P < 0.001$). A significant condition \times time interaction effect was found for HRT and MRFD ($P < 0.001$). HRT and MRFD decreased throughout the session in the three-cycling conditions ($P < 0.001$). While HRT and MRFD were fully recovered in the three-cycling conditions at 24 h post-exercise ($P = 0.999$), eccentric resulted in a greater decrease in MRFD compared to high concentric ($P = 0.031$).

A significant condition \times time interaction effect was found in M_{max} for VL, VM and RF ($P < 0.001$, Table 2). M_{max} decreased only throughout the eccentric session and this reduction persisted during recovery. Eccentric resulted in a greater decrease than high concentric after the first bout for VL and VM ($P < 0.001$) and after the second bout for VL ($P = 0.004$), VM ($P = 0.004$), and RF ($P = 0.001$). VL, VM and RF M_{max} fully recovered in the three-cycling conditions at 24 h post-exercise ($P > 0.945$).

Cardiorespiratory responses to exercise

Cardiorespiratory indices are presented in Figure 4. The three-way ANOVA did not show significant interaction effect (condition \times bout \times time) in $\dot{V}O_2$ ($P = 0.463$), while a significant condition \times time interaction effect was found ($P < 0.001$, Figure 4A). High concentric resulted in a higher oxygen consumption compared to eccentric and low concentric ($81 \pm 7\%$ of $\dot{V}O_{2\max}$ in high concentric vs. $46 \pm 8\%$ of $\dot{V}O_{2\max}$ in eccentric vs. $44 \pm 9\%$ of $\dot{V}O_{2\max}$ in low concentric). The difference between eccentric and low concentric was not statistically different ($P = 0.940$), meaning a well-matched $\dot{V}O_2$ between these two conditions.

A significant condition \times bout \times time interaction effect was found for heart rate ($P = 0.032$, Figure 4B). Eccentric resulted in a lower heart rate during the steady state compared to high concentric performed when power-matched ($67 \pm 5\%$ of HR_{\max} in eccentric vs. $94 \pm 3\%$ of HR_{\max} in high concentric), and a higher heart rate compared to low concentric, when $\dot{V}O_2$ -matched ($67 \pm 5\%$ of HR_{\max} in eccentric vs. $59 \pm 4\%$ of HR_{\max} in low concentric).

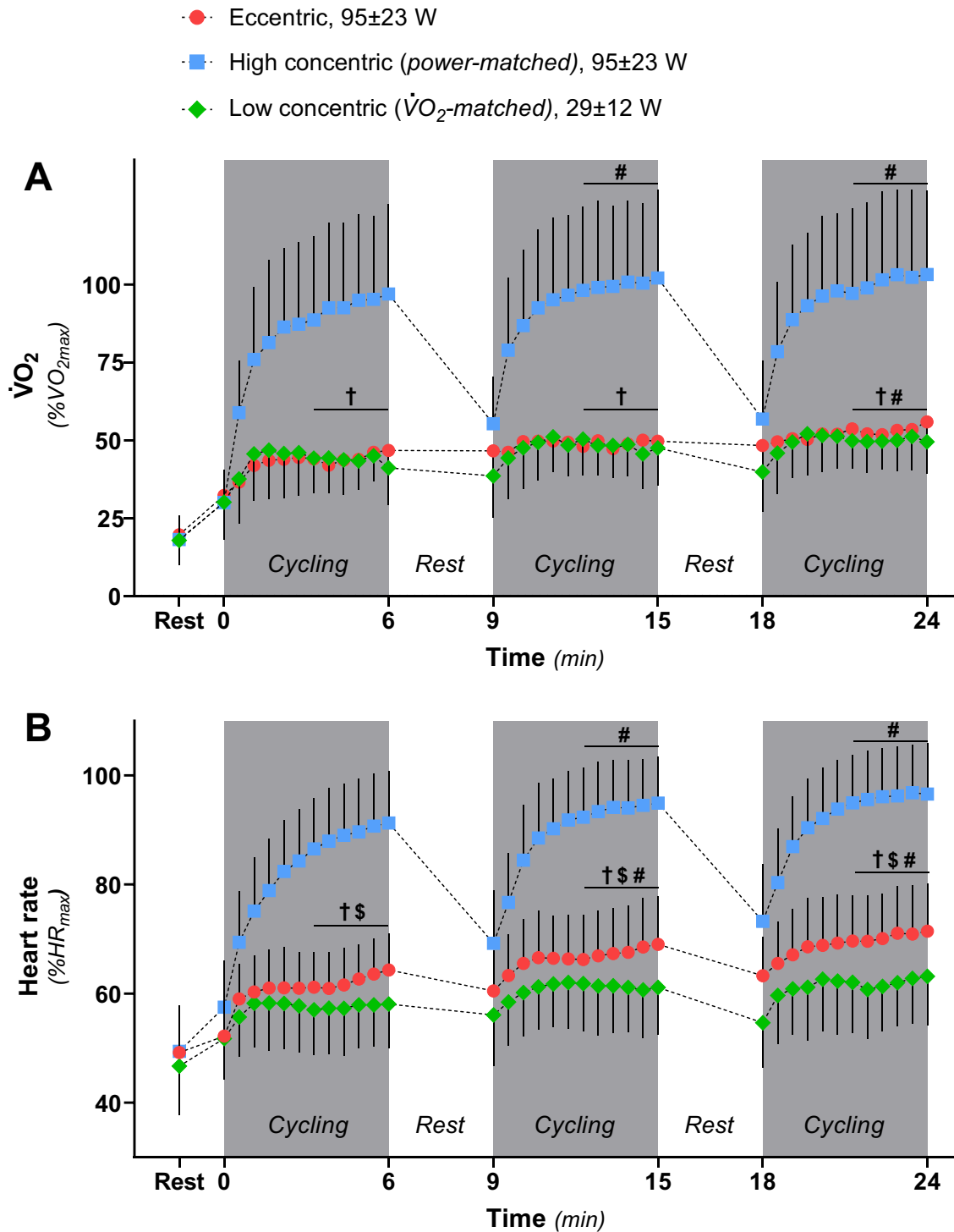


Figure 4: Evolution of the cardiorespiratory indices during exercise. $\dot{V}O_2$ (A) and heart rate (B) recorded during each bout of cycling. Statistical analysis were performed during the steady state (i.e. last 3 min of each cycling bout). Data are presented as mean \pm SD (N=9). † Significant difference between eccentric and high concentric, $P < 0.05$. § Significant difference between eccentric and low concentric, $P < 0.05$. # Significant difference from bout one, $P < 0.05$.

Rate of perceived exertion and muscle damage

The two-way ANOVA did not show significant interaction effect (condition \times time) in the rate of perceived exertion ($P = 0.844$, Table 3), while a significant time ($P < 0.001$) and condition ($P < 0.001$) were found. The rate of perceived exertion increased only throughout the eccentric session ($P < 0.001$). Eccentric resulted in a lower rate of perceived exertion compared to high concentric ($P = 0.04$), and in a higher compared to low concentric ($P < 0.001$).

Table 3. Rate of perceived exertion assessed with a visual analog scale at the end of each cycling bout in eccentric, high concentric and low concentric conditions.

	Exercise		
	<i>Bout 1</i>	<i>Bout 2</i>	<i>Bout 3</i>
<i>Eccentric</i>	2.9 \pm 1.6 ^{†\$}	3.5 \pm 1.6 ^{\$}	4.0 \pm 1.7 ^{†\$#}
<i>High concentric</i>	4.5 \pm 1.8	4.9 \pm 1.2	5.7 \pm 1.3
<i>Low concentric</i>	0.6 \pm 0.6	0.9 \pm 0.9	1.2 \pm 0.8

Data are presented as mean \pm SD. [†] Significant difference from high concentric, $P < 0.05$. ^{\$} Significant difference from low concentric, $P < 0.05$. [#] Significant difference from bout one, $P < 0.05$.

The two-way ANOVA did not show significant interaction effect (condition \times time) in thigh muscle soreness ($P = 0.671$), while a significant time effect was found ($P < 0.002$, Table 4). Eccentric thigh muscle soreness resulted in a higher increased compared to high concentric ($P = 0.002$) and low concentric ($P < 0.001$).

Blood biomarkers are presented in Figure 5. The two-way ANOVA did not show significant interaction effect (condition \times time) in muscle damage for creatine kinase ($P = 0.069$, Figure 5A) and LDH ($P = 0.680$, Figure 5B) activities, as well as no condition ($P = 0.526$ and $P = 0.427$, respectively) or time effect ($P = 0.084$ and $P = 0.844$, respectively), indicating the absence of muscle damage. While no significant condition \times time interaction was found for the production of superoxide anion ($P = 0.885$, Figure 5C), only a time effect

was reported ($P = 0.033$), meaning that muscle damage was not influenced by the type of exercise (i.e., eccentric or concentric).

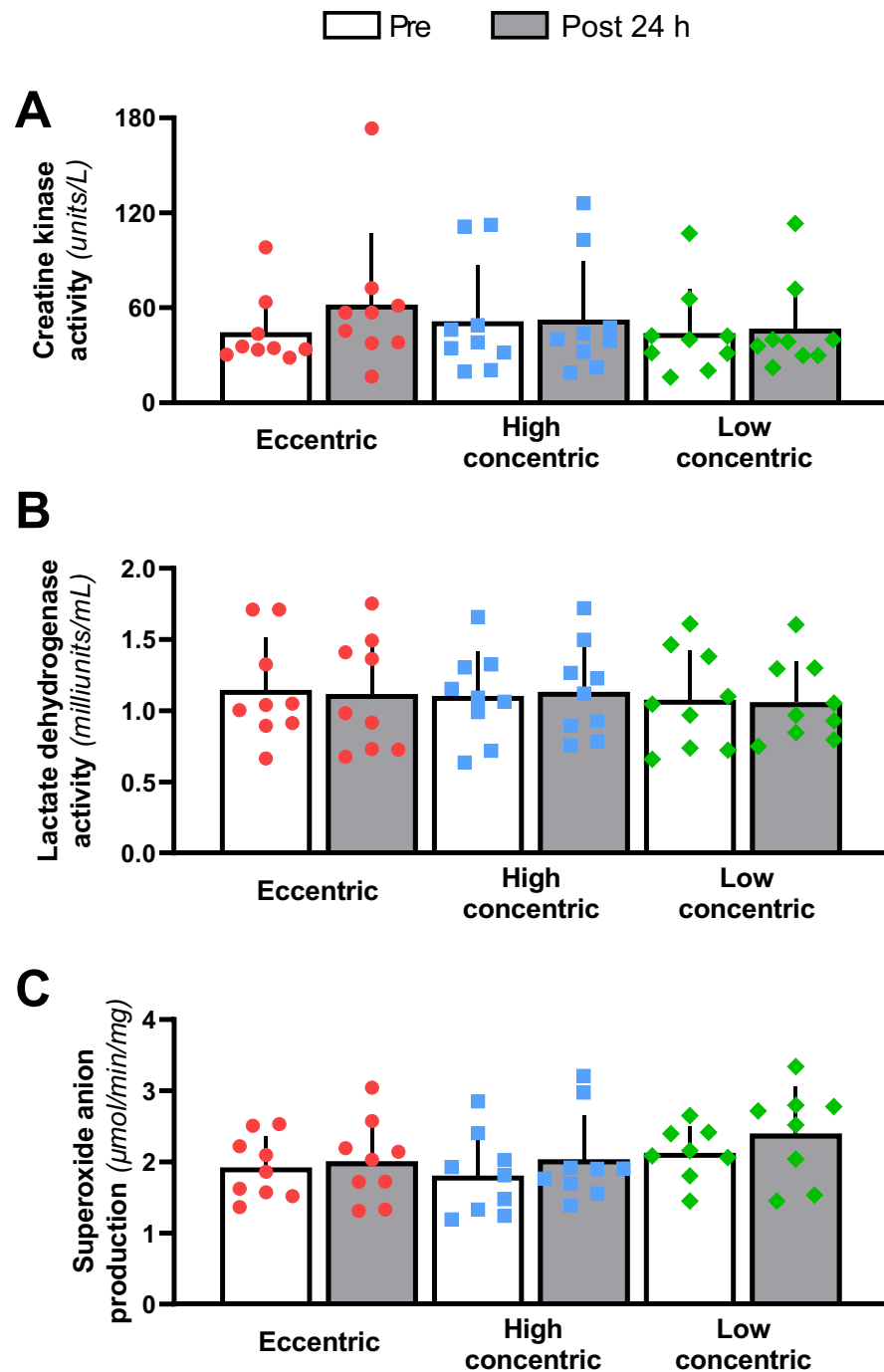


Figure 5: Changes in blood biomarkers from pre-exercise to post-24 h. Creatine kinase activity (A), lactate dehydrogenase activity (B) and superoxide anion production (C) assessed before cycling session and post-24 h. Data are presented as mean \pm SD (For superoxide anion production in low concentric, $n=8$ due to a measurement issue).

DISCUSSION

This study aimed to assess the neuromuscular fatigue responses induced by eccentric vs. concentric cycling performed at either power-matched, to discriminate metabolic effects, or at $\dot{V}O_2$ -matched, to discriminate mechanical effects, and to measure the potential subsequent muscle damage in patients with breast cancer. As hypothesized, eccentric cycling induced a higher neuromuscular fatigue than concentric cycling performed at power-matched or at $\dot{V}O_2$ -matched. For power-matched, eccentric induced a lower cardiorespiratory demand than concentric. Interestingly, no adverse event nor muscle damage were reported at systemic level, indicating the feasibility and the safety of this type of exercise preceded by familiarization sessions in patients with breast cancer.

Higher neuromuscular responses to eccentric cycling

Eccentric cycling induced higher neuromuscular fatigue than concentric conditions performed at power-matched or at $\dot{V}O_2$ -matched, as evidenced by a greater decrease in muscle force throughout the session. If concentric cycling performed at power-matched also led to a decrease in muscle force, it was lower than eccentric. This strengthens previous observations that compared isolated eccentric and concentric knee extensor contractions in healthy subjects (47,48).

The present study showed that the higher neuromuscular fatigue induced by eccentric cycling was explained by an exacerbated central fatigue from 30s to 10 min post-exercise. Indeed, voluntary activation decreased post-exercise only in eccentric cycling, as supported in a previous investigation in isolated knee extensor contractions in healthy subjects (49). It should be noted that if central mechanisms of acute muscle fatigue classically recover within 2 minutes (50-52), we found that voluntary activation was still decreased 10 minutes after exercise completion. If this result appears surprising, it seems to be a specific feature of eccentric contractions given that previous studies reported a decrease in voluntary activation after eccentric contractions up to 30 min (53) and even 24 h (54) post-exercise. Among the factors that could explain the increase in central fatigue, the higher cognitive demand induced by eccentric than concentric cycling as a consequence of the specific coordination and skill to resisting backward rotation of the pedals (55), and resulting in mental fatigue, might be a hypothesis. However, mental fatigue is not classically associated with an

exacerbated central fatigue (56,57). We consequently can speculate that other factors, such as afferent pathway, might be implicated. Particularly, mechano- and metabosensitive group III/IV muscle afferents project from skeletal muscles to the central nervous system and promote central fatigue during intense exercise to restrict peripheral fatigue (58,59). However, peripheral fatigue increased progressively during eccentric, not supporting this hypothesis.

Moreover, the lack of a net effect on corticospinal excitability that we reported does not necessarily designate the absence of change (60). Thus, it is possible that spinal modulations, induced by group Ia muscle afferents, decreased the voluntary activation. Indeed, it has been reported that H-reflex amplitude was decreased in eccentric contractions compared than concentric (61-63), which lead to presynaptic inhibition (63,64) and increase central fatigue. This hypothesis is particularly interesting given that group Ia muscle afferents are sensitive to muscle lengthening (65).

On the other hand, peripheral fatigue was increased for all cycling modalities, as evidenced by the decrease in Q_{tw} during exercise and recovery. However, it should be noted that the development of peripheral fatigue did not follow the same kinetic across cycling modalities. Particularly, the decrease in Q_{tw} was fast and higher after the first bout of high concentric (i.e., at power-matched) than other modalities. If a failure in neuromuscular propagation could explain this alteration, M-wave was not decreased (66). Thus, higher peripheral fatigue might be attributed to a failure in excitation-contraction coupling, mainly due to a very high metabolic demand ($\sim 85\%$ of $\dot{V}O_{2max}$), which is known to increase the production of intramuscular metabolites and lead to peripheral fatigue (35). Despite an increase in $\dot{V}O_2$ between bouts of high concentric cycling, peripheral fatigue was not supplementary increased, indicating a peripheral fatigue threshold (67). For eccentric cycling, peripheral fatigue increased progressively and reached the same post-exercise level than high concentric. Contrary to other modalities, M-wave of vastus lateralis, vastus medialis and rectus femoris decreased, indicating a failure in neuromuscular propagation (66) attributed to eccentric contractions. Furthermore, an alteration in excitation-contraction coupling probably occurred given that metabolic demand increased between eccentric cycling bouts, which certainly led to higher intramuscular metabolites accumulation. This hypothesis is supported by a greater muscle activation in the third bout of eccentric cycling for the vastus lateralis and medialis. Finally, repeated lengthening of sarcomeres caused by

eccentric contraction is known to affect the contractile apparatus (68-71), resulting in a failure in muscle contraction due to a reduced contractile proteins activation (72,74) and an alteration to exclude Ca^{2+} (75).

Therefore, while central fatigue contributed to the higher neuromuscular fatigue throughout the eccentric session, the reduction in muscle force post-24h was mainly explained by peripheral fatigue. Indeed, voluntary activation fully recovered post-24 h and peripheral fatigue was still exacerbated after eccentric cycling. Given that M-wave totally recovered, a probably defect of contractile apparatus could explain this result and this hypothesis was supported by the reduction of MRFD in eccentric modality post-24 h. Nevertheless, one limit of our study should be mentioned and concerns the quantification of peripheral fatigue using single stimulation (i.e., Q_{tw}). If this method reflects the spatial recruitment of motor units, we did not measure the temporal recruitment which is possible using double stimulation (i.e., doublet). Thus, we cannot exclude an alteration in temporal motor units recruitment as it was evidenced following eccentric contractions in healthy subjects (76).

Collectively, our results highlighted that eccentric cycling induced higher neuromuscular fatigue throughout exercise and post-24 h than concentric cycling conditions (i.e., at power-matched or $\dot{V}O_2$ -matched). Considering that chronic benefits are dependent of the repetition of fatigue-recovery cycles (77), we could expect significative muscle adaptations after an eccentric training. Thus, with a substantial acute loss of muscle force, the repetition of eccentric sessions should induce long-term improvements in force. Furthermore, eccentric cycling was associated with higher mechanical constraints per fiber as evidenced by the lower muscle activation in eccentric than concentric for maintaining the same power output. Considering that muscle growth is depending on protein synthesis, a cellular process mainly driven by mechanical constraints (i.e., contraction) (78), it seems intuitive that repeated eccentric cycling can also improve the muscle mass and ultimately counteract the skeletal muscle deconditioning.

Lower metabolic and cardiorespiratory demands in eccentric when power-matched

Metabolic and cardiorespiratory parameters were lower in eccentric than concentric performed when power-matched (80% of concentric peak power), corroborating in breast cancer patients previous studies in healthy subjects (18,19). Especially, the oxygen uptake

was around 89% of $\dot{V}O_{2\max}$ during high concentric and 46% of $\dot{V}O_{2\max}$ during eccentric. Thus, the oxygen demand was approximately twofold lower in eccentric than concentric, while in healthy subjects, the $\dot{V}O_2$ was threefold lower in eccentric (~32% of $\dot{V}O_{2\max}$) than concentric (~98% of $\dot{V}O_{2\max}$) (18). This highlights an exercise intolerance of patients with breast cancer due to cardiorespiratory deconditioning, and is in line with the $\dot{V}O_{2\max}$ found in this study (~24 mL.min.kg⁻¹), which was ~19% less than healthy sedentary women (26). Thus, this cardiorespiratory deconditioning should be considered for exercise prescription and given the lower metabolic demand induced by eccentric cycling, this type of exercise seems to be adapted for breast cancer patients in order to minimize the aerobic stimulus.

We also demonstrated that, despite they were $\dot{V}O_2$ -matched, eccentric cycling led to higher heart rate than low concentric. It seems to be a common feature of eccentric cycling (18,19) and can be explained by a specific thermoregulatory response. Indeed, eccentric cycling imposes an elevated thermal strain, which requires a dissipation of heat with a blood flow redirection to the periphery and thus increases the heart rate (79,80).

The feasibility and safety of eccentric cycling patients with breast cancer

Given that all patients performed eccentric cycling without adverse event, the present study validated the feasibility of this exercise modality in patients with breast cancer. Interestingly, we also reported a good tolerance of eccentric cycling as evidenced by a moderate rate of perceived exertion.

In addition, we also validated the safety of eccentric cycling, preceded by familiarization sessions. Indeed, if we corroborated that muscle soreness assessed post-24 h and post-48 h were higher after eccentric cycling (48), we also reported that thigh muscle pains were very low as evidenced by a 2/10 score of VAS. These findings were supported by the absence of muscle damage measured at the systemic level. The activities of creatine kinase activity and LDH, two biomarkers commonly used to measure muscle damage (81), were not increased post-24 h whatever the cycling session. This was also associated with the absence of change in the superoxide anion production, a reactive oxygen species involved in muscle damage-related oxidative stress (82). We thus can assume that familiarization sessions prevented muscle damage, given that repetitions of eccentric contractions reduced the creatine kinase activity and protect the muscle against lesions induced by eccentric (39).

Conclusion

The present study conducted in patients with breast cancer indicated that eccentric cycling induced greater neuromuscular fatigue than concentric cycling throughout exercise, whatever performed at power-matched or $\dot{V}O_2$ -matched, which is mainly explained by central alterations. Additionally, eccentric also resulted in a greater neuromuscular fatigue post 24h, predominantly explained by underpinning peripheral alterations. When power-matched, the cardiorespiratory demand was lower in eccentric and given that breast cancer patients experienced a cardiorespiratory deconditioning, this type of exercise appears adapted to limit the aerobic stimulus in the face of a strong stimulation of the neuromuscular function. Finally, we demonstrated the feasibility and the safety of eccentric cycling as evidenced by the absence of adverse events and muscle damage at systemic level.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Anne-Catherine Schaettel for the collection of blood samples, Anne-Laure Charles for her assistance with superoxide anion production measurements, and Werner Brard for his assistance during experimental sessions. We finally particularly acknowledge our patients for their participation.

FUNDING

This work was supported by the Institut de Cancérologie Strasbourg Europe (ICANS) and has been published under the framework of the IdEx Unistra supported by investments in the future program of the French government.

REFERENCES

1. Schmitz KH, Campbell AM, Stuiver MM, Pinto BM, Schwartz AL, Morris GS, et al. Exercise is medicine in oncology: Engaging clinicians to help patients move through cancer. *CA Cancer J Clin.* 2019;69:468–84.
2. Mallard J, Hucteau E, Hureau TJ, Pagano AF. Skeletal Muscle Deconditioning in Breast Cancer Patients Undergoing Chemotherapy: Current Knowledge and Insights From Other Cancers. *Frontiers in Cell and Developmental Biology.* 2021.
3. Mallard J, Hucteau E, Schott R, Petit T, Demarchi M, Belletier C, et al. Evolution of Physical Status From Diagnosis to the End of First-Line Treatment in Breast, Lung, and Colorectal Cancer Patients: The PROTECT-01 Cohort Study Protocol. *Front Oncol.* Frontiers; 2020.
4. Deluche E, Leobon S, Desport JC, Venat-Bouvet L, Usseglio J, Tubiana-Mathieu N. Impact of body composition on outcome in patients with early breast cancer. *Support Care Cancer.* 2018;26:861–8.
5. Huh J, Park B, Lee H, An Y-S, Jung Y, Kim JY, et al. Prognostic Value of Skeletal Muscle Depletion Measured on Computed Tomography for Overall Survival in Patients with Non-Metastatic Breast Cancer. *Journal of Breast Cancer.* 2020;23:80–92.
6. Guigni BA, Callahan DM, Tourville TW, Miller MS, Fiske B, Voigt T, et al. Skeletal muscle atrophy and dysfunction in breast cancer patients: role for chemotherapy-derived oxidant stress. *Am J Physiol, Cell Physiol.* 2018;315:C744–56.
7. Mallard J, Hucteau E, Bender L, Charlot A, Debrut L, Pflumio C, et al. Development of skeletal muscle atrophy and intermuscular adipose tissue in early breast cancer patients treated with chemotherapy. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2022.
8. Mijwel S, Cardinale DA, Norrbom J, Chapman M, Ivarsson N, Wengström Y, et al. Exercise training during chemotherapy preserves skeletal muscle fiber area, capillarization, and mitochondrial content in patients with breast cancer. *The FASEB Journal.* 2018;fj.201700968R.
9. Klassen O, Schmidt ME, Ulrich CM, Schneeweiss A, Potthoff K, Steindorf K, et al. Muscle strength in breast cancer patients receiving different treatment regimes. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle.* 2017;8:305–16.
10. Mijwel S, Backman M, Bolam KA, Olofsson E, Norrbom J, Bergh J, et al. Highly favorable physiological responses to concurrent resistance and high-intensity interval training during chemotherapy: the OptiTrain breast cancer trial. *Breast Cancer Res Treat.* 2018;169:93–103.
11. Mallard J, Hucteau E, Hureau TJ, Pagano AF. Skeletal Muscle Deconditioning in Breast Cancer Patients Undergoing Chemotherapy: Current Knowledge and Insights From Other Cancers. *Frontiers in Cell and Developmental Biology.* 2022; 9:2550. A

12. Furmaniak AC, Menig M, Markes MH. Exercise for women receiving adjuvant therapy for breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;9:CD005001.
13. Lopez P, Galvão DA, Taaffe DR, Newton RU, Souza G, Trajano GS, et al. Resistance training in breast cancer patients undergoing primary treatment: a systematic review and meta-regression of exercise dosage. *Breast Cancer.* 2021;28:16–24.
14. Bland KA, Kouw IWK, van Loon LJC, Zopf EM, Fairman CM. Exercise-Based Interventions to Counteract Skeletal Muscle Mass Loss in People with Cancer: Can We Overcome the Odds? *Sports Med.* 2022;52:1009–27.
15. Clarkson PM, Kaufman SA. Should resistance exercise be recommended during breast cancer treatment? *Med Hypotheses.* 2010;75:192–5.
16. del-Rosal-Jurado A, Romero-Galisteo R, Trinidad-Fernández M, González-Sánchez M, Cuesta-Vargas A, Ruiz-Muñoz M. Therapeutic Physical Exercise Post-Treatment in Breast Cancer: A Systematic Review of Clinical Practice Guidelines. *J Clin Med.* 2020
17. Lahart IM, Metsios GS, Nevill AM, Carmichael AR. Physical activity for women with breast cancer after adjuvant therapy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018;1:CD011292.
18. Dufour SP, Doutreleau S, Lonsdorfer-Wolf E, Lampert E, Hirth C, Piquard F, et al. Deciphering the metabolic and mechanical contributions to the exercise-induced circulatory response: insights from eccentric cycling. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007;292:R1641-1648.
19. Dufour SP, Lampert E, Doutreleau S, Lonsdorfer-Wolf E, Billat VL, Piquard F, et al. Eccentric cycle exercise: training application of specific circulatory adjustments. *Med Sci Sports Exerc.* 2004;36:1900–6.
20. Isner-Horobeti M-E, Dufour SP, Vautravers P, Geny B, Coudeyre E, Richard R. Eccentric exercise training: modalities, applications and perspectives. *Sports Med.* 2013;43:483–512.
21. Kraemer WJ, Adams K, Cafarelli E, Dudley GA, Dooly C, Feigenbaum MS, et al. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc.* 2002;34:364–80.
22. Bourbeau J, De Sousa Sena R, Taivassalo T, Richard R, Jensen D, Baril J, et al. Eccentric versus conventional cycle training to improve muscle strength in advanced COPD: A randomized clinical trial. *Respir Physiol Neurobiol.* 2020;276:103414.
23. Inostroza M, Valdés O, Tapia G, Núñez O, Kompen MJ, Nosaka K, et al. Effects of eccentric vs concentric cycling training on patients with moderate COPD. *Eur J Appl Physiol.* 2022;122:489–502.
24. Bigland-Ritchie B, Woods JJ. Integrated electromyogram and oxygen uptake during positive and negative work. *J Physiol.* 1976;260:267–77.

25. Perrey S, Betik A, Candau R, Rouillon JD, Hughson RL. Comparison of oxygen uptake kinetics during concentric and eccentric cycle exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2001;91:2135–42.
26. Peel AB, Thomas SM, Dittus K, Jones LW, Lakoski SG. Cardiorespiratory fitness in breast cancer patients: a call for normative values. *J Am Heart Assoc*. 2014;3:e000432.
27. Mallard J, Hucteau E, Charles A-L, Bender L, Baeza C, Pélissie M, et al. Chemotherapy impairs skeletal muscle mitochondrial homeostasis in early breast cancer patients. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2022.
28. Bourbeau J, De Sousa Sena R, Taivassalo T, Richard R, Jensen D, Baril J, et al. Eccentric versus conventional cycle training to improve muscle strength in advanced COPD: A randomized clinical trial. *Respir Physiol Neurobiol*. 2020;276:103414.
29. Julian V, Thivel D, Miguet M, Pereira B, Lambert C, Costes F, et al. Eccentric Cycling Training Improves Health-Related Quality of Life in Adolescents with Obesity. *Obes Facts*. 2020;13:548–59.
30. Burtin C, Saey D, Saglam M, Langer D, Gosselink R, Janssens W, et al. Effectiveness of exercise training in patients with COPD: the role of muscle fatigue. *Eur Respir J*. 2012;40:338–44.
31. Flück M. Functional, structural and molecular plasticity of mammalian skeletal muscle in response to exercise stimuli. *Journal of Experimental Biology*. 2006;209:2239–48.
32. Rooney KJ, Herbert RD, Balnave RJ. Fatigue contributes to the strength training stimulus. *Med Sci Sports Exerc*. 1994;26:1160–4.
33. Enoka RM, Duchateau J. Translating Fatigue to Human Performance. *Med Sci Sports Exerc*. 2016;48:2228–38.
34. Hubal MJ, Rubinstein SR, Clarkson PM. Mechanisms of variability in strength loss after muscle-lengthening actions. *Med Sci Sports Exerc*. 2007;39:461–8.
35. Allen DG, Lamb GD, Westerblad H. Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiol Rev*. 2008;88:287–332.
36. Proske U, Morgan DL. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *J Physiol*. 2001;537:333–45.
37. Wilke J, Behringer M. Is “Delayed Onset Muscle Soreness” a False Friend? The Potential Implication of the Fascial Connective Tissue in Post-Exercise Discomfort. *Int J Mol Sci*. 2021;22:9482.
38. Peñailillo L, Blazevich A, Numazawa H, Nosaka K. Metabolic and muscle damage profiles of concentric versus repeated eccentric cycling. *Med Sci Sports Exerc*. 2013;45:1773–81.

39. Coratella G, Chemello A, Schena F. Muscle damage and repeated bout effect induced by enhanced eccentric squats. *J Sports Med Phys Fitness*. 2016;56:1540–6.
40. Vincent F, Labourey JL, Leobon S, Antonini MT, Lavau-Denes S, Tubiana-Mathieu N. Effects of a home-based walking training program on cardiorespiratory fitness in breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy: a pilot study. *Eur J Phys Rehabil Med*. 2013;49:319–29.
41. Howley ET, Bassett DR, Welch HG. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. *Med Sci Sports Exerc*. 1995;27:1292–301.
42. Rossiter HB, Kowalchuk JM, Whipp BJ. A test to establish maximum O₂ uptake despite no plateau in the O₂ uptake response to ramp incremental exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2006;100:764–70.
43. Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc*. 1982;14:377–81.
44. Hermens HJ, Freriks B, Disselhorst-Klug C, Rau G. Development of recommendations for SEMG sensors and sensor placement procedures. *J Electromyogr Kinesiol*. 2000;10:361–74.
45. Merton PA. Voluntary strength and fatigue. *The Journal of Physiology*. 1954;123:553.
46. Mallard J, Hucteau E, Charles A-L, Bender L, Baeza C, Pélissie M, et al. Chemotherapy impairs skeletal muscle mitochondrial homeostasis in early breast cancer patients. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2022;
47. González-Bartholin R, Mackay K, Valladares D, Zbinden-Foncea H, Nosaka K, Peñailillo L. Changes in oxidative stress, inflammation and muscle damage markers following eccentric versus concentric cycling in older adults. *Eur J Appl Physiol*. 2019;119:2301–12.
48. Peñailillo L, Blazevich A, Numazawa H, Nosaka K. Metabolic and muscle damage profiles of concentric versus repeated eccentric cycling. *Med Sci Sports Exerc*. 2013;45:1773–81.
49. Souron R, Nosaka K, Jubeau M. Changes in central and peripheral neuromuscular fatigue indices after concentric versus eccentric contractions of the knee extensors. *Eur J Appl Physiol*. 2018;118:805–16.
50. Carroll TJ, Taylor JL, Gandevia SC. Recovery of central and peripheral neuromuscular fatigue after exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2017;122:1068–76.
51. Gruet M, Temesi J, Rupp T, Levy P, Verges S, Millet GY %J EP. Dynamics of corticospinal changes during and after high-intensity quadriceps exercise. 2014;99:1053–64.
52. Hureau TJ, Ducrocq GP, Blain GM. Peripheral and Central Fatigue Development during All-Out Repeated Cycling Sprints. *Med Sci Sports Exerc*. 2016;48:391–401.

53. Pethick J, Whiteaway K, Winter SL, Burnley M. Prolonged depression of knee-extensor torque complexity following eccentric exercise. *Exp Physiol*. 2019;104:100–11.
54. Prasartwuth O, Taylor JL, Gandevia SC. Maximal force, voluntary activation and muscle soreness after eccentric damage to human elbow flexor muscles. *The Journal of Physiology*. 2005;567:337–48.
55. Kan B, Speelman C, Nosaka K. Cognitive demand of eccentric versus concentric cycling and its effects on post-exercise attention and vigilance. *Eur J Appl Physiol*. 2019;119:1599–610.
56. Kowalski KL, Tierney BC, Christie AD. Mental fatigue does not substantially alter neuromuscular function in young, healthy males and females. *Physiol Behav*. 2022;253:113855.
57. Silva-Cavalcante MD, Couto PG, Azevedo R de A, Silva RG, Coelho DB, Lima-Silva AE, et al. Mental fatigue does not alter performance or neuromuscular fatigue development during self-paced exercise in recreationally trained cyclists. *Eur J Appl Physiol*. 2018;118:2477–87.
58. Blain GM, Mangum TS, Sidhu SK, Weavil JC, Hureau TJ, Jessop JE, et al. Group III/IV muscle afferents limit the intramuscular metabolic perturbation during whole body exercise in humans. *J Physiol*. 2016;594:5303–15.
59. Hureau TJ, Romer LM, Amann M. The “sensory tolerance limit”: A hypothetical construct determining exercise performance? *European journal of sport science*. 2018;18:13–24.
60. Weavil JC, Amann M. Corticospinal excitability during fatiguing whole body exercise. *Prog Brain Res*. 2018;240:219–46.
61. Duclay J, Pasquet B, Martin A, Duchateau J. Specific modulation of corticospinal and spinal excitabilities during maximal voluntary isometric, shortening and lengthening contractions in synergist muscles. *J Physiol*. 2011;589:2901–16.
62. Duclay J, Martin A. Evoked H-reflex and V-wave responses during maximal isometric, concentric, and eccentric muscle contraction. *J Neurophysiol*. 2005;94:3555–62.
63. Vangsgaard S, Nørgaard LT, Flaskager BK, Søgaard K, Taylor JL, Madeleine P. Eccentric exercise inhibits the H reflex in the middle part of the trapezius muscle. *Eur J Appl Physiol*. 2013;113:77–87.
64. Rudomin P, Schmidt RF. Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. *Exp Brain Res*. 1999;129:1–37.
65. Petersen NT, Butler JE, Carpenter MG, Cresswell AG. Ia-afferent input to motoneurons during shortening and lengthening muscle contractions in humans. *J Appl Physiol* (1985). 2007;102:144–8.

66. Bigland-Ritchie B, Jones DA, Hosking GP, Edwards RH. Central and peripheral fatigue in sustained maximum voluntary contractions of human quadriceps muscle. *Clin Sci Mol Med*. 1978;54:609–14.
67. Hureau TJ, Romer LM, Amann M. The “sensory tolerance limit”: A hypothetical construct determining exercise performance? *Eur J Sport Sci*. 2018;18:13–24.
68. Koh TJ, Escobedo J. Cytoskeletal disruption and small heat shock protein translocation immediately after lengthening contractions. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2004;286:C713-722.
69. Lieber RL, Thornell LE, Fridén J. Muscle cytoskeletal disruption occurs within the first 15 min of cyclic eccentric contraction. *J Appl Physiol* (1985). 1996;80:278–84.
70. McNeil PL, Khakee R. Disruptions of muscle fiber plasma membranes. Role in exercise-induced damage. *Am J Pathol*. 1992;140:1097–109.
71. Takekura H, Fujinami N, Nishizawa T, Ogasawara H, Kasuga N. Eccentric exercise-induced morphological changes in the membrane systems involved in excitation-contraction coupling in rat skeletal muscle. *J Physiol*. 2001;533:571–83.
72. Balnave CD, Allen DG. Intracellular calcium and force in single mouse muscle fibres following repeated contractions with stretch. *J Physiol*. 1995;488 (Pt 1):25–36.
73. Ingalls CP, Warren GL, Williams JH, Ward CW, Armstrong RB. E-C coupling failure in mouse EDL muscle after in vivo eccentric contractions. *J Appl Physiol* (1985). 1998;85:58–67.
74. Warren GL, Lowe DA, Hayes DA, Karwoski CJ, Prior BM, Armstrong RB. Excitation failure in eccentric contraction-induced injury of mouse soleus muscle. *J Physiol*. 1993;468:487–99.
75. Zhang B-T, Yeung SS, Allen DG, Qin L, Yeung EW. Role of the calcium-calpain pathway in cytoskeletal damage after eccentric contractions. *J Appl Physiol* (1985). 2008;105:352–7.
76. Royer N, Nosaka K, Doguet V, Jubeau M. Neuromuscular responses to isometric, concentric and eccentric contractions of the knee extensors at the same torque-time integral. *Eur J Appl Physiol*. 2022;122:127–39.
77. Flück M. Functional, structural and molecular plasticity of mammalian skeletal muscle in response to exercise stimuli. *J Exp Biol*. 2006;209:2239–48.
78. Egan B, Zierath JR. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab*. 2013;17:162–84.
79. Eiken T, Harrison AJ, Burdon CA, Groeller H, Peoples GE. Elevated body temperature contributes to the increased heart rate response during eccentric compared to concentric cycling when matched for oxygen consumption. *Temperature (Austin)*. 2021;8:30–8.

80. Peñailillo L, Blazeovich AJ, Nosaka K. Factors contributing to lower metabolic demand of eccentric compared with concentric cycling. *J Appl Physiol* (1985). 2017;123:884–93.
81. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48:757–67.
82. González-Bartholin R, Mackay K, Valladares D, Zbinden-Foncea H, Nosaka K, Peñailillo L. Changes in oxidative stress, inflammation and muscle damage markers following eccentric versus concentric cycling in older adults. *Eur J Appl Physiol*. 2019;119:2301–12.

Discussion et perspectives

Cette étude a permis de mettre en évidence qu'une séance de pédalage excentrique, composée de 3 blocs de pédalage réalisés à 80% de la PMA concentrique, était faisable et bien tolérée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein. Plus précisément, aucun effet indésirable n'a été rapporté, la perception d'effort était moyenne et aucun dommage musculaire au niveau systémique n'a été mesuré au niveau systémique comme en témoignent les activités stables de la créatine kinase et de la lactate déshydrogénase.

Concernant les réponses physiologiques, le pédalage excentrique a induit une fatigue neuromusculaire supérieure au pédalage concentrique, ce qui semble particulièrement intéressant pour améliorer la force musculaire de manière chronique. Plus précisément, la perte de force à l'issue des trois blocs de pédalage excentrique était similaire à une séance d'entraînement en force d'intensité élevée (Thomas *et al.*, 2018). Par ailleurs, le pédalage excentrique était associé à une contrainte mécanique par fibre plus élevée, et étant donné que la croissance du tissu musculaire est dépendante de la synthèse des protéines dont le stimulus principal est la contrainte mécanique (Egan & Zierath, 2013), le pédalage excentrique devrait également permettre d'améliorer la masse musculaire, comme cela a déjà été montré chez des sujets sains (Leong *et al.*, 2014; Mavropalias *et al.*, 2022) ou chez des patients BPCO (Inostroza *et al.*, 2022). Enfin, notre séance de pédalage excentrique a induit, comme attendu, un stimulus aérobie léger qui correspondait à 46% de la $\dot{V}O_{2max}$. Comme discuté précédemment, cette intensité permettrait donc de réduire la charge d'entraînement au niveau aérobie et de faciliter l'adhésion des patientes en prenant en compte leur préférence (Courneya, McKenzie, *et al.*, 2008; Courneya, Reid, *et al.*, 2008) et en augmentant leur motivation (Ormel *et al.*, 2017) via une perception d'effort plus faible. De plus, ce faible coût métabolique permettrait d'augmenter la contrainte au niveau mécanique et neuromusculaire afin d'obtenir un stimulus encore plus intense. Cela permettrait également de lutter contre les altérations mitochondriales observées chez les patientes (Mallard *et al.*, 2022a) étant donné que l'exercice en résistance à haute intensité permet d'augmenter la biogénèse et le contenu mitochondrial (Robinson *et al.*, 2017; Tang *et al.*, 2006).

Si cette étude a permis de valider la faisabilité d'une séance de pédalage excentrique et de mesurer les réponses physiologiques aiguës, elle constituait la première étape avant la mise en place d'un essai randomisé contrôlé. En effet, l'objectif final du projet de recherche dans lequel est intégrée ma thèse est de développer des stratégies préventives spécifiques pour contrecarrer le déconditionnement musculaire. Nous avons rapporté dans nos études précédentes que le déconditionnement musculaire se développait majoritairement durant les 8 premières semaines de traitement par chimiothérapie (étude 1). Il convient donc d'implémenter le pédalage excentrique dès que possible. Les séances seront donc proposées pendant la durée du traitement et afin de faciliter l'adhésion des patientes, elles seront réalisées avant l'administration de la chimiothérapie. En effet, le frein principal à la pratique d'exercice pendant un cancer est la distance entre le domicile et le lieu de pratique (Ormel *et al.*, 2017). Notre institut étant un centre régional, les patientes traitées sont souvent domiciliées à plusieurs dizaines de kilomètres du centre de soin. Elles viennent en moyenne une fois par semaine pour l'administration de la chimiothérapie et, considérant la forte sollicitation musculaire du pédalage excentrique, nous pensons qu'une séance par semaine avant l'administration de la chimiothérapie permettrait i) de prévenir le déconditionnement musculaire et ii) de faire adhérer toutes les patientes étant donné qu'elles n'auraient pas besoin de revenir spécifiquement pour l'exercice. À l'image des essais cliniques visant à tester l'efficacité d'un nouveau médicament par rapport à un médicament standard, il serait intéressant de mesurer l'efficacité du pédalage excentrique (nouveau) par rapport au pédalage concentrique (standard). En plus de tester l'efficacité du pédalage excentrique, nous souhaitons étudier les mécanismes cellulaires sous-jacents en réalisant des biopsies musculaires dans un sous-groupe de patientes. Étant donné que le pédalage concentrique réalisé à même $\dot{V}O_2$ que le pédalage excentrique induit un stimulus trop faible pour envisager des bénéfices au niveau musculaire, il ne semble pas pertinent de poursuivre les recherches avec cette modalité. Ce futur projet de recherche est davantage détaillé dans la partie « perspectives » de cette thèse.

DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Un déconditionnement musculaire rapide chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie

Si notre étude 1 a confirmé la présence d'un déconditionnement musculaire chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie, elle a surtout mis en évidence que ce déconditionnement était rapide. Effectivement, nous avons rapporté que les altérations apparaissaient principalement au cours des 8 premières semaines de traitement par chimiothérapie. Plus précisément, nous avons identifié, par l'utilisation d'une balance à impédancemétrie, une perte de masse musculaire principalement localisée au niveau des muscles du tronc. Ce résultat renforce ainsi deux études précédentes qui avaient montré une réduction de la masse du muscle pectoral chez des patientes atteintes d'un cancer et traitées par chimiothérapie (Rossi *et al.*, 2020; Wiederin *et al.*, 2020). Néanmoins, même si nous n'avons pas trouvé de changement au niveau des muscles du membre inférieur dans l'étude 1, nous avons rapporté dans notre étude 3, chez la même population de patientes, une atrophie musculaire importante au niveau du muscle vaste latéral (Mallard *et al.*, 2022b). Cette atrophie était caractérisée par une diminution de la longueur des fascicules (-15%) et de l'épaisseur musculaire (-8%), évaluée par échographie, ainsi que par une diminution de la CSA des fibres musculaires (-21%), évaluée par immunohistochimie à partir de biopsies musculaires. La moindre sensibilité de la balance à impédancemétrie à détecter des changements au niveau des membres inférieurs pourrait être causée par une augmentation de la rétention d'eau chez les patientes et questionne donc sur l'utilisation de ce type de mesure en routine clinique ou dans le cadre de la recherche. L'utilisation de l'échographie, une méthode de mesure non invasive, semblerait être une bonne alternative pour suivre l'évolution de la masse musculaire au cours du traitement, notamment au niveau des muscles locomoteurs. Il existe d'ailleurs depuis peu un indice de sarcopénie qui a été développé à partir d'échographie du muscle vaste latéral chez 279 sujets (Narici *et al.*, 2021), ce qui encourage donc l'utilisation de ce type de mesure en routine chez les patientes atteintes d'un cancer du sein.

Comme une conséquence logique et bien admise de la perte de masse musculaire, nous avons rapporté une diminution des capacités fonctionnelles. Plus précisément, nous avons trouvé une perte de force au niveau des extenseurs du genou au cours des 8 premières semaines de traitement tandis que la force de préhension, bien que recommandée pour refléter les capacités physiques des patientes atteintes d'un cancer du sein (Cantarero-Villanueva *et al.*, 2012), était diminuée uniquement en fin de traitement. Étant donné que la perte de force était plus importante et plus rapide pour les extenseurs du genou, et compte tenu de leur implication dans la locomotion et les activités de la vie quotidienne, ce groupe musculaire devrait être évalué prioritairement dans les futures études. Enfin, de manière plus générale, le déconditionnement musculaire était associé à une diminution de la capacité d'exercice. Néanmoins, contrairement aux autres variables, la capacité d'exercice continuait d'être réduite entre 8 semaines et la fin du traitement (étude 1). Cela indique probablement, comme discuté dans la partie suivante, que des mécanismes spécifiques sont impliqués dans cette diminution.

Synthèse

Nous avons mis en évidence que le déconditionnement musculaire survenait rapidement au cours de la chimiothérapie et se caractérisait par une perte de masse musculaire, de force et une réduction de la capacité d'exercice. Cela indique donc que la mise en place de stratégies préventives devrait se faire le plus tôt possible. Toutefois, il était nécessaire d'explorer les mécanismes cellulaires sous-jacents qui restaient pour la plupart inconnus chez les patientes atteintes d'un cancer du sein, afin d'adapter les stratégies préventives.

Baisse de la capacité d'exercice : rôle des altérations mitochondriales et de l'accumulation d'IMAT

Si la diminution de la capacité d'exercice apparaît comme une caractéristique majeure des patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie (Mallard *et al.*, 2021; Peel *et al.*, 2014), nous avons, par le biais de biopsies musculaires, apporté des éléments de réponses sur les mécanismes sous-jacents.

Premièrement, nous avons identifié une importante perturbation de l'homéostasie mitochondriale qui pourrait contribuer de manière importante à la baisse de la capacité d'exercice (Coen *et al.*, 2013; Kunz *et al.*, 2022; Weibel *et al.*, 2004). Plus précisément, nous avons trouvé dans notre étude 2 une diminution du contenu mitochondrial en fin de traitement qui pouvait s'expliquer par une probable diminution de la biogénèse mitochondriale (Mallard *et al.*, 2022a). Nous avons également mis en évidence, à l'aide des résultats préliminaires de l'étude 5, que la première chimiothérapie à base d'épirubicine-cyclophosphamide était suffisante pour diminuer la quantité de mitochondries. Étant donné que le contenu mitochondrial est directement corrélé à la $\dot{V}O_{2max}$ (Weibel *et al.*, 2004), nos résultats expliquent au moins en partie la diminution de la capacité d'exercice observée dans l'étude 1 par la baisse de la distance au TDM6 et dans l'étude 6 par la faible $\dot{V}O_{2max}$. Si l'exercice est l'un des moyens les plus efficaces pour lutter contre la perte du contenu mitochondrial via une meilleure biogénèse (Memme *et al.*, 2021b), il est nécessaire de cibler la bonne modalité et définir la bonne posologie, *i.e.* l'intensité, la fréquence et la durée. Pour les patientes chez qui l'exercice ne serait pas possible ou pas efficace, il serait envisageable de proposer une supplémentation nutritionnelle en HMB, un métabolite de la leucine connu pour augmenter la biogénèse mitochondriale (X. He *et al.*, 2016). D'autre part, nous avons également trouvé en fin de traitement dans l'étude 2 (Mallard *et al.*, 2022a) et 4 jours après la première administration d'épirubicine-cyclophosphamide (étude 5) que la dynamique mitochondriale était altérée, avec un déséquilibre au niveau des processus de fusion/fission/mitophagie. Ensemble, ces mécanismes ont probablement conduit à la formation et à l'accumulation de mitochondries fragmentées qui sont connues pour être moins fonctionnelles (Barreto *et*

al., 2016; Brown *et al.*, 2017), comme en témoignent l'augmentation de la production d'H₂O₂ en fin de traitement (Mallard *et al.*, 2022a) ou la diminution de la respiration mitochondriale 4 jours après la première administration d'épirubicine-cyclophosphamide. Dès lors, une supplémentation nutritionnelle à base d'antioxydants comme MitoQ ou CoQ10 pourrait être un moyen de réduire la production d'H₂O₂ (Pham *et al.*, 2020), tandis qu'une supplémentation en β glucanes ou en acétate pourrait améliorer la respiration mitochondriale (Brogi *et al.*, 2021; Hu *et al.*, 2020). Néanmoins, il est nécessaire de vérifier l'absence d'effets concurrents avec la chimiothérapie.

En plus des altérations mitochondriales, nous avons également montré que les patientes atteintes d'un cancer du sein présentaient une augmentation du contenu d'IMAT au niveau cellulaire après un traitement par chimiothérapie. De manière intéressante, deux études transversales ont précédemment montré que les patientes qui présentaient un contenu d'IMAT élevé, évalué par imagerie, avaient une capacité d'exercice, évaluée par $\dot{V}O_{2\max}$, plus faible (Beaudry *et al.*, 2020; Reding *et al.*, 2019). L'une des explications serait que l'O₂ consommé au niveau local par le muscle est dépendant de la quantité d'IMAT et que le flux sanguin est altéré en raison de la présence accrue d'adipocytes (Beaudry *et al.*, 2020). Ainsi, l'augmentation du contenu d'IMAT, mise en évidence pour la première fois chez les patientes, pourrait être une autre explication potentielle de la diminution de la capacité d'exercice. Dès lors, il semble aussi pertinent de prévenir le développement d'IMAT, dont l'origine proviendrait de l'accumulation des FAPs (voir ci-après).

Synthèse

La perturbation de l'homéostasie mitochondriale et l'augmentation de la quantité d'IMAT semblent être deux causes majeures contribuant à la réduction de la capacité d'exercice des patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie. L'identification de ces altérations offre de nouvelles perspectives dans le développement de stratégies préventives pour lutter contre le déconditionnement musculaire, que ce soit via l'exercice ou la supplémentation nutritionnelle.

Perte de force : rôle des IMAT et de l'atrophie musculaire

En plus d'être corrélé à une moins bonne capacité d'exercice, le développement d'IMAT a été associé dans d'autres contextes à une diminution de la production de force. Effectivement, il a par exemple été montré que les IMAT avaient un impact direct sur les capacités contractiles dans un modèle murin (Biltz *et al.*, 2020) ou sur la perte de force lors de l'avancée en âge (Brioche *et al.*, 2016; Delmonico *et al.*, 2009). Dans notre cas, nous avons trouvé dans l'étude 1 une perte de force au niveau des extenseurs de genou et nous pouvons suggérer que l'accumulation d'IMAT identifiée au niveau du muscle vaste latéral (Mallard *et al.*, 2022b) soit un mécanisme explicatif.

Un autre mécanisme pouvant expliquer la perte de force est lié à la quantité de muscle. Effectivement, il est classiquement admis que la force développée est proportionnelle à la CSA musculaire (Krivickas *et al.*, 2011). De manière intéressante, notre étude 3 a mis en évidence une importante atrophie musculaire chez les patientes, caractérisée par une diminution de la CSA des fibres musculaires de plus de 20% (Mallard *et al.*, 2022b) et comparable à 60 années de vieillissement (Lexell *et al.*, 1988). Cette atrophie, qui était similaire pour les fibres de type I et IIa (étude 4), était associée à l'absence de changement significatif du niveau d'activité physique, indiquant que c'est davantage la chimiothérapie qui a induit ces altérations plutôt qu'une baisse du niveau d'activité comme cela a déjà été montré dans le cancer du sein (Mijwel *et al.*, 2018a). Enfin, nous avons également trouvé dans l'étude 3 une diminution de la longueur des fascicules et de l'épaisseur musculaire (Mallard *et al.*, 2022b), traduisant respectivement une diminution du nombre de sarcomères en série et en parallèle, ce qui a très probablement contribué à la baisse de force.

En plus d'une moins grande quantité de muscle, une atteinte de la fonction neuromusculaire pourrait également jouer un rôle dans la diminution de la production de force. Néanmoins, nous avons montré dans une autre étude (voir travail supplémentaire 3) l'absence de différence de niveau d'activation volontaire entre des patientes et des sujets contrôles. Les différences de force observées dans cette étude étaient attribuables à une moins grande quantité de muscle, évaluée par échographie. Nous confirmons ainsi le rôle

majeur de l'atrophie musculaire dans la baisse de force et des stratégies préventives visant à maintenir voire développer la masse musculaire, comme l'exercice en résistance, paraissent adaptées et efficaces. En effet, l'exercice en résistance est l'intervention la plus efficace pour augmenter la masse musculaire (Fyfe *et al.*, 2022). Néanmoins, si une étude a démontré qu'un entraînement basé sur de l'exercice en résistance couplé à de l'exercice aérobic intermittent à haute intensité pouvait augmenter la CSA des fibres musculaires du vaste latéral (Mijwel *et al.*, 2018a), aucune étude n'a aujourd'hui montré des bénéfices sur la masse musculaire du corps entier (Lopez *et al.*, 2020).

Synthèse

La perte de force observée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie au niveau des extenseurs du genou peut s'expliquer par des altérations qualitatives et quantitatives du muscle vaste latéral. Plus précisément, l'augmentation du contenu d'IMAT rapporté chez les patientes, traduisant une diminution de la qualité musculaire, peut être un élément explicatif. D'autre part, étant donné que la production de force est dépendante de la quantité de muscle, l'atrophie musculaire présente chez les patientes est un autre élément contribuant à la perte de force. Ainsi, le développement d'IMAT et d'atrophie musculaire représentent deux caractéristiques majeures du déconditionnement musculaire.

Les FAPs : un élément clef du déconditionnement musculaire ?

Si l'augmentation du contenu d'IMAT et le développement de l'atrophie musculaire sont deux caractéristiques du déconditionnement musculaire chez les patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie, l'origine de ces altérations pourrait être commune.

En effet, nous avons montré une accumulation de FAPs en identifiant une importante augmentation de l'expression protéique de PDGFR α en fin de traitement, un récepteur de surface exprimé quasi exclusivement par les FAPs (Joe *et al.*, 2010). Ce résultat est particulièrement intéressant étant donné qu'il est très bien admis dans divers modèles expérimentaux, cliniques et pathologiques de déconditionnement musculaire que l'origine des IMAT provient majoritairement des FAPs (Molina *et al.*, 2021). Si les altérations liées aux IMAT étaient présentes en fin de traitement, nous avons montré dans l'étude 5 que la première administration d'épirubicine-cyclophosphamide n'était pas suffisante pour induire une activation des mécanismes responsables du développement d'IMAT. Il semblerait donc que le développement d'IMAT soit lié aux effets cumulés des chimiothérapies et/ou à l'atrophie musculaire retrouvée chez les patientes, un contexte connu pour favoriser la différenciation des FAPs en adipocytes (Brioche *et al.*, 2016; Guilhot *et al.*, 2022; Mallard *et al.*, 2022b; H.-L. Wang *et al.*, 2013). Si le contexte d'atrophie peut influencer le devenir des FAPs, il a aussi été montré de manière intéressante que les FAPs pouvaient directement induire de l'atrophie musculaire dans des contextes de dénervation, lors de maladies neuromusculaires ou dans des situations d'hypoactivité (Madarò *et al.*, 2018; Parker *et al.*, 2022). Toutefois, si l'atrophie induite par les FAPs est liée à une surexpression des voies cellulaires liées à l'inflammation (Madarò *et al.*, 2018; Parker *et al.*, 2022), aucune étude dans le contexte du cancer du sein n'a été réalisée.

L'objectif d'une partie de mon post-doctorat sera de déterminer, dans le contexte du cancer du sein, comment et pourquoi les FAPs se différencient en adipocytes et s'ils agissent sur les fibres musculaires pour induire une atrophie. Si une expression élevée de SCA-1 peut favoriser la différenciation des FAPs en adipocytes (Giuliani *et al.*, 2021), une

surexpression de la voie IL-6/STAT3 ou IL-1 β peut être responsable de l'atrophie musculaire induite par les FAPs (Madaro *et al.*, 2018; Parker *et al.*, 2022). Ce type d'expérimentation nécessitera d'isoler les FAPs à partir des biopsies musculaires réalisées chez nos patientes. Comme décrit dans un récent protocole (Suárez-Calvet *et al.*, 2021), il est possible d'extraire les FAPs à partir de biopsies musculaires congelées par cytométrie de flux et de les immortaliser. Nous pourrions ainsi étudier le comportement des FAPs avant et après le traitement par chimiothérapie et caractériser les différentes voies de signalisation impliquées. Nous pourrions aussi déterminer l'interaction des FAPs avec les myotubes en réalisant des co-cultures. Ces futures expérimentations seront primordiales pour améliorer la compréhension du rôle des FAPs dans le déconditionnement musculaire, ce qui permettra *in fine* de tester des stratégies préventives. Il a par exemple été montré dans des modèles de régénération musculaire qu'un traitement à la décorine ou au nilotinib permettait de restaurer l'apoptose des FAPs et d'inhiber le développement d'IMAT (Pagano *et al.*, 2019; Lemos *et al.*, 2015). De manière intéressante, la décorine est une myokine qui peut être sécrétée « naturellement » par le muscle mais il est nécessaire de déterminer, une fois de plus, quel type d'exercice permettrait d'optimiser les productions de décorine au niveau musculaire et avec quelle posologie. D'autre part, une inhibition de la voie IL-6/STAT3 des FAPs permet de rétablir l'atrophie musculaire dans des maladies neuromusculaires ou dans des contextes de dénervation (Madaro *et al.*, 2018). Ainsi, l'investigation des FAPs présente un intérêt majeur pour prévenir le déconditionnement musculaire observé chez les patientes atteintes d'un cancer du sein.

Synthèse

L'augmentation des FAPs mise en évidence en fin de traitement chez les patientes atteintes d'un cancer du sein par l'étude de PDGFR α pourrait être un élément contribuant à la fois au développement d'IMAT et à l'atrophie musculaire. Toutefois, des études davantage fondamentales, basées sur l'isolement des FAPs à partir de biopsies musculaires, sont nécessaires pour comprendre le rôle précis de ces progéniteurs dans le déconditionnement musculaire. Cela permettra *in fine* de développer des stratégies préventives en ciblant les mécanismes cellulaires sous-jacents.

Atrophie musculaire : le turnover protéique comme point central

Si les FAPs peuvent induire directement de l'atrophie musculaire, cela peut impliquer une altération du turnover protéique (*i.e.* la balance entre la synthèse et la dégradation des protéines). Notre étude 4 a ainsi mis en évidence que l'autophagie semblait défectueuse en fin de traitement, ce qui est cohérent avec nos résultats sur la mitophagie et qui est classiquement connu pour entraîner une dégénérescence des myofibrilles et aboutir à une atrophie (Bujak *et al.*, 2015; Fuqua *et al.*, 2019; Masiero *et al.*, 2009; Nemazanyy *et al.*, 2013; Raben *et al.*, 2008; Theeuwes *et al.*, 2017). D'autre part, l'atrophie musculaire pourrait s'expliquer par une augmentation des facteurs de transcription de la protéolyse et de MuRF1, suggérant ainsi une augmentation de la dégradation protéique par le système ubiquitine-protéasome. Toutefois, il serait intéressant de mesurer directement l'activité du protéasome afin de confirmer que la dégradation protéique est exacerbée. De façon intéressante, nous avons confirmé que le turnover était altéré de manière aiguë (étude 5), *i.e.* 4 jours après la première administration d'épirubicine-cyclophosphamide. Le caractère précoce des mécanismes liés à l'atrophie confirme des observations antérieures réalisées dans les modèles animaux (Atherton *et al.*, 2016; Hanson *et al.*, 2013) ou expérimentaux (Fovet *et al.*, 2021).

D'autre part, nous avons trouvé une probable augmentation de la synthèse protéique, que ce soit 4 jours après l'administration d'épirubicine-cyclophosphamide ou en fin de traitement. Si ce résultat peut paraître surprenant, il est bien admis que la dégradation protéique est un mécanisme qui régule la synthèse (Schiaffino *et al.*, 2013). Il est tout de même important de noter que l'augmentation de la synthèse protéique pourrait aussi être liée à une dénervation qu'il semble nécessaire de vérifier. En effet, il s'agit d'un phénomène retrouvé chez les patients cachectiques (Sartori *et al.*, 2021b) qui a été associé dans plusieurs modèles à une augmentation de la synthèse protéique (X. Liu *et al.*, 2012; MacDonald *et al.*, 2014). Étant donné l'atrophie musculaire retrouvée chez les patientes en fin de traitement (Mallard *et al.*, 2022b), il semblerait que le turnover soit en faveur d'une dégradation protéique plus importante. L'activation de la synthèse des protéines étant grandement dépendante de la contrainte mécanique imposée au muscle (Egan & Zierath,

2013), un entraînement en résistance d'intensité élevée semble être le moyen préventif le plus adapté, bien qu'aucune étude n'ait rapporté des bénéfices de l'entraînement sur la synthèse protéique dans le cancer du sein.

Synthèse

L'atrophie musculaire retrouvée chez les patientes atteintes d'un cancer semble liée à une altération du turnover protéique. Tout d'abord, il semblerait que l'autophagie soit défaillante, ce qui conduit classiquement à une dégénérescence des myofibrilles. De plus, la dégradation protéique par le système ubiquitine-protéasome pourrait être augmentée comme en témoigne l'augmentation de MuRF1. Ensemble, ces deux mécanismes ont très certainement contribué au développement de l'atrophie musculaire. Cependant, il est important de souligner que nous avons trouvé une augmentation de la synthèse des protéines. Compte tenu de l'importante atrophie musculaire retrouvée chez les patientes, il semblerait que le turnover protéique soit en faveur d'une dégradation plus importante.

Le pédalage excentrique comme moyen de prévention du déconditionnement musculaire : étude de la faisabilité

Afin de prévenir le déconditionnement musculaire, nous avons ainsi décidé de nous diriger vers le pédalage excentrique, une pratique d'exercice permettant d'induire une forte contrainte mécanique à un moindre coût métabolique (Dufour *et al.*, 2004, 2007). Ce type d'entraînement est particulièrement intéressant puisqu'il permettrait d'améliorer différents paramètres du déconditionnement musculaire comme la masse musculaire, l'architecture musculaire, la CSA et la force (Leong *et al.*, 2014; Mavropalias *et al.*, 2022). S'il semble idéal d'avoir également une contrainte aérobie importante pour lutter contre la réduction de la capacité d'exercice, l'intérêt de minimiser cette contrainte est aussi discutable chez des patientes présentant une réduction de la capacité d'exercice (Peel *et al.*, 2014). En effet, en minimisant la contrainte aérobie, cela permettrait de réduire la perception d'effort et de faciliter l'adhésion des patientes (Collado-Mateo *et al.*, 2021) tout en augmentant le stimulus au niveau neuromusculaire. Ceci est particulièrement intéressant étant donné qu'un stimulus mécanique élevé induit par de l'entraînement en résistance d'intensité élevée permet d'améliorer la biogénèse et le contenu mitochondrial (Robinson *et al.*, 2017; Tang *et al.*, 2006).

Nous avons tout d'abord vérifié la faisabilité du pédalage excentrique et nous avons rapporté qu'une séance composée de 3 blocs de 6 minutes d'effort à 80% de la PMA concentrique était faisable, bien tolérée et associée à l'absence de dommage musculaire au niveau systémique. Nous avons ensuite rapporté que le pédalage excentrique induisait une fatigue neuromusculaire plus importante que le pédalage concentrique qui se caractérisait par une diminution de la force plus conséquente pendant l'effort, pendant la récupération et à 24h. Cette fatigue, comparable à une séance d'entraînement en force d'intensité élevée (Thomas *et al.*, 2018), s'expliquait principalement par le développement d'une fatigue centrale pendant l'effort et par une fatigue périphérique à 24h. Étant donné que plus le stimulus physiologique est important et répété, plus l'adaptation est conséquente (Flück, 2006), la répétition de notre séance de pédalage excentrique devrait entraîner des bénéfices chroniques au niveau du muscle strié squelettique. Plus

précisément, avec une perte de force conséquente de manière aiguë, la répétition de séances excentriques devrait induire à long terme des améliorations de la force. Par ailleurs, le pédalage excentrique était associé à une contrainte mécanique par fibre plus élevée et étant donné que la croissance du tissu musculaire est dépendante de la synthèse des protéines dont le stimulus principal est la contrainte mécanique (Egan & Zierath, 2013), le pédalage excentrique devrait également permettre d'améliorer la masse musculaire, comme cela a déjà été montré dans d'autres contextes (Inostroza *et al.*, 2022; Leong *et al.*, 2014; Mavropalias *et al.*, 2022). Nous avons enfin montré que le pédalage excentrique induisait, comme attendu, un stimulus métabolique léger. Ce type d'entraînement permettrait alors de se focaliser sur les aspects de masse et de la force musculaire, tout en minimisant la charge d'entraînement au niveau métabolique et aérobie. Toutefois, la faible sollicitation aérobie n'exclut pas une amélioration des capacités d'endurance, comme cela a déjà été montré chez des patientes BPCO avec la même contrainte aérobie que nous avons trouvée (Bourbeau *et al.*, 2020).

Pour toutes ces raisons, nous pensons que l'utilisation du pédalage excentrique serait un moyen de lutter contre le déconditionnement musculaire chez des patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie. Étant donné le déconditionnement musculaire rapide identifié chez les patientes au cours du traitement par chimiothérapie, il apparaît nécessaire d'initier le pédalage excentrique dès le début du traitement et de tester son efficacité pendant toute la durée du traitement à travers un essai randomisé contrôlé. Cette perspective fera l'objet d'une partie de mon projet de post-doctorat et l'objectif sera de comparer les effets du pédalage excentrique par rapport au pédalage concentrique. Étant donné le faible stimulus induit par le pédalage concentrique réalisé à la même demande métabolique que le pédalage excentrique, il apparaît pertinent de comparer les deux pédalages uniquement à la même puissance. D'un point de vue méthodologique, il sera nécessaire de répartir les patientes en un groupe pratiquant du pédalage concentrique, un groupe pratiquant du pédalage excentrique et un groupe contrôle. D'un point de vue pratique, il serait intéressant de réaliser une seule séance d'exercice par semaine avant l'administration de la chimiothérapie afin de favoriser l'adhésion des patientes en limitant leurs déplacements. Plus précisément, comme dans l'étude 6, les séances de pédalage (excentrique et concentrique) seront composées de 3

blocs de 6 minutes à 80% de la PMA concentrique. Si les critères de jugements principaux seront cliniques (*i.e.* masse musculaire, force et capacité d'exercice), une étude ancillaire sera réalisée avec des biopsies musculaires afin de comprendre les mécanismes cellulaires sous-jacents. Une étude complémentaire sera réalisée après la fin du traitement pour investiguer les effets de l'arrêt de l'entraînement pour les groupes concentrique et excentrique et étudier les effets d'un entraînement retardé pour le groupe contrôle. Plus précisément, cette expérimentation permettra de caractériser si les effets de chaque type d'entraînement (*i.e.* concentrique vs. excentrique) perdurent et/ou s'ils sont différents. Les patientes du groupe contrôle seront quant à elles réparties en deux groupes d'exercice (concentrique vs. excentrique) afin d'étudier la récupération selon les deux modalités d'entraînement. Si les biopsies musculaires seront réalisées uniquement à Strasbourg, l'essai randomisé contrôlé sera proposé de manière multicentrique.

Synthèse

Si le pédalage excentrique apparaissait comme une contremesure permettant *a priori* de contrecarrer la plupart des paramètres du déconditionnement musculaire chez les patientes atteintes d'un cancer du sein, il était nécessaire de tester sa faisabilité. Nous avons montré qu'une séance de pédalage excentrique, précédée d'une familiarisation, était bien tolérée chez les patientes et n'induisait pas de dommage musculaire. D'autre part, nous avons confirmé que le stimulus mécanique était élevé, ce qui permet d'envisager des bénéfices à long terme sur la masse musculaire et la force. Nous avons également confirmé que le stimulus aérobique était léger, ce qui est adapté pour réduire la charge d'entraînement aérobique et la perception d'effort chez des patientes qui présentent un déconditionnement cardiorespiratoire et des altérations mitochondriales, afin de favoriser leur adhésion à un programme d'entraînement.

Conclusion

Cette thèse à l'interface entre la recherche fondamentale et la recherche clinique a apporté de nouvelles connaissances sur l'étude du déconditionnement musculaire chez des patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie (Figure 46). Elle a nécessité l'inclusion de 132 patientes réparties sur 400 visites d'une durée moyenne d'une heure et la réalisation de 44 biopsies musculaires.

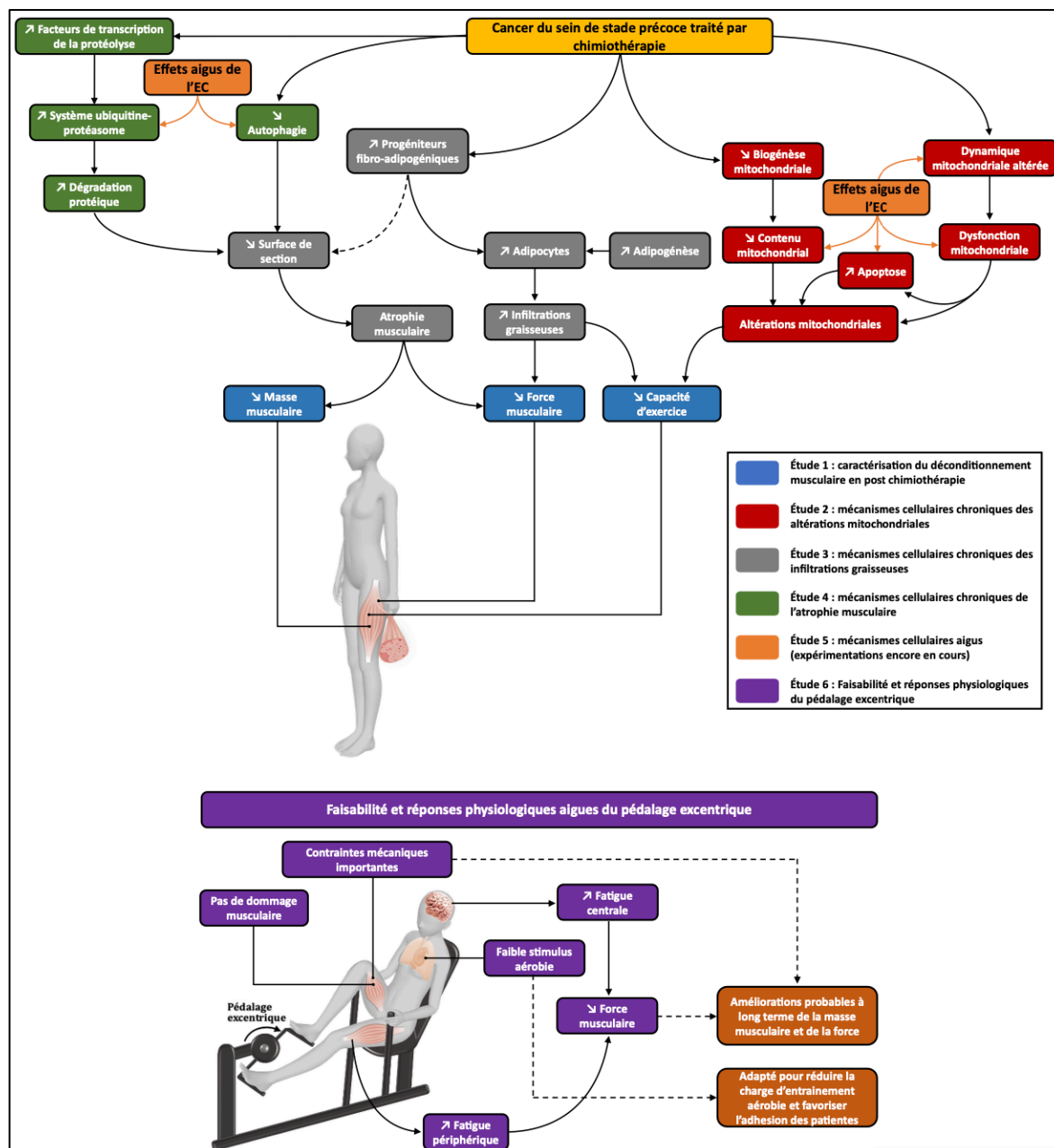


Figure 46 : résumé général de ma thèse sur le déconditionnement musculaire dans le cancer du sein traité par chimiothérapie.

EC : épirubicine-cyclophosphamide.

TRAVAUX SUPPLÉMENTAIRES

Travail supplémentaire 1 : revue de littérature sur le déconditionnement musculaire dans le cancer du sein traité par chimiothérapie

Implication personnelle

J'ai participé à l'importante recherche bibliographique et à l'écriture de cette revue de littérature dont je suis premier auteur et qui a été publiée dans *Frontiers in Cell and Developmental Biology*.

Skeletal muscle deconditioning in breast cancer patients: current knowledge and insights from other cancer

Joris Mallard, Elyse Hucteau, Thomas J Hureau, Allan F Pagano

Article publié dans *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (IF : 6.1)

doi: [10.3389/fcell.2021.719643](https://doi.org/10.3389/fcell.2021.719643)



Skeletal Muscle Deconditioning in Breast Cancer Patients Undergoing Chemotherapy: Current Knowledge and Insights From Other Cancers

Joris Mallard^{1,2,3}, Elyse Hucteau^{1,2,3}, Thomas J. Hureau^{2,3} and Allan F. Pagano^{2,3*}

¹ Institut de Cancérologie Strasbourg Europe (ICANS), Strasbourg, France, ² Centre de Recherche en Biomédecine de Strasbourg (CRBS), Fédération de Médecine Translationnelle, UR 3072, Université de Strasbourg, Strasbourg, France, ³ Faculté des Sciences du Sport, Centre Européen d'Enseignement de Recherche et d'Innovation en Physiologie de l'Exercice (CEERIPE), Université de Strasbourg, Strasbourg, France

OPEN ACCESS

Edited by:

Yann Simon Gallot,
University of Évry Val d'Essonne,
France

Reviewed by:

Paola Costelli,
University of Turin, Italy
Bert Blaauw,
University of Padua, Italy
Amélie Rébillard,
Laboratoire des Sciences du
Mouvement, du Sport et de la Santé
(M2S), France

*Correspondence:

Allan F. Pagano
allan.pagano@unistra.fr;
pagano.allan@gmail.com

Specialty section:

This article was submitted to
Signaling,
a section of the journal
Frontiers in Cell and Developmental
Biology

Received: 02 June 2021

Accepted: 10 August 2021

Published: 14 September 2021

Citation:

Mallard J, Hucteau E, Hureau TJ
and Pagano AF (2021) Skeletal
Muscle Deconditioning in Breast
Cancer Patients Undergoing
Chemotherapy: Current Knowledge
and Insights From Other Cancers.
Front. Cell Dev. Biol. 9:719643.
doi: 10.3389/fcell.2021.719643

Breast cancer represents the most commonly diagnosed cancer while neoadjuvant and adjuvant chemotherapies are extensively used in order to reduce tumor development and improve disease-free survival. However, chemotherapy also leads to severe off-target side-effects resulting, together with the tumor itself, in major skeletal muscle deconditioning. This review first focuses on recent advances in both macroscopic changes and cellular mechanisms implicated in skeletal muscle deconditioning of breast cancer patients, particularly as a consequence of the chemotherapy treatment. To date, only six clinical studies used muscle biopsies in breast cancer patients and highlighted several important aspects of muscle deconditioning such as a decrease in muscle fibers cross-sectional area, a dysregulation of protein turnover balance and mitochondrial alterations. However, in comparison with the knowledge accumulated through decades of intensive research with many different animal and human models of muscle atrophy, more studies are necessary to obtain a comprehensive understanding of the cellular processes implicated in breast cancer-mediated muscle deconditioning. This understanding is indeed essential to ultimately lead to the implementation of efficient preventive strategies such as exercise, nutrition or pharmacological treatments. We therefore also discuss potential mechanisms implicated in muscle deconditioning by drawing a parallel with other cancer cachexia models of muscle wasting, both at the pre-clinical and clinical levels.

Keywords: cancer cachexia, muscle atrophy, protein turnover, intermuscular adipose tissue, inflammatory cytokines, mitochondria, oxidative stress, satellite cells

INTRODUCTION

Cancer represents the leading cause of death worldwide and a substantial barrier to increasing life expectancy. Among the different cancer sites, breast cancer is the most commonly diagnosed cancer, with 11.7% of total cases and 6.9% of cancer deaths (Sung et al., 2021). Effective therapy of breast cancer requires a multidisciplinary approach including surgery, radiotherapy, neoadjuvant and/or adjuvant therapies. Currently, neoadjuvant and adjuvant chemotherapies are extensively

used in breast cancer patients to reduce tumor development and improve disease-free survival, but also leads to severe off-target side-effects (Maughan et al., 2010; Redden and Fuhrman, 2013; Fisusi and Akala, 2019; Schirrmacher, 2019). Among these treatment-related side effects, both pre-clinical and clinical studies highlighted that chemotherapeutic agents result in major skeletal muscle deconditioning and, together with exacerbated fatigue, are part of a vicious cycle which negatively impacts their quality of life (Berger et al., 2015; Caan et al., 2018; Aleixo et al., 2019; Cespedes Feliciano et al., 2019; Hiensch et al., 2019; Mallard et al., 2020). Although breast cancer represents the most deadly female cancer, 5-year survival rate is over 90% (National Cancer Institute, Surveillance, Epidemiology, and End Result program, 2019) emphasizing the critical need to fight long-lasting effects observed in survivors such as skeletal muscle deconditioning.

Skeletal muscle deconditioning is a direct consequence of global muscle homeostasis perturbation, leading to both structural and functional alterations that will translate into a decrease in muscle mass and/or force as well as an increase in fatigability (Chopard et al., 2009; Baldwin et al., 2013; Brioché et al., 2016; Cruz-Jentoft et al., 2019; Arc-Chagnaud et al., 2020). In the context of cancer patients, skeletal muscle atrophy represents a major characteristic of cachexia, which can be defined as an ongoing loss of skeletal muscle mass that cannot be fully reversed with nutrition and leading to functional alterations (Fearon et al., 2011). It is now well admitted that cancer cachexia is one of the most life-threatening aspects of cancer. Indeed, it has been shown that cachexia substantially increases sedentary behavior, functional impairment, loss of autonomy, quality of life degradation, surgical risks and overall adverse effects of chemotherapy (Fouladiun et al., 2007; Fearon et al., 2011; Roberts et al., 2013; Wallengren et al., 2013; Mason et al., 2016; Rutten et al., 2016; Schwarz et al., 2017; Baracos et al., 2018; Daly et al., 2018). Importantly, cachexia is also strongly correlated with a decrease in cancer patients survival and is actually the leading cause of death in cancer (Warren, 1932; Martin et al., 2015; Deluche et al., 2018; Huh et al., 2020). Thus, the management of skeletal muscle deconditioning during cancer and its treatment represents a major challenge for healthcare, particularly in breast cancer patients, considering both the high incidence of new cases (Sung et al., 2021) and the prevalence of cancer cachexia (~25%) in breast cancer patients (Baracos et al., 2018). Even if, compared to other cancers, breast cancer does not display the highest prevalence of cachexia, it is important to note that cachexia diagnosis is based on global weight loss (Fearon et al., 2011), and not only muscle mass loss, which likely led to an underestimation of cachexia prevalence in clinical practice (Roeland et al., 2017).

To date, the cellular mechanisms of skeletal muscle deconditioning are of great importance and have been extensively reviewed in healthy people, elderly as well as in relation with many chronic diseases (Sandri, 2008; Chopard et al., 2009; Bodine, 2013; Bonaldo and Sandri, 2013; Schiaffino et al., 2013; Argilés et al., 2014; Bowen et al., 2015; Brioché et al., 2016; Petruzzelli and Wagner, 2016; Baracos et al., 2018; Larsson et al., 2019; Dolly et al., 2020; Silva et al., 2020; Vainshtein and Sandri, 2020; Sartori et al., 2021). However, in comparison with the

knowledge accumulated through decades of intensive research with many different animal and human models, a comprehensive understanding of the cellular processes implicated in breast cancer-mediated muscle deconditioning is still needed in order to develop efficient strategies to counteract it.

This review focuses on recent advances in both macroscopic changes and cellular mechanisms implicated in skeletal muscle deconditioning of breast cancer patients, specifically as a consequence of chemotherapy treatment. This review also aims to highlight other potential mechanisms by drawing a parallel with cancer cachexia models of muscle wasting, both at the pre-clinical and clinical levels.

CHEMOTHERAPY-INDUCED SKELETAL MUSCLE MACROSCOPIC ALTERATIONS IN BREAST CANCER PATIENTS

Two families of chemotherapeutic agents are commonly used in clinical practice for breast cancer patients: anthracyclines (i.e., doxorubicin or epirubicin) leading to DNA damage, and taxanes (i.e., docetaxel or paclitaxel) acting as cytoskeletal disruptors (Shah and Gradishar, 2018; Willson et al., 2019). Importantly, non-hormone-dependent (i.e., triple-negative or HER2-positive) breast cancer treatment also includes immunotherapy, a promising new field in breast cancer therapy (Emens, 2018; Keenan and Tolaney, 2020). If immunotherapy has been identified to induce severe cardiotoxicity (Behr et al., 2001; Rochette et al., 2015; Bregni et al., 2016; Varricchi et al., 2018), there is no study to date with a focus on skeletal muscle. On the other hand, chemotherapeutic agents are recognized to contribute to skeletal muscle deconditioning, resulting in an altered quality of life, increased treatment-related toxicity, and to an increased mortality risk (Rier et al., 2016; Shachar et al., 2017; Deluche et al., 2018; Trestini et al., 2018; Cespedes Feliciano et al., 2019; Huh et al., 2020). To date, several skeletal muscle structural and functional alterations were identified (loss of muscle mass and force, altered quality) with severe consequences on exercise tolerance.

Muscle Mass

Although it is widely accepted that chemotherapy induces skeletal muscle loss in breast cancer patients, very few studies clearly demonstrated it. Indeed, by excluding all non-longitudinal studies (i.e., with no pre vs. post-chemotherapy assessments) and lean body mass measurements (i.e., with no assessment of muscle mass in isolation), only two studies emerged (Rossi et al., 2020; Wiederin et al., 2020). Both studies demonstrated a decrease in pectoralis muscle area after chemotherapy. Wiederin et al. (2020) found a 10% reduction in muscle mass using magnetic resonance imaging in a cohort of breast cancer ($N = 221$), sarcoma ($N = 115$) and lymphoma ($N = 216$) female patients. In breast cancer only, Rossi et al. (2020) found a 15% reduction in muscle mass by using CT Scan. Surprisingly, we were unable to find any other longitudinal study on whole-body or locomotor muscle mass for breast-cancer patients undergoing chemotherapy. As a loss of skeletal muscle mass is strongly

associated with poor functional outcomes (Fearon et al., 2011; Baracos et al., 2018; Cruz-Jentoft et al., 2019; Aleixo et al., 2020a) and chemotherapy efficacy (Caan et al., 2018; Lee et al., 2021) in breast cancer patients, further studies are needed to better characterize the loss of muscle mass in order to counteract it effectively thereafter.

Muscle Force

On the other hand, the impact of chemotherapy treatment on muscle force is more documented. Numerous studies, with various protocols of force evaluation (handgrip, isometric knee extension, mid-thigh pull, and shoulder strength, etc.), found inconsistent results on chemotherapy-treated breast cancer patients. Indeed, some longitudinal studies (Schmidt et al., 2015; Ramos da Silva et al., 2021) documented no change in isometric muscle force in both lower limbs (quadriceps femoris muscle) and upper limbs (latissimus dorsi, pectoralis, and handgrip muscles), while others found a significant reduction from -4 to -17% in handgrip or knee extensors muscle force (van Waart et al., 2015; Gadéa et al., 2018; Mijwel et al., 2018a; Češeko et al., 2020; Toth et al., 2020). Discrepancies in study protocols (study duration, measurements timepoints, and treatments administered) and in the methods of force evaluation (isometric vs. isokinetic contractions, different muscle groups investigated) may explain these contrasting results. Other studies also highlighted a decrease in muscle force of breast cancer patients undergoing chemotherapy in comparison with healthy women (Klassen et al., 2017; Marques et al., 2020), supporting the fact that chemotherapeutic agents may affect skeletal muscle force production.

Muscle Quality

There is a growing body of evidence that the loss of muscle strength and power mostly exceeds the loss of muscle mass observed in many diseases or inactivity experiments, emphasizing that a deterioration in muscle quality could explain the loss in force and lead to functional impairments (di Prampero and Narici, 2003; Briocche et al., 2016; Pagano et al., 2018; Češeko et al., 2020; Toth et al., 2020). Muscle quality can be assessed through different techniques, including magnetic resonance imaging, computed tomography or ultrasound echography (Karampinos et al., 2012; Addison et al., 2014; Aubrey et al., 2014; Khan et al., 2019; Stock and Thompson, 2021), that allows the detection and quantification of abnormalities in skeletal muscle composition. Among these abnormalities, intermuscular adipose tissue (IMAT) accumulation is particularly of interest. Indeed, these muscle fatty infiltrations (i.e., adipocytes located between muscle fibers and muscle groups), also referred as myosteatosis, are known to be associated with inactivity (Manini et al., 2007; Leskinen et al., 2009; Tuttle et al., 2011; Pagano et al., 2018), pathologies (Gorgey and Dudley, 2007; Wren et al., 2008; Karampinos et al., 2012; Gallagher et al., 2014; Uezumi et al., 2014b) and have been particularly investigated in sarcopenia (Goodpaster et al., 2000, 2001; Song et al., 2004; Marcus et al., 2010; Briocche et al., 2016). An accumulation of IMAT is closely linked to poor muscle quality and therefore muscle dysfunction

(Jubrias et al., 1997; Visser et al., 2002, 2005; Delmonico et al., 2009; Marcus et al., 2010; Murphy et al., 2011; Tuttle et al., 2011; Beavers et al., 2013). In the specific context of cachexia, a reduction in muscle quality has been observed in breast cancer patients treated with chemotherapeutic agents. In a longitudinal study, metastatic breast cancer patients showed an altered muscle attenuation after taxane-based chemotherapy, indicating a decrease in muscle quality (Rier et al., 2018). In a cross-sectional study, breast cancer survivors who received anthracyclines were compared to control subjects and a clear increase in thigh IMAT content ($\sim 30\%$) have been found and was interestingly correlated with an impaired cardiorespiratory fitness (Beaudry et al., 2020). Another cross sectional study highlighted an increased IMAT content in cancer patients (including breast-cancer patients) when compared to non-cancer individuals (Reding et al., 2019) and also showed a good correlation with the development of exercise intolerance.

Exercise Tolerance

As a consequence of the abovementioned skeletal muscle alterations, combined with a well-known cardiotoxicity (Bird and Swain, 2008; Kazemi-Bajestani et al., 2014; Nicolazzi et al., 2018; Varricchi et al., 2018; Jerusalem et al., 2019), chemotherapy is strongly impacting exercise tolerance. In clinical setting, the six-minute walk test (6MWT) represents a reference test reflecting exercise tolerance and is widely used in various pathologic populations (Enright, 2003; Agarwala and Salzman, 2020), including cancer patients (Galiano-Castillo et al., 2016; Wesolowski et al., 2020). A recent systematic-review reported, through the analysis of 21 original studies using the 6MWT, that 1,084 breast cancer patients (including both patients under treatment and survivors) showed a 24% reduction in performance compared to 878 healthy people (But-Hadzic et al., 2021). Aside the 6MWT, widely used as an indirect measurement of cardiorespiratory fitness, the assessment of the maximal oxygen consumption ($\dot{V}O_{2max}$) represents the gold standard measurement of exercise tolerance (Åstrand and Saltin, 1961; Schumacher et al., 2019). Interestingly, consistent results between the 6MWT and $\dot{V}O_{2max}$ were found in breast cancer patients. Indeed, another systematic-review reported, from the analysis of 27 clinical trials, a significant 25% reduction in $\dot{V}O_{2max}$ after chemotherapy treatment compared to healthy sedentary women (Peel et al., 2014). This cardiorespiratory deconditioning seems to strengthen the development of cancer-related fatigue and particularly physical fatigue (Neil et al., 2013), with consequences on exercise intolerance. Indeed, physical fatigue, assessed by the reduction in force during the repetition of maximal voluntary contractions, has been found to be exacerbated in breast cancer patients undergoing chemotherapy treatment compared to healthy individuals (Klassen et al., 2017), negatively impacting their exercise tolerance. Together with the decrease of skeletal muscle mass, a reduction in exercise capacity is also strongly associated with higher risk of adverse outcomes such as treatment-induced toxicity, mortality or functional impairment (Jones et al., 2012; Peel et al., 2014; Foulkes et al., 2019; Yu et al., 2020).

CELLULAR MECHANISMS OF SKELETAL MUSCLE DECONDITIONING IN BREAST CANCER PATIENTS: WHAT DO WE KNOW?

Skeletal muscle biopsy (e.g., using Bergström needle) is the only technique allowing full investigation of the cellular mechanisms of muscle deconditioning (Bergstrom, 1975; Tarnopolsky et al., 2011). To date, only six clinical studies, published in seven different publications, used muscle biopsies in early breast cancer patients (stage I–III) to decipher mechanisms of muscle deconditioning (Lønbro et al., 2017; Bohlen et al., 2018; Guigni et al., 2018; Mijwel et al., 2018b; Møller et al., 2019; Toth et al., 2020; Wilson et al., 2020). Altogether, these studies highlighted several important aspects of muscle deconditioning detailed below and outlined in **Figure 1**.

Decrease in Skeletal Muscle Fibers Cross-Sectional Area and Phenotypic Shift

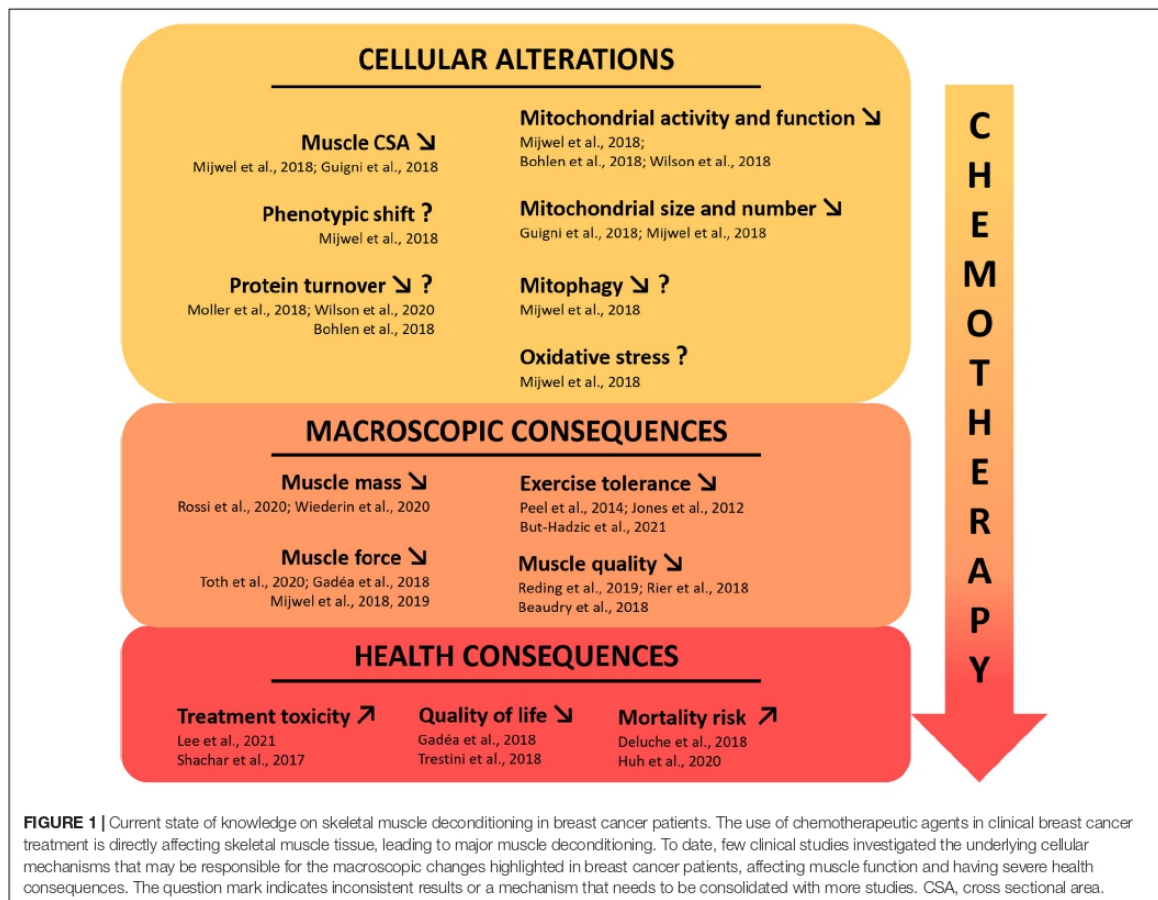
Muscle fibers CSA is one of the most substantial measurement of muscle deconditioning at the cellular level. Recently, Mijwel et al. (2018b) and Guigni et al. (2018) showed a clear decrease in both type I and type II vastus lateralis muscle fibers CSA after anthracycline-cyclophosphamide and taxane-based chemotherapy treatment. Interestingly, Mijwel et al. (2018b) demonstrated it through a longitudinal study while Guigni et al. (2018) have done it with a cross-sectional study design, by comparing breast cancer patients to healthy individuals. To highlight the substantial magnitude of the decrease in overall muscle fibers CSA during chemotherapy in breast cancer patients, it should be noted that this decrease was comparable to the considerable effect of 60 years of healthy aging (Lexell et al., 1988). If comparing muscle CSA of breast cancer patients under chemotherapy for 4 months with 60 years of aging is insightful to emphasize the profound impact of chemotherapy on the skeletal muscle apparatus, it is not fully accurate as other mechanisms are involved and interact with CSA differently in cancer vs. aging. Two other longitudinal studies found no reduction in muscle fibers vastus lateralis CSA during chemotherapy including taxanes, cyclophosphamide, doxorubicin, and carboplatin (Lønbro et al., 2017; Toth et al., 2020). However, in these studies, the second muscle biopsy was performed after ~5 weeks and might explain the lack of atrophy as the effects of chemotherapeutic agents on skeletal muscle are strongly suggested to be cumulative. It is important to note that *in vitro* and *in vivo* studies also demonstrated the negative impact of both chemotherapeutic agents (McLoon et al., 1998; Gouspillou et al., 2015; Min et al., 2015; Barreto et al., 2016; Guigni et al., 2018) and breast cancer-bearing mice models (Hesse et al., 2019; Wang et al., 2021) on skeletal muscle structure, strengthening the results obtained in clinical studies.

Concerning fiber type distribution, only Mijwel et al. (2018b) reported significant changes, with a reduced proportion of type I muscle fibers after chemotherapy treatment. This potential type I

to type II phenotypic shift is classically found in muscle disuse models (Baldwin et al., 2013) while the opposite is observed with aging (Larsson et al., 2019). This suggests that muscle deconditioning in breast cancer patients might also be driven by a decrease in overall physical activity during their treatment (De Groef et al., 2018; Gadéa et al., 2018; Yildiz Kabak et al., 2020), a well-known trigger of protein turnover dysregulation.

Protein Turnover

If a large number of excellent reviews have already documented the critical role of protein turnover homeostasis in the mechanisms related to skeletal muscle atrophy (Sandri, 2008; Chopard et al., 2009; Bodine, 2013; Bonaldo and Sandri, 2013; Schiaffino et al., 2013; Briocche et al., 2016; Larsson et al., 2019; Vainshtein and Sandri, 2020; Sartori et al., 2021) including in cancer cachexia (Argilés et al., 2014; Bowen et al., 2015; Petruzzelli and Wagner, 2016; Baracos et al., 2018; Dolly et al., 2020; Silva et al., 2020), little is known in the unique context of breast cancer. Indeed, only four studies investigated the mechanisms related to protein turnover homeostasis in breast cancer patients (Bohlen et al., 2018; Mijwel et al., 2018b; Møller et al., 2019; Wilson et al., 2020). Two publications from the same research team showed, through RNAseq analysis on pectoralis muscle, an increased expression of genes related to ubiquitin-mediated proteolysis and a decreased expression of genes related to ribosomes (Bohlen et al., 2018; Wilson et al., 2020). These results potentially indicate an altered protein turnover balance, with a reduced protein synthesis and an increased protein breakdown. Mijwel et al. (2018b) did not find any changes in MuRF1 protein expression (a key E3 ligase implicated in the ubiquitin-proteasome system) after chemotherapy in breast cancer patients, nor concerning the autophagy pathway, with no changes in the protein expression of different key markers implicated in this pathway (i.e., p-Ulk1, LC3B-II/I ratio, beclin-1, all reflecting autophagosome formation). These results could be explained by the “late” time-point of biopsy collection in this study as cellular processes triggering muscle atrophy, particularly those related to protein breakdown, tend to go back to “normal” expression profiles when the muscle atrophy is well established (Ferreira et al., 2008; Hanson et al., 2013; Atherton et al., 2016; Kawanishi et al., 2018). Finally, the study conducted by Møller et al. (2019) also investigated proteins involved in signaling pathways implicated in protein turnover from vastus lateralis muscle. Very surprisingly, they found a decreased protein expression of the E3 Ligases MAFbx and MuRF1 as well as an increase in p62 and phosphorylated-Ulk1 expression (Ser757), suggesting a decreased activity of the ubiquitin proteasome and autophagy systems, respectively. However, it is important to highlight that 9 out of 10 patients included in this study performed the baseline biopsy after at least one cycle of chemotherapy with epirubicin and doxorubicin (Lønbro et al., 2017). Given the aggressiveness of chemotherapy treatments, this is a serious methodological bias that likely altered “baseline” measures, and therefore, conclusions. Another limitation lays in the heterogeneous population of cancer patients investigated (i.e., seven patients with breast-cancer, one patient with head and neck cancer, one patient with rectal cancer,



and one patient with sarcoma). To sum up, there are strong discrepancies between studies that investigated pathways of protein synthesis and breakdown in breast cancer patients undergoing chemotherapy. Further studies are needed as the understanding of these processes is critical to counteract the skeletal muscle atrophy outlined above.

Mitochondrial Alterations

Mitochondrial alterations represent, to date, one of the most investigated aspects of muscle deconditioning in breast cancer, especially in response to chemotherapeutic agents. In clinical studies, the RNAseq analysis used by both Bohlen et al. (2018) and Wilson et al. (2020) showed a clear dysregulation of genes implicated in mitochondrial function and oxidative phosphorylation. Interestingly, the authors showed a decrease in multiple genes implicated in the electron transport chain, antioxidant capacity, and altered PPAR signaling (including PGC-1 α), emphasizing that mitochondria and overall energy homeostasis may be perturbed in breast cancer patients treated with chemotherapeutic agents. Guigni et al. (2018) confirmed a clear decrease in mitochondrial content and size for breast

cancer patients compared to healthy matched controls, in both the intermyofibrillar and subsarcolemmal compartments. The authors concluded that these alterations, due to the mitotoxic effects of antineoplastic drugs, may constitute a possible explanation to the high prevalence of exercise intolerance and fatigue in all cancer's types, including those not typically prone to cachexia such as breast cancer patients. Finally, the longitudinal study of Mijwel et al. (2018b) highlighted a decrease in citrate synthase activity with chemotherapy. The decrease in citrate synthase activity, a marker for mitochondrial quantity (Larsen et al., 2012), is in line with the results of Guigni et al. (2018) and confirms the likely lower mitochondria quantity in breast cancer patients. This study also reports a decreased protein expression of PINK1, an essential protein implicated in the final stages of mitophagy, therefore suggesting a lower mitophagy process in breast cancer patients. In addition, no variation in protein levels of Parkin has been detected in this study, nor those of the autophagy pathway, clearly indicating that mitophagy is not upregulated and that future studies should investigate this mitochondrial quality control pathway. Finally, an increased protein expression of SOD2, an essential antioxidant

enzyme and redox signaling trigger through H₂O₂ production (Zou et al., 2017), was also found. Alone, this result does not permit to raise any conclusion whether it reflects an increase in antioxidant defenses or, at the opposite, a compensation for an increase in oxidative stress (i.e., superoxide anion) linked to the chemotherapeutic treatment. Clearly, future studies with protein expression analysis of oxidative stress and antioxidant pathways as well as enzymes activities are still necessary to understand the potential implication of redox balance in skeletal muscle deconditioning of breast cancer patients.

POTENTIAL OTHER CELLULAR MECHANISMS OF MUSCLE DECONDITIONING IN BREAST CANCER PATIENTS: WHAT CAN WE LEARN FROM OTHER CANCERS?

Based on the knowledge accumulated through decades of intensive research, this part of the review aims to identify potential cellular mechanisms responsible for skeletal muscle deconditioning in breast cancer patients by drawing a parallel with pre-clinical studies and other cancers models of muscle wasting. As summarized in **Figure 2**, we have limited our review to the main and well admitted mechanisms of muscle wasting in cancer; our list is therefore not exhaustive. Among the large variety of studies discussed hereafter, we found few studies related to skeletal muscle plasticity conducted on mouse models of breast cancer while several pre-clinical studies explored the effect of doxorubicin administration, one of the most commonly used chemotherapeutic agents to treat breast cancer patients. This lack of specific investigations indicates a major imbalance in comparison with other cancers and also emphasizes the need to remain cautious with the mechanisms identified thereafter as they mainly stem from the analysis of different cancers and treatments. However, it will provide future directions for researchers willing to investigate specifically the mechanisms of muscle deconditioning in breast cancer.

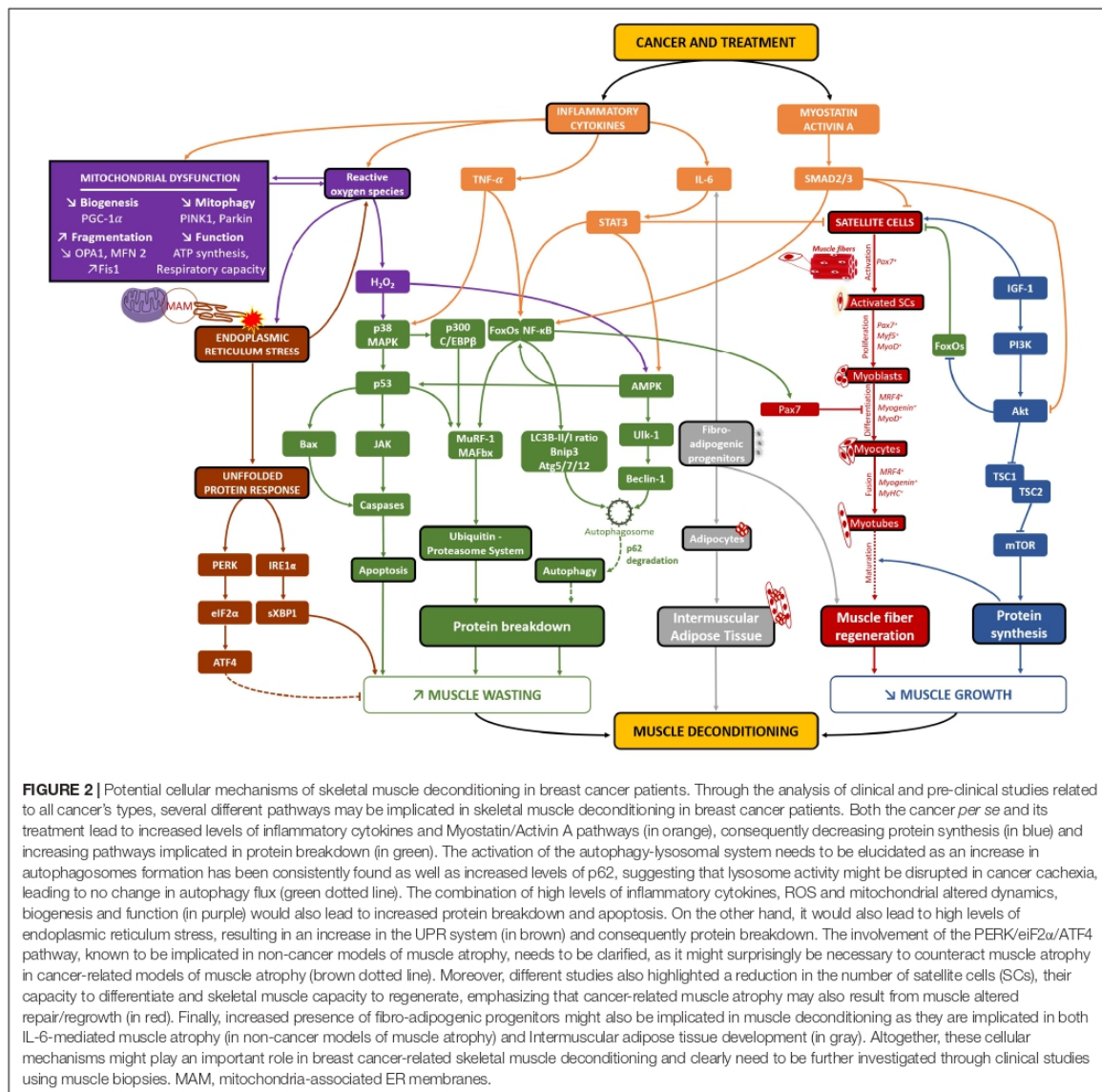
Protein Turnover

The sensitive balance between protein synthesis and protein breakdown is the major mechanism regulating muscle mass (Chopard et al., 2009; Schiaffino et al., 2013; Bowen et al., 2015; Argilés et al., 2019; Silva et al., 2020; Vainshtein and Sandri, 2020).

Skeletal muscle protein synthesis is mainly promoted by the PI3K-Akt-mTOR pathway and cachexia patients with pancreatic carcinoma or lung cancer demonstrated an altered PI3K-Akt-mTOR signaling (Schmitt et al., 2007; Murton et al., 2017), a result also found in various pre-clinical models (White et al., 2011; Padrão et al., 2013; Gallot et al., 2014; Puppa et al., 2014; Bohnert et al., 2016; Chen M. C. et al., 2016; de Lima Junior et al., 2016; Sun et al., 2016; Chacon-Cabrera et al., 2017; Quan-Jun et al., 2017; Nissinen et al., 2018; Salazar-Degracia et al., 2018). Importantly, both clinical (Bennegård et al., 1984; Emery et al., 1984; Dworzak et al., 1998) and pre-clinical studies (Beck et al., 1991; Smith and Tisdale, 1993; Samuels et al., 2001; Smith

et al., 2004; Constantinou et al., 2011; Nissinen et al., 2016, 2018; Toledo et al., 2016; Antoun and Raynard, 2018; Cruz et al., 2019; Costamagna et al., 2020) highlighted a reduction in muscle protein synthesis, emphasizing that a reduction in protein synthesis may explain, at least in part, the muscle deconditioning occurring in cancer patients. Among all these studies, only two worked on rodents treated with doxorubicin and showed a reduced PI3K-Akt-mTOR signaling (de Lima Junior et al., 2016; Nissinen et al., 2016). Moreover, through RNAseq analysis, Wilson et al. (2019) also found an altered skeletal muscle mTOR signaling in breast cancer-bearing mice. These important studies clearly demonstrated that both breast cancer *per se* and the chemotherapeutic agents used in clinical setting to treat it may alter the main protein synthesis pathway in skeletal muscle, possibly leading to altered protein turnover.

On the other hand, protein breakdown includes two major pathways, the ubiquitin-proteasome and autophagy-lysosomal systems (UPS and autophagy, respectively), that are responsible for the degradation of most proteins and organelles in skeletal muscle cells. First, numerous pre-clinical studies observed an increase in skeletal muscle protein breakdown (Beck et al., 1991; Smith and Tisdale, 1993; Temparis et al., 1994; Baracos et al., 1995; Samuels et al., 2001; Smith et al., 2004; Silva et al., 2015; Toledo et al., 2016), demonstrating that a decrease in protein synthesis is not the only mechanism that could explain the loss muscle mass in cancer cachexia. UPS and autophagy pathways have been largely investigated both in clinical and pre-clinical studies. The UPS is almost unanimously found to be increased in cancer patients, particularly the “atrogenes” MAFbx and MuRF1 and the overall ubiquitination profile (Williams et al., 1999; Bossola et al., 2003; DeJong et al., 2005; Khal et al., 2005; Constantinou et al., 2011; Puig-Vilanova et al., 2015; Zhang et al., 2020). Importantly, the increase in UPS activity as well as mRNA/proteins implicated in this pathway is also consistently found in a large number of pre-clinical studies (Baracos et al., 1995; Gomes et al., 2001; Lecker et al., 2004; Acharyya et al., 2005; Khal et al., 2005; Moore-Carrasco et al., 2007; Zhou et al., 2010; Julienne et al., 2012; Padrão et al., 2013; Chacon-Cabrera et al., 2014, 2017; Gallot et al., 2014; Johnston et al., 2015; Silva et al., 2015; Bohnert et al., 2016; Chen M. C. et al., 2016; Hatakeyama et al., 2016; Sun et al., 2016; Toledo et al., 2016; Guo et al., 2017; Damrauer et al., 2018; Pin et al., 2018; Salazar-Degracia et al., 2018; Chen L. et al., 2019; Lee et al., 2019; Liu et al., 2019; Ranjbar et al., 2019; Bae et al., 2020; Huot et al., 2020), strengthening the fact that the UPS plays a major role in the protein breakdown aggravation. Concerning the autophagy system, clinical studies also demonstrated an increase in several important markers such as beclin1, Atg5, or LC3B-II/I ratio (Op den Kamp et al., 2012; Johns et al., 2014; Aversa et al., 2016; Pigna et al., 2016; de Castro et al., 2019; Zhang et al., 2020). Together with pre-clinical studies showing the same results (Penna et al., 2013, 2019a; Chacon-Cabrera et al., 2014; Bohnert et al., 2016; Salazar-Degracia et al., 2016, 2018; Sirago et al., 2017; Ballaró et al., 2019; Ranjbar et al., 2019), autophagy might also play a significant role in the increased protein breakdown of cancer patients. However, it appears of great importance to highlight that the majority of these studies also



found an increase in p62 mRNA/protein expression, suggesting that if autophagosome formation is certainly increased, lysosome activity might be disrupted in cancer patients, leading to no modifications in autophagy flux (Penna et al., 2014; Klionsky et al., 2021). Furthermore, different studies showed that skeletal muscle protein breakdown is mostly ATP-dependent (i.e., UPS) in pre-clinical models of cancer cachexia (Temparis et al., 1994; Baracos et al., 1995; White et al., 2011), emphasizing again that autophagy might not be implicated or has a minor role in cancer-induced skeletal muscle wasting. As it is well known that the loss of autophagy leads to muscle wasting

exacerbation in response to atrophic stimulus (Vainshtein and Sandri, 2020), further studies are needed to elucidate the variations of autophagic flux, whether it is an increase or a decrease, in cancer cachexia.

The FoxO family of transcription factors (FoxO1 and FoxO3 particularly) and NF-κB are known to be essential transcription factors implicated in the regulation of numerous genes of both UPS and autophagy pathways in various models of skeletal muscle atrophy (Vainshtein and Sandri, 2020). These transcription factors have been found to be upregulated in different cancer cachexia models (Cai et al., 2004;

Lecker et al., 2004; White et al., 2011; Op den Kamp et al., 2013; Chacon-Cabrera et al., 2014, 2017; Gallot et al., 2014; Puppa et al., 2014; Chen M. C. et al., 2016; Sun et al., 2016; Sirago et al., 2017; Salazar-Degracia et al., 2018; Lee et al., 2019; Bae et al., 2020) including in cancer patients (Rhoads et al., 2010; Skorokhod et al., 2012; Puig-Vilanova et al., 2015; Johns et al., 2017).

Aside from studies presented in the section of this review dedicated to breast cancer clinical studies (Lønbro et al., 2017; Bohlen et al., 2018; Guigni et al., 2018; Mijwel et al., 2018b; Møller et al., 2019; Wilson et al., 2020), no preclinical study has been done in order to explore protein breakdown in breast cancer models. However, some pre-clinical studies explored the effect of doxorubicin on skeletal muscle and an increase in both UPS and autophagy pathways was suggested as MAFbx, beclin1, Atg12, Atg7, and LC3B-II/I ratio increased with doxorubicin treatment in mice and rats (Smuder et al., 2011; Kavazis et al., 2014; Hulmi et al., 2018; Montalvo et al., 2020). Importantly, only Montalvo et al. (2020) explored p62 protein levels and found no change in its expression, again emphasizing the need to obtain a more precise understanding of the autophagic pathway. Interestingly, Yu et al. (2014) also treated mice with doxorubicin and found no change in numerous autophagy markers. Altogether, pre-clinical studies demonstrated altered protein synthesis and breakdown mainly in response to doxorubicin administration in rodents, again emphasizing that these mechanisms may induce skeletal muscle wasting in breast cancer patients.

Pro-inflammatory and TGF- β Family Cytokines

As a critical upstream of protein turnover alteration, inflammation plays a key role in the development of muscle wasting in cancer patients. Indeed, either released by the tumor or immune cells, pro-inflammatory cytokines like TNF- α , TWEAK, IL-6, IL-1 β , IL-8, and INF γ have been found to be upregulated at a systemic level in animals (Costelli et al., 1993; Baltgalvis et al., 2008; Zhou et al., 2010; Toledo et al., 2016; Guo et al., 2017; Chen T. et al., 2018; Bae et al., 2020; Bernardo et al., 2020; Huot et al., 2020) and in cancer patients (Scott et al., 1996; DeJong et al., 2005; Moses et al., 2009; Skipworth et al., 2011; Op den Kamp et al., 2013; Puig-Vilanova et al., 2015; Johns et al., 2017; Riccardi et al., 2020). Importantly, from a study that included 661 breast cancer patients, systemic inflammatory cytokines were associated with a poor survival, reduced disease-specific survival and disease-free survival (Cho et al., 2018). These inflammatory cytokines have been also found to be upregulated within skeletal muscle in pre-clinical studies (Skipworth et al., 2011; Johnston et al., 2015; Chen M. C. et al., 2016; Hatakeyama et al., 2016; Chen L. et al., 2019; Lee et al., 2019; Bae et al., 2020), but none of these has been investigated in breast cancer models.

In addition to pro-inflammatory cytokines, two particular members of the TGF- β family have been particularly explored in cancer cachexia: myostatin (MSTN) and Activin A. MSTN clearly represents one of the most potent negative regulator of muscle growth and is known to act through its receptor ActRIIB and the subsequent activation of the SMAD2/SMAD3 cascade

(Rodriguez et al., 2014). MSTN and/or its downstream targets have been found to be upregulated in many experiments on cancer cachexia (Costelli et al., 2008; Bonetto et al., 2009; Zhou et al., 2010; Murphy et al., 2011; Aversa et al., 2012; Padrão et al., 2013; Chacon-Cabrera et al., 2014; Silva et al., 2015; Chen M. C. et al., 2016; Sun et al., 2016; Chen M. C. et al., 2018; Salazar-Degracia et al., 2018; Lee et al., 2019; Huot et al., 2020), as well as in studies exploring the effect of doxorubicin administration (Kavazis et al., 2014; Liu et al., 2019). Acting through the same receptor than MSTN (ActRIIB), Activin A is also found to be increased in cancer cachexia (Leto et al., 2006; Loumaye et al., 2015; Matsuyama et al., 2015; Chen J. L. et al., 2016; Chen M. C. et al., 2016; Barreto et al., 2017; Zhong et al., 2019; Bernardo et al., 2020) and an independent prognosis factor of survival in cancer patients (Loumaye et al., 2017). Several authors conducted experiments with inhibition of the MSTN/Activin A pathway and found a reduction, or even a complete reversal, in the decrease of muscle mass and function in pre-clinical models (Liu et al., 2008; Benny Klimek et al., 2010; Murphy et al., 2011; Busquets et al., 2012a,b; Gallot et al., 2014; Hatakeyama et al., 2016; Levelger et al., 2019; Ojima et al., 2020; Pettersen et al., 2020), leading to the consideration of this pharmacological strategy for human cancer patients.

Mitochondrial Alterations, Oxidative Stress, and Unfolded Protein Response

Mitochondrial alterations represent a major aspect of muscle deconditioning that have been already associated with skeletal muscle atrophy in breast cancer patients (Bohlen et al., 2018; Guigni et al., 2018; Mijwel et al., 2018b; Wilson et al., 2020), and in other cancers such as gastrointestinal and lung cancer patients (Op den Kamp et al., 2015; de Castro et al., 2019). Triggered by both structural and functional mitochondrial impairments, mitochondrial alterations have been particularly studied in pre-clinical studies. First, altered morphology and/or mitochondria loss have been found in different models of cancer in animals and/or with chemotherapeutic agents (Shum et al., 2012; White et al., 2012; Fontes-Oliveira et al., 2013; Barreto et al., 2016; Brown et al., 2017; Sorensen et al., 2017) as well as in gastric cancer patients (Zhang et al., 2020). Taken together, these results showing mitochondrial alterations on other cancer types strengthen the abovementioned results specifically observed in breast cancer (Guigni et al., 2018; Mijwel et al., 2018b) and might be a specific maladaptation between cancers. Concerning mitochondrial function, the overall oxidative pathway is clearly affected by both cancer and chemotherapeutic agents (Ushmorov et al., 1999; Constantinou et al., 2011; Julienne et al., 2012; Fermoselle et al., 2013; Gilliam et al., 2013, 2016; Padrão et al., 2013; Tzika et al., 2013; McLean et al., 2014; Gouspillou et al., 2015; Op den Kamp et al., 2015; Puig-Vilanova et al., 2015; de Lima Junior et al., 2016; Brown et al., 2017; Crouch et al., 2017; Pin et al., 2018; Ryan et al., 2018; Neyroud et al., 2019; Penna et al., 2019b; Hulmi et al., 2020; Kunzke et al., 2020). Among these studies, only two showed the potent negative impact of doxorubicin on complexes respiratory capacity (Gilliam et al., 2013; Gouspillou et al., 2015) while

Crouch et al. (2017) highlighted a decrease in ATP production with cyclophosphamide administration, an immunosuppressor commonly associated with doxorubicin in breast cancer treatment. Interestingly, various authors also found altered mitochondrial dynamics, with a decreased fusion and increased fission, leading to mitochondria fragmentation in cancer cachexia (White et al., 2011, 2012; Barreto et al., 2016; Brown et al., 2017; Marzetti et al., 2017; Pin et al., 2018; de Castro et al., 2019; Huot et al., 2020). Surprisingly, although it was found that breast cancer patients lost mitochondria during their chemotherapeutic treatment (Guigni et al., 2018), mitochondria dynamics has not been investigated to date in specific preclinical models of breast cancer patients. Even if it is well known that mitochondria fission is prerequisite for the activation of the mitophagy process, it seems that mitophagy is also dysfunctional in cancer as several authors showed a decrease in key markers such as PINK1 or Parkin (Aversa et al., 2016; Marzetti et al., 2017). This statement has been also confirmed in the study of Gouspillou et al. (2015) with mice treated with doxorubicin (reduced Parkin protein levels) as well as in the study of Mijwel et al. (2018b) with breast cancer patients (reduced PINK1 protein levels).

As a consequence of mitochondrial dysfunction and potential reduced mitophagy, fragmented and damaged mitochondria accumulate in skeletal muscle and, in addition to being less bioenergetically efficient, produce excessive amounts of oxidative stress, mediated through increases in reactive oxygen species (ROS). Indeed, many different studies found an increase in ROS (Gilliam et al., 2013, 2016; Gouspillou et al., 2015; Min et al., 2015; Chacon-Cabrera et al., 2017; Pin et al., 2018; Ballarò et al., 2019; Montalvo et al., 2020), more specifically elevated levels of hydrogen peroxide (H₂O₂). Unanimously, several studies reported that doxorubicin administration in rodents led to an increase in H₂O₂ production (Gilliam et al., 2013, 2016; Min et al., 2015; Montalvo et al., 2020), while there is still no clinical study available to confirm this increase in breast cancer patients. One of the consequences of the increase in oxidative stress is the alteration of protein turnover pathways, with a decrease in protein synthesis, supported by an altered PI3k-Akt-mTOR pathway, and an increase in protein breakdown systems (i.e., UPS and autophagy). Aside the protein turnover deregulation, mitochondria-mediated oxidative stress is also a potent initiator of apoptosis [see reviews from Powers et al. (2016), Aggarwal et al. (2019), Sies and Jones (2020), and Hyatt and Powers (2021)]. Many studies showed an increase in key markers of apoptosis in various pre-clinical models (Belizário et al., 2001; Ishiko et al., 2001; Yoshida et al., 2001; Tsang et al., 2003; Figueras et al., 2004; Schwarzkopf et al., 2006; Baltgalvis et al., 2008; Murphy et al., 2011; Smuder et al., 2011; Chacon-Cabrera et al., 2014; Salazar-Degracia et al., 2016, 2018) and in cancer patients (Busquets et al., 2007; de Castro et al., 2019). Three other studies also explored the effect of doxorubicin treatment in rodents and *in vitro* (C2C12) and found increased levels of caspase 3 (both its activity and cleaved form of caspase 3 protein expression) and of Bax (Gilliam et al., 2012; Yu et al., 2014; Min et al., 2015). Finally, the study of Ahmadabadi et al. (2020) also observed a decrease in Bcl-2/Bax ratio in breast cancer-bearing mice, showing once again that apoptosis might be upregulated in breast cancer patients.

Intuitively, the loss of muscle cells or myonuclei would appear like one of the causes of muscle atrophy, and studies have already shown associations between loss of muscle mass/CSA and the number of apoptotic cells (Allen et al., 1997; Borisov and Carlson, 2000; Smith et al., 2000; Dupont-Versteegden, 2005; Andrianjafiniony et al., 2010; Guo et al., 2012; Chacon-Cabrera et al., 2014; Cheema et al., 2015; Salazar-Degracia et al., 2016).

Increased levels in unfolded or misfolded proteins and oxidative stress (due to the potential deficit in autophagy/mitophagy and mitochondrial dysfunction) will lead to endoplasmic reticulum stress and trigger the unfolded protein response (UPR) that might represent another major maladaptation taking place during cancer cachexia. Acting through three pathways (PERK-eIf2 α -ATF4, IRE1 α -sXBP1, and ATF6-ATF6N) the UPR contributes to skeletal muscle atrophy by decreasing protein synthesis, increasing protein breakdown and, ultimately, inducing apoptosis (Urbina-Varela et al., 2020; Vainshtein and Sandri, 2020; Gallot and Bohnert, 2021). The UPR has been shown to be upregulated in several pre-clinical studies of cancer cachexia (Bohnert et al., 2016, 2019; Gallot et al., 2019; Straughn et al., 2021) and in response to doxorubicin treatment (Montalvo et al., 2020) leading to the conclusion that the increased activity of the UPR system would trigger the muscle atrophy program and contribute to muscle wasting. However, as clearly described in the review of Gallot and Bohnert (2021), specific increase in the PERK-eIf2 α -ATF4 pathway might also be necessary during skeletal muscle atrophy to counteract it, as both pharmacological (Bohnert et al., 2016) or genetical tools (Gallot et al., 2019) aiming to inhibit this pathway aggravated cancer-related muscle atrophy. On the contrary, muscle-specific deletion of XBP1 in LLC-bearing mice exhibited a reduced muscle atrophy, demonstrating that the IRE1 α -sXBP1 axis of the UPR system seems to be implicated in cancer-mediated muscle atrophy.

Satellite Cells

The capacity of skeletal muscle to regenerate is another key parameter of its functionality. After injury, successful skeletal muscle regeneration appears to be driven by complex and precisely orchestrated processes involving multiple cell types. Of these cell types, satellite cells (SCs), localized between the sarcolemma and the basal lamina of myofibers (Mauro, 1961), represents the most studied and essential stem cells in order to support the regeneration process. In the context of cancer cachexia, several studies already showed that skeletal muscle tissue exhibited signs of ongoing degeneration/regeneration cycles, including ultrastructural damage, central nuclei localization, increased macrophages abundance as well as SCs proliferation in patients (Zampieri et al., 2010; He et al., 2013) and in pre-clinical models (Mehl et al., 2005; Chacon-Cabrera et al., 2014, 2017; Salazar-Degracia et al., 2016, 2018; Judge et al., 2018), including in breast cancer-bearing mice (Ahmadabadi et al., 2020). These signs of damage and regeneration might indicate an increased fragility of the skeletal muscle and an environment prone to lead to more degeneration/regeneration cycles. Having in mind that several authors also highlighted a clear decrease in regeneration capacity (He et al., 2013;

Coletti et al., 2016; Inaba et al., 2018; Costamagna et al., 2020), cancer-related muscle atrophy may also result from muscle decreased repair/regrowth after injury and not only from different pathways causing protein turnover dysregulation. More specifically, the excellent study of He et al. (2013) demonstrated that SCs were able to proliferate and commit to the myogenic lineage, but unable to differentiate properly due to an NF- κ B dependent increase in Pax7 expression. This increase in Pax7 expression was also found in breast cancer-bearing mice (Hesse et al., 2019) as well as in other cancers pre-clinical studies (Penna et al., 2010; Coletti et al., 2016; Costamagna et al., 2020), ultimately leading to muscle regeneration dysfunction. Importantly, D'Lugos et al. (2019) found that chronic doxorubicin administration drastically reduced SCs content in rats, suggesting that if cancer *per se* would inhibit myogenic differentiation process, the combination of both the disease and chemotherapeutic drugs administration might lead to global SCs dysfunction and loss in breast cancer patients. However, as highlighted in our section dedicated to clinical studies in breast cancer patients, only Mijwel et al. (2018b) investigated Pax7⁺-labeled SCs and found no change in their number. Therefore, more studies are necessary to clarify SCs fate and implication in breast cancer patients and/or pre-clinical models.

Intermuscular Adipose Tissue and Fibro-Adipogenic Progenitors

The abnormal development of fibrotic and/or IMAT deposits within skeletal muscle is a strong marker of regenerative failure. As documented above, breast cancer patients exhibit an increase in IMAT (Rier et al., 2018; Reding et al., 2019; Beaudry et al., 2020), a result also found in other types of cancers [for a systematic review see Aleixo et al. (2020b)]. However, we did not find any study exploring the cellular mechanisms related to IMAT development in preclinical models of breast cancer or with the administration of commonly used chemotherapeutic agents. In muscle disuse or pathological conditions, such as Duchenne muscular dystrophy, FAPs proliferate and differentiate into adipose and/or fibrous tissue (Uezumi et al., 2011, 2014a; Ieronimakis et al., 2016) and are currently accepted to represent the major population that appears to play a role in IMAT development (Brioche et al., 2016; Biferali et al., 2019; Theret et al., 2021). In the context of cancer cachexia, one study found an increased presence of FAPs in the muscle environment of pancreatic cancer patients (Judge et al., 2018) that might explain the development of myosteatosis observed in overall cancer patients. Considering the increase in IMAT development found in breast cancer patients (Rier et al., 2018; Reding et al., 2019; Beaudry et al., 2020), it thus appears essential to explore FAPs fate in this specific context.

REFERENCES

Acharyya, S., Butchbach, M. E. R., Sahenk, Z., Wang, H., Saji, M., Carathers, M., et al. (2005). Dystrophin glycoprotein complex dysfunction: a regulatory link between muscular dystrophy and

Other than their important role in muscle regeneration and abnormal development of IMAT, FAPs have been recently shown to promote skeletal muscle atrophy. Indeed, the study of Madaro et al. (2018) demonstrated that FAPs progressively accumulate and exhibit increased IL-6/STAT3 signaling, promoting muscle atrophy in different mouse models. Interestingly, inactivation of this pathway effectively countered the muscle atrophy and fibrosis observed in these models, emphasizing a potential role of FAPs secretome and paracrine effects on skeletal muscle fibers. Considering the ambivalent role of FAPs in the development of IMAT and muscle atrophy, further studies should focus on these stem cells in order to elucidate their potential role in both pre-clinical and clinical models of cancer-related skeletal muscle wasting.

CONCLUSION

Breast cancer patients undergoing chemotherapy definitively experience skeletal muscle deconditioning, mainly characterized by both a decrease in muscle mass and function. Despite the fact that mechanisms of muscle deconditioning are well known in many other muscle wasting models, including in other pre-clinical or clinical models of cancers, they still remain relatively unknown in breast cancer patients. In fact, some studies using muscle biopsies highlighted protein turnover and mitochondrial alterations in breast cancer patients, but other studies are clearly needed to obtain a more precise understanding of the cellular processes implicated in breast cancer-mediated muscle deconditioning. This lack of knowledge inevitably leads to difficulties for the implementation of efficient preventive strategies such as exercise, nutrition or pharmacological treatments.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

JM, EH, TH, and AP contributed to writing or editing the manuscript and approved the final version of the manuscript. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

FUNDING

This work was supported by the Institut de Cancérologie Strasbourg Europe. This work has been published under the framework of the IdEx Unistra supported by the investments for the future program of the French Government.

cancer cachexia. *Cancer Cell* 8, 421–432. doi: 10.1016/j.ccr.2005.10.004

Addison, O., Marcus, R. L., Lastayo, P. C., and Ryan, A. S. (2014). Intermuscular fat: a review of the consequences and causes. *Int. J. Endocrinol.* 2014:309570. doi: 10.1155/2014/309570

- Agarwala, P., and Salzman, S. H. (2020). Six-Minute walk test: clinical role, technique, coding, and reimbursement. *Chest* 157, 603–611. doi: 10.1016/j.chest.2019.10.014
- Aggarwal, V., Tuli, H. S., Varol, A., Thakral, F., Yerer, M. B., Sak, K., et al. (2019). Role of reactive oxygen species in cancer progression: molecular mechanisms and recent advancements. *Biomolecules* 9:735. doi: 10.3390/biom9110735
- Ahmadabadi, F., Saghebjo, M., Huang, C.-J., Saffari, I., and Zardast, M. (2020). The effects of high-intensity interval training and saffron aqueous extract supplementation on alterations of body weight and apoptotic indices in skeletal muscle of 4T1 breast cancer-bearing mice with cachexia. *Appl. Physiol. Nutr. Metab. Physiol. Appl. Nutr. Metab.* 45, 555–563. doi: 10.1139/apnm-2019-0352
- Aleixo, G. F. P., Deal, A. M., Nyrop, K. A., Muss, H. B., Damone, E. M., Williams, G. R., et al. (2020a). Association of body composition with function in women with early breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 181, 411–421. doi: 10.1007/s10549-020-05624-3
- Aleixo, G. F. P., Shachar, S. S., Nyrop, K. A., Muss, H. B., Malpica, L., and Williams, G. R. (2020b). Myosteatosis and prognosis in cancer: systematic review and meta-analysis. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 145:102839. doi: 10.1016/j.critrevonc.2019.102839
- Aleixo, G. F. P., Williams, G. R., Nyrop, K. A., Muss, H. B., and Shachar, S. S. (2019). Muscle composition and outcomes in patients with breast cancer: meta-analysis and systematic review. *Breast Cancer Res. Treat.* 177, 569–579. doi: 10.1007/s10549-019-05352-3
- Allen, D. L., Linderman, J. K., Roy, R. R., Grindeland, R. E., Mukku, V., and Edgerton, V. R. (1997). Growth hormone/IGF-I and/or resistive exercise maintains myonuclear number in hindlimb unweighted muscles. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985 83, 1857–1861. doi: 10.1152/jappl.1997.83.6.1857
- Andrianjafinony, T., Dupré-Aucouturier, S., Letexier, D., Couchoux, H., and Desplanches, D. (2010). Oxidative stress, apoptosis, and proteolysis in skeletal muscle repair after unloading. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 299, C307–C315. doi: 10.1152/ajpcell.00069.2010
- Antoun, S., and Raynard, B. (2018). Muscle protein anabolism in advanced cancer patients: response to protein and amino acids support, and to physical activity. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 29, ii10–ii17. doi: 10.1093/annonc/mdx809
- Arc-Chagnaud, C., Py, G., Fovet, T., Roumanille, R., Demangel, R., Pagano, A. F., et al. (2020). Evaluation of an antioxidant and anti-inflammatory cocktail against human hypoactivity-induced skeletal muscle deconditioning. *Front. Physiol.* 11:71. doi: 10.3389/fphys.2020.00071
- Argilés, J. M., Busquets, S., Stemmler, B., and López-Soriano, F. J. (2014). Cancer cachexia: understanding the molecular basis. *Nat. Rev. Cancer* 14, 754–762. doi: 10.1038/nrc3829
- Argilés, J. M., López-Soriano, F. J., and Busquets, S. (2019). Mediators of cachexia in cancer patients. *Nutrition* 66, 11–15. doi: 10.1016/j.nut.2019.03.012
- Astrand, P. O., and Saltin, B. (1961). Maximal oxygen uptake and heart rate in various types of muscular activity. *J. Appl. Physiol.* 16, 977–981. doi: 10.1152/jappl.1961.16.6.977
- Atherton, P. J., Greenhaff, P. L., Phillips, S. M., Bodine, S. C., Adams, C. M., and Lang, C. H. (2016). Control of skeletal muscle atrophy in response to disuse: clinical/preclinical contentions and fallacies of evidence. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 311, E594–E604. doi: 10.1152/ajpendo.00257.2016
- Aubrey, J., Esfandiari, N., Baracos, V. E., Buteau, F. A., Frenette, J., Putman, C. T., et al. (2014). Measurement of skeletal muscle radiation attenuation and basis of its biological variation. *Acta Physiol. Oxf. Engl.* 210, 489–497. doi: 10.1111/apha.12224
- Aversa, Z., Bonetto, A., Penna, F., Costelli, P., Di Rienzo, G., Lacitignola, A., et al. (2012). Changes in myostatin signaling in non-weight-losing cancer patients. *Ann. Surg. Oncol.* 19, 1350–1356. doi: 10.1245/s10434-011-1720-5
- Aversa, Z., Pin, F., Lucia, S., Penna, F., Verzarò, R., Fazi, M., et al. (2016). Autophagy is induced in the skeletal muscle of cachectic cancer patients. *Sci. Rep.* 6:30340. doi: 10.1038/srep30340
- Bae, T., Jang, J., Lee, H., Song, J., Chae, S., Park, M., et al. (2020). *Paeonia lactiflora* root extract suppresses cancer cachexia by down-regulating muscular NF- κ B signalling and muscle-specific E3 ubiquitin ligases in cancer-bearing mice. *J. Ethnopharmacol.* 246:112222. doi: 10.1016/j.jep.2019.112222
- Baldwin, K. M., Haddad, F., Pandorf, C. E., Roy, R. R., and Edgerton, V. R. (2013). Alterations in muscle mass and contractile phenotype in response to unloading models: role of transcriptional/pretranslational mechanisms. *Front. Physiol.* 4:284. doi: 10.3389/fphys.2013.00284
- Ballarò, R., Beltrà, M., De Lucia, S., Pin, F., Ranjbar, K., Hulmi, J. J., et al. (2019). Moderate exercise in mice improves cancer plus chemotherapy-induced muscle wasting and mitochondrial alterations. *FASEB J.* 33, 5482–5494. doi: 10.1096/fj.201801862R
- Baltgalvis, K. A., Berger, F. G., Pena, M. M. O., Davis, J. M., Muga, S. J., and Carson, J. A. (2008). Interleukin-6 and cachexia in ApcMin/+ mice. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 294, R393–R401. doi: 10.1152/ajpregu.00716.2007
- Baracos, V. E., DeVivo, C., Hoyle, D. H., and Goldberg, A. L. (1995). Activation of the ATP-ubiquitin-proteasome pathway in skeletal muscle of cachectic rats bearing a hepatoma. *Am. J. Physiol.* 268, E996–E1006. doi: 10.1152/ajpendo.1995.268.5.E996
- Baracos, V. E., Martin, L., Korc, M., Guttridge, D. C., and Fearon, K. C. H. (2018). Cancer-associated cachexia. *Nat. Rev. Dis. Primers* 4:17105. doi: 10.1038/nrdp.2017.105
- Barreto, R., Kitase, Y., Matsumoto, T., Pin, F., Colston, K. C., Couch, K. E., et al. (2017). ACVR2B/Fc counteracts chemotherapy-induced loss of muscle and bone mass. *Sci. Rep.* 7:14470. doi: 10.1038/s41598-017-15040-1
- Barreto, R., Waning, D. L., Gao, H., Liu, Y., Zimmers, T. A., and Bonetto, A. (2016). Chemotherapy-related cachexia is associated with mitochondrial depletion and the activation of ERK1/2 and p38 MAPKs. *Oncotarget* 7, 43442–43460. doi: 10.18632/oncotarget.9779
- Beaudry, R. I., Kirkham, A. A., Thompson, R. B., Grenier, J. G., Mackey, J. R., and Haykowsky, M. J. (2020). Exercise intolerance in anthracycline-treated breast cancer survivors: the role of skeletal muscle bioenergetics, oxygenation, and composition. *The Oncologist* 25, e852–e860. doi: 10.1634/theoncologist.2019-0777
- Beavers, K. M., Beavers, D. P., Houston, D. K., Harris, T. B., Hue, T. F., Koster, A., et al. (2013). Associations between body composition and gait-speed decline: results from the Health, Aging, and Body Composition study. *Am. J. Clin. Nutr.* 97, 552–560. doi: 10.3945/ajcn.112.047860
- Beck, S. A., Smith, K. L., and Tisdale, M. J. (1991). Anticachectic and antitumor effect of eicosapentaenoic acid and its effect on protein turnover. *Cancer Res.* 51, 6089–6093.
- Behr, T. M., Béhé, M., and Wörmann, B. (2001). Trastuzumab and breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 345, 995–996. doi: 10.1056/NEJM200109273451312
- Belizário, J. E., Lorite, M. J., and Tisdale, M. J. (2001). Cleavage of caspases-1, -3, -6, -8 and -9 substrates by proteases in skeletal muscles from mice undergoing cancer cachexia. *Br. J. Cancer* 84, 1135–1140. doi: 10.1054/bjoc.2001.1700
- Bennegård, K., Lindmark, L., Edén, E., Swaninger, G., and Lundholm, K. (1984). Flux of amino acids across the leg in weight-losing cancer patients. *Cancer Res.* 44, 386–393.
- Benny Klimek, M. E., Aydogdu, T., Link, M. J., Pons, M., Koniaris, L. G., and Zimmers, T. A. (2010). Acute inhibition of myostatin-family proteins preserves skeletal muscle in mouse models of cancer cachexia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 391, 1548–1554. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.12.123
- Berger, A. M., Mitchell, S. A., Jacobsen, P. B., and Pirl, W. F. (2015). Screening, evaluation, and management of cancer-related fatigue: ready for implementation to practice? *CA Cancer J. Clin.* 65, 190–211. doi: 10.3322/caac.21268
- Bergstrom, J. (1975). Percutaneous needle biopsy of skeletal muscle in physiological and clinical research. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 35, 609–616.
- Bernardo, B., Joaquim, S., Garren, J., Boucher, M., Houle, C., LaCarubba, B., et al. (2020). Characterization of cachexia in the human fibrosarcoma HT-1080 mouse tumour model. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 11, 1813–1829. doi: 10.1002/jcsm.12618
- Biñerai, B., Proietti, D., Mozzetta, C., and Madaro, L. (2019). Fibro-Adipogenic progenitors cross-talk in skeletal muscle: the social network. *Front. Physiol.* 10:1074. doi: 10.3389/fphys.2019.01074
- Bird, B. R. J. H., and Swain, S. M. (2008). Cardiac toxicity in breast cancer survivors: review of potential cardiac problems. *Clin. Cancer Res.* 14, 14–24. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1033
- Bodine, S. C. (2013). Disuse-induced muscle wasting. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 45, 2200–2208. doi: 10.1016/j.biocel.2013.06.011
- Bohlen, J., McLaughlin, S. L., Hazard-Jenkins, H., Infante, A. M., Montgomery, C., Davis, M., et al. (2018). Dysregulation of metabolic-associated pathways in muscle of breast cancer patients: preclinical evaluation of interleukin-15

- targeting fatigue. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 9, 701–714. doi: 10.1002/jcsm.12294
- Bohnert, K. R., Gallot, Y. S., Sato, S., Xiong, G., Hindi, S. M., and Kumar, A. (2016). Inhibition of ER stress and unfolding protein response pathways causes skeletal muscle wasting during cancer cachexia. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 30, 3053–3068. doi: 10.1096/fj.201600250RR
- Bohnert, K. R., Goli, P., Roy, A., Sharma, A. K., Xiong, G., Gallot, Y. S., et al. (2019). The toll-like receptor/MyD88/XBP1 signaling axis mediates skeletal muscle wasting during cancer cachexia. *Mol. Cell. Biol.* 39:e00184-19. doi: 10.1128/MCB.00184-19
- Bonaldo, P., and Sandri, M. (2013). Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Dis. Model. Mech.* 6, 25–39. doi: 10.1242/dmm.010389
- Bonetto, A., Penna, F., Minero, V. G., Reffo, P., Bonelli, G., Baccino, F. M., et al. (2009). Deacetylase inhibitors modulate the myostatin/follistatin axis without improving cachexia in tumor-bearing mice. *Curr. Cancer Drug Targets* 9, 608–616. doi: 10.2174/156800909789057015
- Borisov, A. B., and Carlson, B. M. (2000). Cell death in denervated skeletal muscle is distinct from classical apoptosis. *Anat. Rec.* 258, 305–318.
- Bossola, M., Muscaritoli, M., Costelli, P., Grieco, G., Bonelli, G., Pacelli, F., et al. (2003). Increased muscle proteasome activity correlates with disease severity in gastric cancer patients. *Ann. Surg.* 237, 384–389. doi: 10.1097/01.SLA.0000055225.96357.71
- Bowen, T. S., Schuler, G., and Adams, V. (2015). Skeletal muscle wasting in cachexia and sarcopenia: molecular pathophysiology and impact of exercise training. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 6, 197–207. doi: 10.1002/jcsm.12043
- Bregni, G., Galli, G., Gevorgyan, A., de Braud, F., and Di Cosimo, S. (2016). Trastuzumab cardiac toxicity: a problem we put our heart into. *Tumori* 102, 1–5. doi: 10.5301/tj.5000393
- Brioche, T., Pagano, A. F., Py, G., and Chopard, A. (2016). Muscle wasting and aging: experimental models, fatty infiltrations, and prevention. *Mol. Aspects Med.* 50, 56–87. doi: 10.1016/j.mam.2016.04.006
- Brown, J. L., Rosa-Caldwell, M. E., Lee, D. E., Blackwell, T. A., Brown, L. A., Perry, R. A., et al. (2017). Mitochondrial degeneration precedes the development of muscle atrophy in progression of cancer cachexia in tumour-bearing mice. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 8, 926–938. doi: 10.1002/jcsm.12232
- Busquets, S., Deans, C., Figueras, M., Moore-Carrasco, R., López-Soriano, F. J., Fearon, K. C. H., et al. (2007). Apoptosis is present in skeletal muscle of cachectic gastro-intestinal cancer patients. *Clin. Nutr. Edinb. Scotl.* 26, 614–618. doi: 10.1016/j.clnu.2007.06.005
- Busquets, S., Toledo, M., Marmonti, E., Orpí, M., Capdevila, E., Betancourt, A., et al. (2012a). Formoterol treatment downregulates the myostatin system in skeletal muscle of cachectic tumour-bearing rats. *Oncol. Lett.* 3, 185–189. doi: 10.3892/ol.2011.442
- Busquets, S., Toledo, M., Orpí, M., Massa, D., Porta, M., Capdevila, E., et al. (2012b). Myostatin blockage using actRIIB antagonism in mice bearing the Lewis lung carcinoma results in the improvement of muscle wasting and physical performance. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 3, 37–43. doi: 10.1007/s13539-011-0049-z
- But-Hadzic, J., Dervisevic, M., Karpiljuk, D., Videmsek, M., Dervisevic, E., Paravlic, A., et al. (2021). Six-Minute walk distance in breast cancer survivors—a systematic review with meta-analysis. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 18:2591. doi: 10.3390/ijerph18052591
- Caan, B. J., Feliciano, E. M. C., Prado, C. M., Alexeeff, S., Kroenke, C. H., Bradshaw, P., et al. (2018). Association of muscle and adiposity measured by computed tomography with survival in patients with nonmetastatic breast cancer. *JAMA Oncol.* 4, 798–804. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.0137
- Cai, D., Frantz, J. D., Tawa, N. E., Melendez, P. A., Oh, B.-C., Lidov, H. G. W., et al. (2004). IKK β /NF- κ B activation causes severe muscle wasting in mice. *Cell* 119, 285–298. doi: 10.1016/j.cell.2004.09.027
- CeŠeiko, R., Thomsen, S. N., Tomsone, S., Eglītis, J., Vētra, A., Srebnij, A., et al. (2020). Heavy resistance training in breast cancer patients undergoing adjuvant therapy. *Med. Sci. Sports Exerc.* 52, 1239–1247. doi: 10.1249/MSS.0000000000002260
- Céspedes Feliciano, E. M., Chen, W. Y., Lee, V., Albers, K. B., Prado, C. M., Alexeeff, S., et al. (2019). Body composition, adherence to anthracycline and taxane-based chemotherapy, and survival after nonmetastatic breast cancer. *JAMA Oncol.* 6, 264–270. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.4668
- Chacon-Cabrera, A., Femoselle, C., Urtreger, A. J., Mateu-Jimenez, M., Diamant, M. J., de Kier Joffé, E. D. B., et al. (2014). Pharmacological strategies in lung cancer-induced cachexia: effects on muscle proteolysis, autophagy, structure, and weakness. *J. Cell. Physiol.* 229, 1660–1672. doi: 10.1002/jcp.24611
- Chacon-Cabrera, A., Mateu-Jimenez, M., Langohr, K., Femoselle, C., Garcia-Arumí, E., Andreu, A. L., et al. (2017). Role of PARP activity in lung cancer-induced cachexia: effects on muscle oxidative stress, proteolysis, anabolic markers, and phenotype. *J. Cell. Physiol.* 232, 3744–3761. doi: 10.1002/jcp.25851
- Cheema, N., Herbst, A., McKenzie, D., and Aiken, J. M. (2015). Apoptosis and necrosis mediate skeletal muscle fiber loss in age-induced mitochondrial enzymatic abnormalities. *Aging Cell* 14, 1085–1093. doi: 10.1111/ace1.12399
- Chen, J. L., Walton, K. L., Qian, H., Colgan, T. D., Hagg, A., Watt, M. J., et al. (2016). Differential effects of IL6 and activin a in the development of cancer-associated cachexia. *Cancer Res.* 76, 5372–5382. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-3152
- Chen, L., Chen, L., Wan, L., Huo, Y., Huang, J., Li, J., et al. (2019). Matrine improves skeletal muscle atrophy by inhibiting E3 ubiquitin ligases and activating the Akt/mTOR/FoxO3 α signaling pathway in C2C12 myotubes and mice. *Oncol. Rep.* 42, 479–494. doi: 10.3892/or.2019.7205
- Chen, M. C., Hsu, W.-L., and Chou, T.-C. (2018). Anti-cachectic effect of *Anthrodia cinnamomea* extract in lung tumor-bearing mice under chemotherapy. *Oncotarget* 9, 19584–19596. doi: 10.18632/oncotarget.24680
- Chen, M. C., Hsu, W.-L., Hwang, P.-A., Chen, Y.-L., and Chou, T.-C. (2016). Combined administration of fucoidan ameliorates tumor and chemotherapy-induced skeletal muscle atrophy in bladder cancer-bearing mice. *Oncotarget* 7, 51608–51618. doi: 10.18632/oncotarget.9958
- Chen, T., Li, B., Xu, Y., Meng, S., Wang, Y., and Jiang, Y. (2018). Luteolin reduces cancer-induced skeletal and cardiac muscle atrophy in a Lewis lung cancer mouse model. *Oncol. Rep.* 40, 1129–1137. doi: 10.3892/or.2018.6453
- Cho, U., Park, H. S., Im, S. Y., Yoo, C. Y., Jung, J. H., Suh, Y. J., et al. (2018). Prognostic value of systemic inflammatory markers and development of a nomogram in breast cancer. *PLoS One* 13:e0200936. doi: 10.1371/journal.pone.0200936
- Chopard, A., Hillock, S., and Jasmin, B. J. (2009). Molecular events and signalling pathways involved in skeletal muscle disuse-induced atrophy and the impact of countermeasures. *J. Cell. Mol. Med.* 13, 3032–3050. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00864.x
- Coletti, D., Aulino, P., Pigna, E., Barteri, F., Moresi, V., Annibaldi, D., et al. (2016). Spontaneous physical activity downregulates Pax7 in cancer cachexia. *Stem Cells Int.* 2016:6729268. doi: 10.1155/2016/6729268
- Constantinou, C., Fontes de Oliveira, C. C., Mintzopoulos, D., Busquets, S., He, J., Kesarwani, M., et al. (2011). Nuclear magnetic resonance in conjunction with functional genomics suggests mitochondrial dysfunction in a murine model of cancer cachexia. *Int. J. Mol. Med.* 27, 15–24. doi: 10.3892/ijmm.2010.557
- Costamagna, D., Duelen, R., Penna, F., Neumann, D., Costelli, P., and Sampaolles, M. (2020). Interleukin-4 administration improves muscle function, adult myogenesis, and lifespan of colon carcinoma-bearing mice. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 11, 783–801. doi: 10.1002/jcsm.12539
- Costelli, P., Carbó, N., Tessitore, L., Bagby, G. J., Lopez-Soriano, F. J., Argilés, J. M., et al. (1993). Tumor necrosis factor- α mediates changes in tissue protein turnover in a rat cancer cachexia model. *J. Clin. Invest.* 92, 2783–2789. doi: 10.1172/JCI116897
- Costelli, P., Muscaritoli, M., Bonetto, A., Penna, F., Reffo, P., Bossola, M., et al. (2008). Muscle myostatin signalling is enhanced in experimental cancer cachexia. *Eur. J. Clin. Invest.* 38, 531–538. doi: 10.1111/j.1365-2362.2008.01970.x
- Crouch, M.-L., Knowels, G., Stuppard, R., Ericson, N. G., Bielas, J. H., Marcinek, D. J., et al. (2017). Cyclophosphamide leads to persistent deficits in physical performance and in vivo mitochondria function in a mouse model of chemotherapy late effects. *PLoS One* 12:e0181086. doi: 10.1371/journal.pone.0181086
- Cruz, B., Oliveira, A., Ventrucci, G., and Gomes-Marcondes, M. C. C. (2019). A leucine-rich diet modulates the mTOR cell signalling pathway in the gastrocnemius muscle under different Walker-256 tumour growth conditions. *BMC Cancer* 19:349. doi: 10.1186/s12885-019-5448-0

- Cruz-Jentoft, A. J., Bahat, G., Bauer, J., Boirie, Y., Bruyère, O., Cederholm, T., et al. (2019). Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing* 48, 16–31. doi: 10.1093/ageing/afy169
- D'Lugos, A. C., Fry, C. S., Ormsby, J. C., Sweeney, K. R., Brightwell, C. R., Hale, T. M., et al. (2019). Chronic doxorubicin administration impacts satellite cell and capillary abundance in a muscle-specific manner. *Physiol. Rep.* 7:e14052. doi: 10.14814/phy2.14052
- Daly, L. E., Bhuachalla, N., Ni Bhuachalla, ÉB., Power, D. G., Cushen, S. J., James, K., et al. (2018). Loss of skeletal muscle during systemic chemotherapy is prognostic of poor survival in patients with foregut cancer. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 9, 315–325. doi: 10.1002/jcsm.12267
- Damrauer, J. S., Stadler, M. E., Acharyya, S., Baldwin, A. S., Couch, M. E., and Guttridge, D. C. (2018). Chemotherapy-induced muscle wasting: association with NF-κB and cancer cachexia. *Eur. J. Transl. Myol.* 28:7590. doi: 10.4081/ejtm.2018.7590
- de Castro, G. S., Simoes, E., Lima, J. D. C. C., Ortiz-Silva, M., Festuccia, W. T., Tokeshi, F., et al. (2019). Human cachexia induces changes in mitochondria, autophagy and apoptosis in the skeletal muscle. *Cancers* 11:1264. doi: 10.3390/cancers11091264
- De Groef, A., Geraerts, I., Demeyer, H., Van der Gucht, E., Dams, L., de Kinkelder, C., et al. (2018). Physical activity levels after treatment for breast cancer: two-year follow-up. *Breast Edinb. Scotl.* 40, 23–28. doi: 10.1016/j.breast.2018.04.009
- de Lima Junior, E. A., Yamashita, A. S., Pimentel, G. D., De Sousa, L. G. O., Santos, R. V. T., Gonçalves, C. L., et al. (2016). Doxorubicin caused severe hyperglycaemia and insulin resistance, mediated by inhibition in AMPK signalling in skeletal muscle. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 7, 615–625. doi: 10.1002/jcsm.12104
- DeJong, C. H. C., Busquets, S., Moses, A. G. W., Schrauwen, P., Ross, J. A., Argiles, J. M., et al. (2005). Systemic inflammation correlates with increased expression of skeletal muscle ubiquitin but not uncoupling proteins in cancer cachexia. *Oncol. Rep.* 14, 257–263.
- Delmonico, M. J., Harris, T. B., Visser, M., Park, S. W., Conroy, M. B., Velasquez-Miery, P., et al. (2009). Longitudinal study of muscle strength, quality, and adipose tissue infiltration. *Am. J. Clin. Nutr.* 90, 1579–1585. doi: 10.3945/ajcn.2009.28047
- Deluche, E., Leobon, S., Desport, J. C., Venat-Bouvet, L., Usseglio, J., and Tubiana-Mathieu, N. (2018). Impact of body composition on outcome in patients with early breast cancer. *Support. Care Cancer* 26, 861–868. doi: 10.1007/s00520-017-3902-6
- di Prampero, P. E., and Narici, M. V. (2003). Muscles in microgravity: from fibres to human motion. *J. Biomech.* 36, 403–412. doi: 10.1016/s0021-9290(02)00418-9
- Dolly, A., Dumas, J.-F., and Servais, S. (2020). Cancer cachexia and skeletal muscle atrophy in clinical studies: what do we really know? *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 11, 1413–1428. doi: 10.1002/jcsm.12633
- Dupont-Versteegden, E. E. (2005). Apoptosis in muscle atrophy: relevance to sarcopenia. *Exp. Gerontol.* 40, 473–481. doi: 10.1016/j.exger.2005.04.003
- Dworzak, F., Ferrari, P., Gavazzi, C., Maiorana, C., and Bozzetti, F. (1998). Effects of cachexia due to cancer on whole body and skeletal muscle protein turnover. *Cancer* 82, 42–48.
- Emens, L. A. (2018). Breast cancer immunotherapy: facts and hopes. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 24, 511–520. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-3001
- Emery, P. W., Edwards, R. H., Rennie, M. J., Souhami, R. L., and Halliday, D. (1984). Protein synthesis in muscle measured in vivo in cachectic patients with cancer. *Br. Med. J. Clin. Res. Ed* 289, 584–586. doi: 10.1136/bmj.289.6445.584
- Enright, P. L. (2003). The six-minute walk test. *Respir. Care* 48, 783–785.
- Fearon, K., Strasser, F., Anker, S. D., Bosaeus, I., Bruera, E., Fainsinger, R. L., et al. (2011). Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *Lancet Oncol.* 12, 489–495. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70218-7
- Fermoselle, C., García-Arumí, E., Puig-Vilanova, E., Andreu, A. L., Urtreger, A. J., de Kier Joffé, E. D. B., et al. (2013). Mitochondrial dysfunction and therapeutic approaches in respiratory and limb muscles of cancer cachectic mice. *Exp. Physiol.* 98, 1349–1365. doi: 10.1113/expphysiol.2013.072496
- Ferreira, R., Neuparth, M. J., Vitorino, R., Appell, H. J., Amado, F., and Duarte, J. A. (2008). Evidences of apoptosis during the early phases of soleus muscle atrophy in hindlimb suspended mice. *Physiol. Res.* 57, 601–611. doi: 10.33549/physiolres.931272
- Figueras, M., Busquets, S., Carbó, N., Barreiro, E., Almendro, V., Argilés, J. M., et al. (2004). Interleukin-15 is able to suppress the increased DNA fragmentation associated with muscle wasting in tumour-bearing rats. *FEBS Lett.* 569, 201–206. doi: 10.1016/j.febslet.2004.05.066
- Fisusi, F. A., and Akala, E. O. (2019). Drug combinations in breast cancer therapy. *Pharm. Nanotechnol.* 7, 3–23. doi: 10.2174/221173850766619012211224
- Fontes-Oliveira, C. C., Busquets, S., Toledo, M., Penna, F., Paz Aylwin, M., Sirisi, S., et al. (2013). Mitochondrial and sarcoplasmic reticulum abnormalities in cancer cachexia: altered energetic efficiency? *Biochim. Biophys. Acta* 1830, 2770–2778. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.11.009
- Fouladiun, M., Körner, U., Gunnebo, L., Sixt-Ammilon, P., Bosaeus, I., and Lundholm, K. (2007). Daily physical-rest activities in relation to nutritional state, metabolism, and quality of life in cancer patients with progressive cachexia. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 13, 6379–6385. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1147
- Foulkes, S. J., Howden, E. J., Bigaran, A., Janssens, K., Antill, Y., Loi, S., et al. (2019). Persistent impairment in cardiopulmonary fitness after breast cancer chemotherapy. *Med. Sci. Sports Exerc.* 51, 1573–1581. doi: 10.1249/MSS.0000000000001970
- Gadéa, E., Thivat, E., Dubray-Longeras, P., Arbre, M., Van-praagh, I., Mouret-Reynier, M.-A., et al. (2018). Prospective study on body composition, energy balance and biological factors changes in post-menopausal women with breast cancer receiving adjuvant chemotherapy including taxanes. *Nutr. Cancer* 70, 997–1006. doi: 10.1080/01635581.2018.1502330
- Galiano-Castillo, N., Arroyo-Morales, M., Ariza-García, A., Sánchez-Salado, C., Fernández-Lao, C., Cantarero-Villanueva, I., et al. (2016). The six-minute walk test as a measure of health in breast cancer patients. *J. Aging Phys. Act.* 24, 508–515. doi: 10.1123/japa.2015-0056
- Gallagher, D., Heshka, S., Kelley, D. E., Thornton, J., Boxt, L., Pi-Sunyer, F. X., et al. (2014). Changes in adipose tissue depots and metabolic markers following a 1-year diet and exercise intervention in overweight and obese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 37, 3325–3332. doi: 10.2337/dc14-1585
- Gallot, Y. S., and Bohnert, K. R. (2021). Confounding roles of ER stress and the unfolded protein response in skeletal muscle atrophy. *Int. J. Mol. Sci.* 22:2567. doi: 10.3390/ijms22052567
- Gallot, Y. S., Bohnert, K. R., Straughn, A. R., Xiong, G., Hindi, S. M., and Kumar, A. (2019). PERK regulates skeletal muscle mass and contractile function in adult mice. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 33, 1946–1962. doi: 10.1096/fj.20180683RR
- Gallot, Y. S., Durieux, A.-C., Castells, J., Desgeorges, M. M., Vernus, B., Plantureux, L., et al. (2014). Myostatin gene inactivation prevents skeletal muscle wasting in cancer. *Cancer Res.* 74, 7344–7356. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0057
- Gilliam, L. A. A., Fisher-Wellman, K. H., Lin, C.-T., Maples, J. M., Cathey, B. L., and Neuffer, P. D. (2013). The anticancer agent doxorubicin disrupts mitochondrial energy metabolism and redox balance in skeletal muscle. *Free Radic. Biol. Med.* 65, 988–996. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.08.191
- Gilliam, L. A. A., Lark, D. S., Reese, L. R., Torres, M. J., Ryan, T. E., Lin, C.-T., et al. (2016). Targeted overexpression of mitochondrial catalase protects against cancer chemotherapy-induced skeletal muscle dysfunction. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 311, E293–E301. doi: 10.1152/ajpendo.00540.2015
- Gilliam, L. A. A., Moylan, J. S., Patterson, E. W., Smith, J. D., Wilson, A. S., Rabbani, Z., et al. (2012). Doxorubicin acts via mitochondrial ROS to stimulate catabolism in C2C12 myotubes. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 302, C195–C202. doi: 10.1152/ajpcell.00217.2011
- Gomes, M. D., Lecker, S. H., Jagoe, R. T., Navon, A., and Goldberg, A. L. (2001). Atrogin-1, a muscle-specific F-box protein highly expressed during muscle atrophy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 14440–14445. doi: 10.1073/pnas.251541198
- Goodpaster, B. H., Carlson, C. L., Visser, M., Kelley, D. E., Scherzinger, A., Harris, T. B., et al. (2001). Attenuation of skeletal muscle and strength in the elderly: the Health ABC Study. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985 90, 2157–2165. doi: 10.1152/jappl.2001.90.6.2157
- Goodpaster, B. H., Thaete, F. L., and Kelley, D. E. (2000). Composition of skeletal muscle evaluated with computed tomography. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 904, 18–24. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06416.x

- Gorgey, A. S., and Dudley, G. A. (2007). Skeletal muscle atrophy and increased intramuscular fat after incomplete spinal cord injury. *Spinal Cord* 45, 304–309. doi: 10.1038/sj.sc.3101968
- Gousspillou, G., Scheede-Bergdahl, C., Spendiff, S., Vuda, M., Meehan, B., Mlynarski, H., et al. (2015). Anthracycline-containing chemotherapy causes long-term impairment of mitochondrial respiration and increased reactive oxygen species release in skeletal muscle. *Sci. Rep.* 5:8717. doi: 10.1038/srep08717
- Guigni, B. A., Callahan, D. M., Tourville, T. W., Miller, M. S., Fiske, B., Voigt, T., et al. (2018). Skeletal muscle atrophy and dysfunction in breast cancer patients: role for chemotherapy-derived oxidant stress. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 315, C744–C756. doi: 10.1152/ajpcell.00002.2018
- Guo, B.-S., Cheung, K.-K., Yeung, S. S., Zhang, B.-T., and Yeung, E. W. (2012). Electrical stimulation influences satellite cell proliferation and apoptosis in unloading-induced muscle atrophy in mice. *PLoS One* 7:e30348. doi: 10.1371/journal.pone.0030348
- Guo, D., Wang, C., Wang, Q., Qiao, Z., and Tang, H. (2017). Pantoprazole blocks the JAK2/STAT3 pathway to alleviate skeletal muscle wasting in cancer cachexia by inhibiting inflammatory response. *Oncotarget* 8, 39640–39648. doi: 10.18632/oncotarget.17387
- Hanson, A. M., Harrison, B. C., Young, M. H., Stodieck, L. S., and Ferguson, V. L. (2013). Longitudinal characterization of functional, morphologic, and biochemical adaptations in mouse skeletal muscle with hindlimb suspension. *Muscle Nerve* 48, 393–402. doi: 10.1002/mus.23753
- Hatakeyama, S., Summermatter, S., Jourdain, M., Melly, S., Minetti, G. C., and Lach-Trifileff, E. (2016). ActRII blockade protects mice from cancer cachexia and prolongs survival in the presence of anti-cancer treatments. *Skelet. Muscle* 6:26. doi: 10.1186/s13395-016-0098-2
- He, W. A., Berardi, E., Cardillo, V. M., Acharyya, S., Aulino, P., Thomas-Ahner, J., et al. (2013). NF- κ B-mediated Pax7 dysregulation in the muscle microenvironment promotes cancer cachexia. *J. Clin. Invest.* 123, 4821–4835. doi: 10.1172/JCI68523
- Hesse, E., Schröder, S., Brandt, D., Pamperin, J., Saito, H., and Taipaleenmäki, H. (2019). Sclerostin inhibition alleviates breast cancer-induced bone metastases and muscle weakness. *JCI Insight* 5:125543. doi: 10.1172/jci.insight.125543
- Hiensch, A. E., Bolam, K. A., Mijwel, S., Jeneson, J. A. L., Huitema, A. D. R., Kranenburg, O., et al. (2019). Doxorubicin-induced skeletal muscle atrophy: elucidating the underlying molecular pathways. *Acta Physiol. Oxf. Engl.* 229:e13400. doi: 10.1111/apha.13400
- Huh, J., Park, B., Lee, H., An, Y.-S., Jung, Y., Kim, J. Y., et al. (2020). Prognostic value of skeletal muscle depletion measured on computed tomography for overall survival in patients with non-metastatic breast cancer. *J. Breast Cancer* 23, 80–92. doi: 10.4048/jbc.2020.23.e8
- Hulmi, J. J., Nissinen, T. A., Räsänen, M., Degerman, J., Lautaoja, J. H., Hemanthakumar, K. A., et al. (2018). Prevention of chemotherapy-induced cachexia by ACVR2B ligand blocking has different effects on heart and skeletal muscle. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 9, 417–432. doi: 10.1002/jcsm.12265
- Hulmi, J. J., Penna, F., Pöllänen, N., Nissinen, T. A., Hentilä, J., Euro, L., et al. (2020). Muscle NAD⁺ depletion and Serpina3n as molecular determinants of murine cancer cachexia—the effects of blocking myostatin and activins. *Mol. Metab.* 41:101046. doi: 10.1016/j.molmet.2020.101046
- Huot, J. R., Pin, F., Narasimhan, A., Novinger, L. J., Keith, A. S., Zimmers, T. A., et al. (2020). ACVR2B antagonism as a countermeasure to multi-organ perturbations in metastatic colorectal cancer cachexia. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 11, 1779–1798. doi: 10.1002/jcsm.12642
- Hyatt, H. W., and Powers, S. K. (2021). Mitochondrial dysfunction is a common denominator linking skeletal muscle wasting due to disease, aging, and prolonged inactivity. *Antioxid. Basel Switz.* 10:588. doi: 10.3390/antiox10040588
- Ieronimakis, N., Hays, A., Prasad, A., Janebodan, K., Duffield, J. S., and Reyes, M. (2016). PDGFR α signalling promotes fibrogenic responses in collagen-producing cells in Duchenne muscular dystrophy. *J. Pathol.* 240, 410–424. doi: 10.1002/path.4801
- Inaba, S., Hinohara, A., Tachibana, M., Tsujikawa, K., and Fukada, S.-I. (2018). Muscle regeneration is disrupted by cancer cachexia without loss of muscle stem cell potential. *PLoS One* 13:e0205467. doi: 10.1371/journal.pone.0205467
- Ishiko, O., Sumi, T., Yoshida, H., Hyun, Y., and Ogita, S. (2001). Expression of apoptosis regulatory proteins in the skeletal muscle of tumor-bearing rabbits compared with diet-restricted rabbits. *Int. J. Mol. Med.* 8, 279–283. doi: 10.3892/ijmm.8.3.279
- Jerusalem, G., Lancellotti, P., and Kim, S.-B. (2019). HER2+ breast cancer treatment and cardiotoxicity: monitoring and management. *Breast Cancer Res. Treat.* 177, 237–250. doi: 10.1007/s10549-019-05303-y
- Johns, N., Hatakeyama, S., Stephens, N. A., Degen, M., Degen, S., Friccauff, W., et al. (2014). Clinical classification of cancer cachexia: phenotypic correlates in human skeletal muscle. *PLoS One* 9:e83618. doi: 10.1371/journal.pone.0083618
- Johns, N., Stretch, C., Tan, B. H. L., Solheim, T. S., Sorhaug, S., Stephens, N. A., et al. (2017). New genetic signatures associated with cancer cachexia as defined by low skeletal muscle index and weight loss. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 8, 122–130. doi: 10.1002/jcsm.12138
- Johnston, A. J., Murphy, K. T., Jenkinson, L., Laine, D., Emmrich, K., Faou, P., et al. (2015). Targeting of Fn14 prevents cancer-induced cachexia and prolongs survival. *Cell* 162, 1365–1378. doi: 10.1016/j.cell.2015.08.031
- Jones, L. W., Hornsby, W. E., Goetzinger, A., Forbes, L. M., Sherrard, E. L., Quist, M., et al. (2012). Prognostic significance of functional capacity and exercise behavior in patients with metastatic non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 76, 248–252. doi: 10.1016/j.lungcan.2011.10.009
- Jubrias, S. A., Odderson, I. R., Esselman, P. C., and Conley, K. E. (1997). Decline in isokinetic force with age: muscle cross-sectional area and specific force. *Pflugers Arch.* 434, 246–253. doi: 10.1007/s004240050392
- Judge, S. M., Nosacka, R. L., Delitto, D., Gerber, M. H., Cameron, M. E., Trevino, J. G., et al. (2018). Skeletal muscle fibrosis in pancreatic cancer patients with respect to survival. *JNCI Cancer Spectr.* 2:ky043. doi: 10.1093/jncics/pky043
- Julienne, C. M., Dumas, J.-F., Goupille, C., Pinault, M., Berri, C., Collin, A., et al. (2012). Cancer cachexia is associated with a decrease in skeletal muscle mitochondrial oxidative capacities without alteration of ATP production efficiency. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 3, 265–275. doi: 10.1007/s13539-012-0071-9
- Karampinos, D. C., Baum, T., Nardo, L., Alizai, H., Yu, H., Carballido-Gamio, J., et al. (2012). Characterization of the regional distribution of skeletal muscle adipose tissue in type 2 diabetes using chemical shift-based water/fat separation. *J. Magn. Reson. Imaging JMRI* 35, 899–907. doi: 10.1002/jmri.23512
- Kavazis, A. N., Smuder, A. J., and Powers, S. K. (2014). Effects of short-term endurance exercise training on acute doxorubicin-induced FoxO transcription in cardiac and skeletal muscle. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985 117, 223–230. doi: 10.1152/jappphysiol.00210.2014
- Kawanishi, N., Funakoshi, T., and Machida, S. (2018). Time-course study of macrophage infiltration and inflammation in cast immobilization-induced atrophied muscle of mice. *Muscle Nerve* 57, 1006–1013. doi: 10.1002/mus.26061
- Kazemi-Bajestani, S. M. R., Becher, H., Fassbender, K., Chu, Q., and Baracos, V. E. (2014). Concurrent evolution of cancer cachexia and heart failure: bilateral effects exist. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 5, 95–104. doi: 10.1007/s13539-014-0137-y
- Keenan, T. E., and Toloney, S. M. (2020). Role of immunotherapy in triple-negative breast cancer. *J. Natl. Compr. Cancer Netw. JNCCN* 18, 479–489. doi: 10.6004/jnccn.2020.7554
- Khal, J., Hine, A. V., Fearon, K. C. H., Dejong, C. H. C., and Tisdale, M. J. (2005). Increased expression of proteasome subunits in skeletal muscle of cancer patients with weight loss. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 37, 2196–2206. doi: 10.1016/j.biocel.2004.10.017
- Khan, A. I., Reiter, D. A., Sekhar, A., Sharma, P., Safdar, N. M., Patil, D. H., et al. (2019). MRI quantitation of abdominal skeletal muscle correlates with CT-based analysis: implications for sarcopenia measurement. *Appl. Physiol. Nutr. Metab. Physiol. Appl. Nutr. Metab.* 44, 814–819. doi: 10.1139/apnm-2018-0473
- Klassen, O., Schmidt, M. E., Ulrich, C. M., Schneeweiss, A., Pothoff, K., Steindorf, K., et al. (2017). Muscle strength in breast cancer patients receiving different treatment regimes. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 8, 305–316. doi: 10.1002/jcsm.12165

- Klionsky, D. J., Abdel-Aziz, A. K., Abdelfatah, S., Abdellatif, M., Abdoli, A., Abel, S., et al. (2021). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition). *Autophagy* 17, 1–382. doi: 10.1080/15548627.2020.1797280
- Kunzke, T., Buck, A., Prade, V. M., Feuchtinger, A., Prokopchuk, O., Martignoni, M. E., et al. (2020). Derangements of amino acids in cachectic skeletal muscle are caused by mitochondrial dysfunction. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 11, 226–240. doi: 10.1002/jcsm.12498
- Larsen, S., Nielsen, J., Hansen, C. N., Nielsen, L. B., Wibrand, F., Stride, N., et al. (2012). Biomarkers of mitochondrial content in skeletal muscle of healthy young human subjects. *J. Physiol.* 590, 3349–3360. doi: 10.1113/jphysiol.2012.230185
- Larsson, L., Degens, H., Li, M., Salvini, L., Lee, Y. I., Thompson, W., et al. (2019). Sarcopenia: aging-related loss of muscle mass and function. *Physiol. Rev.* 99, 427–511. doi: 10.1152/physrev.00061.2017
- Lecker, S. H., Jagoe, R. T., Gilbert, A., Gomes, M., Baracos, V., Bailey, J., et al. (2004). Multiple types of skeletal muscle atrophy involve a common program of changes in gene expression. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 18, 39–51. doi: 10.1096/fj.03-0610com
- Lee, B. M., Cho, Y., Kim, J. W., Ahn, S. G., Kim, J. H., Jeung, H. C., et al. (2021). Association between skeletal muscle loss and the response to neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *Cancers* 13:1806. doi: 10.3390/cancers13081806
- Lee, H., Heo, J.-W., Kim, A.-R., Kweon, M., Nam, S., Lim, J.-S., et al. (2019). Z-ajoene from crushed garlic alleviates cancer-induced skeletal muscle atrophy. *Nutrients* 11:2724. doi: 10.3390/nu11112724
- Leskinen, T., Sipilä, S., Alen, M., Cheng, S., Pietiläinen, K. H., Usenius, J.-P., et al. (2009). Leisure-time physical activity and high-risk fat: a longitudinal population-based twin study. *Int. J. Obes.* 2005 33, 1211–1218. doi: 10.1038/ijo.2009.170
- Leto, G., Incurvaia, L., Badalamenti, G., Tumminello, F. M., Gebbia, N., Flandina, C., et al. (2006). Activin A circulating levels in patients with bone metastasis from breast or prostate cancer. *Clin. Exp. Metastasis* 23, 117–122. doi: 10.1007/s10585-006-9010-5
- Levolger, S., Wiemer, E. A. C., van Vugt, J. L. A., Huisman, S. A., van Vledder, M. G., van Damme-van Engel, S., et al. (2019). Inhibition of activin-like kinase 4/5 attenuates cancer cachexia associated muscle wasting. *Sci. Rep.* 9:9826. doi: 10.1038/s41598-019-46178-9
- Lexell, J., Taylor, C. C., and Sjöström, M. (1988). What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *J. Neurol. Sci.* 84, 275–294. doi: 10.1016/0022-510x(88)90132-3
- Liu, C.-M., Yang, Z., Liu, C.-W., Wang, R., Tien, P., Dale, R., et al. (2008). Myostatin antisense RNA-mediated muscle growth in normal and cancer cachexia mice. *Gene Ther.* 15, 155–160. doi: 10.1038/sj.gt.3303016
- Liu, D., Qiao, X., Ge, Z., Shang, Y., Li, Y., Wang, W., et al. (2019). IMB0901 inhibits muscle atrophy induced by cancer cachexia through MSTN signaling pathway. *Skelet. Muscle* 9:8. doi: 10.1186/s13395-019-0193-2
- Lønbro, S., Farup, J., Bentsen, S., Voss, T., Rittig, N., Wang, J., et al. (2017). Lean body mass, muscle fibre size and muscle function in cancer patients during chemotherapy and 10 weeks exercise. *JCSM Clin. Rep.* 2, 1–15. doi: 10.17987/jcsm-cr.v2i1.26
- Loumaye, A., de Barys, M., Nachit, M., Lause, P., Frateur, L., van Maanen, A., et al. (2015). Role of Activin A and myostatin in human cancer cachexia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 100, 2030–2038. doi: 10.1210/jc.2014-4318
- Loumaye, A., de Barys, M., Nachit, M., Lause, P., van Maanen, A., Trefois, P., et al. (2017). Circulating Activin A predicts survival in cancer patients. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 8, 768–777. doi: 10.1002/jcsm.12209
- Madarò, L., Passafaro, M., Sala, D., Etxaniz, U., Lugarini, F., Proietti, D., et al. (2018). Denervation-activated STAT3-IL-6 signalling in fibro-adipogenic progenitors promotes myofibres atrophy and fibrosis. *Nat. Cell Biol.* 20, 917–927. doi: 10.1038/s41556-018-0151-y
- Mallard, J., Hucteau, E., Schott, R., Petit, T., Demarchi, M., Belletier, C., et al. (2020). Evolution of physical status from diagnosis to the end of first-line treatment in breast, lung, and colorectal cancer patients: the PROTECT-01 cohort study protocol. *Front. Oncol.* 10:1304. doi: 10.3389/fonc.2020.01304
- Manini, T. M., Clark, B. C., Nalls, M. A., Goodpaster, B. H., Ploutz-Snyder, L. L., and Harris, T. B. (2007). Reduced physical activity increases intermuscular adipose tissue in healthy young adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 85, 377–384. doi: 10.1093/ajcn/85.2.377
- Marcus, R. L., Addison, O., Kidde, J. P., Dibble, L. E., and Lastayo, P. C. (2010). Skeletal muscle fat infiltration: impact of age, inactivity, and exercise. *J. Nutr. Health Aging* 14, 362–366. doi: 10.1007/s12603-010-0081-2
- Marques, V. A., Ferreira-Junior, J. B., Lemos, T. V., Moraes, R. F., Junior, J. R., de, S., et al. (2020). Effects of chemotherapy treatment on muscle strength, quality of life, fatigue, and anxiety in women with breast cancer. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17:7289. doi: 10.3390/ijerph17197289
- Martin, L., Senesse, P., Gioulbasanis, I., Antoun, S., Bozzetti, F., Deans, C., et al. (2015). Diagnostic criteria for the classification of cancer-associated weight loss. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 33, 90–99. doi: 10.1200/JCO.2014.56.1894
- Marzetti, E., Lorenzi, M., Landi, F., Picca, A., Rosa, F., Tanganelli, F., et al. (2017). Altered mitochondrial quality control signaling in muscle of old gastric cancer patients with cachexia. *Exp. Gerontol.* 87, 92–99. doi: 10.1016/j.exger.2016.10.003
- Mason, M. C., Garcia, J. M., Sansgiry, S., Walder, A., Berger, D. H., and Anaya, D. A. (2016). Preoperative cancer cachexia and short-term outcomes following surgery. *J. Surg. Res.* 205, 398–406. doi: 10.1016/j.jss.2016.06.076
- Matsuyama, T., Ishikawa, T., Okayama, T., Oka, K., Adachi, S., Mizushima, K., et al. (2015). Tumor inoculation site affects the development of cancer cachexia and muscle wasting. *Int. J. Cancer* 137, 2558–2565. doi: 10.1002/ijc.29620
- Maughan, K. L., Lutterbie, M. A., and Ham, P. S. (2010). Treatment of breast cancer. *Am. Fam. Physician* 81, 1339–1346.
- Mauro, A. (1961). Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9, 493–495. doi: 10.1083/jcb.9.2.493
- McLean, J. B., Moylan, J. S., and Andrade, F. H. (2014). Mitochondria dysfunction in lung cancer-induced muscle wasting in C2C12 myotubes. *Front. Physiol.* 5:503. doi: 10.3389/fphys.2014.00503
- McLoon, L. K., Falkenberg, J. H., Dykstra, D., and Iaizzo, P. A. (1998). Doxorubicin chemomyectomy as a treatment for cervical dystonia: histological assessment after direct injection into the sternocleidomastoid muscle. *Muscle Nerve* 21, 1457–1464.
- Mehl, K. A., Davis, J. M., Berger, F. G., and Carson, J. A. (2005). Myofiber degeneration/regeneration is induced in the cachectic ApcMin/+ mouse. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985 99, 2379–2387. doi: 10.1152/jappphysiol.00778.2005
- Mijwel, S., Backman, M., Bolam, K. A., Olofsson, E., Norrbom, J., Bergh, J., et al. (2018a). Highly favorable physiological responses to concurrent resistance and high-intensity interval training during chemotherapy: the OptiTrain breast cancer trial. *Breast Cancer Res. Treat.* 169, 93–103. doi: 10.1007/s10549-018-4663-8
- Mijwel, S., Cardinale, D. A., Norrbom, J., Chapman, M., Ivarsson, N., Wengström, Y., et al. (2018b). Exercise training during chemotherapy preserves skeletal muscle fiber area, capillarization, and mitochondrial content in patients with breast cancer. *FASEB J.* 32, 5495–5505. doi: 10.1096/fj.20170968R
- Min, K., Kwon, O.-S., Smuder, A. J., Wiggs, M. P., Sollanek, K. J., Christou, D. D., et al. (2015). Increased mitochondrial emission of reactive oxygen species and calpain activation are required for doxorubicin-induced cardiac and skeletal muscle myopathy. *J. Physiol.* 593, 2017–2036. doi: 10.1113/jphysiol.2014.286518
- Møller, A. B., Lønbro, S., Farup, J., Voss, T. S., Rittig, N., Wang, J., et al. (2019). Molecular and cellular adaptations to exercise training in skeletal muscle from cancer patients treated with chemotherapy. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 145, 1449–1460. doi: 10.1007/s00432-019-02911-5
- Montalvo, R. N., Doerr, V., Min, K., Szeto, H. H., and Smuder, A. J. (2020). Doxorubicin-induced oxidative stress differentially regulates proteolytic signaling in cardiac and skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 318, R227–R233. doi: 10.1152/ajpregu.00299.2019
- Moore-Carrasco, R., Busquets, S., Almendro, V., Palanki, M., López-Soriano, F. J., and Argilés, J. M. (2007). The AP-1/NF- κ B double inhibitor SP100030 can revert muscle wasting during experimental cancer cachexia. *Int. J. Oncol.* 30, 1239–1245.
- Moses, A. G. W., Maingay, J., Sangster, K., Fearon, K. C. H., and Ross, J. A. (2009). Pro-inflammatory cytokine release by peripheral blood mononuclear cells from

- patients with advanced pancreatic cancer: relationship to acute phase response and survival. *Oncol. Rep.* 21, 1091–1095. doi: 10.3892/or_00000328
- Murphy, J. C., McDaniel, J. L., Mora, K., Villareal, D. T., Fontana, L., and Weiss, E. P. (2011). Preferential reductions in intermuscular and visceral adipose tissue with exercise-induced weight loss compared with calorie restriction. *J. Appl. Physiol.* 112, 79–85. doi: 10.1152/jappphysiol.00355.2011
- Murton, A. J., Maddocks, M., Stephens, F. B., Marimuthu, K., England, R., and Wilcock, A. (2017). Consequences of late-stage non-small-cell lung cancer cachexia on muscle metabolic processes. *Clin. Lung Cancer* 18, e1–e11. doi: 10.1016/j.clcc.2016.06.003
- National Cancer Institute, Surveillance, Epidemiology, and End Result program (2019). *Cancer Stat Facts: Female Breast Cancer*. Bethesda, MD: National Cancer Institute.
- Neil, S. E., Klika, R. J., Garland, S. J., McKenzie, D. C., and Campbell, K. L. (2013). Cardiorespiratory and neuromuscular deconditioning in fatigued and non-fatigued breast cancer survivors. *Support. Care Cancer Off. J. Multinat. Assoc. Support. Care Cancer* 21, 873–881. doi: 10.1007/s00520-012-1600-y
- Neyroud, D., Nosacka, R. L., Judge, A. R., and Hepple, R. T. (2019). Colon 26 adenocarcinoma (C26)-induced cancer cachexia impairs skeletal muscle mitochondrial function and content. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 40, 59–65. doi: 10.1007/s10974-019-09510-4
- Nicolazzi, M. A., Carnicelli, A., Fuorlo, M., Scaldaferrri, A., Masetti, R., Landolfi, R., et al. (2018). Anthracycline and trastuzumab-induced cardiotoxicity in breast cancer. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 22, 2175–2185. doi: 10.26355/eurrev_201804_14752
- Nissinen, T. A., Degerman, J., Räsänen, M., Poikonen, A. R., Koskinen, S., Mervaala, E., et al. (2016). Systemic blockade of ACVR2B ligands prevents chemotherapy-induced muscle wasting by restoring muscle protein synthesis without affecting oxidative capacity or atrogenes. *Sci. Rep.* 6:32695. doi: 10.1038/srep32695
- Nissinen, T. A., Hentilä, J., Penna, F., Lampinen, A., Lautaoja, J. H., Fachada, V., et al. (2018). Treating cachexia using soluble ACVR2B improves survival, alters mTOR localization, and attenuates liver and spleen responses. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 9, 514–529. doi: 10.1002/jcsm.12310
- Ojima, C., Noguchi, Y., Miyamoto, T., Saito, Y., Orihashi, H., Yoshimatsu, Y., et al. (2020). Peptide-2 from mouse myostatin precursor protein alleviates muscle wasting in cancer-associated cachexia. *Cancer Sci.* 111, 2954–2964. doi: 10.1111/cas.14520
- Op den Kamp, C. M., Gosker, H. R., Lagarde, S., Tan, D. Y., Snepvangers, F. J., Dingemans, A.-M. C., et al. (2015). Preserved muscle oxidative metabolic phenotype in newly diagnosed non-small cell lung cancer cachexia. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 6, 164–173. doi: 10.1002/jcsm.12007
- Op den Kamp, C. M., Langen, R. C., Minnaard, R., Kelders, M. C., Snepvangers, F. J., Hesselink, M. K., et al. (2012). Pre-cachexia in patients with stages I–III non-small cell lung cancer: systemic inflammation and functional impairment without activation of skeletal muscle ubiquitin proteasome system. *Lung Cancer* 76, 112–117. doi: 10.1016/j.lungcan.2011.09.012
- Op den Kamp, C. M., Langen, R. C., Snepvangers, F. J., deTheije, C. C., Schellekens, J. M., Laugs, F., et al. (2013). Nuclear transcription factor κ B activation and protein turnover adaptations in skeletal muscle of patients with progressive stages of lung cancer cachexia. *Am. J. Clin. Nutr.* 98, 738–748. doi: 10.3945/ajcn.113.058388
- Padrao, A. I., Oliveira, P., Vitorino, R., Colaço, B., Pires, M. J., Márquez, M., et al. (2013). Bladder cancer-induced skeletal muscle wasting: disclosing the role of mitochondria plasticity. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 45, 1399–1409. doi: 10.1016/j.biocel.2013.04.014
- Pagano, A. F., Briocche, T., Arc-Chagnaud, C., Demangel, R., Chopard, A., and Py, G. (2018). Short-term disuse promotes fatty acid infiltration into skeletal muscle. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 9, 335–347. doi: 10.1002/jcsm.12259
- Peel, A. B., Thomas, S. M., Dittus, K., Jones, L. W., and Lakoski, S. G. (2014). Cardiorespiratory fitness in breast cancer patients: a call for normative values. *J. Am. Heart Assoc.* 3:e000432. doi: 10.1161/JAHA.113.000432
- Penna, F., Baccino, F. M., and Costelli, P. (2014). Coming back: autophagy in cachexia. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 17, 241–246. doi: 10.1097/MCO.0000000000000048
- Penna, F., Ballarò, R., Beltrà, M., De Lucia, S., García Castillo, L., and Costelli, P. (2019a). The skeletal muscle as an active player against cancer cachexia. *Front. Physiol.* 10:41. doi: 10.3389/fphys.2019.00041
- Penna, F., Ballarò, R., Martínez-Cristobal, P., Sala, D., Sebastian, D., Busquets, S., et al. (2019b). Autophagy exacerbates muscle wasting in cancer cachexia and impairs mitochondrial function. *J. Mol. Biol.* 431, 2674–2686. doi: 10.1016/j.jmb.2019.05.032
- Penna, F., Costamagna, D., Fanzani, A., Bonelli, G., Baccino, F. M., and Costelli, P. (2010). Muscle wasting and impaired myogenesis in tumor bearing mice are prevented by ERK inhibition. *PLoS One* 5:e13604. doi: 10.1371/journal.pone.0013604
- Penna, F., Costamagna, D., Pin, F., Camperi, A., Fanzani, A., Chiarpotto, E. M., et al. (2013). Autophagic degradation contributes to muscle wasting in cancer cachexia. *Am. J. Pathol.* 182, 1367–1378. doi: 10.1016/j.ajpath.2012.12.023
- Petruzzelli, M., and Wagner, E. F. (2016). Mechanisms of metabolic dysfunction in cancer-associated cachexia. *Genes Dev.* 30, 489–501. doi: 10.1101/gad.276733.115
- Petersen, K., Andersen, S., van der Veen, A., Nonstad, U., Hatakeyama, S., Lambert, C., et al. (2020). Autocrine activin A signalling in ovarian cancer cells regulates secretion of interleukin 6, autophagy, and cachexia. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 11, 195–207. doi: 10.1002/jcsm.12489
- Pigna, E., Berardi, E., Aulino, P., Rizzuto, E., Zampieri, S., Carraro, U., et al. (2016). Aerobic exercise and pharmacological treatments counteract cachexia by modulating autophagy in colon cancer. *Sci. Rep.* 6:26991. doi: 10.1038/srep26991
- Pin, F., Barreto, R., Kitase, Y., Mitra, S., Erne, C. E., Novinger, L. J., et al. (2018). Growth of ovarian cancer xenografts causes loss of muscle and bone mass: a new model for the study of cancer cachexia. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 9, 685–700. doi: 10.1002/jcsm.12311
- Powers, S. K., Morton, A. B., Ahn, B., and Smuder, A. J. (2016). Redox control of skeletal muscle atrophy. *Free Radic. Biol. Med.* 98, 208–217. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.021
- Puig-Vilanova, E., Rodriguez, D. A., Lloreta, J., Ausin, P., Pascual-Guardia, S., Broquetas, J., et al. (2015). Oxidative stress, redox signaling pathways, and autophagy in cachectic muscles of male patients with advanced COPD and lung cancer. *Free Radic. Biol. Med.* 79, 91–108. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.11.006
- Puppa, M. J., Gao, S., Narsale, A. A., and Carson, J. A. (2014). Skeletal muscle glycoprotein 130's role in Lewis lung carcinoma-induced cachexia. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 28, 998–1009. doi: 10.1096/fj.13-240580
- Quan-Jun, Y., Yan, H., Yong-Long, H., Li-Li, W., Jie, L., Jin-Lu, H., et al. (2017). Selumetinib attenuates skeletal muscle wasting in murine cachexia model through ERK inhibition and AKT activation. *Mol. Cancer Ther.* 16, 334–343. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-16-0324
- Ramos da Silva, B., Mialich, M. S., Cruz, L. P., Rufato, S., Gozzo, T., and Jordao, A. A. (2021). Performance of functionality measures and phase angle in women exposed to chemotherapy for early breast cancer. *Clin. Nutr. ESPEN* 42, 105–116. doi: 10.1016/j.clnesp.2021.02.007
- Ranjbar, K., Ballarò, R., Bover, Q., Pin, F., Beltrà, M., Penna, F., et al. (2019). Combined exercise training positively affects muscle wasting in tumor-bearing mice. *Med. Sci. Sports Exerc.* 51, 1387–1395. doi: 10.1249/MSS.0000000000001916
- Redden, M. H., and Fuhrman, G. M. (2013). Neoadjuvant chemotherapy in the treatment of breast cancer. *Surg. Clin. North Am.* 93, 493–499. doi: 10.1016/j.suc.2013.01.006
- Reding, K. W., Brubaker, P., D'Agostino, R., Kitzman, D. W., Nicklas, B., Langford, D., et al. (2019). Increased skeletal intermuscular fat is associated with reduced exercise capacity in cancer survivors: a cross-sectional study. *Cardio Oncol.* 5:3. doi: 10.1186/s40959-019-0038-5
- Rhoads, M. G., Kandarian, S. C., Pacelli, F., Doglietto, G. B., and Bossola, M. (2010). Expression of NF- κ B and I κ B proteins in skeletal muscle of gastric cancer patients. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 1990 46, 191–197. doi: 10.1016/j.ejca.2009.10.008
- Riccardi, D. M., dos, R., das Neves, R. X., de Matos-Neto, E. M., Camargo, R. G., Lima, J. D. C. C., et al. (2020). Plasma lipid profile and systemic inflammation in patients with cancer cachexia. *Front. Nutr.* 7:4. doi: 10.3389/fnut.2020.00004
- Rier, H. N., Jager, A., Sleijffer, S., Maier, A. B., and Levin, M.-D. (2016). The prevalence and prognostic value of low muscle mass in cancer patients: a review of the literature. *The Oncologist* 21, 1396–1409. doi: 10.1634/theoncologist.2016-0066

- Rier, H. N., Jager, A., Sleijfer, S., van Rosmalen, J., Kock, M. C. J. M., and Levin, M.-D. (2018). Changes in body composition and muscle attenuation during taxane-based chemotherapy in patients with metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 168, 95–105. doi: 10.1007/s10549-017-4574-0
- Roberts, B. M., Frye, G. S., Ahn, B., Ferreira, L. F., and Judge, A. R. (2013). Cancer cachexia decreases specific force and accelerates fatigue in limb muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 435, 488–492. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.05.018
- Rochette, L., Guenancia, C., Gudjoncik, A., Hachet, O., Zeller, M., Cottin, Y., et al. (2015). Anthracyclines/trastuzumab: new aspects of cardiotoxicity and molecular mechanisms. *Trends Pharmacol. Sci.* 36, 326–348. doi: 10.1016/j.tips.2015.03.005
- Rodriguez, J., Vernus, B., Chelhi, I., Cassar-Malek, I., Gabillard, J. C., Hadj Sassi, A., et al. (2014). Myostatin and the skeletal muscle atrophy and hypertrophy signaling pathways. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 71, 4361–4371. doi: 10.1007/s00018-014-1689-x
- Roeland, E. J., Ma, J. D., Nelson, S. H., Seibert, T., Heavey, S., Revta, C., et al. (2017). Weight loss versus muscle loss: re-evaluating inclusion criteria for future cancer cachexia interventional trials. *Support. Care Cancer* 25, 365–369. doi: 10.1007/s00520-016-3402-0
- Rossi, F., Torri, L., Lambertini, M., De Giorgis, S., Calabrese, M., and Tagliafico, A. S. (2020). Muscle mass loss after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: estimation on breast magnetic resonance imaging using pectoralis muscle area. *Eur. Radiol.* 30, 4234–4241. doi: 10.1007/s00330-020-06799-5
- Rutten, I. J. G., van Dijk, D. P. J., Kruitwagen, R. F. P. M., Beets-Tan, R. G. H., Olde Damink, S. W. M., and van Gorp, T. (2016). Loss of skeletal muscle during neoadjuvant chemotherapy is related to decreased survival in ovarian cancer patients. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 7, 458–466. doi: 10.1002/jcsm.12107
- Ryan, Z. C., Craig, T. A., Wang, X., Delmotte, P., Salisbury, J. L., Lanza, I. R., et al. (2018). $\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D3 mitigates cancer cell mediated mitochondrial dysfunction in human skeletal muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 496, 746–752. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.01.092
- Salazar-Degracia, A., Blanco, D., Vilà-Ubach, M., de Biurrun, G., de Solórzano, C. O., Montuenga, L. M., et al. (2016). Phenotypic and metabolic features of mouse diaphragm and gastrocnemius muscles in chronic lung carcinogenesis: influence of underlying emphysema. *J. Transl. Med.* 14:244. doi: 10.1186/s12967-016-1003-9
- Salazar-Degracia, A., Busquets, S., Argilés, J. M., Bargalló-Gispert, N., López-Soriano, F. J., and Barreiro, E. (2018). Effects of the beta2 agonist formoterol on atrophy signaling, autophagy, and muscle phenotype in respiratory and limb muscles of rats with cancer-induced cachexia. *Biochimie* 149, 79–91. doi: 10.1016/j.biochi.2018.04.009
- Samuels, S. E., Knowles, A. L., Tilignac, T., Debiton, E., Madelmont, J. C., and Attaix, D. (2001). Higher skeletal muscle protein synthesis and lower breakdown after chemotherapy in cachectic mice. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 281, R133–R139. doi: 10.1152/ajpregu.2001.281.1.R133
- Sandri, M. (2008). Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiol. Bethesda Md* 23, 160–170. doi: 10.1152/physiol.00041.2007
- Sartori, R., Romanello, V., and Sandri, M. (2021). Mechanisms of muscle atrophy and hypertrophy: implications in health and disease. *Nat. Commun.* 12:330. doi: 10.1038/s41467-020-20123-1
- Schiaffino, S., Dyar, K. A., Ciciliot, S., Blaauw, B., and Sandri, M. (2013). Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *FEBS J.* 280, 4294–4314. doi: 10.1111/febs.12253
- Schirmacher, V. (2019). From chemotherapy to biological therapy: a review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment (Review). *Int. J. Oncol.* 54, 407–419. doi: 10.3892/ijo.2018.4661
- Schmidt, T., Weisser, B., Dürkop, J., Jonat, W., Van Mackelenbergh, M., Röcken, C., et al. (2015). Comparing endurance and resistance training with standard care during chemotherapy for patients with primary breast cancer. *Anticancer Res.* 35, 5623–5629.
- Schmitt, T. L., Martignoni, M. E., Bachmann, J., Fechtner, K., Friess, H., Kinscherf, R., et al. (2007). Activity of the Akt-dependent anabolic and catabolic pathways in muscle and liver samples in cancer-related cachexia. *J. Mol. Med. Berl. Ger.* 85, 647–654. doi: 10.1007/s00109-007-0177-2
- Schumacher, A. N., Shackelford, D. Y. K., Brown, J. M., and Hayward, R. (2019). Validation of the 6-min walk test for predicting peak V-O₂ in cancer survivors. *Med. Sci. Sports Exerc.* 51, 271–277. doi: 10.1249/MSS.0000000000001790
- Schwarz, S., Prokopchuk, O., Esefeld, K., Gröschel, S., Bachmann, J., Lorenzen, S., et al. (2017). The clinical picture of cachexia: a mosaic of different parameters (experience of 503 patients). *BMC Cancer* 17:130. doi: 10.1186/s12885-017-3116-9
- Schwarzkopf, M., Coletti, D., Sassoon, D., and Marazzi, G. (2006). Muscle cachexia is regulated by a p53-PW1/Peg3-dependent pathway. *Genes Dev.* 20, 3440–3452. doi: 10.1101/gad.412606
- Scott, H. R., McMillan, D. C., Crilly, A., McArdle, C. S., and Milroy, R. (1996). The relationship between weight loss and interleukin 6 in non-small-cell lung cancer. *Br. J. Cancer* 73, 1560–1562. doi: 10.1038/bjc.1996.294
- Shachar, S. S., Deal, A. M., Weinberg, M., Williams, G. R., Nyrop, K. A., Popuri, K., et al. (2017). Body composition as a predictor of toxicity in patients receiving anthracycline and taxane-based chemotherapy for early-stage breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 23, 3537–3543. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2266
- Shah, A. N., and Gradishar, W. J. (2018). Adjuvant anthracyclines in breast cancer: what is their role? *The Oncologist* 23, 1153–1161. doi: 10.1634/theoncologist.2017-0672
- Shum, A. M. Y., Mahendradatta, T., Taylor, R. J., Painter, A. B., Moore, M. M., Tsoli, M., et al. (2012). Disruption of MEF2C signaling and loss of sarcomeric and mitochondrial integrity in cancer-induced skeletal muscle wasting. *Aging* 4, 133–143. doi: 10.18632/aging.100436
- Sies, H., and Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 21, 363–383. doi: 10.1038/s41580-020-0230-3
- Silva, K. A. S., Dong, J., Dong, Y., Schor, N., Tweardy, D. J., et al. (2015). Inhibition of Stat3 activation suppresses caspase-3 and the ubiquitin-proteasome system, leading to preservation of muscle mass in cancer cachexia. *J. Biol. Chem.* 290, 11177–11187. doi: 10.1074/jbc.M115.641514
- Silva, S. P., Santos, J. M., Silva, M. P., Costa, R. M., and Medeiros, R. (2020). Cancer cachexia and its pathophysiology: links with sarcopenia, anorexia and asthenia. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 11, 619–635. doi: 10.1002/jcsm.12528
- Sirago, G., Conte, E., Fracasso, F., Cormio, A., Fehrentz, J.-A., Martinez, J., et al. (2017). Growth hormone secretagogues hexarelin and JMV2894 protect skeletal muscle from mitochondrial damages in a rat model of cisplatin-induced cachexia. *Sci. Rep.* 7:13017. doi: 10.1038/s41598-017-13504-y
- Skipworth, R. J. E., Moses, A. G. W., Sangster, K., Sturgeon, C. M., Voss, A. C., Fallon, M. T., et al. (2011). Interaction of gonadal status with systemic inflammation and opioid use in determining nutritional status and prognosis in advanced pancreatic cancer. *Support. Care Cancer Off. J. Multinat. Assoc. Support. Care Cancer* 19, 391–401. doi: 10.1007/s00520-010-0832-y
- Skorokhod, A., Bachmann, J., Giese, N. A., Martignoni, M. E., and Krakowski-Roosen, H. (2012). Real-time imaging cDNA-AFLP transcript profiling of pancreatic cancer patients: Egr-1 as a potential key regulator of muscle cachexia. *BMC Cancer* 12:265. doi: 10.1186/1471-2407-12-265
- Smith, H. J., Greenberg, N. A., and Tisdale, M. J. (2004). Effect of eicosapentaenoic acid, protein and amino acids on protein synthesis and degradation in skeletal muscle of cachectic mice. *Br. J. Cancer* 91, 408–412. doi: 10.1038/sj.bjc.6601981
- Smith, H. K., Maxwell, L., Martyn, J. A., and Bass, J. J. (2000). Nuclear DNA fragmentation and morphological alterations in adult rabbit skeletal muscle after short-term immobilization. *Cell Tissue Res.* 302, 235–241. doi: 10.1007/s004410000280
- Smith, K. L., and Tisdale, M. J. (1993). Increased protein degradation and decreased protein synthesis in skeletal muscle during cancer cachexia. *Br. J. Cancer* 67, 680–685. doi: 10.1038/bjc.1993.126
- Smuder, A. J., Kavazis, A. N., Min, K., and Powers, S. K. (2011). Exercise protects against doxorubicin-induced markers of autophagy signaling in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985 111, 1190–1198. doi: 10.1152/jappphysiol.00429.2011
- Song, M.-Y., Ruts, E., Kim, J., Janumala, I., Heymfield, S., and Gallagher, D. (2004). Sarcopenia and increased adipose tissue infiltration of muscle in elderly African American women. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 874–880. doi: 10.1093/ajcn/79.5.874
- Sorensen, J. C., Petersen, A. C., Timpani, C. A., Campelj, D. G., Cook, J., Trewin, A. J., et al. (2017). BGP-15 protects against oxaliplatin-induced skeletal myopathy and mitochondrial reactive oxygen species production in mice. *Front. Pharmacol.* 8:137. doi: 10.3389/fphar.2017.00137
- Stock, M. S., and Thompson, B. J. (2021). Echo intensity as an indicator of skeletal muscle quality: applications, methodology, and future directions. *Eur. J. Appl. Physiol.* 121, 369–380. doi: 10.1007/s00421-020-04556-6

- Straughn, A. R., Kelm, N. Q., and Kakar, S. S. (2021). Withaferin A and ovarian cancer antagonistically regulate skeletal muscle mass. *Front. Cell Dev. Biol.* 9:636498. doi: 10.3389/fcell.2021.636498
- Sun, R., Zhang, S., Hu, W., Lu, X., Lou, N., Yang, Z., et al. (2016). Valproic acid attenuates skeletal muscle wasting by inhibiting C/EBP β -regulated atrogen1 expression in cancer cachexia. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 311, C101–C115. doi: 10.1152/ajpcell.00344.2015
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., et al. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J. Clin.* 71, 209–249. doi: 10.3322/caac.21660
- Tarnopolsky, M. A., Pearce, E., Smith, K., and Lach, B. (2011). Suction-modified Bergström muscle biopsy technique: experience with 13,500 procedures. *Muscle Nerve* 43, 717–725. doi: 10.1002/mus.21945
- Temparis, S., Asensi, M., Taillandier, D., Auroousseau, E., Larbaud, D., Obled, A., et al. (1994). Increased ATP-ubiquitin-dependent proteolysis in skeletal muscles of tumor-bearing rats. *Cancer Res.* 54, 5568–5573.
- Theret, M., Rossi, F. M. V., and Contreras, O. (2021). Evolving roles of muscle-resident fibro-adipogenic progenitors in health, regeneration, neuromuscular disorders, and aging. *Front. Physiol.* 12:673404. doi: 10.3389/fphys.2021.673404
- Toledo, M., Busquets, S., Penna, F., Zhou, X., Marmonti, E., Betancourt, A., et al. (2016). Complete reversal of muscle wasting in experimental cancer cachexia: additive effects of activin type II receptor inhibition and β -2 agonist. *Int. J. Cancer* 138, 2021–2029. doi: 10.1002/ijc.29930
- Toth, M. J., Voigt, T. B., Tourville, T. W., Prior, S. M., Guigni, B. A., Schlosberg, A. V., et al. (2020). Effect of neuromuscular electrical stimulation on skeletal muscle size and function in patients with breast cancer receiving chemotherapy. *J. Appl. Physiol.* 128, 1654–1665. doi: 10.1152/jappphysiol.00203.2020
- Trestini, I., Carbognin, L., Monteverdi, S., Zanelli, S., De Toma, A., Bonaiuto, C., et al. (2018). Clinical implication of changes in body composition and weight in patients with early-stage and metastatic breast cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 129, 54–66. doi: 10.1016/j.critrevonc.2018.06.011
- Tsang, W. P., Chau, S. P. Y., Kong, S. K., Fung, K. P., and Kwok, T. T. (2003). Reactive oxygen species mediate doxorubicin induced p53-independent apoptosis. *Life Sci.* 73, 2047–2058. doi: 10.1016/s0024-3205(03)00566-6
- Tuttle, L. J., Sinacore, D. R., Cade, W. T., and Mueller, M. J. (2011). Lower physical activity is associated with higher intermuscular adipose tissue in people with type 2 diabetes and peripheral neuropathy. *Phys. Ther.* 91, 923–930. doi: 10.2522/ptj.20100329
- Tzika, A. A., Fontes-Oliveira, C. C., Shestov, A. A., Constantinou, C., Psychogios, N., Righi, V., et al. (2013). Skeletal muscle mitochondrial uncoupling in a murine cancer cachexia model. *Int. J. Oncol.* 43, 886–894. doi: 10.3892/ijo.2013.1998
- Uezumi, A., Fukada, S., Yamamoto, N., Ikemoto-Uezumi, M., Nakatani, M., Morita, M., et al. (2014a). Identification and characterization of PDGFR α + mesenchymal progenitors in human skeletal muscle. *Cell Death Dis.* 5:e1186. doi: 10.1038/cddis.2014.161
- Uezumi, A., Ikemoto-Uezumi, M., and Tsuchida, K. (2014b). Roles of nonmyogenic mesenchymal progenitors in pathogenesis and regeneration of skeletal muscle. *Front. Physiol.* 5:68. doi: 10.3389/fphys.2014.00068
- Uezumi, A., Ito, T., Morikawa, D., Shimizu, N., Yoneda, T., Segawa, M., et al. (2011). Fibrosis and adipogenesis originate from a common mesenchymal progenitor in skeletal muscle. *J. Cell Sci.* 124, 3654–3664. doi: 10.1242/jcs.086629
- Urbina-Varela, R., Castillo, N., Videla, L. A., and Del Campo, A. (2020). Impact of mitophagy and mitochondrial unfolded protein response as new adaptive mechanisms underlying old pathologies: sarcopenia and non-alcoholic fatty liver disease. *Int. J. Mol. Sci.* 21:7704. doi: 10.3390/ijms21207704
- Ushmorov, A., Hack, V., and Dröge, W. (1999). Differential reconstitution of mitochondrial respiratory chain activity and plasma redox state by cysteine and ornithine in a model of cancer cachexia. *Cancer Res.* 59, 3527–3534.
- Vainshtein, A., and Sandri, M. (2020). Signaling pathways that control muscle mass. *Int. J. Mol. Sci.* 21:4759. doi: 10.3390/ijms21134759
- van Waart, H., Stuiver, M. M., van Harten, W. H., Geleijn, E., Kieffer, J. M., Buffart, L. M., et al. (2015). Effect of low-intensity physical activity and moderate-to-high-intensity physical exercise during adjuvant chemotherapy on physical fitness, fatigue, and chemotherapy completion rates: results of the PACES randomized clinical trial. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 33, 1918–1927. doi: 10.1200/JCO.2014.59.1081
- Varricchi, G., Ameri, P., Cadreddu, C., Ghigo, A., Madonna, R., Marone, G., et al. (2018). Antineoplastic drug-induced cardiotoxicity: a redox perspective. *Front. Physiol.* 9:167. doi: 10.3389/fphys.2018.00167
- Visser, M., Goodpaster, B. H., Kritchevsky, S. B., Newman, A. B., Nevitt, M., Rubin, S. M., et al. (2005). Muscle mass, muscle strength, and muscle fat infiltration as predictors of incident mobility limitations in well-functioning older persons. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 60, 324–333. doi: 10.1093/gerona/60.3.324
- Visser, M., Kritchevsky, S. B., Goodpaster, B. H., Newman, A. B., Nevitt, M., Stamm, E., et al. (2002). Leg muscle mass and composition in relation to lower extremity performance in men and women aged 70 to 79: the health, aging and body composition study. *J. Am. Geriatr. Soc.* 50, 897–904. doi: 10.1046/j.1532-5415.2002.50217.x
- Wallengren, O., Lundholm, K., and Bosaeus, I. (2013). Diagnostic criteria of cancer cachexia: relation to quality of life, exercise capacity and survival in unselected palliative care patients. *Support. Care Cancer Off. J. Multinat. Assoc. Support. Care Cancer* 21, 1569–1577. doi: 10.1007/s00520-012-1697-z
- Wang, R., Kumar, B., Bhat-Nakshatri, P., Prasad, M. S., Jacobsen, M. H., Ovalle, G., et al. (2021). Aging-associated skeletal muscle defects in HER2/Neu transgenic mammary tumor model. *JCSM Rapid Commun.* 4, 24–39. doi: 10.1002/rco.2.23
- Warren, S. (1932). The immediate causes of death in cancer. *Am. J. Med. Sci.* 184, 610–615. doi: 10.1097/00000441-19321000-00002
- Wesolowski, S., Orłowski, T. M., and Kram, M. (2020). The 6-min walk test in the functional evaluation of patients with lung cancer qualified for lobectomy. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 30, 559–564. doi: 10.1093/icvts/ivz313
- White, J. P., Baynes, J. W., Welle, S. L., Kostek, M. C., Matesic, L. E., Sato, S., et al. (2011). The regulation of skeletal muscle protein turnover during the progression of cancer cachexia in the Apc(Min/+) mouse. *PLoS One* 6:e24650. doi: 10.1371/journal.pone.0024650
- White, J. P., Puppa, M. J., Sato, S., Gao, S., Price, R. L., Baynes, J. W., et al. (2012). IL-6 regulation on skeletal muscle mitochondrial remodeling during cancer cachexia in the ApcMin/+ mouse. *Skelet. Muscle* 2:14. doi: 10.1186/2044-5040-2-14
- Wiederin, J., Gu, C., Jewett, P., and Blaes, A. H. (2020). Pectoralis muscle wasting during chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 38:e24069. doi: 10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.e24069
- Williams, A., Sun, X., Fischer, J. E., and Hasselgren, P. O. (1999). The expression of genes in the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway is increased in skeletal muscle from patients with cancer. *Surgery* 126, 744–749; discussion 749–750.
- Wilson, M. L., Burke, L., Ferguson, T., Ghersi, D., Nowak, A. K., and Wilcken, N. (2019). Taxanes for adjuvant treatment of early breast cancer. *Cochrane Database Syst. Rev.* 9:CD004421. doi: 10.1002/14651858.CD004421.pub3
- Wilson, H. E., Rhodes, K. K., Rodriguez, D., Chahal, I., Stanton, D. A., Bohlen, J., et al. (2019). Human breast cancer Xenograft model implicates peroxisome proliferator-activated receptor signaling as driver of cancer-induced muscle fatigue. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 25, 2336–2347. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1565
- Wilson, H. E., Stanton, D. A., and Pistilli, E. E. (2020). Breast cancer-associated skeletal muscle mitochondrial dysfunction and lipid accumulation is reversed by PPARg. *BioRxiv* [preprint]. doi: 10.1101/2020.04.05.026617
- Wren, T. A. L., Blum, S., Tseng-Ong, L., and Gilsanz, V. (2008). Three-point technique of fat quantification of muscle tissue as a marker of disease progression in Duchenne muscular dystrophy: preliminary study. *AJR Am. J. Roentgenol.* 190, W8–W12. doi: 10.2214/AJR.07.2732
- Yildiz Kabak, V., Gursen, C., Aytar, A., Akbayrak, T., and Duger, T. (2020). Physical activity level, exercise behavior, barriers, and preferences of patients with breast cancer-related lymphedema. *Support. Care Cancer Off. J. Multinat. Assoc. Support. Care Cancer* 29, 3593–3602. doi: 10.1007/s00520-020-05858-3
- Yoshida, H., Ishiko, O., Sumi, T., Honda, K. I., Hirai, K., and Ogita, S. (2001). Expression of apoptosis regulatory proteins in the skeletal muscle of tumor-bearing rabbits. *Jpn. J. Cancer Res. Gann* 92, 631–637. doi: 10.1111/j.1349-7006.2001.tb01141.x
- Yu, A. F., Flynn, J. R., Moskowitz, C. S., Scott, J. M., Oeffinger, K. C., Dang, C. T., et al. (2020). Long-term cardiopulmonary consequences of treatment-induced cardiotoxicity in survivors of ERBB2-positive breast cancer. *JAMA Cardiol.* 5, 309–317. doi: 10.1001/jamacardio.2019.5586

- Yu, A. P., Pei, X. M., Sin, T. K., Yip, S. P., Yung, B. Y., Chan, L. W., et al. (2014). Acylated and unacylated ghrelin inhibit doxorubicin-induced apoptosis in skeletal muscle. *Acta Physiol. Oxf. Engl.* 211, 201–213. doi: 10.1111/apha.12263
- Zampieri, S., Doria, A., Adami, N., Biral, D., Vecchiato, M., Savastano, S., et al. (2010). Subclinical myopathy in patients affected with newly diagnosed colorectal cancer at clinical onset of disease: evidence from skeletal muscle biopsies. *Neurol. Res.* 32, 20–25. doi: 10.1179/016164110X12556180205997
- Zhang, Y., Wang, J., Wang, X., Gao, T., Tian, H., Zhou, D., et al. (2020). The autophagic-lysosomal and ubiquitin proteasome systems are simultaneously activated in the skeletal muscle of gastric cancer patients with cachexia. *Am. J. Clin. Nutr.* 111, 570–579. doi: 10.1093/ajcn/nqz347
- Zhong, X., Pons, M., Poirier, C., Jiang, Y., Liu, J., Sandusky, G. E., et al. (2019). The systemic activin response to pancreatic cancer: implications for effective cancer cachexia therapy. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 10, 1083–1101. doi: 10.1002/jcsm.12461
- Zhou, X., Wang, J. L., Lu, J., Song, Y., Kwak, K. S., Jiao, Q., et al. (2010). Reversal of cancer cachexia and muscle wasting by ActRIIB antagonism leads to prolonged survival. *Cell* 142, 531–543. doi: 10.1016/j.cell.2010.07.011
- Zou, X., Ratti, B. A., O'Brien, J. G., Lautenschlager, S. O., Gius, D. R., Bonini, M. G., et al. (2017). Manganese superoxide dismutase (SOD2): is there a center in the universe of mitochondrial redox signaling? *J. Bioenerg. Biomembr.* 49, 325–333. doi: 10.1007/s10863-017-9718-8

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Copyright © 2021 Mallard, Hucteau, Hureau and Pagano. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Travail supplémentaire 2 : article de protocole sur l'évolution de la condition physique des patientes atteintes d'un cancer du sein au cours de la chimiothérapie

Implication personnelle

En tant que co-investigateur principal, j'ai participé à la conception de cette étude, au choix des évaluations et à la demande d'autorisation auprès du comité de protection des personnes. J'ai également participé à l'écriture de cet article de protocole dont je suis co-premier auteur et qui a été publié dans *Frontiers in Oncology*.

Evolution of physical status from diagnosis to the end of first-line treatment in breast, lung and colorectal cancer patients: the PROTECT-01 cohort study protocol

Joris Mallard[‡], Elyse Hucteau[‡], Roland Schott, Thierry Petit, Martin Demarchi, Christine Belletier, Meher Ben-Abdelghani, Hélène Carinato, Pascale Chiappa, Cathie Fischbach, Michal Kalish-Weindling, Audren Bousinière, Stéphane Dufour, Fabrice Favret, Xavier Pivot Thomas J Hureau[†], Allan F Paganot[†]

^{‡,†} Ces auteurs ont contribué de manière égale.

Article publié dans *Frontiers in Oncology* (IF : 5.7)

doi: 10.3389/fonc.2020.01304



Evolution of Physical Status From Diagnosis to the End of First-Line Treatment in Breast, Lung, and Colorectal Cancer Patients: The PROTECT-01 Cohort Study Protocol

Joris Mallard^{1,2†}, Elyse Hucteau^{1,2†}, Roland Schott¹, Thierry Petit¹, Martin Demarchi¹, Christine Belletier¹, Meher Ben Abdelghani¹, Hélène Carinato¹, Pascale Chiappa¹, Cathie Fischbach¹, Michal Kalish-Weindling¹, Audren Bousinière¹, Stéphane Dufour², Fabrice Favret², Xavier Pivot¹, Thomas J. Hureau^{2†} and Allan F. Pagano^{2*†}

OPEN ACCESS

Edited by:

Yun Dai,
Peking University First Hospital, China

Reviewed by:

Antonio Macciò,
Ospedale Oncologico Armando
Businco, Italy
Moritz Schumann,
German Sport University
Cologne, Germany

*Correspondence:

Allan F. Pagano
allan.pagano@unistra.fr

† These authors have contributed
equally to this work

Specialty section:

This article was submitted to
Gastrointestinal Cancers,
a section of the journal
Frontiers in Oncology

Received: 02 December 2019

Accepted: 23 June 2020

Published: 07 August 2020

Citation:

Mallard J, Hucteau E, Schott R,
Petit T, Demarchi M, Belletier C, Ben
Abdelghani M, Carinato H, Chiappa P,
Fischbach C, Kalish-Weindling M,
Bousinière A, Dufour S, Favret F,
Pivot X, Hureau TJ and Pagano AF
(2020) Evolution of Physical Status
From Diagnosis to the End of
First-Line Treatment in Breast, Lung,
and Colorectal Cancer Patients: The
PROTECT-01 Cohort Study Protocol.
Front. Oncol. 10:1304.
doi: 10.3389/fonc.2020.01304

¹ Institut de Cancérologie Strasbourg Europe (ICANS), Strasbourg, France, ² EA 3072: Mitochondria, Oxidative Stress and Muscular Protection Laboratory, Faculty of Medicine, Faculty of Sports Sciences, University of Strasbourg, Strasbourg, France

Background: Cancer cachexia and exacerbated fatigue represent two hallmarks in cancer patients, negatively impacting their exercise tolerance and ultimately their quality of life. However, the characterization of patients' physical status and exercise tolerance and, most importantly, their evolution throughout cancer treatment may represent the first step in efficiently counteracting their development with prescribed and tailored exercise training. In this context, the aim of the PROTECT-01 study will be to investigate the evolution of physical status, from diagnosis to the end of first-line treatment, of patients with one of the three most common cancers (i.e., lung, breast, and colorectal).

Methods: The PROTECT-01 cohort study will include 300 patients equally divided between lung, breast and colorectal cancer. Patients will perform a series of assessments at three visits throughout the treatment: (1) between the date of diagnosis and the start of treatment, (2) 8 weeks after the start of treatment, and (3) after the completion of first-line treatment or at the 6-months mark, whichever occurs first. For each of the three visits, subjective and objective fatigue, maximal voluntary force, body composition, cachexia, physical activity level, quality of life, respiratory function, overall physical performance, and exercise tolerance will be assessed.

Discussion: The present study is aimed at identifying the nature and severity of maladaptation related to exercise intolerance in the three most common cancers. Therefore, our results should contribute to the delineation of the needs of each group of patients and to the determination of the most valuable exercise interventions in order to counteract these maladaptations. This descriptive and comprehensive approach is a prerequisite in order to elaborate, through future interventional research projects, tailored exercise strategies to counteract specific symptoms that are potentially cancer type-dependent and, *in fine*, to improve the health and quality of life of cancer patients. Moreover, our concomitant focus on fatigue and cachexia will provide

insightful information about two factors that may have substantial interaction but require further investigation.

Trial registration: This prospective study has been registered at ClinicalTrials.gov (NCT03956641), May, 2019.

Keywords: cachexia-fatigue vicious cycle, cachexia, cancer-related fatigue, exercise intolerance, muscle wasting, tumor

INTRODUCTION

Hallmark symptoms in patients with cancer include exacerbated fatigue (1, 2) and muscle wasting (3, 4) which impair their quality of life (2, 5, 6). Importantly, these are due to both the disease and the antineoplastic treatments (2, 4, 6–8), resulting in substantial differences across cancer types (3, 8–12). The characterization of these key parameters and, most importantly, their evolution throughout cancer treatment may represent the first step in finding ways of efficiently counteracting their development.

Cancer-related fatigue (CRF) is considered the main symptom in cancer patients and can be defined by clinicians as a chronic sensation of tiredness that is not fully reversed by rest, unlike common fatigue experienced by healthy individuals (1, 2), and is assessed subjectively with questionnaires. Moreover, as a multi-factorial symptom, CRF is also documented by objective measurements of neuromuscular fatigue, such as changes in force output (13). Previous studies report that 60–96% of cancer patients experience CRF (14), a symptom that persists even after treatments conclude (8, 15). As a consequence, daily activities are affected (16) and physical activity levels are largely decreased (17, 18), affecting, in turn, skeletal muscle mass and function.

Skeletal muscle plays a major function in daily activity and possesses the ability to adapt according to applied stresses. This characteristic plasticity expresses itself through both structural and metabolic adaptations, and it is well-known that a decrease in muscle activity will lead to muscle deconditioning (19–23). In the context of cancer patients, the combination of a decrease in muscle mass and strength, an increase in fatigue, and a perturbation of identified biomarkers (i.e., inflammation, albumin, and hemoglobin) is known as cachexia (3, 24–26). It is a multifactorial syndrome characterized by ongoing loss of skeletal muscle mass (with or without loss of fat mass) that cannot be fully reversed by conventional nutritional support, leading to progressive functional impairment (4). Cachexia is considered a major public health problem and another important symptom in cancer patients (27). Indeed, a high level of cachexia is known to be associated with poor quality of life (6), reduced survivability (28), and massive public health costs (29). Cachexia also negatively impacts both perceived and/or objective CRF (5, 30–32), thus placing cancer patients in the center of a vicious cycle with fatigue inducing cachexia and cachexia inducing fatigue (Figure 1). This cachexia–fatigue vicious cycle suggests a strong interconnection between CRF and cachexia.

Exercise interventions have been investigated for improving CRF in many studies (33), with positive effects and a widespread agreement that they represent some of the most efficient

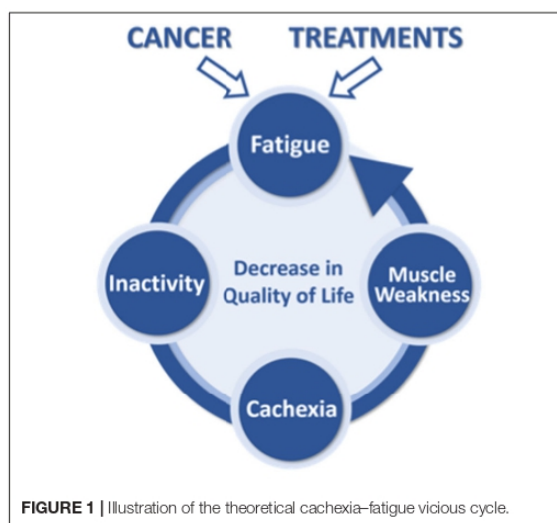


FIGURE 1 | Illustration of the theoretical cachexia–fatigue vicious cycle.

interventions in cancer patients (34, 35). Exercise interventions also appear to be the best interventions to counteract cachexia specifically (36–38). For example, several studies have shown that exercise interventions in cancer patients are able to increase anti-inflammatory cytokine expression (IL-10, IL-15) and therefore decrease systemic pro-inflammatory factors (TNF- α , IL-6) responsible, at least in part, for the unbalanced protein turnover signaling and muscle deconditioning observed in this population (36–38). Today, exercise interventions are increasingly being recognized as an efficient strategy in counteracting both CRF and cachexia in cancer patients. Indeed, the implementation of supportive care with adapted physical activity in cancer patients is part of current and future political recommendations in France (39, 40) and elsewhere (41–43).

However, despite a great number of studies showing the positive effects of exercise interventions on many different health parameters (44–46); the literature also highlights the significant variability of patient adaptation to exercise programs (33, 47, 48). This variability appears to be accountable for the lack of tailored exercise interventions (49) and occurs due to the large number of parameters that influence the effects of exercise prescribed to patients: the type and stage of cancer, the type of treatment, and the physical status at the time of diagnosis. For example, lung cancer patients present a higher risk of cachexia, whereas breast cancer patients present a higher risk of heart

TABLE 1 | Inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria	Exclusion criteria
<ul style="list-style-type: none"> • First-line cancer treatment • Breast cancer, Stage II or III, treated by taxane-based CT • Colorectal cancer, stage IV, treated by CT, RT, IT, or TT • Non-small cell lung cancer, stage III or IV, treated by CT, RT, IT, or TT • Age \geq 18 years • Performance status WHO 0–2 • Life expectancy $>$6 months • Ability to speak, understand and read French • No contraindication to physical assessments • Affiliate to social security system • Give written informed consent 	<ul style="list-style-type: none"> • Psychiatric, musculoskeletal, or neurological disorders • Pregnant or nursing women

CT, chemotherapy; IT, immunotherapy; RT, radiation therapy; TT, targeted therapy; WHO, World Health Organization performance status.

failure (9, 50). All these different parameters, and their evolution throughout treatment, should be considered in prescribing the best exercise strategies on an individual basis, as opposed to generic exercise programs.

In this context, the aim of our study will be to describe, in cancer patients, the evolution of their physical status from diagnosis until the end of first-line treatment. This prospective cohort study will include patients with lung, colorectal, and breast cancer as they represent \sim 30% of all newly diagnosed cancers (51).

MATERIALS AND METHODS

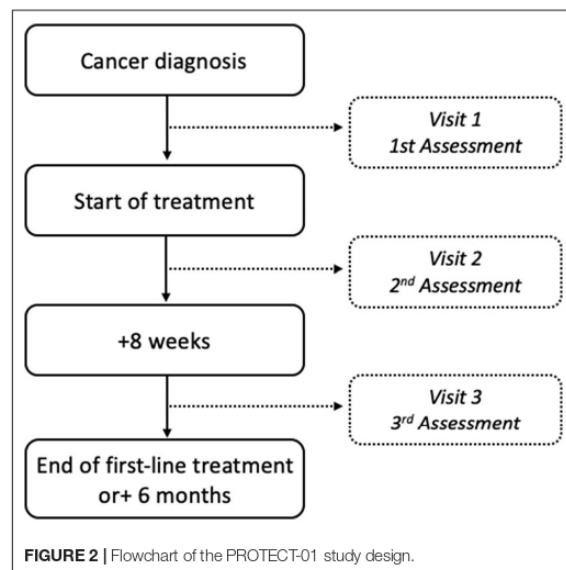
Study Population

As they represent \sim 30% of all newly diagnosed cancers (51), this cohort study will focus on three different cancer types: breast, lung, and colorectal. The detailed inclusion and exclusion criteria are summarized in **Table 1**.

Patients newly diagnosed with cancer by an oncologist and satisfying inclusion and exclusion criteria described in **Table 1** will be informed of the study protocol. If interested, the patient will contact one of the study coordinators for full information about the study as well as to discuss any questions pertaining to it. Once the patient has provided the written consent form to participate in this study, the visits will be scheduled.

Study Design

This cohort study aims to investigate the evolution of physical status from diagnosis to the end of first-line treatment. Therefore, after signing the written consent form, three visits will be scheduled. All assessments, detailed hereafter, will be performed at inclusion (Visit 1, between the time of diagnosis and the beginning of the treatment), 8 weeks after the beginning of the

**FIGURE 2** | Flowchart of the PROTECT-01 study design.

treatment (Visit 2), and either during the week after completion of first-line treatment or at the 6-months mark (Visit 3), whichever occurs first. The PROTECT-01 enrolment time is 18 months, and the study design is detailed in **Figure 2**.

Study Assessments

In order to assess the evolution of our different measurements throughout cancer treatment, all assessments will be performed via the same methods and under the same conditions across the three visits. All of the assessments will be performed chronologically in the order that they appear in the description provided hereafter. All parameters analyzed in this study are displayed in **Table 2**.

Clinical Data

Age, gender, tobacco consumption, significant health history (e.g., disease, surgery), type of cancer, and date of diagnosis will be collected via the medical file at the first visit. The presence of metastases and their sites, type of treatment (chemotherapy, immunotherapy, targeted therapy, radiotherapy) for lung and colorectal cancer patients, disease stage, performance status WHO, and significant concomitant treatments (e.g., corticosteroids, analgesics, antidepressants, antihypertensives) will also be collected and tracked throughout the study.

Questionnaires

Perceived cancer-related fatigue will be reflected by the score of the Functional Assessment of Chronic Illness Therapy–Fatigue (FACIT-F) scale version 4 (52). The FACIT-F is a subscale of the FACIT scales, a collection of health-related quality of life questionnaires targeted to the management of chronic illness. Patients will answer a 13-item scale to report their fatigue and its impact on their daily life during the previous week. Items

TABLE 2 | Study time points.

	Before the start of treatment	8 weeks after the start of treatment	End of treatment or 6 months
	Visit 1 1st assessment	Visit 2 2nd assessment	Visit 3 3rd assessment
Inclusion criteria check-up	X		
Informed consent	X		
Clinical data			
Participant information	X		
Disease history	X		
Cancer record	X	X	X
Cancer treatment	X	X	X
Performance status WHO	X	X	X
Concurrent treatments	X	X	X
Questionnaires			
FACIT-F	X	X	X
GPAQ	X	X	X
EORTC QLQ-C30	X	X	X
Physical assessments			
Body composition	X	X	X
Cachexia		X	X
Respiratory function	X	X	X
Maximal voluntary force	X	X	X
Fatigability	X	X	X
Physical performance	X	X	X
Exercise tolerance	X	X	X

Visit 1, between the time of diagnosis and the beginning of the treatment; Visit 2, 8 weeks after the beginning of the treatment; Visit 3, at the end of first-line treatment or at the 6-months mark; EORTC QLQ-C30, European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Core Questionnaire; FACIT-F, Functional Assessment of Chronic Illness Therapy–Fatigue; GPAQ, Global Physical Activity Questionnaire; WHO, World Health Organization performance status.

are rated on a 0–4 intensity scale (0: not at all, 1: a little bit, 2: somewhat, 3: quite a bit, 4: very much). After performing reversal scores for appropriate items, scores will be analyzed through two specific subscales (health-related quality of life and fatigue) and the global score obtained from the FACIT-F, where higher scores indicate less fatigue or better functioning.

Physical activity level will be assessed using the 16-item Global Physical Activity Questionnaire version 2 (GPAQ-2) (53). GPAQ-2 collects information on sedentary behavior and physical activity in three domains: (1) activity at work, (2) travel to and from places, and (3) recreational activities during a typical week. Patient engagement in moderate and vigorous physical activity level is assessed based on dichotomous response (i.e., “yes” or “no”). Intensity of activities are classified using MET (Metabolic Equivalent of Task) as follows: inactivity (1 MET), moderate (4 METs), and vigorous (8 METs). For patients performing moderate and/or vigorous activities, they will also have to report their frequency (number of days per week) and duration. Then, a score will be calculated based on the characteristics (i.e.,

MET, frequency, and duration) of activities in the moderate and vigorous domains. The higher the score, the better the patient’s physical activity level.

Quality of life will be evaluated by the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Quality of Life Core Questionnaire (EORTC QLQ-C30), version 3, with 30 items (54). The self-administered EORTC QLQ-C30 is specifically designed for cancer patients, and version 3 is intended for all patients with cancer regardless of tumor site. The questionnaire includes five functioning scales (physical, role, cognitive, emotional, and social functioning) and three symptom scales (fatigue, pain, and nausea/vomiting). Additional cancer symptoms (dyspnea, sleep disturbance, loss of appetite, diarrhea, and constipation) and financial difficulties due to cancer and treatments are also reported by separate items. Patients will score intensity of symptoms during the past week for each item on a scale of 1–4 (1: not at all, 2: a little, 3: quite a bit, 4: very much). Patient overall global health and quality of life will be assessed, ranging from 1 to 7 (1 for very poor to 7 for excellent). A total score between 0 and 100 will be calculated for each scale. For global and functioning scales, a higher score is considered better, while for symptom scales a lower score is better.

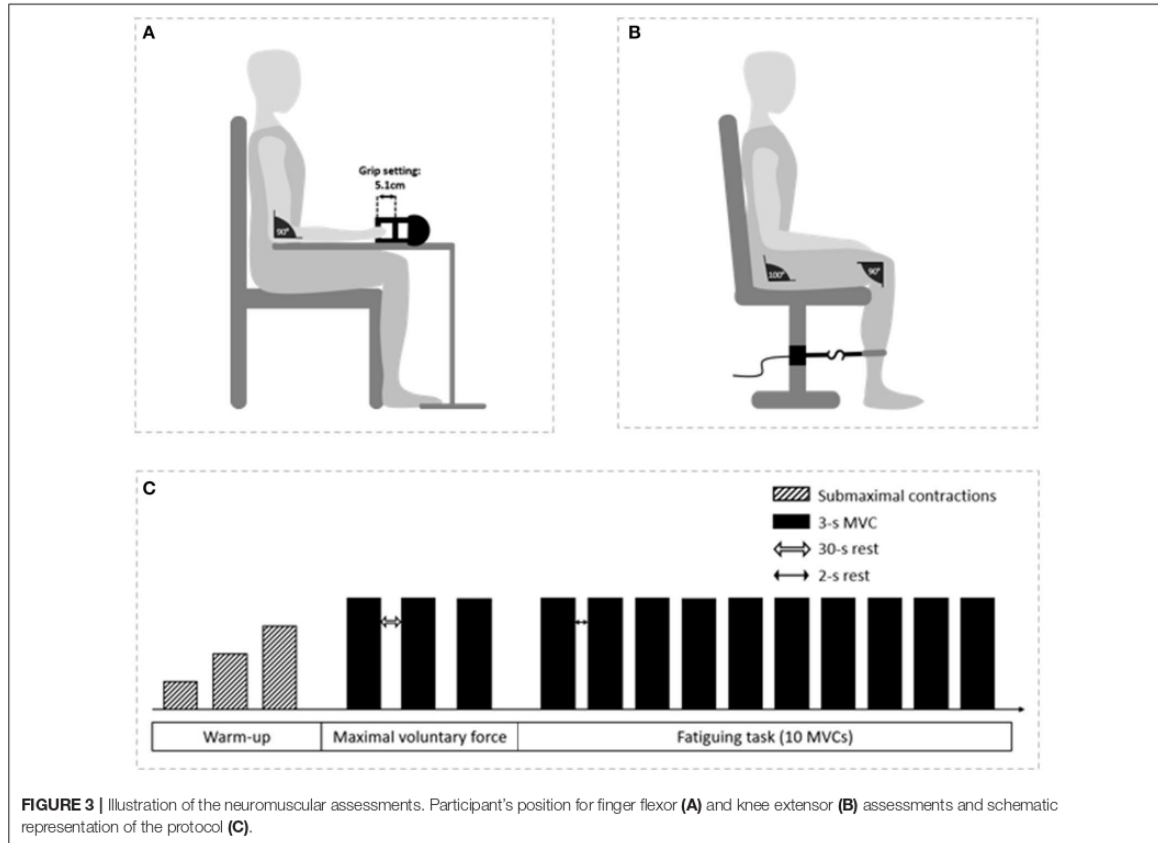
Body Composition and Cachexia

Body mass and composition analyses will be performed using a bioelectrical impedance meter (SECA mBCA 515, SECA, Hamburg, Germany), validated in comparison to different robust methods assessing body composition, such as air-displacement plethysmography, dual-energy X-ray absorptiometry, and deuterium dilution (55). The bioelectrical impedance meter is also regularly used in studies investigating body composition in cancer patients (56–59). We will quantify body mass, fat free mass, fat mass, skeletal muscle mass, visceral fat, and body water repartition. Patient height will be measured to calculate body mass index (BMI, body mass/height²).

In accordance with Fearon et al. (4), cachexia will be diagnosed using fat-free mass index cut-off (i.e., <14.6 kg/m² for men and <11.4 kg/m² for women) assessed by a bioelectrical impedance meter (4). Furthermore, the severity of the cancer-related body mass loss (i.e., cachexia) will be investigated using the Martin score (28) at the second and third visit. Martin score is a robust grading system incorporating the independent prognostic significance of both BMI and percentage of body mass loss based on a correlation matrix from a cohort of more than 8,000 cancer patients (28). A severity stage of body mass loss between 0 and 4 is attributed to each patient according to their BMI at cancer diagnosis (28), with stage 0 being the lowest severity stage of cachexia, and stage 4, the highest. Importantly, each score is associated with a specific cumulative survival curve: the lower the score, the greater the survival probability (28).

Respiratory Function

Respiratory function will be assessed using a portable spirometer (USB Electronique Portable Spirobank II Smart MIR, Rome, Italy). Patients will have to take maximum inspiration and blow to maximum exhalation. The mouthpiece on the device will be changed between each patient. The measured parameters will be:



forced expiratory volume in the first second (FEV1), forced vital capacity (FVC), Tiffeneau index or FEV1% (FEV1/FVC), peak expiratory flow (PEF), mean forced expiratory flow between 25 and 75% of FVC (FEF 25–75%), inspiratory vital capacity (IVC), expiratory vital capacity (EVC), inspiratory capacity (IC), expiratory reserve volume (ERV), and tidal volume (TV).

Maximal Voluntary Force

Finger flexors force will be measured using a handgrip dynamometer (Takei, TK200, Takei Scientific Instruments, Tokyo, Japan). Patients will sit upright in a chair with their feet touching the ground. The dominant arm will be placed with the elbow flexed at 90° on a table, while the forearm and the hand will be placed in a neutral position (Figure 3A). The non-dominant arm will be relaxed in a neutral position. For standardization, grip settings will be set at 5.1 cm (Figure 3A), corresponding to the standard position for grip testing (60, 61). Knee extensors force will be measured with a force transducer (Force sensor kit, Chronojump, Barcelona, Spain) positioned on a leg extension device (ProForma—Bodytone Evolution Extensions, Barcelona, Spain) (Figure 3B). Patients will be assessed in a seated position with the hip and knee joints fixed at 100 and 90°, respectively

(where 180° represents a full knee extension), and aligned in the frontal axis. The lower leg will be attached with a non-compliant strap right above the malleoli. All participants will be familiarized with the maximal voluntary isometric contractions until the observation of a force plateau, indicating the ability to maintain the maximal contraction over 3 s and consistent peak values ($\leq 5\%$ difference) between trials. After a standardized warm-up (three contractions at 25, 50, and 75% of the estimated maximal voluntary contraction [MVC] torque), patients will be asked to perform three 3-s maximal voluntary isometric contractions under verbal encouragement. A 30-s rest period will be given between each MVC. The maximal value measured during the three trials will be used for further analysis.

Fatigability

Patients will be placed in the same position as the maximal voluntary force assessment. For both finger flexors and knee extensors, fatigability will be assessed by performing ten 3-s maximal voluntary isometric contractions under verbal encouragement with a 2-s rest period between each contraction. Fatigability will be calculated as the percent difference in peak force between the first and the last contraction (62).

Physical Performance

Physical performance will be assessed using the Short Physical Performance Battery (SPPB), a validated and reproducible test (interclass correlation coefficient of 0.86), indicating the risk of skeletal muscle force and mass loss in older adults (i.e., sarcopenia) (19, 63, 64). The SPPB test includes balance tests (joint feet, semi-tandem feet, and tandem feet), a 4-m walking speed test, and a 5-times-sit-to-stand test. For the balance tests, patients will be timed over a 10-s period and stopped if they lose their balance during this time. For the walking speed test, patients will have to walk spontaneously over 4 m, two times, and the fastest trial, in $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, will be used for further analysis. For the 5-times-sit-to-stand test, a chair (height, 43–45 cm; depth, 47.5 cm) will be used. With their arms crossed over their chest, patients will have to sit and stand five times as fast as possible on two different trials. Here again, the best performance will be used for analysis.

Exercise Tolerance

Exercise tolerance will be assessed using the classical 6-min walking test (6-MWT), following the American Thoracic Society (ATS) Statement recommendations (65). The 6-MWT is a validated and reproducible test (interclass correlation coefficient of 0.85), associated with mortality in cancer patients (66, 67). Patients will walk in a covered, flat, straight, well-delineated (marked every 3 m) and with no disturbance, 20-m corridor. A starting line will be marked, and two cones will represent the location of the U-turns. Physiological measurements (mean arterial pressure, oxygen saturation, and heart rate) will be performed at rest, at least 10 min before the beginning of the test, and again immediately at the end of the 6-MWT. Instructions will systematically be given to the patient as recommended in the ATS Statement (65). The total distance covered during the test (in meters) will be used to assess exercise tolerance.

Sample Size

An *a priori* sample size estimation was performed using the following sample size calculation formula (68):

$$\text{Sample size} = \frac{Z_{-a/2}^2 SD^2}{d^2}$$

Where: $Z_{-a/2}$ is a standard normal variate (at 5% type 1 error i.e., $P < 0.05$, it is 1.96); SD is the standard deviation of the main variable based on previous study; and d is the absolute error or precision based on previous study.

The primary outcome of this study is to investigate the evolution of exercise tolerance using the 6-MWT distance. According to Granger et al. (69), a 9.5% decline in the walking distance (i.e., exercise performance) during the 6-MWT test is sufficient to show a clinical decrease in exercise tolerance. Thus, based on the evolution of 6-MWT distances between the first and the second visit in our study, the hypothesis was that cancer patients will reduce, by at least 9.5%, their 6-MWT performance, and thus exhibit signs of exercise intolerance. We also determined the expected baseline 6-MWT results (659 ± 62 m) from the results observed in a healthy subjects group aged 55–75 years old (70), and a 7-m precision was calculated according to a test-retest

reliability performed by Demers et al. (67). Using an α level of 0.05 and a power ($1-\beta$) of 0.95, the total sample size was calculated as follows:

$$\text{Sample size} = \frac{1.96^2(62)^2}{7^2} = 301$$

Our sample ($n = 301$) will be equally divided into our three groups of interest: 100 lung cancer patients, 100 breast cancer patients, and 100 colorectal cancer patients.

Statistical Analysis

Normality and variance homogeneity will be investigated on all collected data using the Shapiro-Wilk test and the Levene test, respectively. Appropriate parametric or non-parametric analyses will then be performed. Statistical significance will be set at $P < 0.05$. All values will be expressed as mean \pm standard deviation or median \pm range.

A multivariate analysis of variance (MANOVA) will be used on our primary outcome (i.e., exercise tolerance) and secondary outcomes (i.e., quality of life, fatigue, physical activity level, strength, fatigability, body composition, cachexia, physical performance, and respiratory function) to protect against Type I errors arising from multiple comparisons. A two-way mixed-design ANOVA will be used (group [lung cancer – colorectal cancer – breast cancer] \times time [first visit – second visit – third visit]). Finally, if a significant difference is found, a multiple-comparison analysis will be performed using an appropriate *post-hoc* test.

Finally, interaction between specific variables will be tested with Pearson's correlation coefficients (r^2). For example, we plan to test the possible correlation between subjective and objective fatigue, or between exercise tolerance/quality of life and body composition.

Ethics and Dissemination

This prospective three-armed cohort study has been approved by the national ethics committee (2019-A00848-49). All subjects gave written informed consent in accordance with the Declaration of Helsinki. Any amendment to the protocol will require the formal modification and approval by the same local ethics committee that approved the study prior to implementation and will be described transparently in subsequent reports. This study is also registered at ClinicalTrials.gov (NCT03956641, first posted in May 2019). Patient recruitment and data collection began in September 2019 and are being conducted at Paul Strauss Center Strasbourg and Cancer Institute Strasbourg Europe, Strasbourg, France.

DISCUSSION

The aim of the PROTECT-01 study will be to investigate the evolution of the physical status, from diagnosis to the end of first-line treatment, of patients with one of the three most common cancers, namely lung, breast, and colorectal (51). Therefore, the present investigation will identify the nature and severity of maladaptation related to exercise intolerance in these three types of cancer. Our results should contribute to identifying

the needs of each group of patients and to determining the most valuable exercise interventions to prescribe (i.e., modality, intensity, etc.) in order to counteract major disease-related physical and physiological alterations.

Rationale and Novelty

Although the consequences of the disease and the associated treatments on physical and physiological function are not completely unknown, the present study protocol is original in several aspects. First, this study is not dedicated to one specific physiological function or organ but is instead focused on assessments of respiratory and muscular functions, cachexia, muscle fatigue, exercise tolerance, perceived fatigue, and quality of life, in order to better prioritize what to target in future exercise prescriptions (e.g., resistance training). Importantly, the relationship between objective (i.e., neuromuscular) and subjective (i.e., perceived) measures of fatigue is insightful (71, 72) and has been clearly identified as a priority (73). Moreover, objective measurements of fatigue are requisite to investigate mechanistically cancer-related fatigue, while the majority of CRF research is, to date, questionnaire-based (2, 74–78). Indeed, while CRF is the major symptom of the disease, which can last despite clinical remission (15), muscle fatigue has not been as extensively investigated in cancer as it has been in other diseases associated with chronic fatigue, such as multiple sclerosis (62, 79) or heart failure (80).

Another strength of the “global” approach of our study is the concomitant interest in CRF and cachexia, two major symptoms (81) that may have substantial interaction (5, 30–32), as suggested in the vicious cycle presented in **Figure 1**. CRF has been shown to promote inactivity (17, 18), leading to muscle deconditioning (19–23) mainly characterized by a loss in muscle force and mass (4). These rapid muscle alterations are in turn increasing fatigue and fueling this vicious cycle (31). The potential link between these two symptoms seems strong but requires further investigation (72). The PROTECT-01 cohort study is designed to investigate this relationship between CRF and cancer cachexia in cancer patients using repeated measures from diagnosis to the end of first-line treatment. Moreover, the combination of iso-time and iso-status measurements between the three cancers investigated (i.e., after 8 weeks of treatment and after the first-line treatment, respectively) will be important in comparing the specific maladaptation associated with the type of cancer investigated despite differences in treatment durations. The iso-time comparison will be performed to identify the rate of change for each physical and physiological parameter assessed, while the iso-status comparison will be performed to compare the consequences of first-line treatment on our series of assessments across the three cancers investigated.

Expected Impact and Perspectives

The PROTECT-01 study is expected to bring to light the nature and severity of maladaptation related to exercise intolerance in the three most common cancers. This descriptive and comprehensive study is requisite in order to design interventional research projects with exercise interventions to target a major symptom or maladaptation observed. Importantly, if “exercise

is medicine” (82), it is essential to note that it works, to make an analogy, like a pill. Exercise needs to be prescribed with the appropriate “active principle” (i.e., exercise modality) and “dose” (i.e., exercise intensity and duration) to be effective (83). For example, the prevalence of cachexia is high (~50%) and greater in lung or colorectal cancers compared to breast cancer (3). Therefore, resistance training may be of particular interest for lung or colorectal cancer patients, while breast cancer patients may get more health benefits from aerobic exercise to focus on cardiovascular outcomes (9, 50). However, it should be emphasized that this speculation is done without a global and comparative approach, which is needed for such a conclusion. The goal of the PROTECT-01 cohort study will be to provide this approach and initiate future randomized control trials with specific exercise interventions for various cancer patients according to their circumstances. In a context where the suggestion of a unique exercise modality (i.e., resistance, aerobic, or combined training) as the best strategy for all cancer patients may not be convincing (84), we and others (49, 73, 83) believe that tailored exercise interventions are necessary to optimize cancer patient health outcomes and substantially improve their quality of life.

Methodological Considerations

In order to assess the evolution of the physical status of the patients, this study will require multiple visits from diagnosis to the end of first-line treatment. Thus, at the first visit, newly diagnosed cancer patients will be tested before starting any treatment, indicating that we will be able to assess effects of the disease at this time. However, subsequent visits will be performed during and at the end of first-line treatment, indicating that our measurements will assess the consequences of both the disease and the associated side effects of the treatment (18, 85, 86). Therefore, it will not be possible to isolate the effects of the disease vs. the treatments on our measures in this study. Regardless, it is more important to characterize the combined effect of these two stressors on the physical function of cancer patients, as we actually want to counteract them simultaneously in order to ultimately improve the survival and quality of life of these patients.

Cancer is a complex disease with various stages and a multitude of available antineoplastic treatments. As a consequence, the patient population can be heterogeneous. In order to avoid high variability between our participants, we decided to limit our inclusion criteria (**Table 1**) to the most frequent stages encountered at diagnosis in our clinical setup. There are still substantial differences in the treatment between participants; however, what matters in our experimental context is to assess the potential maladaptations of the disease with the treatment that is supposed to be the most optimal to their individual condition. This approach is driven by the end goal of our research projects, which is to determine the best-tailored exercise interventions for cancer patients, and not to assess the net efficacy of one specific treatment.

Finally, the physical activity level will likely differ between patients as well as individually throughout the

experiment. As we will be able to control for this variable using the GPAQ score, this will be a great opportunity to provide preliminary insights on the effect of physical activity on our measurements prior to interventional training studies.

ETHICS STATEMENT

The protocol was approved by the French Ethics Committee (Comité de Protection des Personnes Sud-Ouest et Outre Mer III, number ID RCB: 2019-A00848-49). All subjects gave written informed consent in accordance with the Declaration of Helsinki.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

JM, EH, RS, TP, MD, CB, MB, HC, PC, CF, MK-W, AB, SD, FF, XP, TH, and AP contributed to the study design as well as writing and/or editing the manuscript and approved the final

version of the manuscript. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

FUNDING

This work was supported by the Institut de Cancérologie Strasbourg Europe. This work has been published under the framework of the IdEx Unistra supported by the investments for the future program of the French Government.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Valérie Sartori, Alexandre Bernard, Manon Voegelin, Elodie Magisson, Dorette Goetz, and Anais Robert from the Clinical Research Department for their administrative and organizational support. We also want to greatly thank Nadine Adam for her very helpful support with English revisions.

REFERENCES

- Barnes EA, Bruera E. Fatigue in patients with advanced cancer: a review. *Int J Gynecol Cancer Off J Int Gynecol Cancer Soc.* (2002) 12:424–8. doi: 10.1136/ijgc-00009577-200209000-00002
- Ahlberg K, Ekman T, Gaston-Johansson F, Mock V. Assessment and management of cancer-related fatigue in adults. *Lancet Lond Engl.* (2003) 362:640–50. doi: 10.1016/S0140-6736(03)14186-4
- Baracos VE, Martin L, Korc M, Guttridge DC, Fearon KCH. Cancer-associated cachexia. *Nat Rev Dis Primer.* (2018) 4:17105. doi: 10.1038/nrdp.2017.105
- Fearon K, Strasser F, Anker SD, Bosaeus I, Bruera E, Fainsinger RL, et al. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *Lancet Oncol.* (2011) 12:489–95. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70218-7
- Neeffes ECW, van den Hurk RM, Blauwhoff-Buskermolen S, van der Vorst MJDL, Becker-Commissaris A, de van der Schueren MAE, et al. Muscle mass as a target to reduce fatigue in patients with advanced cancer. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* (2017) 8:623–9. doi: 10.1002/jcsm.12199
- Bye A, Sjoblom B, Wentzel-Larsen T, Grønberg BH, Baracos VE, Hjermstad MJ, et al. Muscle mass and association to quality of life in non-small cell lung cancer patients. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* (2017) 8:759–67. doi: 10.1002/jcsm.12206
- Prigerson HG, Bao Y, Shah MA, Paulk ME, LeBlanc TW, Schneider BJ, et al. Chemotherapy use, performance status, and quality of life at the end of life. *JAMA Oncol.* (2015) 1:778–84. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.2378
- Jones JM, Olson K, Catton P, Catton CN, Fleshner NE, Krzyzanowska MK, et al. Cancer-related fatigue and associated disability in post-treatment cancer survivors. *J Cancer Surviv Res Pract.* (2016) 10:51–61. doi: 10.1007/s11764-015-0450-2
- Pressoir M, Desné S, Berchery D, Rossignol G, Poiree B, Meslier M, et al. Prevalence, risk factors and clinical implications of malnutrition in French comprehensive cancer centres. *Br J Cancer.* (2010) 102:966–71. doi: 10.1038/sj.bjc.6605578
- Dudgeon DJ, Kristjansson L, Sloan JA, Lertzman M, Clement K. Dyspnea in cancer patients: prevalence and associated factors. *J Pain Symptom Manage.* (2001) 21:95–102. doi: 10.1016/S0885-3924(00)00258-X
- Quinten C, Martinelli F, Coens C, Sprangers MAG, Ringash J, Gotay C, et al. A global analysis of multiracial data investigating quality of life and symptoms as prognostic factors for survival in different tumor sites. *Cancer.* (2014) 120:302–11. doi: 10.1002/cncr.28382
- Raouf A, Yacoub S, Asaad Y, Hadithi TA. Quality of life among cancer patients treated with chemotherapy or radiotherapy in erbil city an evaluation study. *Cancer Clin Oncol.* (2015) 4:19. doi: 10.5539/cco.v4n1p19
- Enoka RM, Duchateau J. Translating fatigue to human performance. *Med Sci Sports Exerc.* (2016) 48:2228–38. doi: 10.1249/MSS.0000000000000929
- Wagner LI, Cella D. Fatigue and cancer: causes, prevalence and treatment approaches. *Br J Cancer.* (2004) 91:822–28. doi: 10.1038/sj.bjc.6602012
- Cella D, Davis K, Breitbart W, Curt G, Fatigue Coalition. Cancer-related fatigue: prevalence of proposed diagnostic criteria in a United States sample of cancer survivors. *J Clin Oncol.* (2001) 19:3385–91. doi: 10.1200/JCO.2001.19.14.3385
- Curt GA, Breitbart W, Cella D, Groopman JE, Horning SJ, Itri LM, et al. Impact of cancer-related fatigue on the lives of patients: new findings from the fatigue coalition. *Oncologist.* (2000) 5:353–60. doi: 10.1634/theoncologist.5-5-353
- Ferrioli E, Skipworth RJE, Hendry P, Scott A, Stensteth J, Dabele M, et al. Physical activity monitoring: a responsive and meaningful patient-centered outcome for surgery, chemotherapy, or radiotherapy? *J Pain Symptom Manage.* (2012) 43:1025–35. doi: 10.1016/j.jpainsymman.2011.06.013
- Christensen JF, Jones LW, Andersen JL, Dagaard G, Rorth M, Hojman P. Muscle dysfunction in cancer patients. *Ann Oncol.* (2014) 25:947–58. doi: 10.1093/annonc/mdt551
- Brioché T, Pagano AF, Py G, Chopard A. Muscle wasting and aging: experimental models, fatty infiltrations, and prevention. *Mol Aspects Med.* (2016) 50:56–87. doi: 10.1016/j.mam.2016.04.006
- Bodine SC. Disuse-induced muscle wasting. *Int J Biochem Cell Biol.* (2013) 45:2200–8. doi: 10.1016/j.biocel.2013.06.011
- Chopard A, Hillock S, Jasmin BJ. Molecular events and signalling pathways involved in skeletal muscle disuse-induced atrophy and the impact of countermeasures. *J Cell Mol Med.* (2009) 13:3032–50. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00864.x
- Demangel R, Treffel L, Py G, Brioché T, Pagano AF, Bareille M-P, et al. Early structural and functional signature of 3-day human skeletal muscle disuse using the dry immersion model. *J Physiol.* (2017) 595:4301–15. doi: 10.1113/JP273895
- Oikawa SY, Holloway TM, Phillips SM. The impact of step reduction on muscle health in aging: protein and exercise as countermeasures. *Front Nutr.* (2019) 6:75. doi: 10.3389/fnut.2019.00075
- Evans WJ, Morley JE, Argiles J, Bales C, Baracos V, Guttridge D, et al. Cachexia: a new definition. *Clin Nutr Edinb Scotl.* (2008) 27:793–99. doi: 10.1016/j.clnu.2008.06.013
- Madeddu C, Mantovani G, Gramignano G, Astara G, Macciò A. Muscle wasting as main evidence of energy impairment in cancer cachexia: future therapeutic approaches. *Future Oncol Lond Engl.* (2015) 11:2697–710. doi: 10.2217/fo.15.195

26. Macciò A, Busquets S, Madeddu C, Argilés JM. Editorial: biological mechanism-based and patient-centered management of cancer-related symptoms and syndromes. *Front Physiol.* (2018) 9:1819. doi: 10.3389/fphys.2018.01819
27. Farkas J, von Haehling S, Kalantar-Zadeh K, Morley JE, Anker SD, Lainscak M. Cachexia as a major public health problem: frequent, costly, and deadly. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* (2013) 4:173–8. doi: 10.1007/s13539-013-0105-y
28. Martin L, Senesse P, Gioulbasanis I, Antoun S, Bozzetti F, Deans C, et al. Diagnostic criteria for the classification of cancer-associated weight loss. *J Clin Oncol.* (2015) 33:90–9. doi: 10.1200/JCO.2014.56.1894
29. Arthur ST, Noone JM, Van Doren BA, Roy D, Blanchette CM. One-year prevalence, comorbidities and cost of cachexia-related inpatient admissions in the USA. *Drugs Context.* (2014) 3:212265. doi: 10.7573/dic.212265
30. Ryan JL, Carroll JK, Ryan EP, Mustian KM, Fiscella K, Morrow GR. Mechanisms of cancer-related fatigue. *Oncologist.* (2007) 12:22–34. doi: 10.1634/theoncologist.12-S1-22
31. Powers SK, Lynch GS, Murphy KT, Reid MB, Zijdwind I. Disease-induced skeletal muscle atrophy and fatigue. *Med Sci Sports Exerc.* (2016) 48:2307–19. doi: 10.1249/MSS.0000000000000975
32. Roberts BM, Frye GS, Ahn B, Ferreira LF, Judge AR. Cancer cachexia decreases specific force and accelerates fatigue in limb muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* (2013) 435:488–92. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.05.018
33. Kelley GA, Kelley KS. Exercise and cancer-related fatigue in adults: a systematic review of previous systematic reviews with meta-analyses. *BMC Cancer.* (2017) 17:693. doi: 10.1186/s12885-017-3687-5
34. Mustian KM, Peppone L, Darling TV, Palesh O, Heckler CE, Morrow GR. A 4-week home-based aerobic and resistance exercise program during radiation therapy: a pilot randomized clinical trial. *J Support Oncol.* (2009) 7:158–167.
35. Cramp F, Daniel J. Exercise for the management of cancer-related fatigue in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* (2008) 11:CD006145. doi: 10.1002/14651858.CD006145.pub2
36. Bowen TS, Schuler G, Adams V. Skeletal muscle wasting in cachexia and sarcopenia: molecular pathophysiology and impact of exercise training. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* (2015) 6:197–207. doi: 10.1002/jcsm.12043
37. Gould DW, Lahart I, Carmichael AR, Koutedakis Y, Metsios GS. Cancer cachexia prevention via physical exercise: molecular mechanisms. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* (2013) 4:111–24. doi: 10.1007/s13539-012-0096-0
38. Hardee JP, Counts BR, Carson JA. Understanding the role of exercise in cancer cachexia therapy. *Am J Lifestyle Med.* (2019) 13:46–60. doi: 10.1177/1559827617725283
39. INCa. *Plan Cancer 2014–2019* (2015).
40. INSERM. *Activité Physique: Prévention et Traitement des Maladies Chroniques.* Collection Expertise collective. Montrouge: EDP Sciences. (2019).
41. Hayes SC, Newton RU, Spence RR, Galvão DA. The exercise and sports science Australia position statement exercise medicine in cancer management. *J Sci Med Sport.* (2019) 22:1175–99. doi: 10.1016/j.jsams.2019.05.003
42. Schmitz KH, Courneya KS, Matthews C, Demark-Wahnefried W, Galvão DA, Pinto BM, et al. American college of sports medicine roundtable on exercise guidelines for cancer survivors. *Med Sci Sports Exerc.* (2010) 42:1409–26. doi: 10.1249/MSS.0b013e3181e0c112
43. Stefani L, Galanti G, Klika R. Clinical implementation of exercise guidelines for cancer patients: adaptation of ACSM's guidelines to the Italian model. *J Funct Morphol Kinesiol.* (2017) 2:4. doi: 10.3390/jfmk2010004
44. Stout NL, Baima J, Swisher AK, Winters-Stone KM, Welsh J. A systematic review of exercise systematic reviews in the cancer literature (2005–2017). *PM R.* (2017) 9:S347–84. doi: 10.1016/j.pmrj.2017.07.074
45. Buffart LM, Kalker J, Sweegers MG, Courneya KS, Newton RU, Aaronson NK, et al. Effects and moderators of exercise on quality of life and physical function in patients with cancer: an individual patient data meta-analysis of 34 RCTs. *Cancer Treat Rev.* (2017) 52:91–104. doi: 10.1016/j.ctrv.2016.11.010
46. Jones LW, Eves ND, Haykowsky M, Freedland SJ, Mackey JR. Exercise intolerance in cancer and the role of exercise therapy to reverse dysfunction. *Lancet Oncol.* (2009) 10:598–605. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70031-2
47. Brown JC, Huedo-Medina TB, Pescatello LS, Pescatello SM, Ferrer RA, Johnson BT. Efficacy of exercise interventions in modulating cancer-related fatigue among adult cancer survivors: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* (2011) 20:123–33. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0988
48. Cormie P, Zopf EM, Zhang X, Schmitz KH. The impact of exercise on cancer mortality, recurrence, and treatment-related adverse effects. *Epidemiol Rev.* (2017) 39:71–92. doi: 10.1093/epirev/mxx007
49. van der Leeden M, Huijsmans RJ, Geleijn E, de Rooij M, Konings IR, Buffart LM, et al. Tailoring exercise interventions to comorbidities and treatment-induced adverse effects in patients with early stage breast cancer undergoing chemotherapy: a framework to support clinical decisions. *Disabil Rehabil.* (2018) 40:486–96. doi: 10.1080/09638288.2016.1260647
50. Abdel-Qadir H, Thavendiranathan P, Austin PC, Lee DS, Amir E, Tu JV, et al. The risk of heart failure and other cardiovascular hospitalizations after early stage breast cancer: a matched cohort study. *J Natl Cancer Inst.* (2019) 111:854–62. doi: 10.1093/jnci/djy218
51. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* (2018) 68:394–424. doi: 10.3322/caac.21492
52. Butt Z, Lai J, Rao D, Heinemann AW, Bill A, Cella D. Measurement of fatigue in cancer, stroke, and HIV using the functional assessment of chronic illness therapy-fatigue (FACT-F) scale. *J Psychosom Res.* (2013) 74:64–8. doi: 10.1016/j.jpsychores.2012.10.011
53. Armstrong T, Bull F. Development of the World Health Organization Global Physical Activity Questionnaire (GPAQ). *J Public Health.* (2006) 14:66–70. doi: 10.1007/s10389-006-0024-x
54. Aaronson NK, Ahmedzai S, Bergman B, Bullinger M, Cull A, Duez NJ, et al. The European organization for research and treatment of cancer QLQ-C30: a quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. *J Natl Cancer Inst.* (1993) 85:365–76. doi: 10.1093/jnci/85.5.365
55. Bosty-Westphal A, Schautz B, Later W, Kehayias JJ, Gallagher D, Müller MJ. What makes a BIA equation unique? Validity of eight-electrode multifrequency BIA to estimate body composition in a healthy adult population. *Eur J Clin Nutr.* (2013) 67:S14–21. doi: 10.1038/ejcn.2012.160
56. Benavides-Rodríguez L, García-Hermoso A, Rodrigues-Bezerra D, Izquierdo M, Correa-Bautista JE, Ramírez-Vélez R. Relationship between handgrip strength and muscle mass in female survivors of breast cancer: a mediation analysis. *Nutrients.* (2017) 9:695. doi: 10.3390/nu9070695
57. Freitag N, Weber PD, Sanders TC, Schulz H, Bloch W, Schumann M. High-intensity interval training and hyperoxia during chemotherapy. *Medicine (Baltimore).* (2018) 97:e11068. doi: 10.1097/MD.00000000000011068
58. Lundberg M, Dickinson A, Nikander P, Orell H, Makitie A. Low-phase angle in body composition measurements correlates with prolonged hospital stay in head and neck cancer patients. *Acta Otolaryngol (Stockh).* (2019) 139:383–7. doi: 10.1080/00016489.2019.1566779
59. Ferrario C, Cosentino D, Lines H, Cross T, Dixon S. Factors influencing the length of stay for breast cancer patients undergoing mastectomy: an independent sector perspective. *Eur J Surg Oncol.* (2016) 42:S23. doi: 10.1016/j.ejso.2016.02.094
60. Mathiowetz V. Grip and pinch strength measurements. In: Amundsen LR, ed. *Muscle Strength Testing: Instrumented and Non-Instrumented Systems.* New York, NY: Churchill Livingstone (1990). p. 163–7.
61. Fess EE. Grip strength. In: American Society of Hand Therapists, ed. *Clinical Assessment Recommendations.* 2nd ed. Garner, NC: American Society of Hand Therapists (1992). p. 41–5.
62. Gandevia SC. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiol Rev.* (2001) 81:1725–89. doi: 10.1152/physrev.2001.81.4.1725
63. Freire AN, Guerra RO, Alvarado B, Guralnik JM, Zunzunegui MV. Validity and reliability of the short physical performance battery in two diverse older adult populations in Quebec and Brazil. *J Aging Health.* (2012) 24:863–78. doi: 10.1177/0898264312438551
64. Guralnik JM, Ferrucci L, Pieper CF, Leveille SG, Markides KS, Ostir GV, et al. Lower extremity function and subsequent disability: consistency across studies, predictive models, and value of gait speed alone compared with the short physical performance battery. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* (2000) 55:M221–31. doi: 10.1093/gerona/55.4.M221
65. ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med.* (2002) 166:111–7. doi: 10.1164/ajrccm.166.1.at1102
66. Jones LW, Hornsby WE, Goetzinger A, Forbes LM, Sherrard EL, Quist M, et al. Prognostic significance of functional capacity and exercise behavior

- in patients with metastatic non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. (2012) 76:248–52. doi: 10.1016/j.lungcan.2011.10.009
67. Demers C, McKelvie RS, Negassa A, Yusuf S, RESOLVD Pilot Study Investigators. Reliability, validity, and responsiveness of the six-minute walk test in patients with heart failure. *Am Heart J*. (2001) 142:698–703. doi: 10.1067/mhj.2001.118468
 68. Charan J, Biswas T. How to calculate sample size for different study designs in medical research? *Indian J Psychol Med*. (2013) 35:121–6. doi: 10.4103/0253-7176.116232
 69. Granger CL, Holland AE, Gordon IR, Denehy L. Minimal important difference of the 6-minute walk distance in lung cancer. *Chron Respir Dis*. (2015) 12:146–54. doi: 10.1177/1479972315575715
 70. Camarri B, Eastwood PR, Cecins NM, Thompson PJ, Jenkins S. Six minute walk distance in healthy subjects aged 55–75 years. *Respir Med*. (2006) 100:658–65. doi: 10.1016/j.rmed.2005.08.003
 71. Veni T, Boyas S, Beaune B, Bourgeois H, Rahmani A, Landry S, et al. Handgrip fatiguing exercise can provide objective assessment of cancer-related fatigue: a pilot study. *Support Care Cancer*. (2019) 27:229–38. doi: 10.1007/s00520-018-4320-0
 72. Kilgour RD, Vignano A, Trutschnigg B, Hornby L, Lucar E, Bacon SL, et al. Cancer-related fatigue: the impact of skeletal muscle mass and strength in patients with advanced cancer. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. (2010) 1:177–85. doi: 10.1007/s13539-010-0016-0
 73. Twomey R, Martin T, Temesi J, Culos-Reed SN, Millet GY. Tailored exercise interventions to reduce fatigue in cancer survivors: study protocol of a randomized controlled trial. *BMC Cancer*. (2018) 18:757. doi: 10.1186/s12885-018-4668-z
 74. Abrahams HJ, Gielissen MF, Schmits IC, Verhagen CA, Rovers MM, Knoop H. Risk factors, prevalence, and course of severe fatigue after breast cancer treatment: a meta-analysis involving 12 327 breast cancer survivors. *Ann Oncol*. (2016) 27:965–74. doi: 10.1093/annonc/mdw099
 75. Zick SM, Sen A, Wyatt GK, Murphy SL, Arnedt JT, Harris RE. Investigation of 2 types of self-administered acupressure for persistent cancer-related fatigue in breast cancer survivors: a randomized clinical trial. *JAMA Oncol*. (2016) 2:1470–6. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.1867
 76. Molassiotis A, Bardy J, Finnegan-John J, Mackereth P, Ryder DW, Filshie J, et al. Acupuncture for cancer-related fatigue in patients with breast cancer: a pragmatic randomized controlled trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. (2012) 30:4470–6. doi: 10.1200/JCO.2012.41.6222
 77. Mustian KM, Alfano CM, Heckler C, Kleckner AS, Kleckner IR, Leach CR, et al. Comparison of pharmaceutical, psychological, and exercise treatments for cancer-related fatigue: a meta-analysis. *JAMA Oncol*. (2017) 3:961–8. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.6914
 78. Storey DJ, McLaren DB, Atkinson MA, Butcher I, Frew LC, Smyth JF, et al. Clinically relevant fatigue in men with hormone-sensitive prostate cancer on long-term androgen deprivation therapy. *Ann Oncol*. (2012) 23:1542–9. doi: 10.1093/annonc/mdr447
 79. Steens A, Heersema DJ, Maurits NM, Renken RJ, Zijdevind I. Mechanisms underlying muscle fatigue differ between multiple sclerosis patients and controls: a combined electrophysiological and neuroimaging study. *NeuroImage*. (2012) 59:3110–8. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.11.038
 80. Harridge SD, Magnusson G, Gordon A. Skeletal muscle contractile characteristics and fatigue resistance in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J*. (1996) 17:896–901. doi: 10.1093/oxfordjournals.eurheartj.a014971
 81. Stewart GD, Skipworth RJE, Fearon KCH. Cancer cachexia and fatigue. *Clin Med Lond Engl*. (2006) 6:140–3. doi: 10.7861/clinmedicine.6-2-140
 82. Lobelo F, Stoutenberg M, Hutber A. The exercise is medicine global health initiative: a 2014 update. *Br J Sports Med*. (2014) 48:1627–33. doi: 10.1136/bjsports-2013-093080
 83. Lucia A, Earnest C, Pérez M. Cancer-related fatigue: can exercise physiology assist oncologists? *Lancet Oncol*. (2003) 4:616–25. doi: 10.1016/S1470-2045(03)01221-X
 84. Stene GB, Helbostad JL, Balstad TR, Riphagen II, Kaasa S, Oldervoll LM. Effect of physical exercise on muscle mass and strength in cancer patients during treatment—a systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol*. (2013) 88:573–93. doi: 10.1016/j.critrevonc.2013.07.001
 85. Partridge AH, Burstein HJ, Winer EP. Side effects of chemotherapy and combined chemohormonal therapy in women with early-stage breast cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr*. (2001) 30:135–42. doi: 10.1093/oxfordjournals.jncimonographs.a003451
 86. Mustian KM, Sprod LK, Palesh OG, Peppone LJ, Janelins MC, Mohile SG, et al. Exercise for the management of side effects and quality of life among cancer survivors. *Curr Sports Med Rep*. (2009) 8:325–30. doi: 10.1249/JSR.0b013e3181c22324

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2020 Mallard, Hucteau, Schott, Petit, Demarchi, Belletier, Ben Abdelghani, Carinato, Chiappa, Fischbach, Kalish-Weindling, Bousinière, Dufour, Favret, Pivot, Hureau and Pagano. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Travail supplémentaire 3 : étude de la fatigue neuromusculaire chez des patientes atteintes d'un cancer du sein et traitées par chimiothérapie

Implication personnelle

En tant que co-investigateur principal, j'ai participé à la conception de l'étude, au recrutement des patientes, à la demande d'autorisation auprès du comité de protection des personnes, à l'ensemble des évaluations neuromusculaires et à la réalisation des échographies musculaires. L'ensemble des analyses a été effectué par Elyse Hucteau. J'ai enfin participé à la relecture de l'article dont je suis deuxième auteur et qui est actuellement en révision dans *European Journal of Applied Physiology*.

Exacerbated central fatigue and reduced exercise tolerance in early breast cancer patients treated with chemotherapy

Elyse Hucteau, **Joris Mallard**, Xavier Pivot, Roland Schott, Carole Pflumio, Philippe Trenz, Fabrice Favret, Allan F. Pagano, Thomas J. Hureau

Article en revision dans *European Journal of Applied Physiology* (IF : 3.3)

Exacerbated central fatigue and reduced exercise capacity in early-stage breast cancer patients treated with chemotherapy

Elyse Hucteau^{1,2,3}, Joris Mallard^{1,2,3}, Xavier Pivot³, Roland Schott³, Carole Pflumio³,
Philippe Trenszt³, Fabrice Favret^{1,2}, Allan F Pagano^{1,2}, Thomas J Hureau^{1,2}

Authors contributions: EH, JM, XP, TJH and AFP conceived and designed research; EH, JM, TJH performed experiments; EH, JM and TJH analyzed data; EH, JM, XP, RS, CP, PT, FF, AFP and TJH interpreted results of experiments; EH and JM prepared figures; EH, JM and TJH drafted manuscript; EH, JM, XP, FF, AFP and TJH edited and revised manuscript; EH, JM, XP, RS, CP, PT, FF, AFP and TJH approved final version of manuscript.

¹University of Strasbourg, Faculty of Medicine, Mitochondria, oxidative stress, and muscular protection laboratory (UR 3072), Strasbourg, France.

²University of Strasbourg, Faculty of Sport Sciences, European Centre for Education, Research and Innovation in Exercise Physiology (CEERIPE), Strasbourg, France.

³Institute of Cancerology Strasbourg Europe (ICANS), Strasbourg, France.

Running head: Neuromuscular fatigue in early-stage breast cancer patients

Keywords: neuromuscular fatigue; central and peripheral fatigue; neuromuscular function; exercise tolerance; critical force.

Corresponding author:

Thomas J. Hureau

Faculté des Sciences du Sport

4 rue Blaise Pascal, CS 90032

FR-67081 Strasbourg Cedex

Email: t.hureau@unistra.fr

ABSTRACT

Introduction. The present study aimed to characterize the etiology of exercise-induced neuromuscular fatigue and its consequences on the force-duration relationship to provide mechanistic insights into the reduced exercise capacity characterizing early-stage breast cancer patients.

Method. Fifteen early-stage breast cancer patients and fifteen healthy women performed 60 maximal voluntary isometric quadriceps contractions (MVCs, 3s of contraction, 2s of relaxation). The critical force was determined as the mean force of the last six contractions, while W was calculated as the force impulse generated above the critical force. Quadriceps muscle activation during exercise was estimated from vastus lateralis, vastus medialis and rectus femoris EMG. Central and peripheral fatigue were quantified via changes in pre- to postexercise quadriceps voluntary activation (ΔVA) and quadriceps twitch force (ΔQ_{Tw}) evoked by supramaximal electrical stimulation, respectively.

Results. Early-stage breast cancer patients demonstrated lower MVC than controls preexercise (-15%, $P=0.022$), and this reduction persisted throughout the 60-MVC exercise (-21%, $P=0.002$). The absolute critical force was lower in patients than in controls (144 ± 29 N vs. 201 ± 47 N, respectively, $P<0.001$), while W was similar ($P=0.546$), resulting in lower total work done (-23%, $P=0.001$). This was associated with lower muscle activation in the vastus lateralis ($P<0.001$), vastus medialis ($P=0.003$) and rectus femoris ($P=0.003$) in patients. Immediately following exercise, ΔVA showed a greater reduction in patients compared to controls ($-21.6\pm 13.3\%$ vs. $-12.6\pm 7.7\%$, $P=0.040$), while ΔQ_{Tw} was similar ($-60.2\pm 13.2\%$ vs. $-52.8\pm 19.4\%$, $P=0.196$).

Conclusion. These findings support central fatigue as a primary cause of the reduction in exercise capacity characterizing early-stage breast cancer patients treated with chemotherapy.

INTRODUCTION

Cancer-related fatigue is defined as a subjective sense of tiredness related to cancer or its treatment that interferes with normal functions (1), and is assessed using self-report questionnaires (2,3). In breast cancer, it has been documented that cancer-related fatigue reached a 75% prevalence following the first cycle of chemotherapy (4), increased significantly during the first three months of adjuvant chemotherapy (5), and can persist for years after treatment completion (6). Importantly, cancer-related fatigue is directly associated with an impairment of the quality of life in patients with breast cancer (5,7). While the 5-year survival rate is currently 87% in patients with breast cancer (8), understanding and alleviating cancer-related fatigue is of particular interest to improve the quality of life of these patients.

Identified as a multifactorial symptom, cancer-related fatigue is determined by biological, demographic, psychosocial, behavioral and physiological factors (9,10). Among physiological factors, neuromuscular fatigue has been recently identified as a predictor of cancer-related fatigue in patients with breast cancer (11,13). Neuromuscular fatigue is quantified by the reduction of the muscle's ability to generate a force (14) that can be related to a failure of the central nervous system to voluntarily activate the muscle (*i.e.*, central fatigue) (15) and/or to biochemical changes within the active muscle leading to an attenuated response to neural output (*i.e.*, peripheral fatigue) (16).

Previous studies conducted on various cancer survivors found contrasting results with exacerbated fatigue from central or peripheral origin (17-24). However, if studies performed on cancer survivors are insightful in prescribing exercise or other interventions to improve their quality of life after treatment, it is also crucial to characterize patients' maladaptations to prescribe such interventions during treatment. Moreover, it is important to specifically target a cancer type, as cancers have very different symptoms, treatment options, and outcomes (25-27). To date, there is no study investigating neuromuscular fatigue immediately at treatment completion in patients with breast cancer.

In addition to neuromuscular alterations, a reduction in exercise capacity has also been associated with cancer-related fatigue (22,28). In this context, key parameters derived from the force–duration relationship, namely critical force and W' , provide a cohesive framework within which to investigate the mechanistic bases of neuromuscular fatigue and exercise capacity (29). Mathematically, critical force is defined as the asymptote of the hyperbolic force-duration relationship, whereas the curvature constant (W') represents the

fixed amount of force impulse that can be performed above critical force (30). Physiologically, critical force is associated with the greatest oxidative metabolic rate that can be sustained without a continuous reduction in W' (29). The magnitude of W' depletion is associated with the development of neuromuscular fatigue (29,31) and the loss of muscular efficiency (32). Of note, these parameters have only been investigated during handgrip exercise in cancer patients/survivors (11,12) but not exercising locomotor muscles such as the quadriceps, which would be more relevant to locomotion and activities of daily living (33).

Therefore, the present study aimed to characterize the etiology of exercise-induced quadriceps neuromuscular fatigue and to determine the parameters of the force-duration relationship in early-stage breast cancer patients at chemotherapy completion compared to well-matched healthy controls. It was hypothesized that patients would develop exacerbated neuromuscular fatigue compared to their healthy counterparts due to elevated cancer-related fatigue. Consequently, exercise capacity (*i.e.*, total work done) would be lower in patients than in controls, and characterized by a reduction in both W' and absolute critical force.

METHODS

Participants

Fifteen patients with breast cancer were included in the study (patient group). Eligibility criteria included French-speaking, nonpregnant, ≥ 18 years old, women with Scarff-Bloom-Richardson grade I – III and early-stage breast cancer, WHO performance status between 0-2, within two weeks after completion of (neo)adjuvant taxane-based chemotherapy. Women were excluded if they had psychiatric, musculoskeletal, or neurological disorders.

Fifteen healthy volunteer women (control group) were matched to the characteristics of the breast cancer group regarding age, weight, height, and physical activity level. Eligibility and exclusion criteria were the same as those identified in the patient group except for criteria related to breast cancer status. Indeed, participants from the control group had no history of cancer or another chronic disease.

The characteristics of the participants included in the present study (NCT04639609) are presented in Table 1. All participants provided written informed consent before enrollment, and the study was conducted in accordance with both the Declaration of Helsinki and the ethics approval received from the national ethics committee (2020-A01272-37).

Experimental protocol

All participants carried out the experimental protocol, conducted as follows: (1) familiarization with isometric knee extensor contractions and the associated experimental procedures, (2) neuromuscular function evaluation (*i.e.*, preexercise), (3) the exercise task, (4) neuromuscular function evaluation throughout 10 min of recovery (*i.e.*, postexercise) (Figure 1).

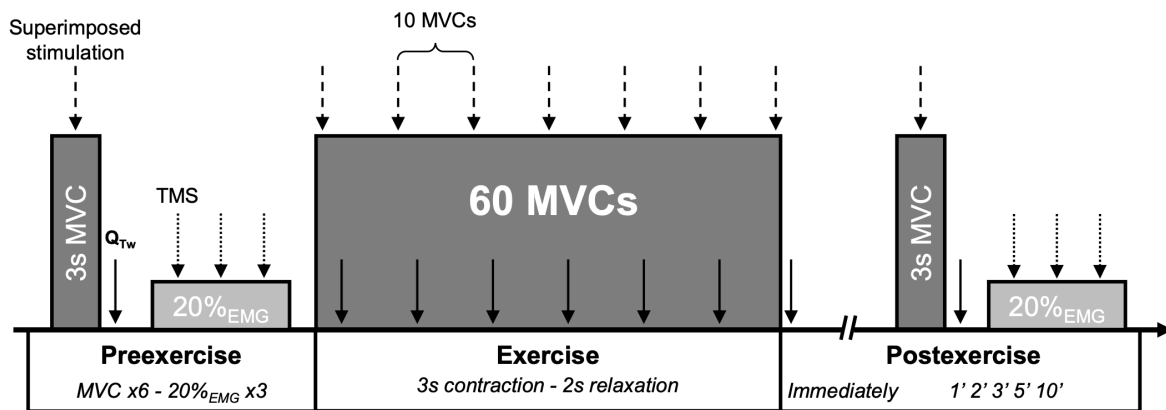


Figure 1: Schematic illustration of the experimental protocol. Neuromuscular assessments were performed on knee extensors. Electrical femoral nerve stimulations were delivered during (dashed arrow) and after maximal voluntary contractions (MVCs) (solid arrow, Q_{tw}). Transcranial magnetic stimulations (TMS) were delivered during a 20% EMG-RMS submaximal contraction (dotted arrow) to quantify corticospinal excitability.

Neuromuscular function was investigated with femoral electrical nerve and transcranial magnetic stimulations. After a standardized warm-up including submaximal isometric knee extensor contractions, participants were asked to perform six 3 s-MVCs, separated by 30 s recovery to ensure full potentiation. Further attempts were made if the variability in MVC exceeded 5%. Stimulations were applied both during (superimposed twitch) and 1 s after (potentiated resting twitch, Q_{tw}) each MVC to assess voluntary quadriceps activation and muscle contractile properties, respectively. For all attempts, strong verbal encouragement was given. Corticospinal excitability was measured during submaximal voluntary isometric contraction corresponding to 20% of each participant's maximal EMG root mean square (EMG-RMS) output (obtained from MVC). Three sets of 3 transcranial magnetic stimulations were performed.

Participants were then required to perform a fatiguing task consisting of 60 MVCs over a 5 min period (3 s contraction, 2 s relaxation) with strong verbal encouragement. A target line was set on the computer screen at 100% MVC to maximize performance, and an audio recording cued the start and stop of each MVC to follow the required duty cycle. Superimposed and potentiated resting electrical stimulations were elicited at first and every ten contractions to investigate neuromuscular fatigue development throughout exercise. No magnetic stimulation was applied during the 60-MVC protocol.

After the fatiguing task, neuromuscular function was assessed immediately and at 1, 2, 3, 5, and 10 min to quantify recovery. MVC was performed with superimposed and

potentiated resting twitches for each set, followed by a 20% EMG-RMS submaximal contraction with 3 superimposed transcranial magnetic stimulations.

Experimental procedures

Force and electromyogram recording

Participants were tested in a seated position. The lower right leg was strapped above the ankle to an ergometer connected to a force transducer. The quadriceps force of the right leg obtained from both evoked and voluntary contractions was collected using a calibrated force transducer (Force sensor kit, Chronojump, Barcelona, Spain). Surface electromyogram (EMG) recording electrodes (Ag-AgCl, 32x32 mm) were placed bilaterally over the vastus lateralis (VL), vastus medialis (VM), rectus femoris (RF), and biceps femoris (BF) according to the SENIAM-recommended guidelines. EMG recordings were bandpass filtered (1 kHz – 10 Hz) and amplified with an isolated differential amplifier (Octal Bio Amp, AD Instruments, Bella Vista, New South Wales, Australia). Electromyographic and mechanical signals were collected simultaneously at a sampling rate of 2000 Hz in LabChart Software (AD Instruments, Bella Vista, New South Wales, Australia, Version 8). During the 60-MVC protocol, VL, VM, and RF muscle activation was calculated with RMS on EMG signals. RMS was determined for each contraction over a 500-ms interval corresponding to the peak force.

Electrical femoral nerve stimulation

A high-voltage (400 V) Digitimer stimulator (Model DS7-AH, Digitimer Ltd., Hertfordshire, UK) was used to generate single electrical stimulations (rectangular pulses of 200 μ s duration). Electrical stimulations were applied to the femoral nerve to evoke quadriceps contractions. The cathode (32 mm diameter, Valu Trode, CF3200 models, Denmark) was positioned over the inguinal space on the femoral nerve and the anode (90x50 mm, Valu Trode, 895240 models, Denmark) in the gluteal fold. A recruitment curve was performed to determine the optimum stimulation intensity with increasing intensity at 10 mA initiated from 50 mA until maximal single twitch peak force (Q_{tw}) and compound muscle action potential (M-wave) were achieved. The maximal intensity was reached when no increase in Q_{tw} and M-wave (M_{max}) was observed between the two stimulation intensities. A supramaximal stimulation intensity (*i.e.*, 120% of the maximal stimulation intensity) was used to guarantee the complete recruitment of motor units.

Transcranial magnetic stimulation

A transcranial magnetic stimulator (Magstim 200², The Magstim Company Ltd, Dyfed, UK) was used to generate magnetic stimulation via a double-cone coil (diameter of 130 mm). Intensities are expressed as a percentage and function of the maximum output intensity (1.4 T). Stimulations were applied to the left motor cortex to evoke motor evoked potentials (MEPs) in the right quadriceps with the current flowing posterior to anterior direction. Coil position was determined by applying stimulations at 50% during 20% EMG-RMS isometric contraction registered from the quadriceps MVC. The optimal position, where the greatest possible MEP in the VL and the lowest in the BF (<15% of raw VL MEP amplitude), was marked directly on the scalp for reproducibility during the experimental session. Then, the stimulation intensity was determined by the active motor threshold. Thus, the motor threshold was the minimum stimulus intensity required to elicit a MEP (more than 50 μ V in 50% of trials) during 20% EMG-RMS isometric contraction. The stimulator intensity was set to 120% of the active motor threshold to ensure a clear MEP.

Complementary assessments

Muscle architecture

The muscle architecture of the VL was investigated using an ultrasound scanner (Toshiba Aplio XV; Toshiba Medical Systems, Tochigi, Japan) with a 58 mm linear probe (PLT-805AT 8.0-MHz). The participant was lying down with the knee in the extended position and muscles relaxed. A water-soluble transmission gel was applied to the scanning head of the probe. The probe was placed perpendicular and longitudinally to the skin at 62.5% of the distance between the anterior superior iliac spine and the lateral condyle of the femur. Five ultrasound images were taken and stored. Images were then analyzed using ImageJ (version 1.8.0, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). Muscle thickness, pennation angle, and fascicle length were determined using a validated methodology (34). For each variable, five different images were analyzed by two independent investigators, and these data were averaged to ensure reliability.

Body composition

Body mass, body mass index, fat-free mass, fat mass, and skeletal muscle mass were quantified using a validated bioelectrical impedance meter (SECA mBCA 515, SECA, Hamburg, Germany).

Physical activity level, quality of life and cancer-related fatigue

Physical activity level was assessed using the GPAQ questionnaire version 2. Quality of life was self-assessed using the FACT-G in patients and the FACT-GP in controls (items

related to illness or treatment were removed for healthy participants). Cancer-related fatigue was specifically assessed using the FACIT-F subscale.

Data analysis

The critical force during the 60-MVC protocol was the mean force recorded over the last six MVCs, while W was calculated as the total force impulse generated above the critical force. The total work done was also determined and calculated as the total force impulse generated during the 60-MVC protocol. Q_{tw} was calculated as the force amplitude between the baseline signal and the highest force value of the evoked potentiated twitch. Moreover, the following parameters of potentiated resting twitch, as indicators of muscle contractile properties, were also calculated: contraction time (CT), which is the time from the start of the contraction to Q_{tw} ; half relaxation time (HRT), which is the time from Q_{tw} to 50% decline in Q_{tw} ; maximal rate of force development (MRFD), which is the steepest rate of torque development (*i.e.*, highest positive derivative of the torque for an interval of 10 ms between two cursors placed on either side of the torque rise). Voluntary activation was calculated using the twitch interpolation method (Merton, 1954), with the amplitude of the superimposed twitch (SIT) and Q_{tw} , using the following formula: Voluntary activation (%) = $[1 - (SIT \div Q_{tw}) \times 100]$. The peak-to-peak amplitudes of M_{max} and MEP were measured between maximum and minimum values for the electromyographic signals. To account for any alteration of muscle sarcolemma excitability and variability associated with EMG measurements (Lepers *et al.*, 2002), the amplitude of each MEP was normalized to concomitant M_{max} ($MEP \cdot cM_{max}^{-1}$), and RMS data were then normalized to the root mean square recorded during pre-exercise MVCs ($RMS\%MVC$).

Statistical analysis

The sample size calculation was based on a previous investigation documenting MVC in breast cancer patients at the end of the adjuvant treatment compared to healthy controls (P. R. L. Gomes *et al.*, 2014). Assuming an effect size of 0.96, $\alpha = 0.05$, and $\beta = 0.8$, the minimum number of participants required to establish a significant difference in maximal voluntary force between groups was calculated at fifteen per group (G*power, version 3.1.9.4).

All statistical tests and graphs were generated with GraphPad Prism version 8 software (GraphPad Software, San Diego, California, USA). Data are presented as the means \pm SD. The Shapiro–Wilk test and the Levene test were used to check for normality and

variance homogeneity of the data, respectively. Paired-samples t-tests were used to compare participants' characteristics (age, height, body mass, body mass index, fat-free mass, fat mass, and skeletal muscle mass), muscle architecture (muscle thickness, pennation angle, and fascicle length), questionnaires scores (*i.e.*, GPAQ, FACT-G, and FACIT-F), mechanical parameters (critical force, W , and total work done) and neuromuscular function parameters (*i.e.*, MVC, $\text{RMS}\%_{\text{MVC}}$, Q_{tw} , voluntary activation, M_{max} , $\text{MEP}\cdot\text{cM}_{\text{max}}^{-1}$) between groups. Two-way ANOVAs with repeated measures (group \times time) were used to compare fatigue parameters (*i.e.*, MVC, $\text{RMS}\%_{\text{MVC}}$, Q_{tw} , voluntary activation, CT, HRT, MRFD, M_{max} , $\text{MEP}\cdot\text{cM}_{\text{max}}^{-1}$). Multiple comparison analysis was performed with the Sidak post hoc test when a significant difference was found. Statistical significance was set at $P < 0.05$.

RESULTS

Patients and healthy controls were matched for age, weight, height, and physical activity level (Table 1). Moreover, fat-free mass ($P = 0.539$), fat mass ($P = 0.838$) and skeletal muscle mass ($P = 0.262$) were not different between the two groups.

Table 1: Participants' characteristics.

	Patients (<i>n</i> =15)	Controls (<i>n</i> =15)	<i>P</i> value
Characteristic (mean ± SD)			
Age, year	47 ± 9	47 ± 8	0.948
Body mass, kg	72 ± 13	73 ± 14	0.839
Height, cm	165 ± 6	167 ± 5	0.399
Body mass index, kg/m ²	26 ± 4	26 ± 5	0.830
Physical activity level, MET-min/week	1191 ± 504	1108 ± 530	0.573
Tumor stage (n)			
2	9	-	-
3	6	-	-
Tumor SBR grade (n)			
I	1	-	-
II	9	-	-
III	5	-	-
Tumor type (n)			
Triple negative	7	-	-
Luminal (A/B)	7	-	-
HER2+++	1	-	-
Treatment setting (n)			
Adjuvant	6	-	-
Neo-adjuvant	9	-	-

HER2, human epidermal growth factor receptor 2; SBR, Scarff-Bloom-Richardson grade.

Preexercise neuromuscular function

Preexercise MVC values did not differ from the first MVC of the exercise (patients: 303 ± 54 N vs. 297 ± 56 N, $P = 0.732$; controls: 368 ± 89 N vs. 365 ± 87 N, $P = 0.919$), indicating no pacing strategy by the participants at the start of the 60-MVC protocol. Preexercise, MVC was lower in patients than in controls ($-15 \pm 18\%$, $P = 0.022$). Preexercise VA was not different between groups ($P = 0.589$), as well as $\text{RMS}_{\%MVC}$ for the three muscle groups (VL: $P = 0.853$; VM: $P = 0.407$; RF: $P = 0.504$). Q_{tw} ($P = 0.523$) and its associated mechanics (CT, $P = 0.782$; HRT, $P = 0.179$; and MRFD, $P = 0.637$) were not different between groups, while M-wave amplitudes were lower in patients than controls (Table 2). VL and RF $\text{MEP} \cdot \text{cM}_{\max}^{-1}$ were higher, and VM $\text{MEP} \cdot \text{cM}_{\max}^{-1}$ was similar in patients compared to controls (Table 2).

Table 2: Neuromuscular function of the quadriceps pre- and postexercise in patients and healthy controls.

	Patients (<i>n</i> =15)		Controls (<i>n</i> =15)		<i>Effects</i>
	Preexercise	Postexercise	Preexercise	Postexercise	
CT, ms	110 ± 10	109 ± 14	105 ± 7	101 ± 10	Time <i>P</i> = 0.006 Group <i>P</i> = 0.152 Interaction <i>P</i> = 0.133
HRT, ms	60 ± 21	55 ± 25	83 ± 14	59 ± 19	Time <i>P</i> = 0.016 Group <i>P</i> = 0.902 Interaction <i>P</i> = 0.581
MRFD, N.s ⁻¹	4185 ± 1042	1387 ± 667	4303 ± 942	1831 ± 1339	Time <i>P</i> < 0.001 Group <i>P</i> = 0.166 Interaction <i>P</i> = 0.734
M_{max}					
VL M _{max} , mV	7.7 ± 2.1	7.9 ± 2.2	11.4 ± 2.8	11.7 ± 3.1	Time <i>P</i> = 0.572 Group <i>P</i> < 0.001 Interaction <i>P</i> = 0.999
VM M _{max} , mV	6.7 ± 3.3	6.7 ± 3.5	10.9 ± 3.7	10.4 ± 4.8	Time <i>P</i> = 0.464 Group <i>P</i> = 0.008 Interaction <i>P</i> = 0.776
RF M _{max} , mV	3.2 ± 1.1	3.3 ± 1.1	4.4 ± 1.4	4.8 ± 1.9	Time <i>P</i> = 0.049 Group <i>P</i> = 0.024 Interaction <i>P</i> = 0.829
MEP.cM_{max}⁻¹					
VL MEP.cM _{max} ⁻¹	0.25 ± 0.12	0.26 ± 0.10	0.18 ± 0.08	0.20 ± 0.14	Time <i>P</i> = 0.035 Group <i>P</i> = 0.410 Interaction <i>P</i> = 0.907
VM MEP.cM _{max} ⁻¹	0.25 ± 0.16	0.25 ± 0.14	0.20 ± 0.12	0.25 ± 0.23	Time <i>P</i> = 0.002 Group <i>P</i> = 0.562 Interaction <i>P</i> = 0.929
RF MEP.cM _{max} ⁻¹	0.39 ± 0.17	0.44 ± 0.19	0.27 ± 0.16	0.32 ± 0.19	Time <i>P</i> = 0.012 Group <i>P</i> = 0.519 Interaction <i>P</i> = 0.859

Data are presented as means ± SD. CT, contraction time; HRT, half-relaxation time, MRFD, maximal rate of force development, VL, vastus lateralis; VM, vastus medialis; RF, rectus femoris; MEP: motor evoked potential; MEP.cM_{max}⁻¹, MEP normalized to concomitant M_{max}.

60-MVC protocol

Force

The profile of quadriceps force output during the 60 MVCs and the subsequent 10 min recovery period is shown in Figure 2. When expressed as absolute values (Figure 2A), a significant group effect was found, indicating lower MVCs in patients than in controls throughout the exercise (-21 ± 24%, *P* = 0.002). No interaction (group × time) effect was

found, indicating that MVCs were shifted downward in patients compared to controls. When MVC data were normalized to preexercise (Figure 2B), no group or interaction (group \times time) effects were observed, indicating that patients and controls displayed similar neuromuscular fatigue development (Δ MVCs: $-51.6 \pm 11.1\%$ vs. $-46.4 \pm 7.5\%$, respectively, $P = 0.126$). Similar to the results during exercise, no group or interaction effect was observed for MVCs during recovery when data were normalized to preexercise (Figure 2B), indicating similar recovery capacity between patients and controls. However, while absolute MVCs were lower throughout exercise, they remained lower during recovery in patients than in controls (Figure 2A). In both groups, MVC remained lower preexercise than 10 min postexercise (patients: $-13.6 \pm 11.8\%$, $P = 0.003$; controls: $-15.6 \pm 12.1\%$, $P = 0.018$) (Figure 2B).

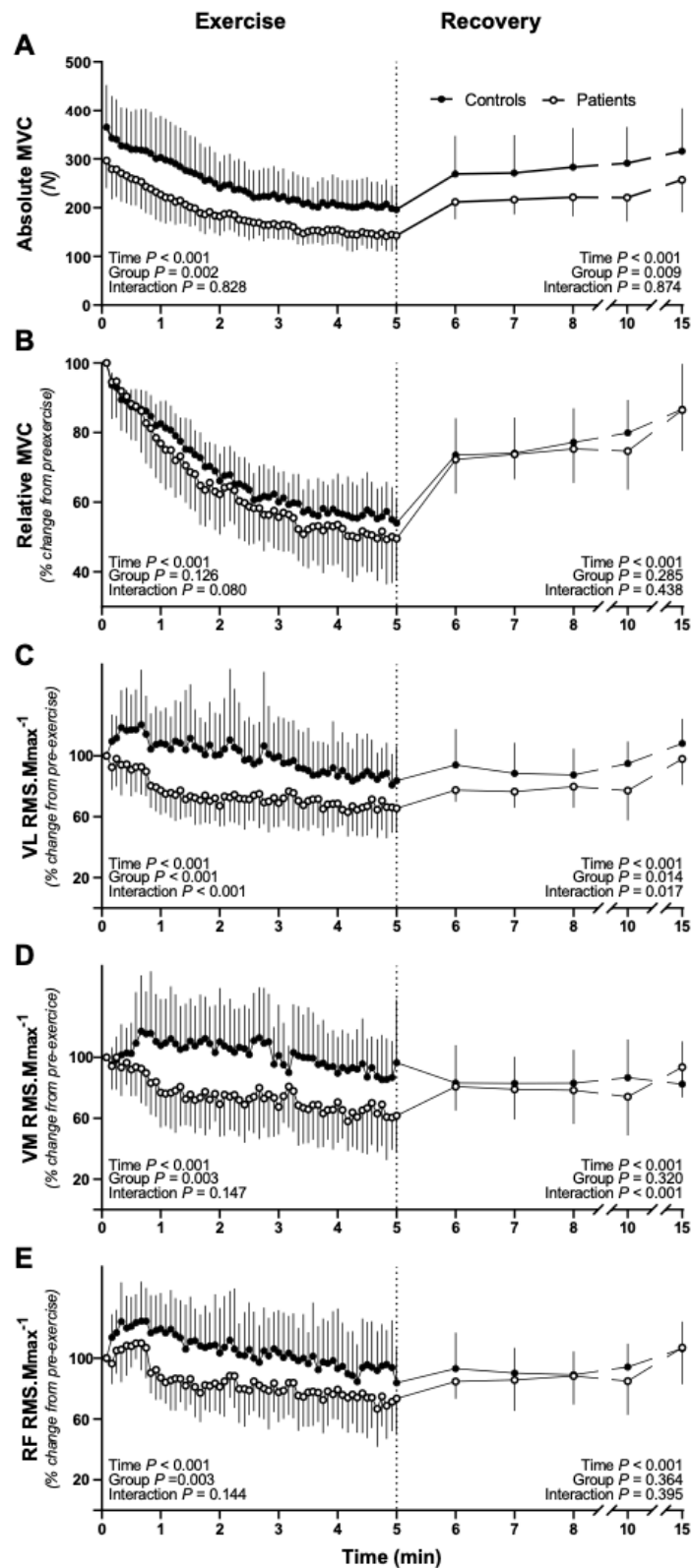


Figure 2: Quadriceps maximal voluntary force (MVC) and muscle activation during the 60-MVC protocol and during recovery. Data are presented as the means \pm SD. MVC is expressed in absolute units (A) and as a percentage of preexercise (B). Vastus lateralis (C), vastus medialis (D) and rectus femoris (E) muscle activation are expressed as a percentage from preexercise.

Electromyography

Changes in VL, VM, and RF RMS_{%MVC} during exercise are shown in Figure 2. Similar to the force output, RMS_{%MVC} decreased during the exercise protocol in both groups ($P < 0.001$). A significant group effect was found, indicating lower muscle activation in patients than controls throughout exercise for VL, VM, and RF RMS_{%MVC}. During recovery, no between-group differences were found in RMS_{%MVC}. Pre- and postexercise VL, VM, and RF M_{max} amplitudes are shown in Table 2. During the 60-MVC protocol, no alteration in VL and VM M_{max} amplitudes was observed, while RF M_{max} amplitude increased ($P = 0.049$). There was a group effect for the three muscle groups (VL: $P < 0.001$; VM: $P < 0.001$; RF: $P = 0.024$), indicating that M_{max} amplitudes remained lower throughout exercise in patients than in controls (Table 2).

Central fatigue

During exercise, voluntary activation significantly decreased over time in both groups ($P < 0.001$). Moreover, significant group and interaction (group \times time) effects were found for voluntary activation (Figure 3A). Specifically, the decrease in voluntary activation was greater in patients than in controls ($-21.6 \pm 13.3\%$ vs. $-12.6 \pm 7.7\%$, respectively, $P = 0.040$), indicating exacerbated central fatigue in patients. During recovery, a significant interaction (group \times time) effect was found, indicating different recovery kinetics in voluntary activation between patients and controls (Figure 3A). In particular, voluntary activation returned to preexercise levels after 10 min of recovery in controls ($P = 0.122$), while it did not return to preexercise values after 10 min of recovery in patients ($-5.4 \pm 5.6\%$, $P = 0.029$). VL, VM, and RF MEP.cM_{max}⁻¹ increased following exercise in both groups, with no group or interaction effect, indicating no difference in corticospinal excitability between patients and controls (Table 2).

Peripheral fatigue

During exercise, Q_{tw} significantly decreased over time ($P < 0.001$), but there was no group or interaction (*i.e.*, group \times time) effect found (Figure 3B), indicating a similar level of peripheral fatigue between patients and controls (ΔQ_{tw} : $-60.2 \pm 13.2\%$ vs. $-52.8 \pm 19.4\%$, respectively, $P = 0.196$). That said, Q_{tw} gradually decreased from the first to the 20th MVC in patients and from the first to the 30th MVC in controls. Thereafter, Q_{tw} plateaued for both groups until the last MVC of the trial. Similarly, the contractile properties of Q_{tw} (*i.e.*, CT, HRT, and MRFD) decreased during exercise, with no difference between patients and controls (Table 2). Similar to MVCs, Q_{tw} recovery was not different between groups and

remained lower compared to preexercise 10 min postexercise (patients: $-43.3 \pm 6.8\%$, $P < 0.001$; controls: $-43.1 \pm 8.0\%$, $P < 0.001$) (Figure 3B).

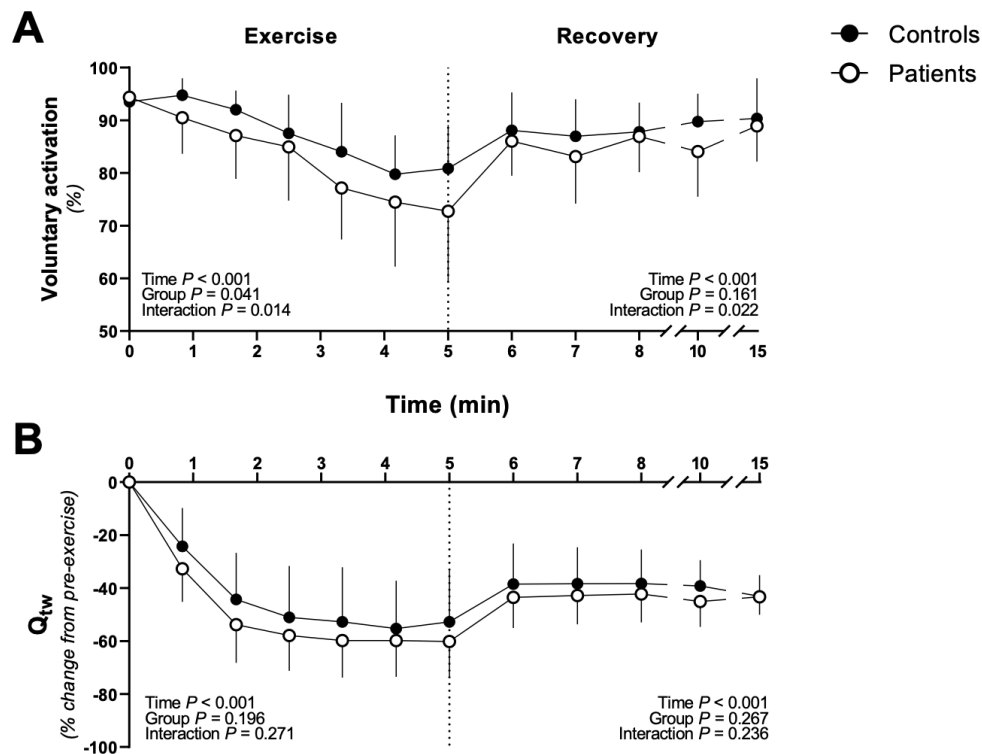


Figure 3: The development of peripheral and central fatigue during the 60-MVC protocol and during recovery. Data are presented as the means \pm SD. Panels A and B show changes in voluntary activation and Q_{tw} throughout exercise and recovery, respectively. Patients are presented in white circles, and controls are presented in black circles. Q_{tw} : quadriceps twitch force.

Parameters associated with the force-duration relationship

As displayed in Figure 4A, the absolute critical force was $24 \pm 24\%$ lower in patients than in controls (144 ± 29 N vs. 201 ± 47 N, respectively, $P < 0.001$) and represented $50 \pm 12\%$ and $56 \pm 8\%$ of the MVC, respectively ($P = 0.116$, Figure 4B). As illustrated in Figure 4C, W' was not different between groups (patients: 4869 ± 3122 N.s; controls: 5590 ± 3331 N.s, $P = 0.546$). As shown in Figure 4D, total work done was $23 \pm 22\%$ lower in patients than in controls (25972 ± 5199 N.s vs. 36244 ± 8497 N.s, respectively, $P = 0.001$).

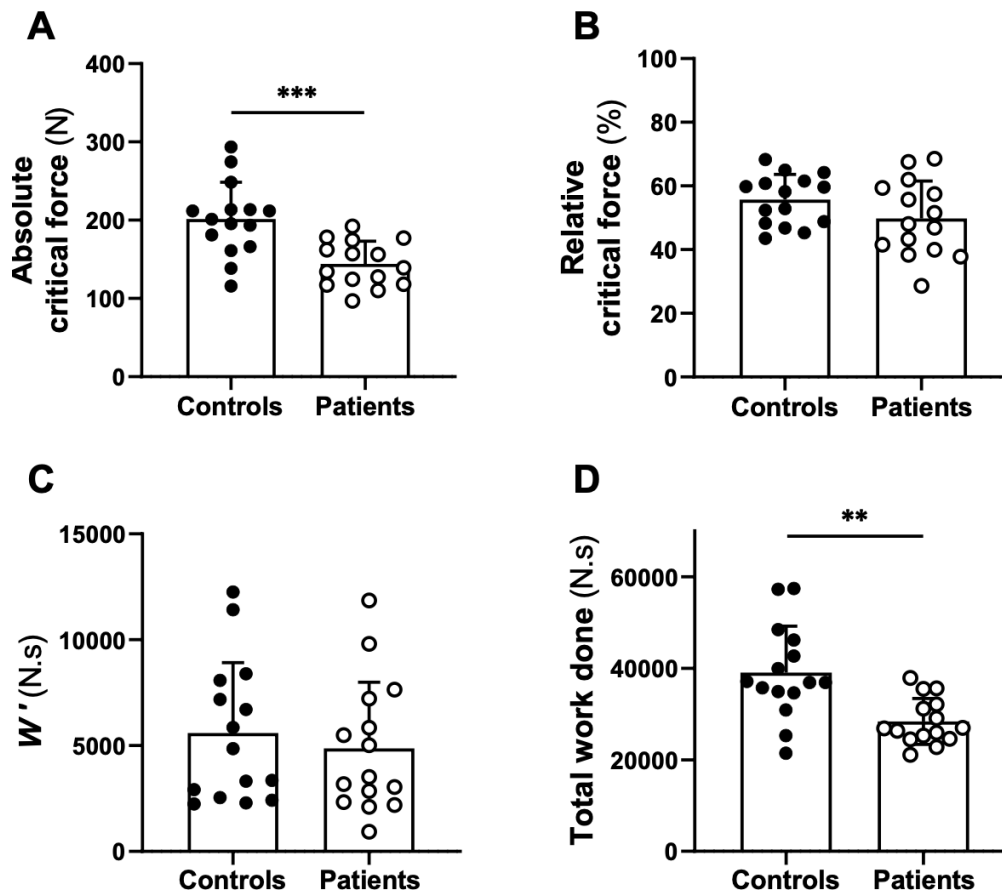


Figure 4: Parameters of the force-duration relationship. Critical force is expressed in absolute units (A) and normalized as a percent of preexercise (B). W' is the work performed above critical force (C) and total work done (D) is the total work of the task. Data are presented as the means \pm SD, and individual values are presented with black circles for controls and white circles for patients. ** Significant difference between groups ($P < 0.01$); *** Significant difference between groups ($P < 0.001$).

Muscle architecture

As illustrated in Figure 5, muscle thickness was lower in patients than controls ($-13.4 \pm 14.8\%$, $P = 0.004$), while no difference was observed between groups for pennation angle ($P = 0.515$) and fascicle length ($P = 0.362$).

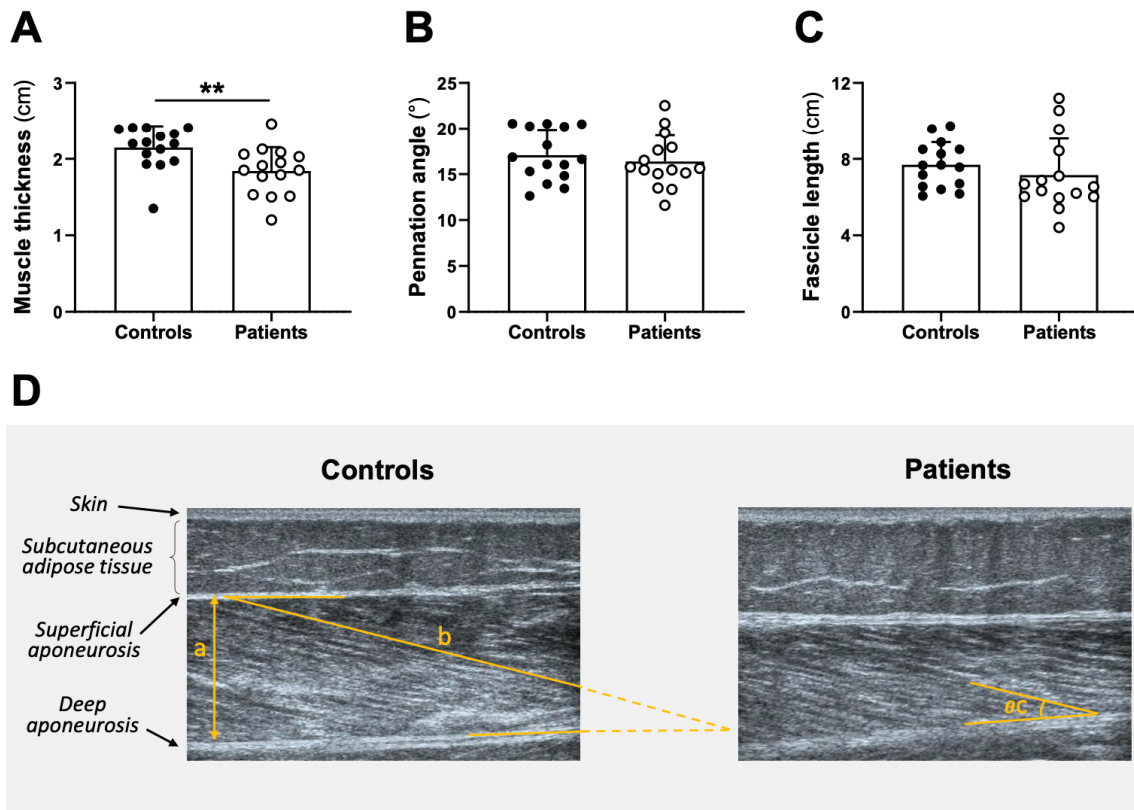


Figure 5: Muscle architecture of the vastus lateralis investigated by ultrasonography. Muscle thickness (A), fascicle length (B), and pennation angle (C) were measured in controls (black circles) and patients (white circles). Example of ultrasound images of the vastus lateralis in a representative patient and her matched healthy control (D) showing analyses of muscle architecture (a, muscle thickness; b, fascicle length; c, pennation angle). Data are presented as the means \pm SD, and individual values are presented with black circles for controls and white circles for patients. ** Significant difference between groups ($P < 0.01$).

Cancer-related fatigue and quality of life

Scores of cancer-related fatigue and quality of life are reported in Table 3. The FACIT-F score was significantly lower in patients than in controls ($P < 0.001$). Each item for quality of life was lower in patients than controls (all $P < 0.01$), except for social well-being.

Table 3: Quality of life and perceived fatigue in patients and healthy controls.

	Patients (n=15)	Controls (n=15)	<i>P value</i>
FACT-G	78 ± 12	101 ± 12	< 0.001
Physical well-being	19 ± 6	32 ± 1	0.001
Social well-being	22 ± 6	22 ± 5	0.660
Emotional well-being	20 ± 3	26 ± 5	0.001
Functional well-being	17 ± 3	21 ± 5	0.007
FACIT-F	32 ± 11	47 ± 4	< 0.001
Total Score	110 ± 21	148 ± 15	< 0.001

Data are presented as means ± SD. FACT-G, functional assessment of cancer therapy – general; FACIT-F, functional assessment of chronic illness therapy – fatigue.

DISCUSSION

The present study aimed to characterize the etiology of exercise-induced neuromuscular fatigue and its consequences on the force-duration relationship to provide new mechanistic insights into the reduced exercise capacity characterizing patients with early-stage breast cancer. Compared to well-matched healthy controls, patients displayed a ~23% reduction in total work done at chemotherapy completion as a consequence of a lower maximal force and absolute critical force but similar W^* . Importantly, this substantial impairment in exercise capacity was associated with exacerbated central fatigue during exercise in patients compared to their healthy counterparts, while peripheral fatigue was similar. Therefore, the current findings support central fatigue as a primary cause of the reduction in exercise capacity characterizing early-stage breast cancer patients treated with chemotherapy.

Exacerbated central fatigue in breast cancer patients

The present study demonstrated that central fatigue, as evidenced by the reduction in voluntary activation measured immediately at exercise cessation, was exacerbated in patients with breast cancer compared to their healthy counterparts. This result is supported by previous research suggesting, through deductive inferences (*i.e.*, central fatigue was not directly measured), that neuromuscular fatigue was from central origin in solid cancer survivors (17-20). Mechanistically, greater central fatigue was not explained in the present study by reduced corticospinal excitability, as evidenced by no difference between groups (Table 2). However, it is important to note that several studies documented a dissociation between voluntary activation and corticospinal excitability (38,39). Therefore, the lack of a net effect on corticospinal excitability does not necessarily designate the absence of change but a counterbalance of excitatory and inhibitory influences on the corticospinal pathway (40).

Importantly, greater central fatigue was observed in patients, while peripheral fatigue was similar compared to controls. Taken together, and given the tight relationship between intramuscular metabolic perturbation and peripheral fatigue (41), these results suggest overactive group III/IV muscle afferent feedback in patients with breast cancer, a phenomenon that has already been evidenced in other chronic diseases (42,43). Indeed, metabo- and mechanosensitive group III/IV sensory neurons project from skeletal muscles to the central nervous system and promote central fatigue during intense exercise to restrict peripheral fatigue and protect the exercising muscles from severe threats to muscle

homeostasis (44,45). Moreover, we also found late recovery in central fatigue in patients, as shown by the incomplete voluntary activation recovery 10 min postexercise, which might also be related to impairments in group III/IV muscle afferents (46). Further studies specifically investigating group III/IV muscle afferent feedback in patients with breast cancer are needed to evaluate whether this mechanism is involved in the central maladaptations observed in the present study.

Peripheral fatigue in breast cancer patients

The observation of similar peripheral fatigue between patients and controls does not rule out the presence of peripheral alterations subsequent to chemotherapy. First, patients with breast cancer displayed a ~15% reduction in MVC at baseline compared to their healthy counterparts, indicating significant skeletal muscle deconditioning. Indeed, our results showed reduced skeletal muscle mass, as evidenced by lower vastus lateralis muscle thickness measured via ultrasonography, which is supported by a previous study showing a reduced muscle cross-sectional area in breast cancer patients compared to healthy controls via vastus lateralis muscle biopsies (47). In addition to this lower muscle quantity, impairments in muscle quality have been previously identified in breast cancer patients, such as a reduction in mitochondrial content (47-49). Therefore, profound changes in both muscle quantity and quality are likely responsible for the reduction in MVC observed in patients compared to controls. Second, observation of similar peripheral fatigue in the face of lower force capacity (MVC) in patients compared to controls suggests that they are not devoid of peripheral alterations. Indeed, in the absence of disease, the weaker an individual is, the lower his or her neuromuscular fatigue (50,51). Therefore, for a given task, such as the 60-MVC exercise protocol selected in the present study, where relative intensity and exercise duration are matched between groups, our weak patients should have developed less peripheral fatigue than their stronger healthy counterparts. Interestingly, a recent study investigated the determinants of cancer-related fatigue by separating fatigued and nonfatigued cancer survivors into two groups based on a clinical cutoff point (21). This study documented that clinically fatigued patients experienced more peripheral fatigue during cycling exercise than those reporting no clinical fatigue. In support of the present study, this investigation demonstrates the existence of peripheral alterations in breast cancer survivors. However, those results contrast with those of the present study, as they report no difference in central fatigue between groups. This discrepancy between studies might be explained by the difference in the populations investigated (*i.e.*, fatigued and nonfatigued patients *vs.*

patients and healthy controls) and/or the exercise modality utilized to induce neuromuscular fatigue (whole-body cycling vs. single-leg extension).

Exercise capacity in breast cancer patients

Patients showed a substantial reduction in exercise capacity at chemotherapy completion compared to their healthy counterparts. In this context, the 60-MVC exercise protocol was selected to provide a cohesive framework within which to investigate the mechanistic bases of this impairment in exercise capacity. Indeed, the reduced exercise capacity observed in early breast cancer patients, evidenced by a ~23% reduction in total work done, was characterized by lower maximal force and absolute critical force but similar W' . In other words, we observed a downward shift in the MVC curve in patients (Figure 2). As a consequence, when expressed relative to maximal force (*i.e.*

., preexercise MVC), the critical force was similar in patients and controls, indicating that early breast cancer led to a proportional reduction in exercise capacity in the severe and the heavy intensity domains (29). However, we also documented a ~24% reduction in absolute critical force in patients compared to controls (Figure 4), which highlights the magnitude of the reduction of the greatest metabolic rate that results in wholly oxidative energy provision (29). In contrast, we found a similar magnitude of W' between groups, a parameter that has been associated with the development of neuromuscular fatigue (29,31) and the loss of muscular efficiency (32). Therefore, these results provide novel insights from a bioenergetics perspective into the reduction in exercise capacity characterizing patients with early breast cancer.

Conclusion

The present study provides new mechanistic insights into the etiology of exercise-induced neuromuscular fatigue and its consequences on the force-duration relationship in early-stage breast cancer patients at chemotherapy completion. Patients demonstrated a substantial reduction in exercise capacity, evidenced by a lower total work done, and characterized by a lower maximal force and absolute critical force but similar W' . Importantly, this impaired exercise capacity was associated with exacerbated central fatigue during exercise in patients compared to their healthy counterparts, while peripheral fatigue was similar. Therefore, the current findings support central fatigue as a primary cause of the reduced exercise capacity characterizing early-stage breast cancer patients treated with chemotherapy. Further studies are needed to elucidate the specific mechanisms responsible

for the development of this exacerbated level of central fatigue. Moreover, studies focusing on supportive care to counteract this maladaptation are also of interest to alleviate, at least in part, cancer-related fatigue, the most common symptom in cancer patients.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Institute of Cancerology Strasbourg Europe (ICANS) and by the initiative of excellence IdEx Unistra (ANR-10-IDEX-0002-02) from the French national program ‘investment for the future’.

DISCLOSURES

The authors report no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Mock V. Fatigue management: evidence and guidelines for practice. *Cancer* 92: 1699–1707, 2001. doi: 10.1002/1097-0142(20010915)92:6+<1699::aid-cncr1500>3.0.co;2-9.
2. Al Maqbali M, Hughes C, Gracey J, Rankin J, Dunwoody L, Hacker E. Quality assessment criteria: psychometric properties of measurement tools for cancer related fatigue. *Acta Oncol* 58: 1286–1297, 2019. doi: 10.1080/0284186X.2019.1622773.
3. Jacobsen PB. Assessment of fatigue in cancer patients. *J Natl Cancer Inst Monographs* : 93–97, 2004. doi: 10.1093/jncimonographs/lgh010.
4. Peoples AR, Roscoe JA, Block RC, Heckler CE, Ryan JL, Mustian KM, Janelins MC, Peppone LJ, Moore DF, Coles C, Hoelzer KL, Morrow GR, Dozier AM. Nausea and disturbed sleep as predictors of cancer-related fatigue in breast cancer patients: a multicenter NCORP study. *Support Care Cancer* 25: 1271–1278, 2017. doi: 10.1007/s00520-016-3520-8.
5. Binotto M, Reinert T, Werutsky G, Zaffaroni F, Schwartsmann G. Health-related quality of life before and during chemotherapy in patients with early-stage breast cancer. *Ecancermedicalsecience* 14: 1007, 2020. doi: 10.3332/ecancer.2020.1007.
6. Goldstein D, Bennett BK, Webber K, Boyle F, de Souza PL, Wilcken NRC, Scott EM, Toppler R, Murie P, O'Malley L, McCourt J, Friedlander M, Hickie IB, Lloyd AR. Cancer-related fatigue in women with breast cancer: outcomes of a 5-year prospective cohort study. *J Clin Oncol* 30: 1805–1812, 2012. doi: 10.1200/JCO.2011.34.6148.
7. Bower JE, Ganz PA, Desmond KA, Rowland JH, Meyerowitz BE, Belin TR. Fatigue in breast cancer survivors: occurrence, correlates, and impact on quality of life. *J Clin Oncol* 18: 743–753, 2000. doi: 10.1200/JCO.2000.18.4.743.
8. Allemani C, Matsuda T, Di Carlo V, Harewood R, Matz M, Nikšić M, Bonaventure A, Valkov M, Johnson CJ, Estève J, Ogunbiyi OJ, Azevedo E Silva G, Chen W-Q, Eser S, Engholm G, Stiller CA, Monnereau A, Woods RR, Visser O, Lim GH, Aitken J, Weir HK, Coleman MP, CONCORD Working Group. Global surveillance of trends in cancer survival 2000-14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *Lancet* 391: 1023–1075, 2018. doi: 10.1016/S0140-6736(17)33326-3.
9. Al-Majid S, Gray DP. A biobehavioral model for the study of exercise interventions in cancer-related fatigue. *Biol Res Nurs* 10: 381–391, 2009. doi: 10.1177/1099800408324431.
10. Bower JE. Cancer-related fatigue--mechanisms, risk factors, and treatments. *Nat Rev Clin Oncol* 11: 597–609, 2014. doi: 10.1038/nrclinonc.2014.127.
11. Veni T, Boyas S, Beaune B, Bourgeois H, Rahmani A, Landry S, Bochereau A, Durand S, Morel B. Handgrip fatiguing exercise can provide objective assessment of cancer-related fatigue: a pilot study. *Support Care Cancer* 27: 229–238, 2019. doi: 10.1007/s00520-018-4320-0.

12. Chartogne M, Rahmani A, Landry S, Bourgeois H, Peyrot N, Morel B. Neuromuscular, Psychological, and Sleep Predictors of Cancer-Related Fatigue in Cancer Patients. *Clin Breast Cancer* 21: 425–432, 2021. doi: 10.1016/j.clbc.2020.12.002.
13. Brownstein CG, Twomey R, Temesi J, Wrightson JG, Martin T, Medysky ME, Culos-Reed SN, Millet GY. Physiological and psychosocial correlates of cancer-related fatigue. *Journal of Cancer Survivorship*, 1-16.
14. Enoka RM, Duchateau J. Muscle fatigue: what, why and how it influences muscle function. *J Physiol (Lond)* 586: 11–23, 2008. doi: 10.1113/jphysiol.2007.139477.
15. Gandevia SC. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiol Rev* 81: 1725–1789, 2001. doi: 10.1152/physrev.2001.81.4.1725.
16. Bigland-Ritchie B, Jones DA, Hosking GP, Edwards RH. Central and peripheral fatigue in sustained maximum voluntary contractions of human quadriceps muscle. *Clin Sci Mol Med* 54: 609–614, 1978. doi: 10.1042/cs0540609.
17. Cai B, Allexandre D, Rajagopalan V, Jiang Z, Siemionow V, Ranganathan VK, Davis MP, Walsh D, Dai K, Yue GH. Evidence of Significant Central Fatigue in Patients with Cancer-Related Fatigue during Repetitive Elbow Flexions till Perceived Exhaustion. *PLoS One* 9, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0115370.
18. Kisiel-Sajewicz K, Davis MP, Siemionow V, Seyidova-Khoshknabi D, Wyant A, Walsh D, Hou J, Yue GH. Lack of muscle contractile property changes at the time of perceived physical exhaustion suggests central mechanisms contributing to early motor task failure in patients with cancer-related fatigue. *J Pain Symptom Manage* 44: 351–361, 2012. doi: 10.1016/j.jpainsymman.2011.08.007.
19. Kisiel-Sajewicz K, Siemionow V, Seyidova-Khoshknabi D, Davis MP, Wyant A, Ranganathan VK, Walsh D, Yan JH, Hou J, Yue GH. Myoelectrical Manifestation of Fatigue Less Prominent in Patients with Cancer Related Fatigue. *PLOS ONE* 8: e83636, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0083636.
20. Yavuzsen T, Davis MP, Ranganathan VK, Walsh D, Siemionow V, Kirkova J, Khoshknabi D, Lagman R, LeGrand S, Yue GH. Cancer-related fatigue: central or peripheral? *J Pain Symptom Manage* 38: 587–596, 2009. doi: 10.1016/j.jpainsymman.2008.12.003.
21. Brownstein CG, Twomey R, Temesi J, Medysky ME, Culos-Reed SN, Millet GY. Mechanisms of Neuromuscular Fatigability in People with Cancer-related Fatigue. *Med Sci Sports Exerc.* 2022 Aug 1;54(8):1355-1363. doi: 10.1249/MSS.0000000000002919.
22. Neil SE, Klika RJ, Garland SJ, McKenzie DC, Campbell KL. Cardiorespiratory and neuromuscular deconditioning in fatigued and non-fatigued breast cancer survivors. *Support Care Cancer* 21: 873–881, 2013. doi: 10.1007/s00520-012-1600-y.
23. Prinsen H, van Dijk JP, Zwartz MJ, Leer JWH, Bleijenberg G, van Laarhoven HWM. The role of central and peripheral muscle fatigue in postcancer fatigue: a randomized

- controlled trial. *J Pain Symptom Manage* 49: 173–182, 2015. doi: 10.1016/j.jpainsymman.2014.06.020.
24. Lavigne C, Lau H, Francis G, Culos-Reed SN, Millet GY, Twomey R. Neuromuscular function and fatigability in people diagnosed with head and neck cancer before versus after treatment. *Eur J Appl Physiol* 120: 1289–1304, 2020. doi: 10.1007/s00421-020-04362-0.
25. Lin JJ. *Caring for Patients Across the Cancer Care Continuum: Essentials for Primary Care*. Springer, 2019.
26. Hickok JT, Roscoe JA, Morrow GR, Mustian K, Okunieff P, Bole CW. Frequency, severity, clinical course, and correlates of fatigue in 372 patients during 5 weeks of radiotherapy for cancer. *Cancer* 104: 1772–1778, 2005. doi: 10.1002/cncr.21364.
27. Baracos VE, Martin L, Korc M, Guttridge DC, Fearon KCH. Cancer-associated cachexia. *Nat Rev Dis Primers* 4: 17105, 2018. doi: 10.1038/nrdp.2017.105.
28. Jung AR, Roh J-L, Kim JS, Kim S-B, Choi S-H, Nam SY, Kim SY. Prognostic value of body composition on recurrence and survival of advanced-stage head and neck cancer. *Eur J Cancer* 116: 98–106, 2019. doi: 10.1016/j.ejca.2019.05.006.
29. Poole DC, Burnley M, Vanhatalo A, Rossiter HB, Jones AM. Critical Power: An Important Fatigue Threshold in Exercise Physiology. *Med Sci Sports Exerc* 48: 2320–2334, 2016. doi: 10.1249/MSS.0000000000000939.
30. Burnley M. Estimation of critical torque using intermittent isometric maximal voluntary contractions of the quadriceps in humans. *J Appl Physiol* (1985) 106: 975–983, 2009. doi: 10.1152/jappphysiol.91474.2008.
31. Zarzissi S, Bouzid MA, Zghal F, Rebai H, Hureau TJ. Aging reduces the maximal level of peripheral fatigue tolerable and impairs exercise capacity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 319: R617–R625, 2020. doi: 10.1152/ajpregu.00151.2020.
32. Murgatroyd SR, Wylde LA. The power–duration relationship of high-intensity exercise: from mathematical parameters to physiological mechanisms. *J Physiol* 589: 2443–2445, 2011. doi: 10.1113/jphysiol.2011.209346.
33. Winters-Stone KM, Bennett JA, Nail L, Schwartz A. Strength, physical activity, and age predict fatigue in older breast cancer survivors. *Oncol Nurs Forum* 35: 815–821, 2008. doi: 10.1188/08.ONF.815-821.
34. Ando R, Taniguchi K, Saito A, Fujimiya M, Katayose M, Akima H. Validity of fascicle length estimation in the vastus lateralis and vastus intermedius using ultrasonography. *J Electromyogr Kinesiol* 24: 214–220, 2014. doi: 10.1016/j.jelekin.2014.01.003.
35. Merton PA. Voluntary strength and fatigue. *The Journal of Physiology* 123: 553, 1954. doi: 10.1113/jphysiol.1954.sp005070.

36. Lepers R, Maffiuletti NA, Rochette L, Brugniaux J, Millet GY. Neuromuscular fatigue during a long-duration cycling exercise. *J Appl Physiol* (1985) 92: 1487–1493, 2002. doi: 10.1152/jappphysiol.00880.2001.
37. Gomes PRL, Freitas Junior IF, da Silva CB, Gomes IC, Rocha APR, Salgado ASI, do Carmo EM. Short-term changes in handgrip strength, body composition, and lymphedema induced by breast cancer surgery. *Rev Bras Ginecol Obstet* 36: 244–250, 2014. doi: 10.1590/s0100-720320140005004.
38. Gandevia SC, Allen GM, Butler JE, Taylor JL. Supraspinal factors in human muscle fatigue: evidence for suboptimal output from the motor cortex. *The Journal of physiology* 490 (Pt 2): 529–36, 1996. doi: 10.1113/jphysiol.1996.sp021164.
39. Kalmar JM, Cafarelli E. Central excitability does not limit postfatigue voluntary activation of quadriceps femoris. *Journal of Applied Physiology* 100: 1757–1764, 2006. doi: 10.1152/jappphysiol.01347.2005.
40. Weavil JC, Amann M. Corticospinal excitability during fatiguing whole body exercise. *Prog Brain Res* 240: 219–246, 2018. doi: 10.1016/bs.pbr.2018.07.011.
41. Hureau TJ, Broxterman RM, Weavil JC, Lewis MT, Layec G, Amann M. On the role of skeletal muscle acidosis and inorganic phosphates as determinants of central and peripheral fatigue: A 31 P-MRS study. *J Physiol*. 2022 Jul;600(13):3069-3081. doi: 10.1113/JP283036.
42. Gagnon P, Bussi eres JS, Ribeiro F, Gagnon SL, Saey D, Gagn  N, Provencher S, Maltais F. Influences of spinal anesthesia on exercise tolerance in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 186: 606–615, 2012. doi: 10.1164/rccm.201203-0404OC.
43. Amann M, Venturelli M, Ives SJ, Morgan DE, Gmelch B, Witman MAH, Jonathan Groot H, Walter Wray D, Stehlik J, Richardson RS. Group III/IV muscle afferents impair limb blood in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol* 174: 368–375, 2014. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.04.157.
44. Blain GM, Mangum TS, Sidhu SK, Weavil JC, Hureau TJ, Jessop JE, Bledsoe AD, Richardson RS, Amann M. Group III/IV muscle afferents limit the intramuscular metabolic perturbation during whole body exercise in humans. *J Physiol* 594: 5303–5315, 2016. doi: 10.1113/JP272283.
45. Hureau TJ, Romer LM, Amann M. The “sensory tolerance limit”: A hypothetical construct determining exercise performance? *European journal of sport science* 18: 13–24, 2018. doi: 10.1080/17461391.2016.1252428.
46. Carroll TJ, Taylor JL, Gandevia SC. Recovery of central and peripheral neuromuscular fatigue after exercise. *J Appl Physiol* (1985) 122: 1068–1076, 2017. doi: 10.1152/jappphysiol.00775.2016.
47. Guigni BA, Callahan DM, Tourville TW, Miller MS, Fiske B, Voigt T, Korwin-Mihavics B, Anathy V, Dittus K, Toth MJ. Skeletal muscle atrophy and dysfunction in breast cancer

patients: role for chemotherapy-derived oxidant stress. *Am J Physiol Cell Physiol* 315: C744–C756, 2018. doi: 10.1152/ajpcell.00002.2018.

48. Mallard J, Hucteau E, Charles A-L, Bender L, Baeza C, Pélissie M, Trens P, Pflumio C, Kalish-Weindling M, Gény B, Schott R, Favret F, Pivot X, Hureau TJ, Pagano AF. Chemotherapy impairs skeletal muscle mitochondrial homeostasis in early breast cancer patients. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2022 Jun;13(3):1896-1907. doi: 10.1002/jcsm.12991.

49. Mijwel S, Cardinale DA, Norrbom J, Chapman M, Ivarsson N, Wengström Y, Sundberg CJ, Rundqvist H. Exercise training during chemotherapy preserves skeletal muscle fiber area, capillarization, and mitochondrial content in patients with breast cancer. *FASEB J* 32: 5495–5505, 2018. doi: 10.1096/fj.201700968R.

50. Lindström B, Lexell J, Gerdle B, Downham D. Skeletal muscle fatigue and endurance in young and old men and women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 52: B59-66, 1997. doi: 10.1093/gerona/52a.1.b59.

51. Enoka RM, Stuart DG. Neurobiology of muscle fatigue. *J Appl Physiol* 72: 1631–1648, 1992. doi: 10.1152/jappl.1992.72.5.1631.

Travail supplémentaire 4 : étude de la fatigue neuromusculaire des ischios et des quadriceps chez des hommes

Implication personnelle

J'ai participé à la conception de cette étude, aux investigations neuromusculaires et à l'interprétation des résultats. J'ai également participé à la relecture de l'article dont je suis troisième auteur et qui a été publié dans *Medicine & Science in Sports & Exercise*.

Exercise-induced fatigue in hamstring vs quadriceps muscles and consequences on the torque-duration relationship in men

Anasthase Massamba, Elyse Hucteau, **Joris Mallard**, Guillaume P Ducrocq, Fabrice Favret, Thomas J Hureau

Article accepté dans *Medicine & Science in Sports & Exercise* (IF : 6.3)

doi: 10.1249/MSS.0000000000003007

Exercise-Induced Fatigue in Hamstring versus Quadriceps Muscles and Consequences on the Torque–Duration Relationship in Men

ANASTHASE MASSAMBA^{1,2,3}, ELYSE HUCTEAU^{1,2}, JORIS MALLARD^{1,2}, GUILLAUME P. DUCROCQ^{1,2}, FABRICE FAVRET^{1,2}, and THOMAS J. HUREAU^{1,2}

¹Faculty of Medicine, Mitochondria, Oxidative Stress and Muscular Protection laboratory (UR 3072), University of Strasbourg, Strasbourg, FRANCE; ²Faculty of Sport Sciences, European Centre for Education, Research and Innovation in Exercise Physiology (CEERIPE), University of Strasbourg, Strasbourg, FRANCE; and ³Racing Club de Strasbourg Alsace, Strasbourg, FRANCE

ABSTRACT

MASSAMBA, A., E. HUCTEAU, J. MALLARD, G. P. DUCROCQ, F. FAVRET, and T. J. HUREAU. Exercise-Induced Fatigue in Hamstring versus Quadriceps Muscles and Consequences on the Torque–Duration Relationship in Men. *Med. Sci. Sports Exerc.*, Vol. 54, No. 12, pp. 2099–2108, 2022. **Purpose:** The present study investigated the mechanisms of neuromuscular fatigue in quadriceps and hamstring muscles and its consequences on the torque–duration relationship. **Methods:** Twelve healthy men performed a 5-min all-out exercise (3-s contraction, 2-s relaxation) with either quadriceps or hamstring muscles on separate days. Central fatigue and peripheral fatigue were quantified via changes in pre- to postexercise voluntary activation (VA) and potentiated twitch ($P_{T,w}$) torque evoked by supramaximal electrical stimulation, respectively. Critical torque was determined as the mean torque of the last six contractions, whereas W' was calculated as the torque impulse done above critical torque. **Results:** After exercise, maximal voluntary contraction (MVC) decreased to a greater magnitude ($P < 0.001$) in quadriceps ($-67\% \pm 9\%$) compared with hamstring ($-51\% \pm 10\%$). $\Delta P_{T,w}$ was also greater in quadriceps compared with hamstring ($-69\% \pm 15\%$ vs $55\% \pm 10\%$, $P < 0.01$), whereas central fatigue only developed in quadriceps (ΔVA , $-25\% \pm 28\%$). Hamstring demonstrated reduced critical torque compared with quadriceps (60 ± 12 vs 97 ± 26 N·m, $P < 0.001$) as well as drastically lower W' (1001 ± 696 vs 8111 ± 2073 N·m·s, $P < 0.001$). No correlation was found between quadriceps and hamstring for any index of neuromuscular fatigue (ΔMVC , $\Delta P_{T,w}$, or ΔVA). **Conclusions:** These findings revealed that hamstring presented different etiology and magnitude of neuromuscular fatigue compared with quadriceps. The absence of correlation observed between quadriceps and hamstring fatigue parameters (ΔMVC , $\Delta P_{T,w}$, or ΔVA) suggests no interrelation in fatigue etiology between these two muscle groups within individuals and, therefore, highlights the need to investigate specifically hamstring muscle fatigue. **Key Words:** CENTRAL AND PERIPHERAL FATIGUE, HAMSTRING MUSCLE, CRITICAL TORQUE, EXERCISE PERFORMANCE, RECOVERY

The hamstring muscles play a major role in sprinting performance (1) and are a common location for severe muscle injuries (2). Exercise-induced neuromuscular fatigue has been suggested as a risk factor for hamstring muscle injuries, as indirectly evidenced by a greater injury incidence in the later stages of soccer (2) or rugby (3) matches. Neuromuscular fatigue is attributed to reductions in maximal voluntary contraction (MVC) because of central and/or peripheral factors. Central fatigue refers to a failure of the central nervous system to maintain force, resulting in a reduction in

descending neural drive and/or output from the spinal motoneurons (4). Peripheral fatigue is the result of biochemical changes within skeletal muscle, yielding an attenuated response to neural stimulation (5). Central and peripheral fatigue can be quantified noninvasively via reductions in the voluntary muscle activation and in the resting twitch force, respectively.

The proportion of fatigue-resistant Type I muscle fibers is greater in hamstring compared with quadriceps muscles (6,7), suggesting that the hamstring muscles are less fatigable than the quadriceps muscles. However, Coratella et al. (8) demonstrated greater neuromuscular fatigue in hamstring than quadriceps after intermittent isometric exercise performed at the same relative intensity (70% of the MVC). Nevertheless, in this scenario, time to task failure was drastically different between muscle groups, with quadriceps exercising two times longer than hamstring before reaching task failure. Importantly, it has been documented that exercise duration/intensity is a strong determinant of neuromuscular fatigue etiology (9), with relatively more peripheral fatigue, and less central fatigue, for short/intense trials compared with longer/less intense trials. To circumvent the confounding effect associated with differences in exercise

Address for correspondence: Thomas Hureau, Ph.D., Faculté des Sciences du Sport, Bâtiment Le Portique, 4, rue Blaise Pascal, FR-67081 Strasbourg Cedex, France; E-mail: t.hureau@unistra.fr.

Submitted for publication January 2022.

Accepted for publication July 2022.

0195-9131/22/5412-2099/0

MEDICINE & SCIENCE IN SPORTS & EXERCISE®

Copyright © 2022 by the American College of Sports Medicine

DOI: 10.1249/MSS.0000000000003007

duration/intensity while comparing quadriceps and hamstring muscle groups, the use of an intermittent all-out exercise protocol might be insightful (10,11).

Moreover, the use of an intermittent all-out exercise presents the opportunity to assess the development of neuromuscular fatigue throughout exercise (i.e., using rests between contractions). In this context, key parameters derived from the torque–duration relationship provide a cohesive framework within which to investigate the mechanistic bases of neuromuscular fatigue and exercise performance. Critical torque is mathematically defined as the asymptote of the hyperbolic torque–duration relationship, whereas the curvature constant (W') represents the fixed amount of torque impulse that can be performed above critical torque (12). Physiologically, critical torque is associated with the greatest oxidative metabolic rate that can be sustained without a continuous reduction in W' (13). Vanhatalo et al. (13) observed a positive correlation between critical power (equivalent to critical torque during a cycling exercise) and the proportion of fatigue-resistant Type I muscle fibers. Moreover, the magnitude of W' depleted was associated with the development of both neuromuscular fatigue (14–17) and maximal force capacity (18). Therefore, the characterization of critical torque and W' would provide insights into exercise performance and neuromuscular fatigue for the comparison of hamstring and quadriceps muscles.

The present study aimed to investigate the mechanisms of hamstring neuromuscular fatigue and recovery, compared with quadriceps, during all-out exercise to match both exercise duration and relative intensity between muscle groups. Moreover, we sought to determine and compare the parameters of the torque–duration relationship between hamstring and quadriceps. We hypothesized that hamstring would develop less neuromuscular fatigue than quadriceps muscles. As a consequence of this presumably lower fatigability, recovery from fatiguing exercise would be slower, and W' and critical torque (in absolute) would be lower, in hamstring compared with quadriceps.

METHODS

Subjects. Twelve healthy men participated in the present study (mean \pm SD: age, 26 ± 4 yr; height, 174 ± 7 cm; body mass, 76 ± 17 kg; body fat percentage, $14.8\% \pm 5.6\%$). Body mass and composition were assessed by using a bioelectrical impedance meter (Tanita DC-13C; Tanita Corporation, Tokyo, Japan). All subjects were recreational athletes, nonsmokers, and were not taking any medications. They were requested to prohibit physical activity for 24 h before each experimental session. Written informed consent was obtained from each participant before the beginning of the study. The study was approved by the local ethics committee and conducted according to the Declaration of Helsinki for human experimentation.

Experimental design. After familiarization sessions (one for each muscle group), all participants visited the laboratory for two experimental sessions where they performed a fatiguing exercise protocol with either quadriceps or hamstring

muscles in a randomized order. Each visit was separated by at least 48 h and performed with the right leg at the same time of day (± 1 h).

Experimental protocol. Sessions started with a standardized warm-up consisting of a set of 10 graded submaximal isometric contractions with visual feedback displayed on a computer screen. All torque measurements were conducted using an isokinetic dynamometer (Biodex System 3; Biodex Medical Systems, Inc., Shirley, NY), following standardized procedures and instructions given by the same examiner. Participants were seated on the dynamometer with 85° of hip flexion for quadriceps measurements while they laid prone with 10° of hip flexion for hamstring measurements. They were stabilized with safety belts strapped across the chest and hips to avoid lateral, vertical, or frontal displacements. Torque (N·m) was collected from a lever arm attached to the subject by a non-compliant strap located ~ 2 cm superior to the lateral malleolus. To ensure maximal torque development, each quadriceps and hamstring measurement was conducted at an optimal angle, namely, the angle where torque output was maximal (i.e., $83^\circ \pm 6^\circ$ and $28^\circ \pm 8^\circ$, respectively). The isometric torque–angle relationship was determined on an individual basis during the familiarization sessions. To this end, participants performed 3 MVC interspersed by 1 min of rest at each angle tested (every 10° from 0° to 90° in hamstring and from 50° to 90° in quadriceps, where 0° is full knee extension). If the coefficient of variation between the three MVC was greater than 5%, a fourth MVC was completed. Thereafter, neuromuscular function assessments and exercise procedures (i.e., 60 MVC) were conducted.

Participants performed 60 intermittent isometric single-leg MVC over a 5-min period (3-s contraction/2-s relaxation) with either quadriceps or hamstring muscles. A recording cued the start and stop of each 3-s contraction. A visual feedback of torque output was provided on the computer screen, and participants were strongly encouraged to maximize performance. To ensure that subjects reached their best performance during the first contraction, all participants had to satisfy the criterion score corresponding to 95% of their best MVC performed during baseline measurement. The development of neuromuscular fatigue was tracked during the 5-min all-out test by delivering superimposed and potentiated twitches every 10 contractions (Fig. 1).

Neuromuscular function assessment. Neuromuscular tests were conducted before, during (every 10 MVC), and directly after (60th MVC) the fatiguing exercise protocol. Recovery was assessed at 1, 2, 3, 5, 10, and 15 min postexercise. A constant current stimulator (DS7AH; Digitimer Limited, Hertfordshire, UK) delivered single square-wave stimuli of 0.2-ms duration with maximal voltage of 400 V over the femoral nerve (quadriceps), or over the muscle belly (hamstring). For quadriceps, the cathode (self-adhesive electrode: 3×3 cm, Ag/AgCl, Mini-KR; Contrôle-Graphique, Brie-Comte-Robert, France) was positioned on the femoral nerve. The anode, a 10×5 cm self-adhesive stimulation electrode (Compex Medical SA, Ecublens, Switzerland), was placed midway between

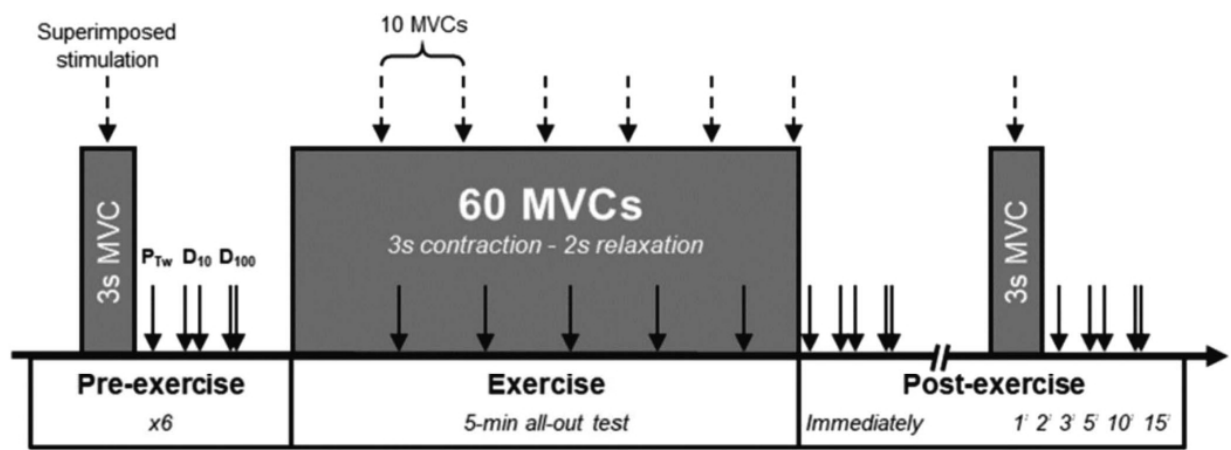


FIGURE 1—Schematic diagram of the experimental protocol. After familiarization sessions (one for each muscle group), all participants visited the laboratory for two experimental sessions where they performed a fatiguing 5-min all-out exercise protocol (3-s contraction, 2-s relaxation) with either quadriceps or hamstring muscles. After a standardized warm-up, the neuromuscular function was assessed preexercise to determine baseline values that were used to quantify neuromuscular fatigue development during exercise (assessment every 10 MVC) and short-term recovery (postexercise assessments). Central fatigue and peripheral fatigue were quantified via changes in pre- to postexercise VA and P_{TW} torque (single twitch, P_{TW} ; doublets at 10 Hz, D_{10} ; doublets at 100 Hz, D_{100}) evoked by supramaximal electrical stimulation, respectively. *Dashed arrows* depict superimposed stimulations during the MVC, and *solid arrows* indicate potentiated stimulations delivered at rest.

the greater trochanter and the iliac crest. Direct muscle stimulation was used for hamstring using two self-adhesive electrodes (10 × 5 cm, Compex Medical SA), with the cathode placed immediately below the gluteal fold and the anode approximately 5 cm superior to the popliteal fossa (19). Electrode positions were marked with indelible ink to ensure a reproducible stimulation between visits. To ensure supramaximality during these tests, the stimulation intensity (quadriceps, 136 ± 54 mA; hamstring, 176 ± 47 mA) was set to 120% of the intensity eliciting the maximal spatial recruitment of the targeted muscle, as confirmed by both maximal torque response and maximal vastus lateralis or biceps femoral muscle compound action potential (M_{max}) for quadriceps and hamstring, respectively. Participants subsequently completed six MVC (3-s duration) before exercise, separated by 30 s rest. For the final four contractions, single potentiated twitch (P_{TW}), 10 Hz doublet (D_{10}), and 100 Hz doublet (D_{100}) were delivered 1, 3, and 5 s after every MVC, respectively. For all MVC, D_{10} , and D_{100} , peak torque was determined. In addition, the following mechanical measures of muscle contractility were derived from P_{TW} : peak torque, contraction time, maximal rate of torque development (MRTD), and half relaxation time. During MVC, superimposed P_{TW} were delivered to estimate voluntary activation (VA) according to the following formula (20):

$$VA (\%) = [1 - (\text{superimposed twitch}) / (P_{TW})] \times 100.$$

Peripheral and central fatigue levels were quantified via changes in preexercise to postexercise P_{TW} torque and VA, respectively. Global (peripheral + central) fatigue was determined as the difference in MVC from baseline.

Surface EMG. Electrical activities of quadriceps and hamstring were assessed using surface EMG (Octal Bio-Amp.; ADInstruments, Bella Vista, NSW, Australia). Bipolar pregelled

Ag/AgCL electrodes (15-mm interelectrode distance) were placed over biceps femoris (BF), and semitendinosus (ST) for hamstring, as well as over vastus lateralis (VL), vastus medialis (VM), and rectus femoris (RF) for quadriceps. For each visit, the skin was shaved, abraded with emery paper, and cleaned with alcohol. Electrodes were placed according the SENIAM recommendations (21). Electrode positions had to be adjusted to optimize M-wave shape and amplitude. The reference electrode was placed over the head of the fibula. The EMG signals were amplified, filtered with a bandwidth frequency ranging from 10 Hz to 1 kHz and recorded at a sampling frequency of 4 kHz using a commercially software (LabChart 8). During the 5-min all-out exercise, muscle activation was calculated for each muscle group with the root-mean-square (RMS) on EMG signals. Specifically, the RMS was determined over a fixed 500-ms window starting 250 ms before peak torque. For data analysis, the muscle activation was normalized by the maximal amplitude of the M-wave ($RMS \cdot M_{max}^{-1}$).

Determination of critical torque and W' . The critical torque was estimated as the mean torque recorded over the last six contractions of the 5-min all-out test, whereas W' was calculated as the total torque impulse (N·m·s) done above critical torque (10).

Statistics. Descriptive statistics are presented in the Results section as mean ± SD. Normality of all dependent variables and sphericity of the distribution were assessed using the Kolmogorov–Smirnov test and the Mauchly test, respectively. A Greenhouse–Geisser correction was used when sphericity was violated. A two-way (condition–time) repeated-measures ANOVA was used to assess differences in neuromuscular fatigue indices (ΔMVC , ΔP_{TW} , VA, and $RMS \cdot M_{max}^{-1}$) between muscle groups (hamstring vs quadriceps) and over time during exercise period. A second two-way (condition–time) repeated-measures ANOVA was performed to

compare differences between conditions (hamstring vs quadriceps) and over time for the recovery period (Pre, Post, and 1, 2, 3, 5, 10, and 15 min postexercise). When a significant difference was identified, multiple-comparison analysis was performed using Tukey *post hoc* test. Student's paired *t*-test was performed for variables relative to torque–duration relationship (i.e., critical torque and W'). Relationship between MVC and Δ MVC postexercise and fatigue parameters between muscle groups were tested by calculating individual Person correlation coefficients (r^2). Statistical analyses were conducted using GraphPad Prism, v8.3.0 (GraphPad, La Jolla, CA). Statistical significance was set at $P < 0.05$.

RESULTS

Baseline. Preexercise MVC values did not differ from the first MVC of the 5-min all-out protocol for each muscle group (quadriceps: 295 ± 50 vs 296 ± 53 N·m, $P = 0.70$; hamstring: 119 ± 26 vs 121 ± 27 N·m; $P = 0.35$). As shown in Figure 2A, the torque developed during the first MVC was significantly lower in hamstring than quadriceps ($P < 0.001$).

Torque output during the 5-min all-out protocol and recovery. As illustrated in Figure 2, torque output decreased during exercise on average from the first to the 39th MVC in quadriceps and from the first to the 34th MVC in hamstring. Thereafter, torque output plateaued until the last MVC for both muscle groups. The decrease in MVC induced by the all-out exercise protocol (Δ MVC) was lower in hamstring ($-51\% \pm 10\%$) compared with quadriceps ($-67\% \pm 9\%$; $P < 0.001$). Interestingly, Δ MVC (expressed in newton-meter) was correlated with preexercise MVC ($r^2 = 0.993$, $P < 0.001$), and this relationship was independent of the muscle group (Fig. 3). All muscles (VL, VM, RF, BF, and ST) demonstrated a decline in $\text{RMS} \cdot M_{\text{max}}^{-1}$ during exercise ($P = 0.002$), with no difference between hamstring and quadriceps (Fig. 2C).

During the 15-min recovery period (Fig. 4A), MVC did not return to preexercise values ($-15\% \pm 11\%$ in quadriceps and $-11\% \pm 9\%$ in hamstring, $P < 0.001$ vs preexercise). Both muscle groups followed similar recovery kinetics, characterized by a large recovery rate during the first minute postexercise ($28\% \pm 11\% \cdot \text{min}^{-1}$ in quadriceps vs $26\% \pm 14\% \cdot \text{min}^{-1}$ in hamstring), followed by a drastically slower recovery rate from 1 to 15 min postexercise ($1.7\% \pm 0.8\% \cdot \text{min}^{-1}$ in quadriceps vs $2.9\% \pm 0.7\% \cdot \text{min}^{-1}$ in hamstring).

Peripheral fatigue and recovery (ΔP_{Tw} , D_{10} , D_{100} , and M-waves). Neuromuscular fatigue parameters are shown in Figure 4 and Table 1. At the peripheral level, significant interaction effect (i.e., time–muscle group) was found for P_{Tw} ($P < 0.001$; Fig. 4B) and D_{10}/D_{100} ($P < 0.001$; Fig. 4D). The magnitude of peripheral fatigue was lower in hamstring compared with quadriceps (ΔP_{Tw} , $-55\% \pm 10\%$ vs $-69\% \pm 15\%$). For both muscle groups, the development of ΔP_{Tw} was large during the first half of exercise (hamstring, $-20.0\% \pm 2.8\% \cdot \text{min}^{-1}$; quadriceps, $-26.9\% \pm 4.4\% \cdot \text{min}^{-1}$), followed by a drastically slower recovery rate during the second half (hamstring, $-1.9\% \pm 2.6\% \cdot \text{min}^{-1}$; quadriceps, $-0.7\% \pm 3.3\% \cdot \text{min}^{-1}$). The decrease in D_{10}/D_{100} ,

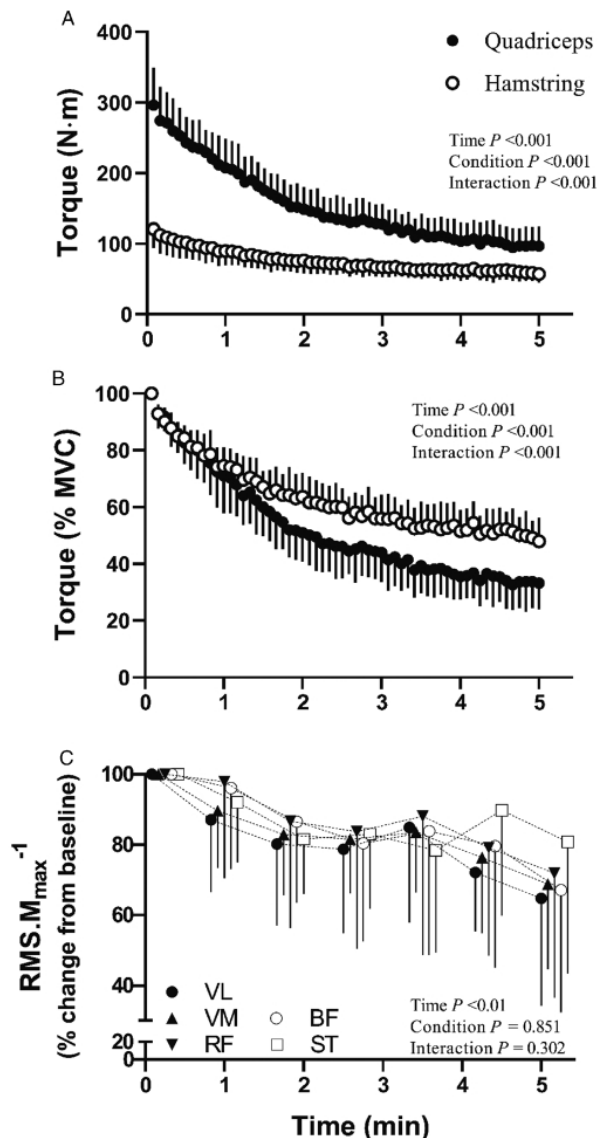


FIGURE 2—Torque production and muscle activation during the 5-min all-out exercise protocol. Data are expressed in newton-meter (A) and normalized as a percent of baseline (B) to compare quadriceps and hamstring muscles. Muscle activation (C) was normalized to M_{max} for each muscle group. M_{max} , maximal M-wave amplitude; RF, rectus femoris; ST, semitendinosus; VL, vastus lateralis; VM, vastus medialis. Data are presented as means \pm SD. Significant time, condition, and interaction effects are indicated on the graphs.

indicating low-frequency fatigue, was greater in quadriceps compared with hamstring ($P < 0.001$; Fig. 4D). No change in M-waves amplitudes, demonstrating no alteration in membrane excitability after the all-out exercise, was found for all muscles (all $P > 0.05$; Table 1).

Both muscle groups displayed large recovery during the first minute postexercise (P_{Tw} , $21\% \pm 8\% \cdot \text{min}^{-1}$ in quadriceps vs $9\% \pm 10\% \cdot \text{min}^{-1}$ in hamstring) followed by a slower recovery rate from 1 to 15 min postexercise (P_{Tw} , $0.3\% \pm 1.0\% \cdot \text{min}^{-1}$

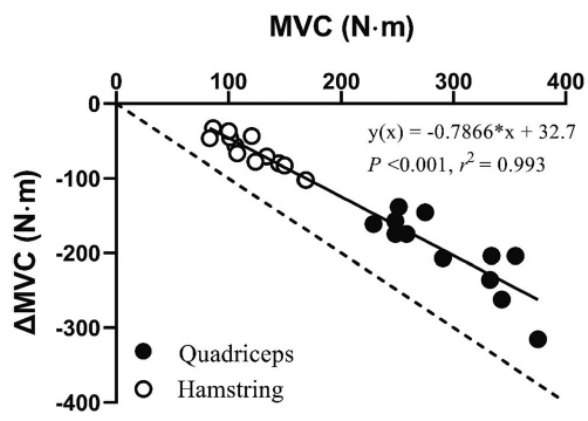


FIGURE 3—Correlation between peak torque and muscle fatigue. MVC peak torque (N·m) was the MVC measured preexercise, whereas muscle fatigue was the decrease in MVC reached from pre- to immediately postexercise (Δ MVC, expressed in N·m) in quadriceps and hamstring muscles.

in quadriceps vs $0.3\% \pm 0.7\% \cdot \text{min}^{-1}$ in hamstring). However, a significant interaction effect demonstrated a slower recovery rate in hamstring compared with quadriceps for P_{TW} ($40\% \pm 10\%$ in hamstring vs $52\% \pm 12\%$ in quadriceps, $P < 0.001$), D_{10}

($0\% \pm 9\%$ in hamstring vs $19\% \pm 9\%$ in quadriceps, $P < 0.001$), and D_{100} ($4\% \pm 10\%$ in hamstring vs $17\% \pm 11\%$ in quadriceps, $P = 0.013$). Specifically, P_{TW} recovery was ~ 2 times slower in hamstring compared with quadriceps during the first minute postexercise. At 15 min postexercise, indicators of peripheral fatigue (P_{TW} , D_{10} , D_{100} , and D_{10}/D_{100}) did not return to baseline values ($P < 0.001$) in both conditions.

Central fatigue and recovery (VA). For central fatigue, a significant interaction effect was found for VA ($P < 0.001$; Fig. 4C). Specifically, although VA was reduced to $68\% \pm 23\%$ at exercise cessation in quadriceps, it remained unchanged from baseline in hamstring ($95\% \pm 5\%$).

At 15 min postexercise, VA returned to baseline ($P = 0.999$ for quadriceps and $P = 0.941$ for hamstring). As illustrated in Figure 5, there was no correlation between quadriceps and hamstring for any index of neuromuscular fatigue (MVC, P_{TW} , or VA) measured immediately after the 5-min all-out protocol (MVC, $r^2 = 0.137$, $P = 0.238$; P_{TW} , $r^2 = 0.000$, $P = 0.990$; VA, $r^2 = 0.065$, $P = 0.425$).

Parameters associated with the torque–duration relationship. As illustrated in Figure 6, critical torque was ~ 1.6 times lower in hamstring compared with quadriceps when expressed in absolute units (60 ± 12 vs 97 ± 26 N·m, $P < 0.001$).

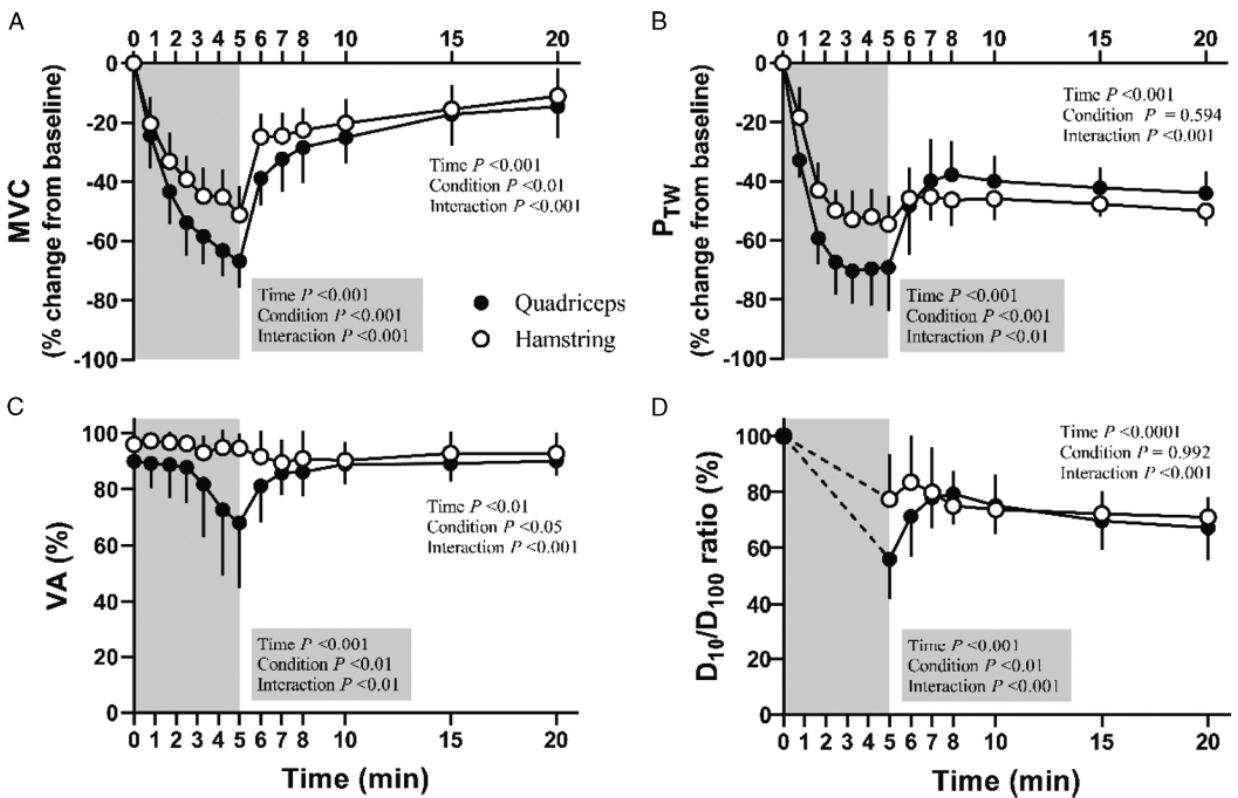


FIGURE 4—Neuromuscular fatigue during the 5-min all-out exercise protocol and recovery kinetics. MVC (A), P_{TW} (B), VA (C), and D_{10}/D_{100} ratio (D) assessed during exercise (gray areas) and recovery (white areas). D_{10}/D_{100} , low-frequency fatigue ratio. Data are presented as means \pm SD. Significant time, condition, and interaction effects are indicated on the graphs for both exercise (gray boxes) and recovery (white boxes).

TABLE 1. Effects of 5-min all-out exercise on neuromuscular variables measured immediately at exercise termination and during recovery.

Parameters	Condition	Pre	Post	Recovery					
				1 Min	2 Min	3 Min	5 Min	10 Min	15 Min
D ₁₀ (N·m)	Quadriceps	115 ± 25	34 ± 17*	56 ± 20*	65 ± 17*a	67 ± 13*	64 ± 11*	59 ± 13*	57 ± 15*
	Hamstring	18 ± 6**	8 ± 3***	8 ± 3***	8 ± 3***	8 ± 3***	8 ± 3***	8 ± 3***	8 ± 3***
D ₁₀₀ (N·m)	Quadriceps	105 ± 19	54 ± 18*	65 ± 18*	71 ± 16*	73 ± 15*	74 ± 14*	73 ± 15*	72 ± 15*
	Hamstring	22 ± 8**	13 ± 5***0	13 ± 5***	14 ± 6***	14 ± 6***	14 ± 6***	14 ± 5***	14 ± 6***
MRTD (N·m·s ⁻¹)	Quadriceps	1612 ± 309	564 ± 281*	838 ± 329*	973 ± 327*	1035 ± 274*	1016 ± 233*	1008 ± 230*	987 ± 245*
	Hamstring	432 ± 160**	245 ± 90*	257 ± 91***	251 ± 82***	245 ± 88***	244 ± 86***	246 ± 88***	235 ± 87***
CT (ms)	Quadriceps	118 ± 14	112 ± 25	120 ± 20	122 ± 20	118 ± 20	114 ± 18	104 ± 10*	102 ± 8*
	Hamstring	95 ± 10**	99 ± 100	101 ± 11	100 ± 11	99 ± 11	99 ± 11	98 ± 10	98 ± 10
HRT (ms)	Quadriceps	59 ± 13	90 ± 23*	88 ± 17*	82 ± 18*	80 ± 14*	74 ± 11*	65 ± 12	59 ± 11
	Hamstring	42 ± 23	43 ± 18**	43 ± 16**	44 ± 17**	42 ± 15**	40 ± 13**	36 ± 10**	33 ± 8**
M-waves amplitudes (mV)	VL	15.8 ± 3.0	15.5 ± 3.4	15.8 ± 4.0	15.7 ± 3.8	15.5 ± 3.8	15.3 ± 3.9	14.7 ± 3.9	14.4 ± 3.8
	VM	20.7 ± 5.8	20.2 ± 5.9	20.7 ± 5.7	20.8 ± 5.6	20.7 ± 5.5	20.6 ± 5.6	19.9 ± 5.7	19.6 ± 5.6
	RF	9.3 ± 3.9	8.5 ± 3.5	9.3 ± 3.6	9.5 ± 3.5	9.4 ± 3.5	9.2 ± 3.3	8.7 ± 3.0	8.5 ± 3.0
	BF	9.7 ± 4.8	12.8 ± 10.6	10.1 ± 5.0	10.1 ± 5.0	9.8 ± 4.9	9.4 ± 4.9	8.7 ± 4.4	8.7 ± 4.4
	ST	8.6 ± 3.0	7.9 ± 2.9	8.3 ± 3.7	8.4 ± 3.8	8.2 ± 3.6	7.8 ± 3.3	7.6 ± 3.4	7.5 ± 3.2

Data are expressed as means ± SD. MRTD, CT, and HRT were calculated from single P_{1w}.

*Significantly different from preexercise ($P < 0.05$).

**Significantly different from quadriceps ($P < 0.05$).

CT, contraction time; D₁₀, 10 Hz doublets; D₁₀₀, 100 Hz doublets; HRT, half relaxation time; RF, rectus femoris; ST, semitendinosus; VL, vastus lateralis; VM, vastus medialis.

Contrastingly, when expressed in relative units (%MVC), critical torque was greater in hamstring than quadriceps ($50\% \pm 7\%$ MVC vs $33\% \pm 9\%$ MVC, $P < 0.001$). W was ~8 times lower in hamstring compared with quadriceps (1001 ± 696 vs 8111 ± 2073 N·m·s, respectively, $P < 0.001$).

DISCUSSION

The present study investigated the mechanisms of neuromuscular fatigue in hamstring versus quadriceps muscles induced by an isometric exercise and its consequences on the torque–duration relationship in men. After an all-out exercise used to match exercise duration and relative intensity between muscle groups, hamstring appeared ~15% less fatigable (Δ MVC) compared with quadriceps. Mechanistically, this discrepancy between muscle groups was driven by the development of less peripheral fatigue, and no central fatigue, compared with quadriceps. Additionally, exercise capacity was lower in hamstring compared with quadriceps, as a result of a drastically lower W associated with a lower absolute critical torque. Thereafter, the recovery kinetics of peripheral fatigue was slower in hamstring compared with quadriceps. Importantly, there was no correlation between hamstring and quadriceps for any index of neuromuscular fatigue, indicating no interrelation between these two muscle groups.

Neuromuscular fatigue in hamstring versus quadriceps muscles. Peripheral fatigue was significantly lower in hamstring compared with quadriceps throughout exercise (Fig. 4), suggesting less intramuscular metabolic perturbation (22,23). As M-waves were unchanged in both hamstring and quadriceps (Table 1), peripheral fatigue was not explained by a reduction in membrane excitability and originated beyond the sarcolemma (24). Specifically, the difference observed in the D₁₀/D₁₀₀ ratio, showing less low-frequency fatigue in hamstring compared with quadriceps, indicates that the attenuated peripheral fatigue observed in hamstring was attributed to a relatively preserved decrease in myofibrillar sensitivity to Ca²⁺ and/or in the reduction of Ca²⁺ released from the sarcoplasmic reticulum compared with quadriceps (25,26). This difference between the

two muscle groups might be explained, at least in part, by the greater proportion of fatigue-resistant Type I muscle fibers in hamstring compared with quadriceps (6,7). Of note, this result contrasts with a previous investigation showing that peripheral fatigue was greater in hamstring compared with quadriceps (8). Given the influence of the exercise duration/intensity on neuromuscular fatigue etiology (9), the discrepancy between studies might be explained by the drastically different exercise duration between muscle groups in Coratella et al. (8) while it was matched in the present investigation. Additionally, the selection of the muscle length (60° for both muscles in Coratella et al. vs the optimal angle of each muscle group in the present study) likely contributed to the differences observed in neuromuscular fatigue (27,28).

VA remained unaltered throughout exercise in hamstring, whereas a significant decrease was observed in quadriceps. If the absence of central fatigue in hamstring contrasts with what we and others found for this type of exercise in quadriceps (10,29), this result is supported by previous studies showing no decrease in VA after fatiguing hamstring exercises such as simulated soccer game (19) or repeated sprints (30). Mechanistically, the absence of central fatigue in hamstring might be related to group III/IV sensory neurons, which project from skeletal muscles to the central nervous system. Indeed, group III/IV muscle afferents feedback promotes central fatigue during exercise to restrict peripheral fatigue and to protect the exercising muscles from severe threats to homeostasis (31). Interestingly, peripheral fatigue, which is lower in hamstring compared with quadriceps, was identified to promote group III/IV muscle afferents firing (31,32). Therefore, group III/IV muscle afferents were likely more stimulated in quadriceps, leading to a significant decrease in VA during exercise only for this muscle group.

The substantial differences observed in the magnitude and etiology of neuromuscular fatigue between muscle groups might be related to the lower torque capacity of hamstring compared with quadriceps. Indeed, the classic correlation between maximal torque and fatigability (33) was also found in the present study (Fig. 3). Interestingly, the nature of this

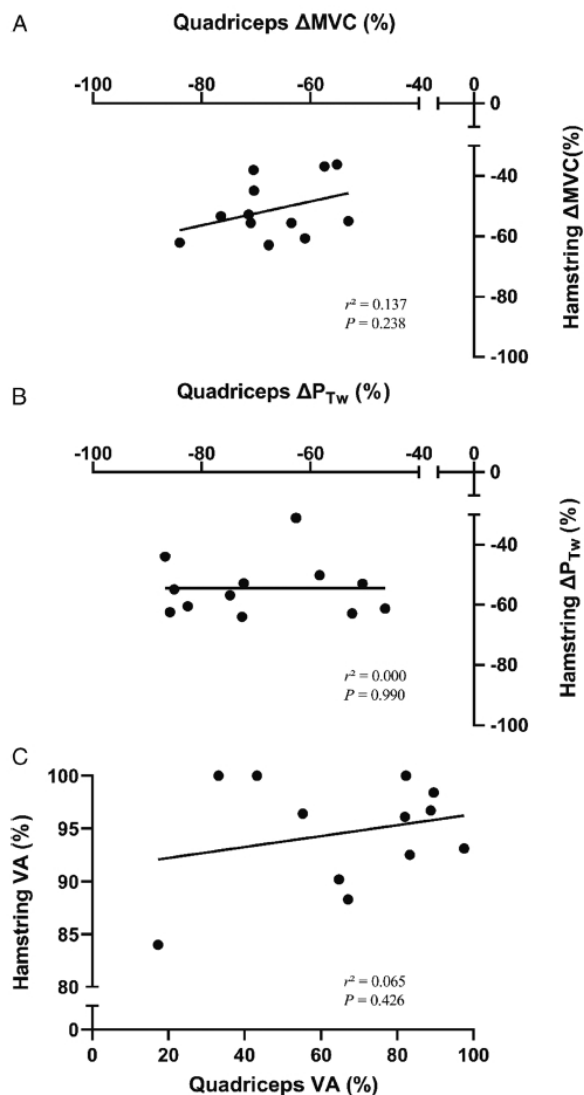


FIGURE 5—Correlations between quadriceps and hamstring for neuromuscular fatigue parameters. Correlation for MVC (A), peripheral fatigue (P_{TW} , B), and central fatigue (VA, C) for quadriceps and hamstring. Data are expressed in percentage of decrease from baseline.

relationship was independent of the muscle group, suggesting that maximal torque might explain, at least in part, the higher development of neuromuscular fatigue observed in strong quadriceps compared with weaker hamstring muscles. Moreover, it was established that hamstring displayed a greater proportion in Type I muscle fibers than quadriceps (6,7), as evidenced indirectly in this study by a lower MRTD in hamstring (34,35). Given the influence of muscle typology on both fatigue resistance and muscle torque capacity (36), muscle typology is likely a major characteristic explaining the discrepancies we observed between hamstring and quadriceps muscles.

Exercise performance was lower in hamstring compared with quadriceps, as a result of a drastically lower W associated with a lower absolute critical torque. The lower W in hamstring

is consistent with the lower level of peripheral fatigue obtained following exercise using this muscle group, as these two parameters have been previously related (14,17). Moreover, critical torque has been related to skeletal muscle typology. Indeed, for a given muscle mass, a greater proportion in Type I muscle fibers was associated with a greater critical torque (13). Therefore, the greater proportion in Type I muscle fibers in hamstring (47% [6]) compared with quadriceps (34% [7]), indirectly evidenced in the present study by the lower MRTD in hamstring (34), likely explain why hamstring maintained a higher relative critical torque than quadriceps. However, absolute critical torque

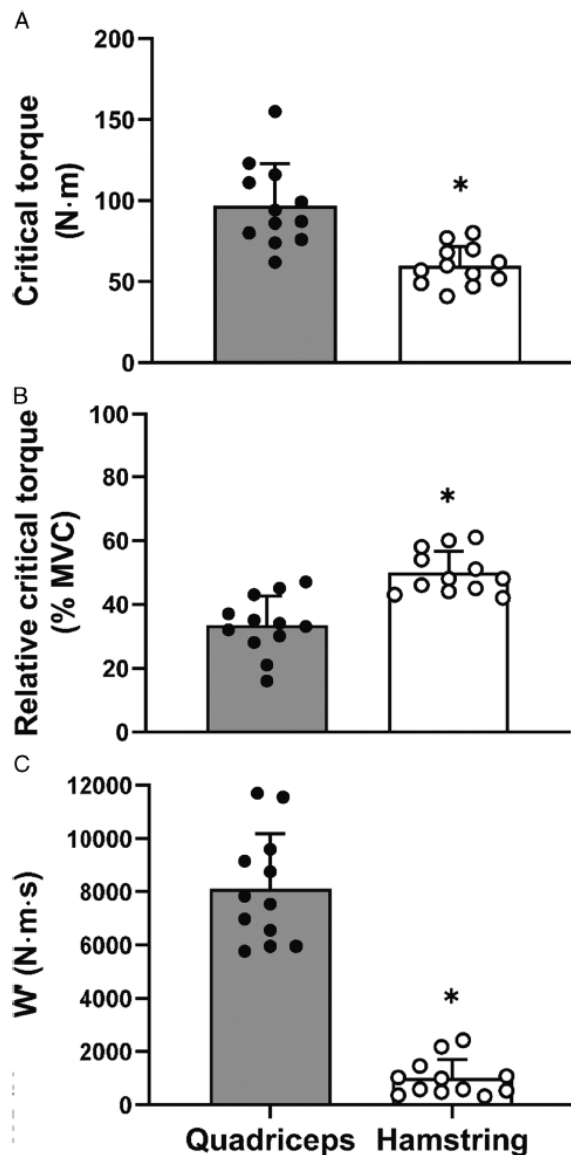


FIGURE 6—Parameters of torque–duration relationship. Critical torque was expressed in newton-meter (A) and normalized as a percent of MVC (B). The work performed above critical torque (W) was expressed in newton-meters-second (C) for both quadriceps and hamstring muscles. *Significant difference vs quadriceps ($P < 0.05$).

was lower in hamstring, as muscle mass, which has a direct influence on the muscle torque capacity (37), was greater in quadriceps. Together, these results highlight a greater fatigue resistance and a reduced exercise capacity in hamstring compared with quadriceps in men.

Recovery kinetics in hamstring versus quadriceps muscles. Although hamstring and quadriceps demonstrated different magnitude and etiology in neuromuscular fatigue, recovery kinetics were also significantly different for all indices (Fig. 3). Indeed, although quadriceps was the only muscle group to display central fatigue, VA fully recovered within 2 min postexercise, which is consistent with previous results (38,39). Moreover, with a greater level of peripheral fatigue developed throughout exercise, quadriceps also recovered faster than hamstring. Regardless, both muscle groups followed a biphasic recovery kinetics for MVC and P_{TW} (40), with 1) a large recovery during the first minute postexercise, succeeded by 2) a slower recovery phase where MVC and P_{TW} remained depressed compared with baseline. Mechanistically, this prolonged low-frequency force depression (24), as evidenced in the present study by the D_{10}/D_{100} ratio (Fig. 4), is the consequence of a reduction in Ca^{2+} release into the sarcoplasmic reticulum due to intrinsic alterations in the Ca^{2+} pump (25,41).

Is neuromuscular fatigue interrelated between hamstring and quadriceps muscles? The present study documented the absence of interrelation between hamstring and quadriceps for all neuromuscular fatigue indices (Fig. 5), indicating that a highly fatigable individual in quadriceps is not necessarily highly fatigable in hamstring. Therefore, the fatigability that an individual can develop in quadriceps cannot be used to extrapolate his/her fatigability in hamstring. Although muscle groups presented very different fatigue etiology, the absence of interrelation between quadriceps and hamstring was not surprising. Moreover, the interrelation in peripheral fatigue between muscles might be limited to those with similar fiber type proportion (42), which is not the case for quadriceps and hamstring (6,7). For central fatigue, no correlation was found between hamstring and quadriceps, which is consistent with a previous study comparing fatigue in plantar flexors and finger flexors (43). In conclusion, although neuromuscular fatigue research focusing on hamstring is scarce compared with quadriceps or calf muscles (44), there is a need to investigate specifically hamstring muscles fatigue.

Perspectives for hamstring muscle injuries. Given the higher injury prevalence in hamstring than quadriceps in sports requiring sprints and high-intensity actions (3,45,46) and the identification of fatigue as a risk factor for injuries (2,47–50), observation of less neuromuscular fatigue in hamstring versus quadriceps might seem paradoxical. However, although lower, the magnitude of peripheral fatigue observed in hamstring was still substantial (~55%), which cannot rule out the implication of fatigue in hamstrings injuries. Moreover, preexercise MVC and absolute critical torque were both lower in hamstring compared with quadriceps. Importantly, a deficit in maximal strength, leading the muscle to operate closer to its mechanical limit, has been identified as a risk factor for hamstring

muscle injuries (51,52). Therefore, either or both muscle strength and fatigue, two interconnected parameters (33,53), are likely involved in hamstring muscle injuries. Further studies are needed to dissociate and quantify their relative contribution.

In practice, although greater preexercise torque is associated with greater fatigability (Fig. 3), one could argue that specific resistance training might be counterproductive for injury prevention by decreasing critical torque. However, the present study showed that the relationship between torque output and fatigue was not parallel to the identity line (i.e., less steep, see Fig. 3), indicating that for a given amount of force gained, the amount of fatigue exacerbated is relatively smaller (by 21%). In other words, the extra MVC torque earned is greater than the associated decrease in critical torque, and resistance training will lead to an increase in absolute critical torque.

The exercise modality selected in the present study was designed to activate independently quadriceps or hamstring muscles during exercise; however, it did not reproduce specifically the physiological demand observed during whole-body exercise “on the field.” For example, the number of muscle groups involved during exercise influences the magnitude of neuromuscular fatigue and exercise performance (31,54). Further studies are needed to characterize neuromuscular fatigue in hamstring and quadriceps during competitions and typical training sessions with a high risk of hamstrings muscle injuries such as sprints or agility training. This will help to delineate the role of exercise-induced fatigue in the occurrence of injuries, documented as a multifactorial event (55).

This study was only performed on men, and given existing sex differences in skeletal muscle typology (56), maximal force, and neuromuscular fatigue development (57,58), the conclusion may not be generalizable to women.

CONCLUSIONS

The present study documented differences in neuromuscular fatigue etiology between quadriceps and hamstring muscles while exercise was matched for duration and relative intensity in men. Hamstring developed less peripheral fatigue, and no central fatigue, during the 5-min all-out protocol. Moreover, exercise performance was lower in hamstring compared with quadriceps, as a result of a drastically lower W' associated with a lower absolute critical torque. The absence of correlation observed between quadriceps and hamstring fatigue parameters suggests no interrelation in fatigue etiology between both muscle groups within individuals and, therefore, highlights the need to investigate specifically hamstring muscle fatigue (e.g., to better understand hamstring muscle injuries).

This work has been published under the framework of the IdEX Unistra supported by the investments for the future program of the French Government. Anasthase Massamba was supported by a doctoral research grant from Racing Club de Strasbourg Alsace and the French Ministry of Higher Education and Research at the University of Strasbourg (CIFRE 2019/0708).

The authors declare no conflicts of interest. The results of the study are presented clearly, honestly, and without fabrication, falsification, or inappropriate data manipulation. The results of the present study do not constitute endorsement by the American College of Sports Medicine.

REFERENCES

- Morin JB, Gimenez P, Edouard P, et al. Sprint acceleration mechanics: the major role of hamstrings in horizontal force production. *Front Physiol.* 2015;6:404.
- Woods C, Hawkins RD, Maltby S, et al. The Football Association Medical Research Programme: an audit of injuries in professional football—analysis of hamstring injuries. *Br J Sports Med.* 2004;38(1):36–41.
- Brooks JHM, Fuller CW, Kemp SPT, Reddin DB. Incidence, risk, and prevention of hamstring muscle injuries in professional rugby union. *Am J Sports Med.* 2006;34(8):1297–306.
- Gandevia SC. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiol Rev.* 2001;81(4):1725–89.
- Allen DG, Lamb GD, Westerblad H. Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiol Rev.* 2008;88(1):287–332.
- Evangelidis PE, Massey GJ, Ferguson RA, Wheeler PC, Pain MTG, Folland JP. The functional significance of hamstrings composition: is it really a “fast” muscle group? *Scand J Med Sci Sports.* 2017;27(11):1181–9.
- Staron RS, Hageman FC, Hikida RS, et al. Fiber type composition of the vastus lateralis muscle of young men and women. *J Histochem Cytochem.* 2000;48(5):623–9.
- Coratella G, Grosprêtre S, Gimenez P, Mourot L. Greater fatigability in knee-flexors vs. knee-extensors after a standardized fatiguing protocol. *Eur J Sport Sci.* 2018;18(8):1110–8.
- Ducrocq GP, Hureau TJ, Bøgsøth T, Meste O, Blain GM. Recovery from fatigue following cycling time-trials in elite endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2021;53(5):904–17.
- Bumley M. Estimation of critical torque using intermittent isometric maximal voluntary contractions of the quadriceps in humans. *J Appl Physiol (1985).* 2009;106(3):975–83.
- Abdalla LHP, Denadai BS, Bassan NM, Greco CC. Exercise tolerance during muscle contractions below and above the critical torque in different muscle groups. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2018;43(2):174–9.
- Craig JC, Vanhatalo A, Burnley M, Jones AM, Poole DC. Critical power: possibly the most important fatigue threshold in exercise physiology. In: Zoladz JA, editor. *Muscle and Exercise Physiology.* Academic Press; 2019. pp. 159–81.
- Vanhatalo A, Black MI, DiMenna FJ, et al. The mechanistic bases of the power-time relationship: muscle metabolic responses and relationships to muscle fibre type. *J Physiol.* 2016;594(15):4407–23.
- Schäfer LU, Hayes M, Deklerke J. The magnitude of neuromuscular fatigue is not intensity dependent when cycling above critical power but relates to aerobic and anaerobic capacities. *Exp Physiol.* 2019;104(2):209–19.
- Broxterman RM, Craig JC, Smith JR, et al. Influence of blood flow occlusion on the development of peripheral and central fatigue during small muscle mass handgrip exercise. *J Physiol.* 2015;593(17):4043–54.
- Broxterman RM, Craig JC, Weavil JC, Hureau TJ. The relationship between \dot{W} and peripheral fatigue considered. *Exp Physiol.* 2020;105(1):211–2.
- Zarzissi S, Bouzid MA, Zghal F, Rebai H, Hureau TJ. Aging reduces the maximal level of peripheral fatigue tolerable and impairs exercise capacity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2020;319(6):R617–25.
- Kordi M, Menzies C, Parker Simpson L. Relationship between power-duration parameters and mechanical and anthropometric properties of the thigh in elite cyclists. *Eur J Appl Physiol.* 2018;118(3):637–45.
- Marshall PWM, Lovell R, Jeppesen GK, Andersen K, Siegler JC. Hamstring muscle fatigue and central motor output during a simulated soccer match. *PLoS One.* 2014;9(7):e102753.
- Merton PA. Voluntary strength and fatigue. *J Physiol.* 1954;123(3):553–64.
- Hemmens HJ, Freriks B, Disselhorst-Klug C, Rau G. Development of recommendations for SEMG sensors and sensor placement procedures. *J Electromyogr Kinesiol.* 2000;10(5):361–74.
- Broxterman RM, Layec G, Hureau TJ, Amann M, Richardson RS. Skeletal muscle bioenergetics during all-out exercise: mechanistic insight into the oxygen uptake slow component and neuromuscular fatigue. *J Appl Physiol (1985).* 2017;122(5):1208–17.
- Hureau TJ, Broxterman RM, Weavil JC, Layec G, Amann M. On the role of skeletal muscle acidosis and inorganic phosphates as determinants of central and peripheral fatigue: a 31P-MRS study. *J Physiol.* 2022;600(13):3069–81.
- Place N, Casartelli N, Glatthorn JF, Maffiuletti NA. Comparison of quadriceps inactivation between nerve and muscle stimulation. *Muscle Nerve.* 2010;42(6):894–900.
- Watanabe D, Wada M. Predominant cause of prolonged low-frequency force depression changes during recovery after in situ fatiguing stimulation of rat fast-twitch muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2016;311(5):R919–29.
- Jones DA. High- and low-frequency fatigue revisited. *Acta Physiol Scand.* 1996;156(3):265–70.
- Piponnier E, Martin V, Chalchat E, et al. Effect of muscle-tendon unit length on child-adult difference in neuromuscular fatigue. *Med Sci Sports Exerc.* 2019;51(9):1961–70.
- Lee SCK, Braim A, Becker CN, Prosser LA, Tokay AM, Binder-Macleod SA. Diminished fatigue at reduced muscle length in human skeletal muscle. *Muscle Nerve.* 2007;36(6):789–97.
- Morgan PT, Bowtell JL, Vanhatalo A, Jones AM, Bailey SJ. Acute acetaminophen ingestion improves performance and muscle activation during maximal intermittent knee extensor exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2018;118(3):595–605.
- Baumert P, Temple S, Stanley JM, et al. Neuromuscular fatigue and recovery after strenuous exercise depends on skeletal muscle size and stem cell characteristics. *Sci Rep.* 2021;11(1):7733.
- Hureau TJ, Romer LM, Amann M. The “sensory tolerance limit”: a hypothetical construct determining exercise performance? *Eur J Sport Sci.* 2018;18(1):13–24.
- Amann M, Proctor LT, Sebranek JJ, Pegelow DF, Dempsey JA. Opioid-mediated muscle afferents inhibit central motor drive and limit peripheral muscle fatigue development in humans. *J Physiol.* 2009;587(1):271–83.
- Enoka RM, Stuart DG. Neurobiology of muscle fatigue. *J Appl Physiol (1985).* 1992;72(5):1631–48.
- Methenitis S, Spengos K, Zaras N, et al. Fiber type composition and rate of force development in endurance- and resistance-trained individuals. *J Strength Cond Res.* 2019;33(9):2388–97.
- Hamada T, Sale DG, MacDougall JD, Tamopolsky MA. Interaction of fibre type, potentiation and fatigue in human knee extensor muscles. *Acta Physiol Scand.* 2003;178(2):165–73.
- Karatzafiri C, de Haan A, van Mechelen W, Sargeant AJ. Metabolism changes in single human fibres during brief maximal exercise. *Exp Physiol.* 2001;86(3):411–5.
- Evangelidis PE, Massey GJ, Pain MTG, Folland JP. Strength and size relationships of the quadriceps and hamstrings with special reference to reciprocal muscle balance. *Eur J Appl Physiol.* 2016;116(3):593–600.
- Gruet M, Temesi J, Rupp T, Levy P, Verges S, Millet GY. Dynamics of corticospinal changes during and after high-intensity quadriceps exercise. *Exp Physiol.* 2014;99(8):1053–64.
- Hureau TJ, Ducrocq GP, Blain GM. Peripheral and central fatigue development during all-out repeated cycling sprints. *Med Sci Sports Exerc.* 2016;48(3):391–401.
- Carroll TJ, Taylor JL, Gandevia SC. Recovery of central and peripheral neuromuscular fatigue after exercise. *J Appl Physiol (1985).* 2017;122(5):1068–76.
- Tupling R, Green H, Grant S, Bumett M, Ranney D. Postcontractile force depression in humans is associated with an impairment in SR Ca(2+) pump function. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000;278(1):R87–94.

42. Vikne H, Gundersen K, Liestøl K, Mælen J, Vøllestad N. Intermuscular relationship of human muscle fiber type proportions: slow leg muscles predict slow neck muscles. *Muscle Nerve*. 2012;45(4):527–35.
43. Chartogne M, Rahmani A, Nicolon L, Jubeau M, Morel B. Neuromuscular fatigability amplitude and aetiology are interrelated across muscles. *Exp Physiol*. 2020;105(10):1758–66.
44. Brownstein CG, Millet GY, Thomas K. Neuromuscular responses to fatiguing locomotor exercise. *Acta Physiol (Oxf)*. 2021;231(2):e13533.
45. Ekstrand J, Häggglund M, Waldén M. Epidemiology of muscle injuries in professional football (soccer). *Am J Sports Med*. 2011;39(6):1226–32.
46. Edouard P, Branco P, Alonso JM. Muscle injury is the principal injury type and hamstring muscle injury is the first injury diagnosis during top-level international athletics championships between 2007 and 2015. *Br J Sports Med*. 2016;50(10):619–30.
47. Pizzari T, Green B, van Dyk N. Extrinsic and intrinsic risk factors associated with hamstring injury. In: Thorborg K, Opar D, Shield A, editors. *Prevention and Rehabilitation of Hamstring Injuries*. Cham: Springer International Publishing; 2020. pp. 83–115.
48. Buckthorpe M, Wright S, Bruce-Low S, et al. Recommendations for hamstring injury prevention in elite football: translating research into practice. *Br J Sports Med*. 2019;53(7):449–56.
49. Dupont G, Nedelec M, McCall A, McCormack D, Berthoin S, Wisløff U. Effect of 2 soccer matches in a week on physical performance and injury rate. *Am J Sports Med*. 2010;38(9):1752–8.
50. Carling C, McCall A, Le Gall F, Dupont G. The impact of short periods of match congestion on injury risk and patterns in an elite football club. *Br J Sports Med*. 2016;50(12):764–8.
51. Opar DA, Williams MD, Timmins RG, Hickey J, Duhig SJ, Shield AJ. Eccentric hamstring strength and hamstring injury risk in Australian footballers. *Med Sci Sports Exerc*. 2015;47(4):857–65.
52. Edouard P, Lahti J, Nagahara R, et al. Low horizontal force production capacity during sprinting as a potential risk factor of hamstring injury in football. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(15):7827.
53. Lindström B, Lexell J, Gerdle B, Downham D. Skeletal muscle fatigue and endurance in young and old men and women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1997;52(1):B59–66.
54. Rossman MJ, Garten RS, Venturelli M, Amann M, Richardson RS. The role of active muscle mass in determining the magnitude of peripheral fatigue during dynamic exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2014;306(12):R934–40.
55. Opar DA, Williams MD, Shield AJ. Hamstring strain injuries: factors that lead to injury and re-injury. *Sports Med*. 2012;42(3):209–26.
56. Fournier G, Bernard C, Cievet-Bonfils M, et al. Sex differences in semitendinosus muscle fiber-type composition. *Scand J Med Sci Sports*. 2022;32(4):720–7.
57. Ansdell P, Brownstein CG, Škarabot J, et al. Sex differences in fatigability and recovery relative to the intensity–duration relationship. *J Physiol*. 2019;597(23):5577–95.
58. Hunter SK. Sex differences in human fatigability: mechanisms and insight to physiological responses. *Acta Physiol (Oxf)*. 2014;210(4):768–89.

Travail supplémentaire 5 : article de journal club sur la fatigue neuromusculaire

Implication personnelle

J'ai participé au journal club pour lequel cet article a été rédigé et publié *dans Journal of Physiology*. En tant que co-auteur, j'ai participé à sa relecture.

Identifying sex differences in neuromuscular fatigue: the challenge of normalizing exercise intensity and interpreting the results between population


Thomas J Hureau, Elyse Hucteau, Anasthase Massamba, **Joris Mallard**,
Guillaume P Ducrocq

Article publié dans *Journal of Physiology* (IF : 6.2)

doi: 10.1113/JP281755

JOURNAL CLUB

Identifying sex differences in neuromuscular fatigue: the challenge of normalizing exercise intensity and interpreting the results between populations

Thomas J. Hureau^{1,2} ,
Elyse Hucteau^{1,2},

Anasthase Massamba^{1,2}, Joris Mallard^{1,2}
and Guillaume P. Ducrocq^{1,2}

¹Faculty of Medicine, Mitochondria, Oxidative Stress and Muscular Protection laboratory (UR 3072), University of Strasbourg, Strasbourg, France

²Faculty of Sport Sciences, European Centre for Education, Research and Innovation in Exercise Physiology (CEERiPE), University of Strasbourg, Strasbourg, France

Email: t.hureau@unistra.fr

Edited by: Michael Hogan & Bruno Grassi

Linked articles: This Journal Club article highlights an article by Ansdell *et al.* To read this paper, visit <https://doi.org/10.1113/JP280031>.

Exercise-induced neuromuscular fatigue is well known for being specific. This specificity, which determines both the magnitude and aetiology of fatigue, includes multiple parameters such as the nature of the task (i.e. contraction mode, muscle mass involved), the intensity–duration of the task, but also individual characteristics such as the participants' sex (Hunter, 2016). However, similarly to other research areas, sex differences in neuromuscular fatigue are still under-investigated (Hunter, 2016). In a recent article published in *The Journal of Physiology*, Ansdell and colleagues aimed to clarify the sex differences in fatigue during whole-body exercise (Ansdell *et al.* 2020a).

How to normalize exercise intensity in order to compare male and female physiology?

A classic question when comparing independent groups in exercise physiology is the methodological approach to normalize exercise intensity. One approach is to use an absolute exercise intensity (e.g. 100 W on a cycle ergometer), which is particularly relevant for clinical outcomes since daily living activities such as climbing stairs or doing grocery shopping

are driven by the environment and are not relative to the individual's maximal capacity. Alternatively, or additionally, relative intensity is often utilized to match the exercise demands between groups, which also provides important mechanistic insights. In this context, exercise intensity can be relative to the maximal voluntary contraction force (% of MVC) or the maximal oxygen uptake (% of $\dot{V}_{O_{2,max}}$), for single-joint or whole-body exercise modalities, respectively. If this normalization is insightful, it is not devoid of confounding factors when comparing males and females. Indeed, in this scenario (matching exercise at a specific percentage of $\dot{V}_{O_{2,max}}$), metabolic thresholds are neglected and the metabolic rate can be drastically different between individuals. As a result, males and females could experience substantial differences in time to task failure, which would be a serious limitation as the intensity and duration of the exercise task are known to influence the magnitude and aetiology of neuromuscular fatigue (Ducrocq *et al.* 2021). In order to circumvent this limitation, Ansdell *et al.* (2020a) normalized exercise intensity to critical power, a metabolic threshold derived from the power–time relationship, with the intention to match the metabolic rate between males and females.

Critical power: a key variable delineating two exercise intensity domains

The power–time relationship for high-intensity exercise is well known to be hyperbolic and generalizable to multiple exercise modalities in humans and other species. The critical power is mathematically defined as the asymptote of this hyperbola, while the curvature constant (W') represents a fixed amount of work that can be performed above critical power before reaching exhaustion. Importantly, critical power delineates the heavy and severe intensity domains of exercise, characterized by distinct rates of metabolism and fatigue (Burnley & Jones, 2018). Indeed, critical power represents the highest intensity with a steady state, i.e. without a progressive loss of homeostasis. Therefore, \dot{V}_{O_2} and intramuscular metabolites fail to stabilize above the critical power. Given the tight relationship between intramuscular metabolic perturbation

and peripheral fatigue, it is not surprising to observe drastic differences in fatigue development in the severe compared to the heavy intensity domain (Burnley & Jones, 2018). In their investigation, Ansdell *et al.* (2020a) aimed to clarify the sex differences in fatigue during exercise in both the heavy (90% of critical power) and the severe (110% of critical power) intensity domain.

Are females more fatigue-resistant to exercise than males?

Critical power was similar between males and females when expressed in relative units (% of maximal power), leading to no sex difference in time to task failure for both the heavy and the severe exercises. In this context, peripheral fatigue, assessed by supramaximal electrical stimulation over the femoral nerve, was about 50% lower in females compared to males at task failure. Interestingly, this sex difference in peripheral fatigue persisted independently of the exercise intensity domain (severe: males $\sim 2.9\% \text{ min}^{-1}$ vs females $\sim 1.3\% \text{ min}^{-1}$; heavy: males $\sim 0.5\% \text{ min}^{-1}$ vs females $\sim 0.2\% \text{ min}^{-1}$). From this observation, females appear to be less fatigable than males, which is consistent with previous investigations matching exercise intensity at a defined percentage of maximal force or power between sexes (Hunter, 2016). Mechanisms to explain this sex difference include less locomotor muscle deoxygenation and contractile impairment in females, potentially related to discrepancies in skeletal muscle size and composition between males and females.

However, it is important to note that males produced considerably more work than females in both exercise conditions. In fact, critical power and W' were both $\sim 30\%$ lower in females compared to males. Given the relationship between W' and peripheral fatigue, one could hypothesize that the sex differences in fatigability are driven by the total work performed. Interestingly, when peripheral fatigue was normalized to W' , the sex differences were cancelled. In other words, females developed less neuromuscular fatigue because they performed less work, likely due to a smaller skeletal muscle mass. It seems therefore questionable to characterize females as 'more fatigue-resistant'. Indeed, this (common) terminology seems quite

illogical. Females would resist to a negative phenomenon for performance (i.e. acute fatigue), which should lead, *in fine*, to a positive outcome for performance. In contrast, the opposite is observed, with a lower exercise capacity for females compared to males. This is why describing females as 'more fatigue-resistant' might not be an appropriate terminology in this context, similarly to what was suggested previously for ageing (Zarzissi *et al.* 2020). The 'greater fatigue-resistance' terminology should describe individuals combining less fatigue development associated to a better, or at least preserved, exercise performance compared to their counterparts, such as what was documented in elite compared to recreationally trained cyclists (Ducrocq *et al.* 2021).

Regardless, from an integrative perspective, Ansdell *et al.* (2020a) describe substantial sex differences in the relative contribution of several muscle groups in task failure during whole-body exercise. The concept of a sensory tolerance limit suggests that the sum of all feedback and feedforward signals is processed within the CNS and ultimately regulates the intensity of exercise to ensure that voluntary activity remains tolerable (self-paced exercise) or determines task failure (constant-load exercise) (Hureau *et al.* 2018). Therefore, as speculated by Ansdell *et al.* (2020b), with less metabolic perturbation in locomotor muscles but heightened work of breathing and dyspnoea, the sensory tolerance limit was likely reached with lower firing of afferent feedback from locomotor muscles but greater firing from respiratory muscles, in females compared to males (Ansdell *et al.* 2020b).

Perspectives and significance

Using an integrative physiological approach during exercise normalized to critical power, the study performed by Ansdell *et al.* (2020a) provides new mechanistic insights into the sex differences in fatigability. While it is methodologically impossible to match simultaneously all physiological

characteristics dissociating males and females that influence exercise-induced neuromuscular fatigue, their study provides a major contribution that advances the field by matching exercise intensity between sex groups to critical power. This investigation highlights perfectly the need to investigate through different normalization paradigms exercise intensity of independent groups for a comprehensive understanding. As suggested by the authors, future studies normalizing exercise to fat-free mass might be interesting to circumvent the effect of muscle mass on sex and provide further insights into the fatigue-related sex differences.

While neuromuscular fatigue might be an important acute stimulus for chronic adaptations to training, and considering that females developed 50% less fatigue than males, it is currently unclear if females would also get only 50% of the adaptations for a given training load (Ansdell *et al.* 2020b). In our opinion, this is a very important question that might be highly impactful for training and rehabilitation programmes. As exercise physiologists working with athletes and disease populations from both sexes, we are looking forward to investigations researching this topic.

References

- Ansdell P, Skarabot J, Atkinson E, Corden S, Tygart A, Hicks KM, Thomas K, Hunter SK, Howatson G & Goodall S (2020a). Sex differences in fatigability following exercise normalised to the power–duration relationship. *J Physiol* **598**, 5717–5737.
- Ansdell P, Thomas K, Hicks KM, Hunter SK, Howatson G & Goodall S (2020b). Physiological sex differences affect the integrative response to exercise: acute and chronic implications. *Exp Physiol* **105**, 2007–2021.
- Burnley M & Jones AM (2018). Power-duration relationship: physiology, fatigue, and the limits of human performance. *Eur J Sport Sci* **18**, 1–12.
- Ducrocq GP, Hureau TJ, Bøgseth T, Meste O & Blain GM (2021). Recovery from fatigue after cycling time trials in elite endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc* **53**, 904–917.
- Hunter SK (2016). The relevance of sex differences in performance fatigability. *Med Sci Sports Exerc* **48**, 2247–2256.
- Hureau TJ, Romer LM & Amann M (2018). The 'sensory tolerance limit': A hypothetical construct determining exercise performance? *Eur J Sport Sci* **18**, 13–24.
- Zarzissi S, Bouzid MA, Zghal F, Rebai H & Hureau TJ (2020). Aging reduces the maximal level of peripheral fatigue tolerable and impairs exercise capacity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **319**, R617–R625.

Additional information

Competing interests

No competing interests declared.

Author contributions

All authors have read and approved the final version of this manuscript and agree to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved. All persons designated as authors qualify for authorship, and all those who qualify for authorship are listed.

Funding

None.

Acknowledgements

Due to Journal imposed reference limits, we apologize for not citing all relevant articles. We thank all attendees of *The Journal of Physiology's* Virtual Journal Club as well as the focus article authors Dr Kirsty Hicks and Dr Paul Ansdell (panellists) for their participation and the interesting discussions resulting from this scientific meeting.

Keywords

critical power, exercise performance, neuromuscular fatigue, sex differences

BIBLIOGRAPHIE

- Aagaard, P., Suetta, C., Caserotti, P., Magnusson, S. P., & Kjaer, M. (2010). Role of the nervous system in sarcopenia and muscle atrophy with aging : Strength training as a countermeasure. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 20(1), 49-64. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2009.01084.x>
- Abrigo, J., Simon, F., Cabrera, D., Vilos, C., & Cabello-Verrugio, C. (2019). Mitochondrial Dysfunction in Skeletal Muscle Pathologies. *Current Protein & Peptide Science*, 20(6), 536-546. <https://doi.org/10.2174/1389203720666190402100902>
- Acharyya, S., Butchbach, M. E. R., Sahenk, Z., Wang, H., Saji, M., Carathers, M., Ringel, M. D., Skipworth, R. J. E., Fearon, K. C. H., Hollingsworth, M. A., Muscarella, P., Burghes, A. H. M., Rafael-Fortney, J. A., & Guttridge, D. C. (2005). Dystrophin glycoprotein complex dysfunction : A regulatory link between muscular dystrophy and cancer cachexia. *Cancer Cell*, 8(5), 421-432. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.10.004>
- Adams, S. C., Segal, R. J., McKenzie, D. C., Vallerand, J. R., Morielli, A. R., Mackey, J. R., Gelmon, K., Friedenreich, C. M., Reid, R. D., & Courneya, K. S. (2016). Impact of resistance and aerobic exercise on sarcopenia and dynapenia in breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy : A multicenter randomized controlled trial. *Breast Cancer Research and Treatment*, 158(3), 497-507. <https://doi.org/10.1007/s10549-016-3900-2>
- Agarwala, P., & Salzman, S. H. (2020). Six-Minute Walk Test : Clinical Role, Technique, Coding, and Reimbursement. *Chest*, 157(3), 603-611. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2019.10.014>
- Agostini, F., Dalla Libera, L., Rittweger, J., Mazzucco, S., Jurdana, M., Mekjavic, I. B., Pisot, R., Gorza, L., Narici, M., & Biolo, G. (2010). Effects of inactivity on human muscle glutathione synthesis by a double-tracer and single-biopsy approach. *The Journal of Physiology*, 588(Pt 24), 5089-5104. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.198283>
- Ahles, T. A., Root, J. C., & Ryan, E. L. (2012). Cancer- and Cancer Treatment–Associated Cognitive Change : An Update on the State of the Science. *Journal of Clinical Oncology*, 30(30), 3675-3686. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.43.0116>
- Ahmadabadi, F., Saghebjo, M., Huang, C.-J., Saffari, I., & Zardast, M. (2020). The effects of high-intensity interval training and saffron aqueous extract supplementation on alterations of body weight and apoptotic indices in skeletal muscle of 4T1 breast cancer-bearing mice with cachexia. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition Et Metabolisme*, 45(5), 555-563. <https://doi.org/10.1139/apnm-2019-0352>
- Aleixo, G. F. P., Deal, A. M., Nyrop, K. A., Muss, H. B., Damone, E. M., Williams, G. R., Yu, H., & Shachar, S. S. (2020). Association of body composition with function in women with early breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 181(2), 411-421. <https://doi.org/10.1007/s10549-020-05624-3>
- Aleixo, G. F. P., Shachar, S. S., Nyrop, K. A., Muss, H. B., Battaglini, C. L., & Williams, G. R. (2020). Bioelectrical Impedance Analysis for the Assessment of Sarcopenia in Patients with Cancer : A Systematic Review. *The Oncologist*, 25(2), 170-182. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2019-0600>
- Al-Hajeili, M., Trabulsi, N., Makin, M. A., Shibriq, N., Alshelali, R., Alghoraibi, L., Alhaidari, R., Alhazzani, L., & Alzahrani, A. S. (2021). Weight Changes in Women Receiving Chemotherapy for Non-Metastatic Breast Cancer in Saudi Arabia. *Cureus*, 13(1), e12961. <https://doi.org/10.7759/cureus.12961>
- Alkner, B. A., Norrbrand, L., & Tesch, P. A. (2016). Neuromuscular Adaptations Following 90 Days Bed Rest With or Without Resistance Exercise. *Aerospace Medicine and Human Performance*, 87(7), 610-617. <https://doi.org/10.3357/AMHP.4383.2016>
- Alldritt, I., Greenhaff, P. L., & Wilkinson, D. J. (2021). Metabolomics as an Important Tool for Determining the Mechanisms of Human Skeletal Muscle Deconditioning. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), 13575. <https://doi.org/10.3390/ijms222413575>
- Allemani, C., Matsuda, T., Di Carlo, V., Harewood, R., Matz, M., Nikšić, M., Bonaventure, A., Valkov, M., Johnson, C. J., Estève, J., Ogunbiyi, O. J., Azevedo E Silva, G., Chen, W.-Q., Eser, S., Engholm, G., Stiller, C. A., Monnereau, A., Woods, R. R., Visser, O., ... CONCORD Working Group. (2018). Global surveillance of trends in

cancer survival 2000-14 (CONCORD-3) : Analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *Lancet (London, England)*, 391(10125), 1023-1075. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)33326-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)33326-3)

Allen, D. G., Lamb, G. D., & Westerblad, H. (2008). Skeletal muscle fatigue : Cellular mechanisms. *Physiological Reviews*, 88(1), 287-332. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2007>

Allen, D. L., Linderman, J. K., Roy, R. R., Grindeland, R. E., Mukku, V., & Edgerton, V. R. (1997). Growth hormone/IGF-I and/or resistive exercise maintains myonuclear number in hindlimb unweighted muscles. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 83(6), 1857-1861. <https://doi.org/10.1152/jappl.1997.83.6.1857>

Amthor, H., Macharia, R., Navarrete, R., Schuelke, M., Brown, S. C., Otto, A., Voit, T., Muntoni, F., Vrbóva, G., Partridge, T., Zammit, P., Bungler, L., & Patel, K. (2007). Lack of myostatin results in excessive muscle growth but impaired force generation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(6), 1835-1840. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604893104>

Anagnostou, M.-E., & Hepple, R. T. (2020). Mitochondrial Mechanisms of Neuromuscular Junction Degeneration with Aging. *Cells*, 9(1), E197. <https://doi.org/10.3390/cells9010197>

Ando, R., Taniguchi, K., Saito, A., Fujimiya, M., Katayose, M., & Akima, H. (2014). Validity of fascicle length estimation in the vastus lateralis and vastus intermedius using ultrasonography. *Journal of Electromyography and Kinesiology: Official Journal of the International Society of Electrophysiological Kinesiology*, 24(2), 214-220. <https://doi.org/10.1016/j.jelekin.2014.01.003>

Andrianjafiniony, T., Dupré-Aucouturier, S., Letexier, D., Couchoux, H., & Desplanches, D. (2010). Oxidative stress, apoptosis, and proteolysis in skeletal muscle repair after unloading. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 299(2), C307-315. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00069.2010>

Annesley, S. J., & Fisher, P. R. (2019). Mitochondria in Health and Disease. *Cells*, 8(7), E680. <https://doi.org/10.3390/cells8070680>

Antoun, S., & Raynard, B. (2018). Muscle protein anabolism in advanced cancer patients : Response to protein and amino acids support, and to physical activity. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 29(suppl_2), ii10-ii17. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx809>

Apantaku, L. M. (2002). Breast-conserving surgery for breast cancer. *American Family Physician*, 66(12), 2271-2278.

Apuri, S. (2017). Neoadjuvant and Adjuvant Therapies for Breast Cancer. *Southern Medical Journal*, 110(10), 638-642. <https://doi.org/10.14423/SMJ.0000000000000703>

Arc-Chagnaud, C., Py, G., Fovet, T., Roumanille, R., Demangel, R., Pagano, A. F., Delobel, P., Blanc, S., Jasmin, B. J., Blottner, D., Salanova, M., Gomez-Cabrera, M.-C., Viña, J., Brioché, T., & Chopard, A. (2020). Evaluation of an Antioxidant and Anti-inflammatory Cocktail Against Human Hypoactivity-Induced Skeletal Muscle Deconditioning. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00071>

Arentson-Lantz, E. J., English, K. L., Paddon-Jones, D., & Fry, C. S. (2016). Fourteen days of bed rest induces a decline in satellite cell content and robust atrophy of skeletal muscle fibers in middle-aged adults. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 120(8), 965-975. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00799.2015>

Argilés, J. M., Busquets, S., Stemmler, B., & López-Soriano, F. J. (2014). Cancer cachexia : Understanding the molecular basis. *Nature Reviews. Cancer*, 14(11), 754-762. <https://doi.org/10.1038/nrc3829>

Argilés, J. M., López-Soriano, F. J., & Busquets, S. (2008). Apoptosis signalling is essential and precedes protein degradation in wasting skeletal muscle during catabolic conditions. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 40(9), 1674-1678. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.02.001>

Arrighi, N., Moratal, C., Clément, N., Giorgetti-Peraldi, S., Peraldi, P., Loubat, A., Kurzenne, J.-Y., Dani, C., Chopard, A., & Dechesne, C. A. (2015). Characterization of adipocytes derived from fibro/adipogenic

progenitors resident in human skeletal muscle. *Cell Death & Disease*, 6, e1733. <https://doi.org/10.1038/cddis.2015.79>

Arthur, S. T., Noone, J. M., Van Doren, B. A., Roy, D., & Blanchette, C. M. (2014). One-year prevalence, comorbidities and cost of cachexia-related inpatient admissions in the USA. *Drugs in Context*, 3. <https://doi.org/10.7573/dic.212265>

Ashrafi, G., & Schwarz, T. L. (2013). The pathways of mitophagy for quality control and clearance of mitochondria. *Cell Death and Differentiation*, 20(1), 31-42. <https://doi.org/10.1038/cdd.2012.81>

Astrand, P. O., & Saltin, B. (1961). Maximal oxygen uptake and heart rate in various types of muscular activity. *Journal of Applied Physiology*, 16, 977-981. <https://doi.org/10.1152/jap.1961.16.6.977>

Atashi, F., Modarressi, A., & Pepper, M. S. (2015). The role of reactive oxygen species in mesenchymal stem cell adipogenic and osteogenic differentiation : A review. *Stem Cells and Development*, 24(10), 1150-1163. <https://doi.org/10.1089/scd.2014.0484>

Atherton, P. J., Greenhaff, P. L., Phillips, S. M., Bodine, S. C., Adams, C. M., & Lang, C. H. (2016). Control of skeletal muscle atrophy in response to disuse : Clinical/preclinical contentions and fallacies of evidence. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 311(3), E594-604. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00257.2016>

ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories. (2002). ATS statement : Guidelines for the six-minute walk test. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 166(1), 111-117. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.166.1.at1102>

Augereau, P., Patsouris, A., Bourbouloux, E., Gourmelon, C., Abadie Lacourtoisie, S., Berton Rigaud, D., Soulié, P., Frenel, J. S., & Campone, M. (2017). Hormonoresistance in advanced breast cancer : A new revolution in endocrine therapy. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 9(5), 335-346. <https://doi.org/10.1177/1758834017693195>

Aversa, Z., Bonetto, A., Penna, F., Costelli, P., Di Rienzo, G., Lacitignola, A., Baccino, F. M., Ziparo, V., Mercantini, P., Rossi Fanelli, F., & Muscaritoli, M. (2012). Changes in myostatin signaling in non-weight-losing cancer patients. *Annals of Surgical Oncology*, 19(4), 1350-1356. <https://doi.org/10.1245/s10434-011-1720-5>

Aversa, Z., Pin, F., Lucia, S., Penna, F., Verzaro, R., Fazi, M., Colasante, G., Tirone, A., Rossi Fanelli, F., Ramaccini, C., Costelli, P., & Muscaritoli, M. (2016). Autophagy is induced in the skeletal muscle of cachectic cancer patients. *Scientific Reports*, 6, 30340. <https://doi.org/10.1038/srep30340>

Bäck, M., Jivegård, L., Johansson, A., Nordanstig, J., Svanberg, T., Adania, U. W., & Sjögren, P. (2015). Home-based supervised exercise versus hospital-based supervised exercise or unsupervised walk advice as treatment for intermittent claudication : A systematic review. *Journal of Rehabilitation Medicine*, 47(9), 801-808. <https://doi.org/10.2340/16501977-2012>

Bae, T., Jang, J., Lee, H., Song, J., Chae, S., Park, M., Son, C.-G., Yoon, S., & Yoon, Y. (2020). Paeonia lactiflora root extract suppresses cancer cachexia by down-regulating muscular NF- κ B signalling and muscle-specific E3 ubiquitin ligases in cancer-bearing mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 246, 112222. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112222>

Baehr, L. M., Furlow, J. D., & Bodine, S. C. (2011). Muscle sparing in muscle RING finger 1 null mice : Response to synthetic glucocorticoids. *The Journal of Physiology*, 589(Pt 19), 4759-4776. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.212845>

Baehr, L. M., Hughes, D. C., Lynch, S. A., Van Haver, D., Maia, T. M., Marshall, A. G., Radoshevich, L., Impens, F., Waddell, D. S., & Bodine, S. C. (2021). Identification of the MuRF1 Skeletal Muscle Ubiquitylome Through Quantitative Proteomics. *Function (Oxford, England)*, 2(4), zqab029. <https://doi.org/10.1093/function/zqab029>

Baggerman, M. R., van Dijk, D. P. J., Winkens, B., van Gassel, R. J. J., Bol, M. E., Schnabel, R. M., Bakers, F. C., Olde Damink, S. W. M., & van de Poll, M. C. G. (2020). Muscle wasting associated co-morbidities, rather than

- sarcopenia are risk factors for hospital mortality in critical illness. *Journal of Critical Care*, 56, 31-36. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2019.11.016>
- Baldwin, K. M., Haddad, F., Pandorf, C. E., Roy, R. R., & Edgerton, V. R. (2013). Alterations in muscle mass and contractile phenotype in response to unloading models: Role of transcriptional/pretranslational mechanisms. *Frontiers in Physiology*, 4, 284. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00284>
- Ballarò, R., Beltrà, M., De Lucia, S., Pin, F., Ranjbar, K., Hulmi, J. J., Costelli, P., & Penna, F. (2019). Moderate exercise in mice improves cancer plus chemotherapy-induced muscle wasting and mitochondrial alterations. *The FASEB Journal*, 33(4), 5482-5494. <https://doi.org/10.1096/fj.201801862R>
- Baltgalvis, K. A., Berger, F. G., Pena, M. M. O., Davis, J. M., Muga, S. J., & Carson, J. A. (2008). Interleukin-6 and cachexia in ApcMin/+ mice. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 294(2), R393-401. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00716.2007>
- Bang, E., Tanabe, K., Yokoyama, N., Chijiki, S., Tsuruzono, T., & Kuno, S. (2018). Effects of daily walking on intermuscular adipose tissue accumulation with age : A 5-year follow-up of participants in a lifestyle-based daily walking program. *European Journal of Applied Physiology*, 118(4), 785-793. <https://doi.org/10.1007/s00421-018-3812-4>
- Bansal, C., Singh, U. S., Misra, S., Sharma, K. L., Tiwari, V., & Srivastava, A. N. (2012). Comparative evaluation of the modified Scarff-Bloom-Richardson grading system on breast carcinoma aspirates and histopathology. *CytoJournal*, 9, 4. <https://doi.org/10.4103/1742-6413.92550>
- Baracos, V. E., & Arribas, L. (2018). Sarcopenic obesity : Hidden muscle wasting and its impact for survival and complications of cancer therapy. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 29(suppl_2), ii1-ii9. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx810>
- Baracos, V. E., DeVivo, C., Hoyle, D. H., & Goldberg, A. L. (1995). Activation of the ATP-ubiquitin-proteasome pathway in skeletal muscle of cachectic rats bearing a hepatoma. *The American Journal of Physiology*, 268(5 Pt 1), E996-1006. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1995.268.5.E996>
- Baracos, V. E., Martin, L., Korc, M., Guttridge, D. C., & Fearon, K. C. H. (2018). Cancer-associated cachexia. *Nature Reviews Disease Primers*, 4, 17105. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.105>
- Barreto, R., Kitase, Y., Matsumoto, T., Pin, F., Colston, K. C., Couch, K. E., O'Connell, T. M., Couch, M. E., Bonewald, L. F., & Bonetto, A. (2017). ACVR2B/Fc counteracts chemotherapy-induced loss of muscle and bone mass. *Scientific Reports*, 7(1), 14470. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15040-1>
- Barreto, R., Waning, D. L., Gao, H., Liu, Y., Zimmers, T. A., & Bonetto, A. (2016). Chemotherapy-related cachexia is associated with mitochondrial depletion and the activation of ERK1/2 and p38 MAPKs. *Oncotarget*, 7(28), 43442-43460. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9779>
- Battaglini, C., Bottaro, M., Dennehy, C., Rae, L., Shields, E., Kirk, D., & Hackney, A. (2007). The effects of an individualized exercise intervention on body composition in breast cancer patients undergoing treatment. *Sao Paulo Medical Journal*, 125(1), 22-28. <https://doi.org/10.1590/S1516-31802007000100005>
- Beaudart, C., Biver, E., Bruyère, O., Cooper, C., Al-Daghri, N., Reginster, J.-Y., & Rizzoli, R. (2018). Quality of life assessment in musculo-skeletal health. *Aging Clinical and Experimental Research*, 30(5), 413-418. <https://doi.org/10.1007/s40520-017-0794-8>
- Beaudry, R. I., Kirkham, A. A., Thompson, R. B., Grenier, J. G., Mackey, J. R., & Haykowsky, M. J. (2020). Exercise Intolerance in Anthracycline-Treated Breast Cancer Survivors : The Role of Skeletal Muscle Bioenergetics, Oxygenation, and Composition. *The Oncologist*. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2019-0777>
- Beck, S. A., Smith, K. L., & Tisdale, M. J. (1991). Anticachectic and antitumor effect of eicosapentaenoic acid and its effect on protein turnover. *Cancer Research*, 51(22), 6089-6093.
- Behm, D. G., & St-Pierre, D. M. (1997). Fatigue characteristics following ankle fractures. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 29(9), 1115-1123. <https://doi.org/10.1097/00005768-199709000-00001>

- Behm, D. G., & St-Pierre, D. M. (1998). The effects of strength training and disuse on the mechanisms of fatigue. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 25(3), 173-189. <https://doi.org/10.2165/00007256-199825030-00004>
- Belizário, J. E., Lorite, M. J., & Tisdale, M. J. (2001). Cleavage of caspases-1, -3, -6, -8 and -9 substrates by proteases in skeletal muscles from mice undergoing cancer cachexia. *British Journal of Cancer*, 84(8), 1135-1140. <https://doi.org/10.1054/bjoc.2001.1700>
- Bellinger, P., Bourne, M. N., Duhig, S., Lievens, E., Kennedy, B., Martin, A., Cooper, C., Tredrea, M., Rice, H., Derave, W., & Minahan, C. (2021). Relationships between Lower Limb Muscle Characteristics and Force-Velocity Profiles Derived during Sprinting and Jumping. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 53(7), 1400-1411. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000002605>
- Benn, M., Tybjærg-Hansen, A., Smith, G. D., & Nordestgaard, B. G. (2016). High body mass index and cancer risk—a Mendelian randomisation study. *European Journal of Epidemiology*, 31(9), 879-892. <https://doi.org/10.1007/s10654-016-0147-5>
- Bennegård, K., Lindmark, L., Edén, E., Svaninger, G., & Lundholm, K. (1984). Flux of amino acids across the leg in weight-losing cancer patients. *Cancer Research*, 44(1), 386-393.
- Bentzinger, C. F., Romanino, K., Cloëtta, D., Lin, S., Mascarenhas, J. B., Oliveri, F., Xia, J., Casanova, E., Costa, C. F., Brink, M., Zorzato, F., Hall, M. N., & Rüegg, M. A. (2008). Skeletal muscle-specific ablation of raptor, but not of rictor, causes metabolic changes and results in muscle dystrophy. *Cell Metabolism*, 8(5), 411-424. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.10.002>
- Berger, A. M., Mitchell, S. A., Jacobsen, P. B., & Pirl, W. F. (2015). Screening, evaluation, and management of cancer-related fatigue : Ready for implementation to practice? *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 65(3), 190-211. <https://doi.org/10.3322/caac.21268>
- Bergstrom, J. (1975). Percutaneous needle biopsy of skeletal muscle in physiological and clinical research. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 35(7), 609-616.
- Bernardo, B., Joaquim, S., Garren, J., Boucher, M., Houle, C., LaCarubba, B., Qiao, S., Wu, Z., Esquejo, R. M., Peloquin, M., Kim, H., & Breen, D. M. (2020). Characterization of cachexia in the human fibrosarcoma HT-1080 mouse tumour model. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 11(6), 1813-1829. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12618>
- Betik, A. C., & Hepple, R. T. (2008). Determinants of VO₂ max decline with aging : An integrated perspective. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition Et Metabolisme*, 33(1), 130-140. <https://doi.org/10.1139/H07-174>
- Biferali, B., Proietti, D., Mozzetta, C., & Madaro, L. (2019). Fibro-Adipogenic Progenitors Cross-Talk in Skeletal Muscle : The Social Network. *Frontiers in Physiology*, 10, 1074. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01074>
- Biltz, N. K., Collins, K. H., Shen, K. C., Schwartz, K., Harris, C. A., & Meyer, G. A. (2020). Infiltration of intramuscular adipose tissue impairs skeletal muscle contraction. *The Journal of Physiology*, 598(13), 2669-2683. <https://doi.org/10.1113/JP279595>
- Bird, B. R. J. H., & Swain, S. M. (2008). Cardiac Toxicity in Breast Cancer Survivors : Review of Potential Cardiac Problems. *Clinical Cancer Research*, 14(1), 14-24. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1033>
- Bjørkøy, G., Lamark, T., Pankiv, S., Øvervatn, A., Brech, A., & Johansen, T. (2009). Monitoring autophagic degradation of p62/SQSTM1. *Methods in Enzymology*, 452, 181-197. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(08\)03612-4](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(08)03612-4)
- Bland, K. A., Kouw, I. W. K., van Loon, L. J. C., Zopf, E. M., & Fairman, C. M. (2022). Exercise-Based Interventions to Counteract Skeletal Muscle Mass Loss in People with Cancer : Can We Overcome the Odds? *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 52(5), 1009-1027. <https://doi.org/10.1007/s40279-021-01638-z>
- Bodine, S. C. (2013). Disuse-induced muscle wasting. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*,

45(10), 2200-2208. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.06.011>

Bodine, S. C., & Baehr, L. M. (2014). Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogen-1. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 307(6), E469-484. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00204.2014>

Bodine, S. C., Stitt, T. N., Gonzalez, M., Kline, W. O., Stover, G. L., Bauerlein, R., Zlotchenko, E., Scrimgeour, A., Lawrence, J. C., Glass, D. J., & Yancopoulos, G. D. (2001a). Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nature Cell Biology*, 3(11), 1014-1019. <https://doi.org/10.1038/ncb1101-1014>

Bodine, S. C., Latres, E., Baumhueter, S., Lai, V. K., Nunez, L., Clarke, B. A., Poueymirou, W. T., Panaro, F. J., Na, E., Dharmarajan, K., Pan, Z. Q., Valenzuela, D. M., DeChiara, T. M., Stitt, T. N., Yancopoulos, G. D., & Glass, D. J. (2001b). Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science (New York, N.Y.)*, 294(5547), 1704-1708. <https://doi.org/10.1126/science.1065874>

Bohlen, J., McLaughlin, S. L., Hazard-Jenkins, H., Infante, A. M., Montgomery, C., Davis, M., & Pistilli, E. E. (2018). Dysregulation of metabolic-associated pathways in muscle of breast cancer patients : Preclinical evaluation of interleukin-15 targeting fatigue. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 9(4), 701-714. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12294>

Bohnert, K. R., Gallot, Y. S., Sato, S., Xiong, G., Hindi, S. M., & Kumar, A. (2016). Inhibition of ER stress and unfolding protein response pathways causes skeletal muscle wasting during cancer cachexia. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 30(9), 3053-3068. <https://doi.org/10.1096/fj.201600250RR>

Bohnert, K. R., Goli, P., Roy, A., Sharma, A. K., Xiong, G., Gallot, Y. S., & Kumar, A. (2019). The Toll-Like Receptor/MyD88/XBP1 Signaling Axis Mediates Skeletal Muscle Wasting during Cancer Cachexia. *Molecular and Cellular Biology*, 39(15). <https://doi.org/10.1128/MCB.00184-19>

Bonaldo, P., & Sandri, M. (2013). Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Disease Models & Mechanisms*, 6(1), 25-39. <https://doi.org/10.1242/dmm.010389>

Bonetto, A., Penna, F., Minero, V. G., Reffo, P., Bonelli, G., Baccino, F. M., & Costelli, P. (2009). Deacetylase inhibitors modulate the myostatin/follistatin axis without improving cachexia in tumor-bearing mice. *Current Cancer Drug Targets*, 9(5), 608-616. <https://doi.org/10.2174/156800909789057015>

Borisov, A. B., & Carlson, B. M. (2000). Cell death in denervated skeletal muscle is distinct from classical apoptosis. *The Anatomical Record*, 258(3), 305-318. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(20000301\)258:3<305::AID-AR10>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(20000301)258:3<305::AID-AR10>3.0.CO;2-A)

Bosnakovski, D., Chan, S. S. K., Recht, O. O., Hartweck, L. M., Gustafson, C. J., Athman, L. L., Lowe, D. A., & Kyba, M. (2017). Muscle pathology from stochastic low level DUX4 expression in an FSHD mouse model. *Nature Communications*, 8(1), 550. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00730-1>

Bossola, M., Muscaritoli, M., Costelli, P., Grieco, G., Bonelli, G., Pacelli, F., Rossi Fanelli, F., Doglietto, G. B., & Baccino, F. M. (2003). Increased muscle proteasome activity correlates with disease severity in gastric cancer patients. *Annals of Surgery*, 237(3), 384-389. <https://doi.org/10.1097/01.SLA.0000055225.96357.71>

Bosy-Westphal, A., Schautz, B., Later, W., Kehayias, J. J., Gallagher, D., & Müller, M. J. (2013). What makes a BIA equation unique? Validity of eight-electrode multifrequency BIA to estimate body composition in a healthy adult population. *European Journal of Clinical Nutrition*, 67 Suppl 1, S14-21. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2012.160>

Bourbeau, J., De Sousa Sena, R., Taivassalo, T., Richard, R., Jensen, D., Baril, J., Rocha Vieira, D. S., & Perrault, H. (2020). Eccentric versus conventional cycle training to improve muscle strength in advanced COPD : A randomized clinical trial. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 276, 103414. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2020.103414>

Bowen, T. S., Schuler, G., & Adams, V. (2015). Skeletal muscle wasting in cachexia and sarcopenia : Molecular

pathophysiology and impact of exercise training. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 6(3), 197-207. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12043>

Brancaccio, P., Lippi, G., & Maffulli, N. (2010). Biochemical markers of muscular damage. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 48(6), 757-767. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2010.179>

Bria, E., Cuppone, F., Fornier, M., Nisticò, C., Carlini, P., Milella, M., Sperduti, I., Terzoli, E., Cognetti, F., & Giannarelli, D. (2008). Cardiotoxicity and incidence of brain metastases after adjuvant trastuzumab for early breast cancer : The dark side of the moon? A meta-analysis of the randomized trials. *Breast Cancer Research and Treatment*, 109(2), 231-239. <https://doi.org/10.1007/s10549-007-9663-z>

Brioche, T., Pagano, A. F., Py, G., & Chopard, A. (2016). Muscle wasting and aging : Experimental models, fatty infiltrations, and prevention. *Molecular Aspects of Medicine*, 50, 56-87. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2016.04.006>

Brocca, L., Cannavino, J., Coletto, L., Biolo, G., Sandri, M., Bottinelli, R., & Pellegrino, M. A. (2012). The time course of the adaptations of human muscle proteome to bed rest and the underlying mechanisms. *The Journal of Physiology*, 590(20), 5211-5230. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.240267>

Brogi, L., Marchese, M., Cellerino, A., Licitra, R., Naef, V., Mero, S., Bibbiani, C., & Fronte, B. (2021). β -Glucans as Dietary Supplement to Improve Locomotion and Mitochondrial Respiration in a Model of Duchenne Muscular Dystrophy. *Nutrients*, 13(5), 1619. <https://doi.org/10.3390/nu13051619>

Brown, J. L., Rosa-Caldwell, M. E., Lee, D. E., Blackwell, T. A., Brown, L. A., Perry, R. A., Haynie, W. S., Hardee, J. P., Carson, J. A., Wiggs, M. P., Washington, T. A., & Greene, N. P. (2017). Mitochondrial degeneration precedes the development of muscle atrophy in progression of cancer cachexia in tumour-bearing mice. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 8(6), 926-938. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12232>

Bugera, E. M., Duhamel, T. A., Peeler, J. D., & Cornish, S. M. (2018). The systemic myokine response of decorin, interleukin-6 (IL-6) and interleukin-15 (IL-15) to an acute bout of blood flow restricted exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 118(12), 2679-2686. <https://doi.org/10.1007/s00421-018-3995-8>

Bujak, A. L., Crane, J. D., Lally, J. S., Ford, R. J., Kang, S. J., Rebalka, I. A., Green, A. E., Kemp, B. E., Hawke, T. J., Schertzer, J. D., & Steinberg, G. R. (2015). AMPK activation of muscle autophagy prevents fasting-induced hypoglycemia and myopathy during aging. *Cell Metabolism*, 21(6), 883-890. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.05.016>

Burtin, C., Saey, D., Saglam, M., Langer, D., Gosselink, R., Janssens, W., Decramer, M., Maltais, F., & Troosters, T. (2012). Effectiveness of exercise training in patients with COPD : The role of muscle fatigue. *The European Respiratory Journal*, 40(2), 338-344. <https://doi.org/10.1183/09031936.00111811>

Busquets, S., Deans, C., Figueras, M., Moore-Carrasco, R., López-Soriano, F. J., Fearon, K. C. H., & Argilés, J. M. (2007). Apoptosis is present in skeletal muscle of cachectic gastro-intestinal cancer patients. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 26(5), 614-618. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2007.06.005>

But-Hadzic, J., Dervisevic, M., Karpljuk, D., Videmsek, M., Dervisevic, E., Paravlic, A., Hadzic, V., & Tomazin, K. (2021). Six-Minute Walk Distance in Breast Cancer Survivors-A Systematic Review with Meta-Analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(5). <https://doi.org/10.3390/ijerph18052591>

Caan, B. J., Feliciano, E. M. C., Prado, C. M., Alexeeff, S., Kroenke, C. H., Bradshaw, P., Quesenberry, C. P., Weltzien, E. K., Castillo, A. L., Olobatuyi, T. A., & Chen, W. Y. (2018). Association of Muscle and Adiposity Measured by Computed Tomography With Survival in Patients With Nonmetastatic Breast Cancer. *JAMA Oncology*, 4(6), 798-804. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.0137>

Cadena, S. M., Zhang, Y., Fang, J., Brachat, S., Kuss, P., Giorgetti, E., Stodieck, L. S., Kneissel, M., & Glass, D. J. (2019). Skeletal muscle in MuRF1 null mice is not spared in low-gravity conditions, indicating atrophy proceeds by unique mechanisms in space. *Scientific Reports*, 9(1), 9397. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45821-9>

Cai, Q., & Jeong, Y. Y. (2020). Mitophagy in Alzheimer's Disease and Other Age-Related Neurodegenerative Diseases. *Cells*, *9*(1), 150. <https://doi.org/10.3390/cells9010150>

Cameron, D., Piccart-Gebhart, M. J., Gelber, R. D., Procter, M., Goldhirsch, A., de Azambuja, E., Castro, G., Untch, M., Smith, I., Gianni, L., Baselga, J., Al-Sakaff, N., Lauer, S., McFadden, E., Leyland-Jones, B., Bell, R., Dowsett, M., Jackisch, C., & Herceptin Adjuvant (HERA) Trial Study Team. (2017). 11 years' follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive early breast cancer : Final analysis of the HERceptin Adjuvant (HERA) trial. *Lancet (London, England)*, *389*(10075), 1195-1205. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32616-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32616-2)

Campbell, K. L., Winters-Stone, K. M., Wiskemann, J., May, A. M., Schwartz, A. L., Courneya, K. S., Zucker, D. S., Matthews, C. E., Ligibel, J. A., Gerber, L. H., Morris, G. S., Patel, A. V., Hue, T. F., Perna, F. M., & Schmitz, K. H. (2019). Exercise Guidelines for Cancer Survivors: Consensus Statement from International Multidisciplinary Roundtable. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *51*(11), 2375-2390. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000002116>

Cantarero-Villanueva, I., Fernández-Lao, C., Díaz-Rodríguez, L., Fernández-de-las-Peñas, C., Ruiz, J. R., & Arroyo-Morales, M. (2012). The Handgrip Strength Test as a Measure of Function in Breast Cancer Survivors : Relationship to Cancer-Related Symptoms and Physical and Physiologic Parameters. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, *91*(9), 774-782. <https://doi.org/10.1097/PHM.0b013e31825f1538>

Canu, M.-H., Fourneau, J., Coq, J.-O., Dannhoffer, L., Cieniewski-Bernard, C., Stevens, L., Bastide, B., & Dupont, E. (2019). Interplay between hypoactivity, muscle properties and motor command : How to escape the vicious deconditioning circle? *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*, *62*(2), 122-127. <https://doi.org/10.1016/j.rehab.2018.09.009>

Cardinale, D., Colombo, A., Bacchiani, G., Tedeschi, I., Meroni, C. A., Veglia, F., Civelli, M., Lamantia, G., Colombo, N., Curigliano, G., Fiorentini, C., & Cipolla, C. M. (2015). Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy. *Circulation*, *131*(22), 1981-1988. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013777>

Castaneda, S. A., & Strasser, J. (2017). Updates in the Treatment of Breast Cancer with Radiotherapy. *Surgical Oncology Clinics of North America*, *26*(3), 371-382. <https://doi.org/10.1016/j.soc.2017.01.013>

Cerda-Troncoso, C., Varas-Godoy, M., & Burgos, P. V. (2021). Pro-Tumoral Functions of Autophagy Receptors in the Modulation of Cancer Progression. *Frontiers in Oncology*, *10*. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2020.619727>

Cešeiko, R., Thomsen, S. N., Tomson, S., Eglītis, J., Vētra, A., Srebnis, A., Timofejevs, M., Purmalis, E., & Wang, E. (2020). Heavy Resistance Training in Breast Cancer Patients Undergoing Adjuvant Therapy. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *52*(6), 1239-1247. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000002260>

Cespedes Feliciano, E. M., Chen, W. Y., Lee, V., Albers, K. B., Prado, C. M., Alexeeff, S., Xiao, J., Shachar, S. S., & Caan, B. J. (2019). Body Composition, Adherence to Anthracycline and Taxane-Based Chemotherapy, and Survival After Nonmetastatic Breast Cancer. *JAMA Oncology*. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2019.4668>

Chacon-Cabrera, A., Fermoselle, C., Urtreger, A. J., Mateu-Jimenez, M., Diament, M. J., de Kier Joffé, E. D. B., Sandri, M., & Barreiro, E. (2014). Pharmacological strategies in lung cancer-induced cachexia : Effects on muscle proteolysis, autophagy, structure, and weakness. *Journal of Cellular Physiology*, *229*(11), 1660-1672. <https://doi.org/10.1002/jcp.24611>

Chacon-Cabrera, A., Mateu-Jimenez, M., Langohr, K., Fermoselle, C., García-Arumí, E., Andreu, A. L., Yelamos, J., & Barreiro, E. (2017). Role of PARP activity in lung cancer-induced cachexia : Effects on muscle oxidative stress, proteolysis, anabolic markers, and phenotype. *Journal of Cellular Physiology*, *232*(12), 3744-3761. <https://doi.org/10.1002/jcp.25851>

Chan, D. C. (2020). Mitochondrial Dynamics and Its Involvement in Disease. *Annual Review of Pathology*, *15*, 235-259. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032711>

Cheema, B. S., Kilbreath, S. L., Fahey, P. P., Delaney, G. P., & Atlantis, E. (2014). Safety and efficacy of

- progressive resistance training in breast cancer : A systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Research and Treatment*, 148(2), 249-268. <https://doi.org/10.1007/s10549-014-3162-9>
- Cheema, N., Herbst, A., McKenzie, D., & Aiken, J. M. (2015). Apoptosis and necrosis mediate skeletal muscle fiber loss in age-induced mitochondrial enzymatic abnormalities. *Aging Cell*, 14(6), 1085-1093. <https://doi.org/10.1111/ace1.12399>
- Chen, J. L., Walton, K. L., Qian, H., Colgan, T. D., Hagg, A., Watt, M. J., Harrison, C. A., & Gregorevic, P. (2016). Differential Effects of IL6 and Activin A in the Development of Cancer-Associated Cachexia. *Cancer Research*, 76(18), 5372-5382. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-3152>
- Chen, L., Chen, L., Wan, L., Huo, Y., Huang, J., Li, J., Lu, J., Xin, B., Yang, Q., & Guo, C. (2019). Matrine improves skeletal muscle atrophy by inhibiting E3 ubiquitin ligases and activating the Akt/mTOR/FoxO3 α signaling pathway in C2C12 myotubes and mice. *Oncology Reports*, 42(2), 479-494. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7205>
- Chen, M.-C., Hsu, W.-L., & Chou, T.-C. (2018). Anti-cachectic effect of *Antrodia cinnamomea* extract in lung tumor-bearing mice under chemotherapy. *Oncotarget*, 9(28), 19584-19596. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24680>
- Chen, M.-C., Hsu, W.-L., Hwang, P.-A., Chen, Y.-L., & Chou, T.-C. (2016). Combined administration of fucoidan ameliorates tumor and chemotherapy-induced skeletal muscle atrophy in bladder cancer-bearing mice. *Oncotarget*, 7(32), 51608-51618. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9958>
- Chen, M.-M., Li, Y., Deng, S.-L., Zhao, Y., Lian, Z.-X., & Yu, K. (2022). Mitochondrial Function and Reactive Oxygen/Nitrogen Species in Skeletal Muscle. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcell.2022.826981>
- Chen, T. C., Yang, T.-J., Huang, M.-J., Wang, H.-S., Tseng, K.-W., Chen, H.-L., & Nosaka, K. (2019). Damage and the repeated bout effect of arm, leg, and trunk muscles induced by eccentric resistance exercises. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 29(5), 725-735. <https://doi.org/10.1111/sms.13388>
- Chen, T., Li, B., Xu, Y., Meng, S., Wang, Y., & Jiang, Y. (2018). Luteolin reduces cancer-induced skeletal and cardiac muscle atrophy in a Lewis lung cancer mouse model. *Oncology Reports*, 40(2), 1129-1137. <https://doi.org/10.3892/or.2018.6453>
- Cho, U., Park, H. S., Im, S. Y., Yoo, C. Y., Jung, J. H., Suh, Y. J., & Choi, H. J. (2018). Prognostic value of systemic inflammatory markers and development of a nomogram in breast cancer. *PloS One*, 13(7), e0200936. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200936>
- Chopard, A., Hillock, S., & Jasmin, B. J. (2009). Molecular events and signalling pathways involved in skeletal muscle disuse-induced atrophy and the impact of countermeasures. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 13(9B), 3032-3050. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00864.x>
- Ciciliot, S., Rossi, A. C., Dyar, K. A., Blaauw, B., & Schiaffino, S. (2013). Muscle type and fiber type specificity in muscle wasting. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 45(10), 2191-2199. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.05.016>
- Circu, M. L., & Aw, T. Y. (2010). Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radical Biology & Medicine*, 48(6), 749-762. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.12.022>
- Clarkson, P. M., & Kaufman, S. A. (2010). Should resistance exercise be recommended during breast cancer treatment? *Medical Hypotheses*, 75(2), 192-195. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2010.02.020>
- Coen, P. M., Jubrias, S. A., Distefano, G., Amati, F., Mackey, D. C., Glynn, N. W., Manini, T. M., Wohlgenuth, S. E., Leeuwenburgh, C., Cummings, S. R., Newman, A. B., Ferrucci, L., Toledo, F. G. S., Shankland, E., Conley, K. E., & Goodpaster, B. H. (2013). Skeletal muscle mitochondrial energetics are associated with maximal aerobic capacity and walking speed in older adults. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 68(4), 447-455. <https://doi.org/10.1093/gerona/gls196>

- Cohen, S., Nathan, J. A., & Goldberg, A. L. (2015). Muscle wasting in disease : Molecular mechanisms and promising therapies. *Nature Reviews. Drug Discovery*, *14*(1), 58-74. <https://doi.org/10.1038/nrd4467>
- Coletti, D., Aulino, P., Pigna, E., Barteri, F., Moresi, V., Annibaldi, D., Adamo, S., & Berardi, E. (2016). Spontaneous Physical Activity Downregulates Pax7 in Cancer Cachexia. *Stem Cells International*, *2016*, 6729268. <https://doi.org/10.1155/2016/6729268>
- Collado-Mateo, D., Lavín-Pérez, A. M., Peñacoba, C., Del Coso, J., Leyton-Román, M., Luque-Casado, A., Gasque, P., Fernández-Del-Olmo, M. Á., & Amado-Alonso, D. (2021). Key Factors Associated with Adherence to Physical Exercise in Patients with Chronic Diseases and Older Adults : An Umbrella Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(4), 2023. <https://doi.org/10.3390/ijerph18042023>
- Constantinou, C., Fontes de Oliveira, C. C., Mintzopoulos, D., Busquets, S., He, J., Kesarwani, M., Mindrinos, M., Rahme, L. G., Argilés, J. M., & Tzika, A. A. (2011). Nuclear magnetic resonance in conjunction with functional genomics suggests mitochondrial dysfunction in a murine model of cancer cachexia. *International Journal of Molecular Medicine*, *27*(1), 15-24. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2010.557>
- Coratella, G., Chemello, A., & Schena, F. (2016). Muscle damage and repeated bout effect induced by enhanced eccentric squats. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, *56*(12), 1540-1546.
- Costamagna, D., Duellen, R., Penna, F., Neumann, D., Costelli, P., & Sampaolesi, M. (2020). Interleukin-4 administration improves muscle function, adult myogenesis, and lifespan of colon carcinoma-bearing mice. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, *11*(3), 783-801. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12539>
- Costelli, P., Carbó, N., Tessitore, L., Bagby, G. J., Lopez-Soriano, F. J., Argilés, J. M., & Baccino, F. M. (1993). Tumor necrosis factor-alpha mediates changes in tissue protein turnover in a rat cancer cachexia model. *The Journal of Clinical Investigation*, *92*(6), 2783-2789. <https://doi.org/10.1172/JCI116897>
- Costelli, P., Muscaritoli, M., Bonetto, A., Penna, F., Reffo, P., Bossola, M., Bonelli, G., Doglietto, G. B., Baccino, F. M., & Rossi Fanelli, F. (2008). Muscle myostatin signalling is enhanced in experimental cancer cachexia. *European Journal of Clinical Investigation*, *38*(7), 531-538. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2008.01970.x>
- Courneya, K. S., McKenzie, D. C., Mackey, J. R., Gelmon, K., Reid, R. D., Friedenreich, C. M., Ladha, A. B., Proulx, C., Vallance, J. K., Lane, K., Yasui, Y., & Segal, R. J. (2008). Moderators of the effects of exercise training in breast cancer patients receiving chemotherapy : A randomized controlled trial. *Cancer*, *112*(8), 1845-1853. <https://doi.org/10.1002/cncr.23379>
- Courneya, K. S., Reid, R. D., Friedenreich, C. M., Gelmon, K., Proulx, C., Vallance, J. K., McKenzie, D. C., & Segal, R. J. (2008). Understanding breast cancer patients' preference for two types of exercise training during chemotherapy in an unblinded randomized controlled trial. *The International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, *5*, 52. <https://doi.org/10.1186/1479-5868-5-52>
- Crane, J. D., Devries, M. C., Safdar, A., Hamadeh, M. J., & Tarnopolsky, M. A. (2010). The effect of aging on human skeletal muscle mitochondrial and intramyocellular lipid ultrastructure. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, *65*(2), 119-128. <https://doi.org/10.1093/gerona/glp179>
- Crouch, M.-L., Knowels, G., Stuppard, R., Ericson, N. G., Bielas, J. H., Marcinek, D. J., & Syrjala, K. L. (2017). Cyclophosphamide leads to persistent deficits in physical performance and in vivo mitochondria function in a mouse model of chemotherapy late effects. *PloS One*, *12*(7), e0181086. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181086>
- Cruz, B., Oliveira, A., Ventrucci, G., & Gomes-Marcondes, M. C. C. (2019). A leucine-rich diet modulates the mTOR cell signalling pathway in the gastrocnemius muscle under different Walker-256 tumour growth conditions. *BMC Cancer*, *19*(1), 349. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5448-0>
- Cruz-Jentoft, A. J., Bahat, G., Bauer, J., Boirie, Y., Bruyère, O., Cederholm, T., Cooper, C., Landi, F., Rolland, Y., Sayer, A. A., Schneider, S. M., Sieber, C. C., Topinkova, E., Vandewoude, M., Visser, M., Zamboni, M., & Writing Group for the European Working Group on Sarcopenia in Older People 2 (EWGSOP2), and the Extended Group for EWGSOP2. (2019). Sarcopenia : Revised European consensus on definition and diagnosis. *Age and Ageing*, *48*(1), 16-31. <https://doi.org/10.1093/ageing/afy169>

- Damas, F., Phillips, S., Vechin, F. C., & Ugrinowitsch, C. (2015). A review of resistance training-induced changes in skeletal muscle protein synthesis and their contribution to hypertrophy. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 45(6), 801-807. <https://doi.org/10.1007/s40279-015-0320-0>
- Damrauer, J. S., Stadler, M. E., Acharyya, S., Baldwin, A. S., Couch, M. E., & Guttridge, D. C. (2018). Chemotherapy-induced muscle wasting : Association with NF- κ B and cancer cachexia. *European Journal of Translational Myology*, 28(2). <https://doi.org/10.4081/ejtm.2018.7590>
- Davies, M. R., Chi, H., Kaur, G., Liu, M., Ma, C. B., Kim, H. T., Liu, X., & Feeley, B. T. (2022). Rotator Cuff Tear Size Regulates Fibroadipogenic Progenitor Number and Gene Expression Profile in the Supraspinatus Independent of Patient Age. *The American Journal of Sports Medicine*, 50(1), 208-215. <https://doi.org/10.1177/03635465211054512>
- De Groef, A., Geraerts, I., Demeyer, H., Van der Gucht, E., Dams, L., de Kinkelder, C., Dukers-van Althuis, S., Van Kampen, M., & Devoogdt, N. (2018). Physical activity levels after treatment for breast cancer : Two-year follow-up. *Breast (Edinburgh, Scotland)*, 40, 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2018.04.009>
- de Alvaro, C., Teruel, T., Hernandez, R., & Lorenzo, M. (2004). Tumor necrosis factor alpha produces insulin resistance in skeletal muscle by activation of inhibitor kappaB kinase in a p38 MAPK-dependent manner. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(17), 17070-17078. <https://doi.org/10.1074/jbc.M312021200>
- de Boer, M. D., Selby, A., Atherton, P., Smith, K., Seynnes, O. R., Maganaris, C. N., Maffulli, N., Movin, T., Narici, M. V., & Rennie, M. J. (2007). The temporal responses of protein synthesis, gene expression and cell signalling in human quadriceps muscle and patellar tendon to disuse. *The Journal of Physiology*, 585(Pt 1), 241-251. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.142828>
- de Boer, M. D., Seynnes, O. R., di Prampero, P. E., Pisot, R., Mekjavić, I. B., Biolo, G., & Narici, M. V. (2008). Effect of 5 weeks horizontal bed rest on human muscle thickness and architecture of weight bearing and non-weight bearing muscles. *European Journal of Applied Physiology*, 104(2), 401-407. <https://doi.org/10.1007/s00421-008-0703-0>
- de Castro, G. S., Simoes, E., Lima, J. D. C. C., Ortiz-Silva, M., Festuccia, W. T., Tokeshi, F., Alcântara, P. S., Otoch, J. P., Coletti, D., & Seelaender, M. (2019). Human Cachexia Induces Changes in Mitochondria, Autophagy and Apoptosis in the Skeletal Muscle. *Cancers*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/cancers11091264>
- de Jesus Leite, M. A. F., Mariano, I. M., Dechichi, J. G. C., Giolo, J. S., Gonçalves, Á. de C., & Puga, G. M. (2021). Exercise training and detraining effects on body composition, muscle strength and lipid, inflammatory and oxidative markers in breast cancer survivors under tamoxifen treatment. *Life Sciences*, 284, 119924. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119924>
- DeJong, C. H. C., Busquets, S., Moses, A. G. W., Schrauwen, P., Ross, J. A., Argiles, J. M., & Fearon, K. C. H. (2005). Systemic inflammation correlates with increased expression of skeletal muscle ubiquitin but not uncoupling proteins in cancer cachexia. *Oncology Reports*, 14(1), 257-263.
- de Jong, N., Kester, A. D. M., Schouten, H. C., Abu-Saad, H. H., & Courtens, A. M. (2006). Course of fatigue between two cycles of adjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Cancer Nursing*, 29(6), 467-477. <https://doi.org/10.1097/00002820-200611000-00007>
- de Lima Junior, E. A., Yamashita, A. S., Pimentel, G. D., De Sousa, L. G. O., Santos, R. V. T., Gonçalves, C. L., Streck, E. L., de Lira, F. S., & Rosa Neto, J. C. (2016). Doxorubicin caused severe hyperglycaemia and insulin resistance, mediated by inhibition in AMPk signalling in skeletal muscle. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 7(5), 615-625. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12104>
- Delmonico, M. J., Harris, T. B., Visser, M., Park, S. W., Conroy, M. B., Velasquez-Mieyer, P., Boudreau, R., Manini, T. M., Nevitt, M., Newman, A. B., Goodpaster, B. H., & Health, Aging, and Body. (2009). Longitudinal study of muscle strength, quality, and adipose tissue infiltration. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90(6), 1579-1585. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.28047>
- Deluche, E., Leobon, S., Desport, J. C., Venat-Bouvet, L., Usseglio, J., & Tubiana-Mathieu, N. (2018). Impact of body composition on outcome in patients with early breast cancer. *Supportive Care in Cancer*, 26(3), 861-868.

<https://doi.org/10.1007/s00520-017-3902-6>

Demangel Rémi, Treffel Loïc, Py Guillaume, Brioché Thomas, Pagano Allan F., Bareille Marie-Pierre, Beck Arnaud, Pessemeesse Laurence, Candau Robin, Gharib Claude, Chopard Angèle, & Millet Catherine. (2017). Early structural and functional signature of 3-day human skeletal muscle disuse using the dry immersion model. *The Journal of Physiology*, 595(13), 4301-4315. <https://doi.org/10.1113/JP273895>

Denduluri, N., Somerfield, M. R., Chavez-MacGregor, M., Comander, A. H., Dayao, Z., Eisen, A., Freedman, R. A., Gopalakrishnan, R., Graff, S. L., Hassett, M. J., King, T. A., Lyman, G. H., Maupin, G. R., Nunes, R., Perkins, C. L., Telli, M. L., Trudeau, M. E., Wolff, A. C., & Giordano, S. H. (2021). Selection of Optimal Adjuvant Chemotherapy and Targeted Therapy for Early Breast Cancer : ASCO Guideline Update. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 39(6), 685-693. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.02510>

Dent, E., Morley, J. E., Cruz-Jentoft, A. J., Arai, H., Kritchevsky, S. B., Guralnik, J., Bauer, J. M., Pahor, M., Clark, B. C., Cesari, M., Ruiz, J., Sieber, C. C., Aubertin-Leheudre, M., Waters, D. L., Visvanathan, R., Landi, F., Villareal, D. T., Fielding, R., Won, C. W., ... Vellas, B. (2018). International Clinical Practice Guidelines for Sarcopenia (ICFSR) : Screening, Diagnosis and Management. *The Journal of Nutrition, Health & Aging*, 22(10), 1148-1161. <https://doi.org/10.1007/s12603-018-1139-9>

Derbré, F., Gomez-Cabrera, M. C., Nascimento, A. L., Sanchis-Gomar, F., Martinez-Bello, V. E., Tresguerres, J. A. F., Fuentes, T., Gratas-Delamarche, A., Monsalve, M., & Viña, J. (2012). Age associated low mitochondrial biogenesis may be explained by lack of response of PGC-1 α to exercise training. *Age (Dordrecht, Netherlands)*, 34(3), 669-679. <https://doi.org/10.1007/s11357-011-9264-y>

Derbré, F., Gratas-Delamarche, A., Gómez-Cabrera, M. C., & Viña, J. (2014). Inactivity-induced oxidative stress : A central role in age-related sarcopenia? *European Journal of Sport Science*, 14 Suppl 1, S98-108. <https://doi.org/10.1080/17461391.2011.654268>

DeSantis, C., Ma, J., Bryan, L., & Jemal, A. (2014). Breast cancer statistics, 2013. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 64(1), 52-62. <https://doi.org/10.3322/caac.21203>

Deschenes, M. R. (2011). Motor unit and neuromuscular junction remodeling with aging. *Current Aging Science*, 4(3), 209-220. <https://doi.org/10.2174/1874609811104030209>

de Sousa, C. V., Sales, M. M., Rosa, T. S., Lewis, J. E., de Andrade, R. V., & Simões, H. G. (2017). The Antioxidant Effect of Exercise : A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 47(2), 277-293. <https://doi.org/10.1007/s40279-016-0566-1>

Dewys, W. D., Begg, C., Lavin, P. T., Band, P. R., Bennett, J. M., Bertino, J. R., Cohen, M. H., Douglass, H. O., Engstrom, P. F., Ezdinli, E. Z., Horton, J., Johnson, G. J., Moertel, C. G., Oken, M. M., Perlia, C., Rosenbaum, C., Silverstein, M. N., Skeel, R. T., Sponzo, R. W., & Tormey, D. C. (1980). Prognostic effect of weight loss prior to chemotherapy in cancer patients. *The American Journal of Medicine*, 69(4), 491-497. [https://doi.org/10.1016/S0149-2918\(05\)80001-3](https://doi.org/10.1016/S0149-2918(05)80001-3)

Di Marzo, N., Chisci, E., & Giovannoni, R. (2018). The Role of Hydrogen Peroxide in Redox-Dependent Signaling : Homeostatic and Pathological Responses in Mammalian Cells. *Cells*, 7(10), 156. <https://doi.org/10.3390/cells7100156>

DiMauro, S., & Schon, E. A. (2003). Mitochondrial Respiratory-Chain Diseases. *New England Journal of Medicine*, 348(26), 2656-2668. <https://doi.org/10.1056/NEJMra022567>

di Prampero, P. E., & Narici, M. V. (2003). Muscles in microgravity : From fibres to human motion. *Journal of Biomechanics*, 36(3), 403-412. [https://doi.org/10.1016/s0021-9290\(02\)00418-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9290(02)00418-9)

Dirks, M. L., Miotto, P. M., Goossens, G. H., Senden, J. M., Petrick, H. L., van Kranenburg, J., van Loon, L. J. C., & Holloway, G. P. (2020). Short-term bed rest-induced insulin resistance cannot be explained by increased mitochondrial H₂O₂ emission. *The Journal of Physiology*, 598(1), 123-137. <https://doi.org/10.1113/JP278920>

Dirks, M. L., Wall, B. T., van de Valk, B., Holloway, T. M., Holloway, G. P., Chabowski, A., Goossens, G. H., &

van Loon, L. J. C. (2016). One Week of Bed Rest Leads to Substantial Muscle Atrophy and Induces Whole-Body Insulin Resistance in the Absence of Skeletal Muscle Lipid Accumulation. *Diabetes*, 65(10), 2862-2875. <https://doi.org/10.2337/db15-1661>

D'Lugos, A. C., Fry, C. S., Ormsby, J. C., Sweeney, K. R., Brightwell, C. R., Hale, T. M., Gonzales, R. J., Angadi, S. S., Carroll, C. C., & Dickinson, J. M. (2019). Chronic doxorubicin administration impacts satellite cell and capillary abundance in a muscle-specific manner. *Physiological Reports*, 7(7), e14052. <https://doi.org/10.14814/phy2.14052>

Dobrowolny, G., Barbiera, A., Sica, G., & Scicchitano, B. M. (2021). Age-Related Alterations at Neuromuscular Junction: Role of Oxidative Stress and Epigenetic Modifications. *Cells*, 10(6), 1307. <https://doi.org/10.3390/cells10061307>

Dogra, C., Changotra, H., Wedhas, N., Qin, X., Wergedal, J. E., & Kumar, A. (2007). TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK) is a potent skeletal muscle-wasting cytokine. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 21(8), 1857-1869. <https://doi.org/10.1096/fj.06-7537com>

Dolly, A., Dumas, J.-F., & Servais, S. (2020). Cancer cachexia and skeletal muscle atrophy in clinical studies: What do we really know? *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 11(6), 1413-1428. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12633>

Domin, R., Dadej, D., Pytka, M., Zybek-Kocik, A., Ruchała, M., & Guzik, P. (2021). Effect of Various Exercise Regimens on Selected Exercise-Induced Cytokines in Healthy People. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(3), 1261. <https://doi.org/10.3390/ijerph18031261>

Duchateau, J., & Baudry, S. (2014). Insights into the neural control of eccentric contractions. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 116(11), 1418-1425. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00002.2013>

Duchateau, J., & Hainaut, K. (1987). Electrical and mechanical changes in immobilized human muscle. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 62(6), 2168-2173. <https://doi.org/10.1152/jappl.1987.62.6.2168>

Dufour, S. P., Doutreleau, S., Lonsdorfer-Wolf, E., Lampert, E., Hirth, C., Piquard, F., Lonsdorfer, J., Geny, B., Mettauer, B., & Richard, R. (2007). Deciphering the metabolic and mechanical contributions to the exercise-induced circulatory response: Insights from eccentric cycling. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 292(4), R1641-1648. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00567.2006>

Dufour, S. P., Lampert, E., Doutreleau, S., Lonsdorfer-Wolf, E., Billat, V. L., Piquard, F., & Richard, R. (2004). Eccentric cycle exercise: Training application of specific circulatory adjustments. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 36(11), 1900-1906. <https://doi.org/10.1249/01.mss.0000145441.80209.66>

Dumont, N. A., Bentzinger, C. F., Sincennes, M.-C., & Rudnicki, M. A. (2015). Satellite Cells and Skeletal Muscle Regeneration. *Comprehensive Physiology*, 5(3), 1027-1059. <https://doi.org/10.1002/cphy.c140068>

Dupont-Versteegden, E. E. (2005). Apoptosis in muscle atrophy: Relevance to sarcopenia. *Experimental Gerontology*, 40(6), 473-481. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2005.04.003>

Dupont-Versteegden, E. E. (2006). Apoptosis in skeletal muscle and its relevance to atrophy. *World Journal of Gastroenterology*, 12(46), 7463-7466. <https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i46.7463>

Durieux, A.-C., Amirouche, A., Banzet, S., Koulmann, N., Bonnefoy, R., Padeloup, M., Mouret, C., Bigard, X., Peinnequin, A., & Freyssenet, D. (2007). Ectopic expression of myostatin induces atrophy of adult skeletal muscle by decreasing muscle gene expression. *Endocrinology*, 148(7), 3140-3147. <https://doi.org/10.1210/en.2006-1500>

Dworzak, F., Ferrari, P., Gavazzi, C., Maiorana, C., & Bozzetti, F. (1998). Effects of cachexia due to cancer on whole body and skeletal muscle protein turnover. *Cancer*, 82(1), 42-48.

Egan, B., & Zierath, J. R. (2013). Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle

adaptation. *Cell Metabolism*, 17(2), 162-184. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.12.012>

Emens, L. A. (2018). Breast Cancer Immunotherapy : Facts and Hopes. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 24(3), 511-520. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-3001>

Emery, P. W., Edwards, R. H., Rennie, M. J., Souhami, R. L., & Halliday, D. (1984). Protein synthesis in muscle measured in vivo in cachectic patients with cancer. *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*, 289(6445), 584-586. <https://doi.org/10.1136/bmj.289.6445.584>

Enright, P. L. (2003). The six-minute walk test. *Respiratory Care*, 48(8), 783-785.

Estaquier, J., Vallette, F., Vayssiere, J.-L., & Mignotte, B. (2012). The mitochondrial pathways of apoptosis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 942, 157-183. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2869-1_7

Evans, W. J., Morley, J. E., Argilés, J., Bales, C., Baracos, V., Guttridge, D., Jatoi, A., Kalantar-Zadeh, K., Lochs, H., Mantovani, G., Marks, D., Mitch, W. E., Muscaritoli, M., Najand, A., Ponikowski, P., Rossi Fanelli, F., Schambelan, M., Schols, A., Schuster, ... Anker, S. D. (2008). Cachexia : A new definition. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 27(6), 793-799. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2008.06.013>

Extermann, M., Leeuwenburgh, C., Samiiian, L., Sehovic, M., Xu, J., Cubitt, C., Jacobsen, P. B., Pahor, M., Grobmyer, S. R., & Manini, T. M. (2017). Impact of chemotherapy on medium-term physical function and activity of older breast cancer survivors, and associated biomarkers. *Journal of Geriatric Oncology*, 8(1), 69-75. <https://doi.org/10.1016/j.jgo.2016.09.004>

Farkas, J., von Haehling, S., Kalantar-Zadeh, K., Morley, J. E., Anker, S. D., & Lainscak, M. (2013). Cachexia as a major public health problem : Frequent, costly, and deadly. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 4(3), 173-178. <https://doi.org/10.1007/s13539-013-0105-y>

Fearon, K., Strasser, F., Anker, S. D., Bosaeus, I., Bruera, E., Fainsinger, R. L., Jatoi, A., Loprinzi, C., MacDonald, N., Mantovani, G., Davis, M., Muscaritoli, M., Ottery, F., Radbruch, L., Ravasco, P., Walsh, D., Wilcock, A., Kaasa, S., & Baracos, V. E. (2011). Definition and classification of cancer cachexia : An international consensus. *The Lancet Oncology*, 12(5), 489-495. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(10\)70218-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70218-7)

Fermoselle, C., García-Arumí, E., Puig-Vilanova, E., Andreu, A. L., Urtreger, A. J., de Kier Joffé, E. D. B., Tejedor, A., Puente-Maestu, L., & Barreiro, E. (2013). Mitochondrial dysfunction and therapeutic approaches in respiratory and limb muscles of cancer cachectic mice. *Experimental Physiology*, 98(9), 1349-1365. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2013.072496>

Fermoselle, C., Rabinovich, R., Ausín, P., Puig-Vilanova, E., Coronell, C., Sanchez, F., Roca, J., Gea, J., & Barreiro, E. (2012). Does oxidative stress modulate limb muscle atrophy in severe COPD patients? *The European Respiratory Journal*, 40(4), 851-862. <https://doi.org/10.1183/09031936.00137211>

Ferreira, R., Neuparth, M. J., Vitorino, R., Appell, H. J., Amado, F., & Duarte, J. A. (2008). Evidences of apoptosis during the early phases of soleus muscle atrophy in hindlimb suspended mice. *Physiological Research*, 57(4), 601-611. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931272>

Figueras, M., Busquets, S., Carbó, N., Barreiro, E., Almendro, V., Argilés, J. M., & López-Soriano, F. J. (2004). Interleukin-15 is able to suppress the increased DNA fragmentation associated with muscle wasting in tumour-bearing rats. *FEBS Letters*, 569(1-3), 201-206. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.05.066>

Fitts, R. H., McDonald, K. S., & Schluter, J. M. (1991). The determinants of skeletal muscle force and power : Their adaptability with changes in activity pattern. *Journal of Biomechanics*, 24 Suppl 1, 111-122. [https://doi.org/10.1016/0021-9290\(91\)90382-w](https://doi.org/10.1016/0021-9290(91)90382-w)

Fleg, J. L. (2012). Aerobic exercise in the elderly : A key to successful aging. *Discovery Medicine*, 13(70), 223-228.

Flück, M. (2006). Functional, structural and molecular plasticity of mammalian skeletal muscle in response to

exercise stimuli. *Journal of Experimental Biology*, 209(12), 2239-2248. <https://doi.org/10.1242/jeb.02149>

Fontecha-Barriuso, M., Martin-Sanchez, D., Martinez-Moreno, J. M., Monsalve, M., Ramos, A. M., Sanchez-Niño, M. D., Ruiz-Ortega, M., Ortiz, A., & Sanz, A. B. (2020). The Role of PGC-1 α and Mitochondrial Biogenesis in Kidney Diseases. *Biomolecules*, 10(2), 347. <https://doi.org/10.3390/biom10020347>

Fontes-Oliveira, C. C., Busquets, S., Toledo, M., Penna, F., Paz Aylwin, M., Sirisi, S., Silva, A. P., Orpí, M., García, A., Sette, A., Inês Genovese, M., Oliván, M., López-Soriano, F. J., & Argilés, J. M. (2013). Mitochondrial and sarcoplasmic reticulum abnormalities in cancer cachexia: Altered energetic efficiency? *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1830(3), 2770-2778. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.11.009>

Foulkes, S. J., Howden, E. J., Bigaran, A., Janssens, K., Antill, Y., Loi, S., Claus, P., Haykowsky, M. J., Daly, R. M., Fraser, S. F., & LA Gerche, A. (2019). Persistent Impairment in Cardiopulmonary Fitness after Breast Cancer Chemotherapy. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 51(8), 1573-1581. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001970>

Fovet, T., Guilhot, C., Stevens, L., Montel, V., Delobel, P., Roumanille, R., Semporé, M.-Y., Freyssenet, D., Py, G., Brioché, T., & Chopard, A. (2021). Early Deconditioning of Human Skeletal Muscles and the Effects of a Thigh Cuff Countermeasure. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 12064. <https://doi.org/10.3390/ijms222112064>

Friedenreich, C. M., Ryder-Burbidge, C., & McNeil, J. (2021). Physical activity, obesity and sedentary behavior in cancer etiology: Epidemiologic evidence and biologic mechanisms. *Molecular Oncology*, 15(3), 790-800. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12772>

Fuglsang-Frederiksen, A., & Scheel, U. (1978). Transient decrease in number of motor units after immobilisation in man. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 41(10), 924-929. <https://doi.org/10.1136/jnnp.41.10.924>

Fukui, J., White, K., Frankland, T. B., Oshiro, C., & Wilkens, L. (2021). Weight changes according to treatment in a diverse cohort of breast cancer patients. *BMC Cancer*, 21(1), 1005. <https://doi.org/10.1186/s12885-021-08740-5>

Fuqua, J. D., Mere, C. P., Kronemberger, A., Blomme, J., Bae, D., Turner, K. D., Harris, M. P., Scudese, E., Edwards, M., Ebert, S. M., de Sousa, L. G. O., Bodine, S. C., Yang, L., Adams, C. M., & Lira, V. A. (2019). ULK2 is essential for degradation of ubiquitinated protein aggregates and homeostasis in skeletal muscle. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 33(11), 11735-11745. <https://doi.org/10.1096/fj.201900766R>

Furlan, L., Conforto, A. B., Cohen, L. G., & Sterr, A. (2016). Upper Limb Immobilisation: A Neural Plasticity Model with Relevance to Poststroke Motor Rehabilitation. *Neural Plasticity*, 2016, 8176217. <https://doi.org/10.1155/2016/8176217>

Furmaniak, A. C., Menig, M., & Markes, M. H. (2016). Exercise for women receiving adjuvant therapy for breast cancer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 9, CD005001. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005001.pub3>

Fyfe, J. J., Hamilton, D. L., & Daly, R. M. (2022). Minimal-Dose Resistance Training for Improving Muscle Mass, Strength, and Function: A Narrative Review of Current Evidence and Practical Considerations. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 52(3), 463-479. <https://doi.org/10.1007/s40279-021-01605-8>

Gabe, M. (1968). *Techniques histologiques*. Masson. <http://catalogue.bnf.fr/ark:/12148/cb37369035x>

Gadéa, E., Thivat, E., Dubray-Longeras, P., Arbre, M., Van-Praagh, I., Mouret-Reynier, M.-A., Herviou, P., Dohou, J., Ginzac, A., Duclos, M., Morio, B., & Durando, X. (2018). Prospective Study on Body Composition, Energy Balance and Biological Factors Changes in Post-menopausal Women with Breast Cancer Receiving Adjuvant Chemotherapy Including Taxanes. *Nutrition and Cancer*, 70(7), 997-1006. <https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1502330>

Gadéa, E., Thivat, E., Dubray-Longeras, P., Arbre, M., Van-praagh, I., Mouret-Reynier, M.-A., Herviou, P.,

- Dohou, J., Ginzac, A., Duclos, M., Morio, B., & Durando, X. (2018). Prospective Study on Body Composition, Energy Balance and Biological Factors Changes in Post-menopausal Women with Breast Cancer Receiving Adjuvant Chemotherapy Including Taxanes. *Nutrition and Cancer*, *70*(7), 997-1006. <https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1502330>
- Galiano-Castillo, N., Arroyo-Morales, M., Ariza-Garcia, A., Sánchez-Salado, C., Fernández-Lao, C., Cantarero-Villanueva, I., & Martín-Martín, L. (2016). The Six-Minute Walk Test as a Measure of Health in Breast Cancer Patients. *Journal of Aging and Physical Activity*, *24*(4), 508-515. <https://doi.org/10.1123/japa.2015-0056>
- Gallot, Y. S., & Bohnert, K. R. (2021). Confounding Roles of ER Stress and the Unfolded Protein Response in Skeletal Muscle Atrophy. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(5). <https://doi.org/10.3390/ijms22052567>
- Gallot, Y. S., Bohnert, K. R., Straughn, A. R., Xiong, G., Hindi, S. M., & Kumar, A. (2019). PERK regulates skeletal muscle mass and contractile function in adult mice. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *33*(2), 1946-1962. <https://doi.org/10.1096/fj.201800683RR>
- Gallot, Y. S., Durieux, A.-C., Castells, J., Desgeorges, M. M., Vernus, B., Plantureux, L., Rémond, D., Jahnke, V. E., Lefai, E., Dardevet, D., Nemoz, G., Schaeffer, L., Bonnieu, A., & Freyssenet, D. G. (2014). Myostatin gene inactivation prevents skeletal muscle wasting in cancer. *Cancer Research*, *74*(24), 7344-7356. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-0057>
- Gandevia, S. C. (2001). Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiological Reviews*, *81*(4), 1725-1789. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.4.1725>
- Ganley, I. G., Lam, D. H., Wang, J., Ding, X., Chen, S., & Jiang, X. (2009). ULK1.ATG13.FIP200 complex mediates mTOR signaling and is essential for autophagy. *The Journal of Biological Chemistry*, *284*(18), 12297-12305. <https://doi.org/10.1074/jbc.M900573200>
- Gao, S., & Hu, J. (2021). Mitochondrial Fusion : The Machineries In and Out. *Trends in Cell Biology*, *31*(1), 62-74. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.09.008>
- Gao, Y., Arfat, Y., Wang, H., & Goswami, N. (2018). Muscle Atrophy Induced by Mechanical Unloading : Mechanisms and Potential Countermeasures. *Frontiers in Physiology*, *9*, 235. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00235>
- Garnham, J. O., Roberts, L. D., Caspi, T., Al-Owais, M. M., Bullock, M., Swoboda, P. P., Koshy, A., Gierula, J., Paton, M. F., Cubbon, R. M., Kearney, M. T., Bowen, T. S., & Witte, K. K. (2020). Divergent skeletal muscle mitochondrial phenotype between male and female patients with chronic heart failure. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, *11*(1), 79-88. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12488>
- Georgescu, M.-M. (2010). PTEN Tumor Suppressor Network in PI3K-Akt Pathway Control. *Genes & Cancer*, *1*(12), 1170-1177. <https://doi.org/10.1177/1947601911407325>
- Gifford, J. R., Trinity, J. D., Kwon, O.-S., Layec, G., Garten, R. S., Park, S.-Y., Nelson, A. D., & Richardson, R. S. (2018). Altered skeletal muscle mitochondrial phenotype in COPD : Disease vs. disuse. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *124*(4), 1045-1053. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00788.2017>
- Gilliam, L. A. A., Fisher-Wellman, K. H., Lin, C.-T., Maples, J. M., Cathey, B. L., & Neuffer, P. D. (2013). The anticancer agent doxorubicin disrupts mitochondrial energy metabolism and redox balance in skeletal muscle. *Free radical biology & medicine*, *65*. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.08.191>
- Gilliam, L. A. A., Lark, D. S., Reese, L. R., Torres, M. J., Ryan, T. E., Lin, C.-T., Cathey, B. L., & Neuffer, P. D. (2016). Targeted overexpression of mitochondrial catalase protects against cancer chemotherapy-induced skeletal muscle dysfunction. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, *311*(2), E293-301. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00540.2015>
- Gilliam, L. A. A., Moylan, J. S., Patterson, E. W., Smith, J. D., Wilson, A. S., Rabbani, Z., & Reid, M. B. (2012). Doxorubicin acts via mitochondrial ROS to stimulate catabolism in C2C12 myotubes. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, *302*(1), C195-202. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00217.2011>

- Giuliani, G., Vumbaca, S., Fuoco, C., Gargioli, C., Giorda, E., Massacci, G., Palma, A., Reggio, A., Riccio, F., Rosina, M., Vinci, M., Castagnoli, L., & Cesareni, G. (2021). SCA-1 micro-heterogeneity in the fate decision of dystrophic fibro/adipogenic progenitors. *Cell Death & Disease*, *12*(1), 122. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-03408-1>
- Goll, D. E., Thompson, V. F., Li, H., Wei, W., & Cong, J. (2003). The calpain system. *Physiological Reviews*, *83*(3), 731-801. <https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2002>
- Gomes, M. D., Lecker, S. H., Jagoe, R. T., Navon, A., & Goldberg, A. L. (2001). Atrogin-1, a muscle-specific F-box protein highly expressed during muscle atrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*(25), 14440-14445. <https://doi.org/10.1073/pnas.251541198>
- Gomes, P. R. L., Freitas Junior, I. F., da Silva, C. B., Gomes, I. C., Rocha, A. P. R., Salgado, A. S. I., & do Carmo, E. M. (2014). Short-term changes in handgrip strength, body composition, and lymphedema induced by breast cancer surgery. *Revista Brasileira De Ginecologia E Obstetricia: Revista Da Federacao Brasileira Das Sociedades De Ginecologia E Obstetricia*, *36*(6), 244-250. <https://doi.org/10.1590/s0100-720320140005004>
- Gospillou, G., Scheede-Bergdahl, C., Spendiff, S., Vuda, M., Meehan, B., Mlynarski, H., Archer-Lahlou, E., Sgarioto, N., Purves-Smith, F. M., Konokhova, Y., Rak, J., Chevalier, S., Taivassalo, T., Hepple, R. T., & Jagoe, R. T. (2015). Anthracycline-containing chemotherapy causes long-term impairment of mitochondrial respiration and increased reactive oxygen species release in skeletal muscle. *Scientific Reports*, *5*, 8717. <https://doi.org/10.1038/srep08717>
- Gospillou, G., Sgarioto, N., Kapchinsky, S., Purves-Smith, F., Norris, B., Pion, C. H., Barbat-Artigas, S., Lemieux, F., Taivassalo, T., Morais, J. A., Aubertin-Leheudre, M., & Hepple, R. T. (2014). Increased sensitivity to mitochondrial permeability transition and myonuclear translocation of endonuclease G in atrophied muscle of physically active older humans. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *28*(4), 1621-1633. <https://doi.org/10.1096/fj.13-242750>
- Gram, M., Vigelsø, A., Yokota, T., Helge, J. W., Dela, F., & Hey-Mogensen, M. (2015). Skeletal muscle mitochondrial H₂O₂ emission increases with immobilization and decreases after aerobic training in young and older men. *The Journal of Physiology*, *593*(17), 4011-4027. <https://doi.org/10.1113/JP270211>
- Granata, C., Jamnick, N. A., & Bishop, D. J. (2018). Training-Induced Changes in Mitochondrial Content and Respiratory Function in Human Skeletal Muscle. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, *48*(8), 1809-1828. <https://doi.org/10.1007/s40279-018-0936-y>
- Guigni, B. A., Callahan, D. M., Tourville, T. W., Miller, M. S., Fiske, B., Voigt, T., Korwin-Mihavics, B., Anathy, V., Dittus, K., & Toth, M. J. (2018). Skeletal muscle atrophy and dysfunction in breast cancer patients : Role for chemotherapy-derived oxidant stress. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, *315*(5), C744-C756. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00002.2018>
- Guilhot, C., Fovet, T., Delobel, P., Dargegen, M., Jasmin, B. J., Brioché, T., Chopard, A., & Py, G. (2022). Severe Muscle Deconditioning Triggers Early Extracellular Matrix Remodeling and Resident Stem Cell Differentiation into Adipocytes in Healthy Men. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(10), 5489. <https://doi.org/10.3390/ijms23105489>
- Guo, B.-S., Cheung, K.-K., Yeung, S. S., Zhang, B.-T., & Yeung, E. W. (2012). Electrical stimulation influences satellite cell proliferation and apoptosis in unloading-induced muscle atrophy in mice. *PloS One*, *7*(1), e30348. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030348>
- Guo, D., Wang, C., Wang, Q., Qiao, Z., & Tang, H. (2017). Pantoprazole blocks the JAK2/STAT3 pathway to alleviate skeletal muscle wasting in cancer cachexia by inhibiting inflammatory response. *Oncotarget*, *8*(24), 39640-39648. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17387>
- Hackney, K. J., & Ploutz-Snyder, L. L. (2012). Unilateral lower limb suspension : Integrative physiological knowledge from the past 20 years (1991-2011). *European Journal of Applied Physiology*, *112*(1), 9-22. <https://doi.org/10.1007/s00421-011-1971-7>
- Hageman, D., Fokkenrood, H. J., Gommans, L. N., van den Houten, M. M., & Teijink, J. A. (2018). Supervised

exercise therapy versus home-based exercise therapy versus walking advice for intermittent claudication. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4, CD005263. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005263.pub4>

Han, H. Q., Zhou, X., Mitch, W. E., & Goldberg, A. L. (2013). Myostatin/activin pathway antagonism : Molecular basis and therapeutic potential. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 45(10), 2333-2347. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.05.019>

Han, X., Møller, L. L. V., De Groot, E., Bojsen-Møller, K. N., Davey, J., Henríquez-Olguin, C., Li, Z., Knudsen, J. R., Jensen, T. E., Madsbad, S., Gregorevic, P., Richter, E. A., & Sylow, L. (2019). Mechanisms involved in follistatin-induced hypertrophy and increased insulin action in skeletal muscle. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 10(6), 1241-1257. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12474>

Handy, R. M., Politis-Barber, V., & Barbeau, P.-A. (2021). Revisiting the limitation to V O₂ peak with ageing : Is mitochondrial (dys)function the key? *The Journal of Physiology*, 599(17), 4017-4019. <https://doi.org/10.1113/JP282018>

Hanna, L., Nguo, K., Furness, K., Porter, J., & Huggins, C. E. (s. d.). Association between skeletal muscle mass and quality of life in adults with cancer : A systematic review and meta-analysis. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, n/a(n/a). <https://doi.org/10.1002/jcsm.12928>

Hanson, A. M., Harrison, B. C., Young, M. H., Stodieck, L. S., & Ferguson, V. L. (2013). Longitudinal characterization of functional, morphologic, and biochemical adaptations in mouse skeletal muscle with hindlimb suspension. *Muscle & Nerve*, 48(3), 393-402. <https://doi.org/10.1002/mus.23753>

Harbeck, N., Penault-Llorca, F., Cortes, J., Gnant, M., Houssami, N., Poortmans, P., Ruddy, K., Tsang, J., & Cardoso, F. (2019). Breast cancer. *Nature Reviews. Disease Primers*, 5(1), 66. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0111-2>

Hassiotou, F., & Geddes, D. (2013). Anatomy of the human mammary gland : Current status of knowledge. *Clinical Anatomy (New York, N.Y.)*, 26(1), 29-48. <https://doi.org/10.1002/ca.22165>

Hatakeyama, S., Summermatter, S., Jourdain, M., Melly, S., Minetti, G. C., & Lach-Trifilieff, E. (2016). ActRII blockade protects mice from cancer cachexia and prolongs survival in the presence of anti-cancer treatments. *Skeletal Muscle*, 6, 26. <https://doi.org/10.1186/s13395-016-0098-2>

Hayes, S. C., Newton, R. U., Spence, R. R., & Galvão, D. A. (2019). The Exercise and Sports Science Australia position statement : Exercise medicine in cancer management. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 0(0). <https://doi.org/10.1016/j.jsams.2019.05.003>

Hayot, M., Rodriguez, J., Vernus, B., Carnac, G., Jean, E., Allen, D., Goret, L., Obert, P., Candau, R., & Bonniou, A. (2011). Myostatin up-regulation is associated with the skeletal muscle response to hypoxic stimuli. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 332(1-2), 38-47. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.09.008>

He, N., & Ye, H. (2020). Exercise and Muscle Atrophy. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1228, 255-267. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1792-1_17

He, W. A., Berardi, E., Cardillo, V. M., Acharyya, S., Aulino, P., Thomas-Ahner, J., Wang, J., Bloomston, M., Muscarella, P., Nau, P., Shah, N., Butchbach, M. E. R., Ladner, K., Adamo, S., Rudnicki, M. A., Keller, C., Coletti, D., Montanaro, F., & Guttridge, D. C. (2013). NF- κ B-mediated Pax7 dysregulation in the muscle microenvironment promotes cancer cachexia. *The Journal of Clinical Investigation*, 123(11), 4821-4835. <https://doi.org/10.1172/JCI68523>

He, X., Duan, Y., Yao, K., Li, F., Hou, Y., Wu, G., & Yin, Y. (2016). β -Hydroxy- β -methylbutyrate, mitochondrial biogenesis, and skeletal muscle health. *Amino Acids*, 48(3), 653-664. <https://doi.org/10.1007/s00726-015-2126-7>

Hernandez-Diaz, S., & Soukup, S.-F. (2020). The role of lipids in autophagy and its implication in neurodegeneration. *Cell Stress*, 4(7), 167-186. <https://doi.org/10.15698/cst2020.07.225>

Hesse, E., Schröder, S., Brandt, D., Pamperin, J., Saito, H., & Taipaleenmäki, H. (2019). Sclerostin inhibition

alleviates breast cancer-induced bone metastases and muscle weakness. *JCI Insight*, 5, 125543. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.125543>

Hill, A. V. (1950). Mechanics of the contractile element of muscle. *Nature*, 166(4219), 415-419. <https://doi.org/10.1038/166415a0>

Hirasaka, K., Saito, S., Yamaguchi, S., Miyazaki, R., Wang, Y., Haruna, M., Taniyama, S., Higashitani, A., Terao, J., Nikawa, T., & Tachibana, K. (2016). Dietary Supplementation with Isoflavones Prevents Muscle Wasting in Tumor-Bearing Mice. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 62(3), 178-184. <https://doi.org/10.3177/jnsv.62.178>

Hofman, M., Ryan, J. L., Figueroa-Moseley, C. D., Jean-Pierre, P., & Morrow, G. R. (2007). Cancer-related fatigue: The scale of the problem. *The Oncologist*, 12 Suppl 1, 4-10. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.12-S1-4>

Hogarth, M. W., Defour, A., Lazarski, C., Gallardo, E., Diaz Manera, J., Partridge, T. A., Nagaraju, K., & Jaiswal, J. K. (2019). Fibroadipogenic progenitors are responsible for muscle loss in limb girdle muscular dystrophy 2B. *Nature Communications*, 10(1), 2430. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10438-z>

Hoppeler, H. (1986). Exercise-induced ultrastructural changes in skeletal muscle. *International Journal of Sports Medicine*, 7(4), 187-204. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1025758>

Horn, J., & Vatten, L. J. (2017). Reproductive and hormonal risk factors of breast cancer: A historical perspective. *International Journal of Women's Health*, 9, 265-272. <https://doi.org/10.2147/IJWH.S129017>

Hornberger, T. A., Hunter, R. B., Kandarian, S. C., & Esser, K. A. (2001). Regulation of translation factors during hindlimb unloading and denervation of skeletal muscle in rats. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 281(1), C179-187. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2001.281.1.C179>

Hortobagyi, G. N., Edge, S. B., & Giuliano, A. (2018). New and Important Changes in the TNM Staging System for Breast Cancer. *American Society of Clinical Oncology Educational Book. American Society of Clinical Oncology. Annual Meeting*, 38, 457-467. https://doi.org/10.1200/EDBK_201313

Hosokawa, N., Hara, T., Kaizuka, T., Kishi, C., Takamura, A., Miura, Y., Iemura, S., Natsume, T., Takehana, K., Yamada, N., Guan, J.-L., Oshiro, N., & Mizushima, N. (2009). Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Molecular Biology of the Cell*, 20(7), 1981-1991. <https://doi.org/10.1091/mbc.e08-12-1248>

Houzzelle, A., Jörgensen, J. A., Schaart, G., Daemen, S., van Polanen, N., Fealy, C. E., Hesselink, M. K. C., Schrauwen, P., & Hoeks, J. (2021). Human skeletal muscle mitochondrial dynamics in relation to oxidative capacity and insulin sensitivity. *Diabetologia*, 64(2), 424-436. <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05335-w>

Howley, E. T., Bassett, D. R., & Welch, H. G. (1995). Criteria for maximal oxygen uptake: Review and commentary. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 27(9), 1292-1301.

Hu, S., Kuwabara, R., de Haan, B. J., Smink, A. M., & de Vos, P. (2020). Acetate and Butyrate Improve β -cell Metabolism and Mitochondrial Respiration under Oxidative Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), E1542. <https://doi.org/10.3390/ijms21041542>

Hughes, D. C., Wallace, M. A., & Baar, K. (2015). Effects of aging, exercise, and disease on force transfer in skeletal muscle. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 309(1), E1-E10. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00095.2015>

Huh, J., Park, B., Lee, H., An, Y.-S., Jung, Y., Kim, J. Y., Kang, D. K., Kim, K. W., & Kim, T. H. (2020). Prognostic Value of Skeletal Muscle Depletion Measured on Computed Tomography for Overall Survival in Patients with Non-Metastatic Breast Cancer. *Journal of Breast Cancer*, 23(1), 80-92. <https://doi.org/10.4048/jbc.2020.23.e8>

Hulmi, J. J., Nissinen, T. A., Räsänen, M., Degerman, J., Lautaoja, J. H., Hemanthakumar, K. A., Backman, J. T., Ritvos, O., Silvennoinen, M., & Kivelä, R. (2018). Prevention of chemotherapy-induced cachexia by ACVR2B

ligand blocking has different effects on heart and skeletal muscle. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 9(2), 417-432. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12265>

Hulmi, J. J., Penna, F., Pöllänen, N., Nissinen, T. A., Hentilä, J., Euro, L., Lautaoja, J. H., Ballarò, R., Soliymani, R., Baumann, M., Ritvos, O., Pirinen, E., & Lalowski, M. (2020). Muscle NAD⁺ depletion and Serpina3n as molecular determinants of murine cancer cachexia—the effects of blocking myostatin and activins. *Molecular Metabolism*, 41, 101046. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101046>

Hunter, S. K., Pereira, H. M., & Keenan, K. G. (2016). The aging neuromuscular system and motor performance. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 121(4), 982-995. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00475.2016>

Huot, J. R., Pin, F., Narasimhan, A., Novinger, L. J., Keith, A. S., Zimmers, T. A., Willis, M. S., & Bonetto, A. (2020). ACVR2B antagonism as a countermeasure to multi-organ perturbations in metastatic colorectal cancer cachexia. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 11(6), 1779-1798. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12642>

Hussain, S. N. A., & Sandri, M. (2013). Role of autophagy in COPD skeletal muscle dysfunction. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 114(9), 1273-1281. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00893.2012>

Hwee, D. T., Baehr, L. M., Philp, A., Baar, K., & Bodine, S. C. (2014). Maintenance of muscle mass and load-induced growth in Muscle RING Finger 1 null mice with age. *Aging Cell*, 13(1), 92-101. <https://doi.org/10.1111/accel.12150>

Hyatt, H., Deminice, R., Yoshihara, T., & Powers, S. K. (2019). Mitochondrial dysfunction induces muscle atrophy during prolonged inactivity: A review of the causes and effects. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 662, 49-60. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.11.005>

Hyatt, H. W., & Powers, S. K. (2020). The Role of Calpains in Skeletal Muscle Remodeling with Exercise and Inactivity-induced Atrophy. *International Journal of Sports Medicine*, 41(14), 994-1008. <https://doi.org/10.1055/a-1199-7662>

Hyatt, H. W., & Powers, S. K. (2021). Mitochondrial Dysfunction Is a Common Denominator Linking Skeletal Muscle Wasting Due to Disease, Aging, and Prolonged Inactivity. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(4), 588. <https://doi.org/10.3390/antiox10040588>

Hyldahl, R. D., & Hubal, M. J. (2014). Lengthening our perspective: Morphological, cellular, and molecular responses to eccentric exercise. *Muscle & Nerve*, 49(2), 155-170. <https://doi.org/10.1002/mus.24077>

Ibrahim, E. M., & Al-Homaidh, A. (2011). Physical activity and survival after breast cancer diagnosis: Meta-analysis of published studies. *Medical Oncology (Northwood, London, England)*, 28(3), 753-765. <https://doi.org/10.1007/s12032-010-9536-x>

Ieronimakis, N., Hays, A., Prasad, A., Janebodin, K., Duffield, J. S., & Reyes, M. (2016). PDGFR α signalling promotes fibrogenic responses in collagen-producing cells in Duchenne muscular dystrophy. *The Journal of Pathology*, 240(4), 410-424. <https://doi.org/10.1002/path.4801>

Inaba, S., Hinohara, A., Tachibana, M., Tsujikawa, K., & Fukada, S.-I. (2018). Muscle regeneration is disrupted by cancer cachexia without loss of muscle stem cell potential. *PloS One*, 13(10), e0205467. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205467>

INCa. (2017). *Activité physique et cancers : Des bénéfices prouvés pendant et après les traitements—Activité physique*.

Inostroza, M., Valdés, O., Tapia, G., Núñez, O., Kompen, M. J., Nosaka, K., & Peñailillo, L. (2022). Effects of eccentric vs concentric cycling training on patients with moderate COPD. *European Journal of Applied Physiology*, 122(2), 489-502. <https://doi.org/10.1007/s00421-021-04850-x>

Irimia, J. M., Guerrero, M., Rodriguez-Miguel, P., Cadefau, J. A., Tesch, P. A., Cussó, R., & Fernandez-

- Gonzalo, R. (2017). Metabolic adaptations in skeletal muscle after 84 days of bed rest with and without concurrent flywheel resistance exercise. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *122*(1), 96-103. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00521.2016>
- Ishiko, O., Sumi, T., Yoshida, H., Hyun, Y., & Ogita, S. (2001). Expression of apoptosis regulatory proteins in the skeletal muscle of tumor-bearing rabbits compared with diet-restricted rabbits. *International Journal of Molecular Medicine*, *8*(3), 279-283. <https://doi.org/10.3892/ijmm.8.3.279>
- Isoyama, N., Qureshi, A. R., Avesani, C. M., Lindholm, B., Bàràny, P., Heimbürger, O., Cederholm, T., Stenvinkel, P., & Carrero, J. J. (2014). Comparative associations of muscle mass and muscle strength with mortality in dialysis patients. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, *9*(10), 1720-1728. <https://doi.org/10.2215/CJN.10261013>
- Jang, Y. C., & Van Remmen, H. (2011). Age-associated alterations of the neuromuscular junction. *Experimental Gerontology*, *46*(2-3), 193-198. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.08.029>
- Jeon, Y. W., Park, H. S., Ko, Y., Sung, Y. S., Shim, B. Y., Suh, Y. J., & Kim, H. A. (2021). Intermuscular fat density as a novel prognostic factor in breast cancer patients treated with adjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Research and Treatment*, *189*(3), 759-768. <https://doi.org/10.1007/s10549-021-06322-4>
- Jeong, S.-Y., & Seol, D.-W. (2008). The role of mitochondria in apoptosis. *BMB Reports*, *41*(1), 11-22. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2008.41.1.011>
- Jerusalem, G., Lancellotti, P., & Kim, S.-B. (2019). HER2+ breast cancer treatment and cardiotoxicity : Monitoring and management. *Breast Cancer Research and Treatment*, *177*(2), 237-250. <https://doi.org/10.1007/s10549-019-05303-y>
- Ji, L. L., & Yeo, D. (2019). Mitochondrial dysregulation and muscle disuse atrophy. *F1000Research*, *8*, F1000 Faculty Rev-1621. <https://doi.org/10.12688/f1000research.19139.1>
- Joanisse, S., Nederveen, J. P., Snijders, T., McKay, B. R., & Parise, G. (2017). Skeletal Muscle Regeneration, Repair and Remodelling in Aging : The Importance of Muscle Stem Cells and Vascularization. *Gerontology*, *63*(1), 91-100. <https://doi.org/10.1159/000450922>
- Joe, A. W. B., Yi, L., Natarajan, A., Le Grand, F., So, L., Wang, J., Rudnicki, M. A., & Rossi, F. M. V. (2010). Muscle injury activates resident fibro/adipogenic progenitors that facilitate myogenesis. *Nature cell biology*, *12*(2), 153-163. <https://doi.org/10.1038/ncb2015>
- Johns, N., Hatakeyama, S., Stephens, N. A., Degen, M., Degen, S., Friauff, W., Lambert, C., Ross, J. A., Roubenoff, R., Glass, D. J., Jacobi, C., & Fearon, K. C. H. (2014). Clinical Classification of Cancer Cachexia : Phenotypic Correlates in Human Skeletal Muscle. *PLOS ONE*, *9*(1), e83618. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083618>
- Johns, N., Stretch, C., Tan, B. H. L., Solheim, T. S., Sørhaug, S., Stephens, N. A., Gioulbasanis, I., Skipworth, R. J. E., Deans, D. A. C., Vigano, A., Ross, J. A., Bathe, O. F., Tremblay, M. L., Kaasa, S., Strasser, F., Gagnon, B., Baracos, V. E., Damaraju, S., & Fearon, K. C. H. (2017). New genetic signatures associated with cancer cachexia as defined by low skeletal muscle index and weight loss. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, *8*(1), 122-130. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12138>
- Johnston, A. J., Murphy, K. T., Jenkinson, L., Laine, D., Emmrich, K., Faou, P., Weston, R., Jayatilleke, K. M., Schloegel, J., Talbo, G., Casey, J. L., Levina, V., Wong, W. W.-L., Dillon, H., Sahay, T., Hoogenraad, J., Anderton, H., Hall, C., Schneider, P., ... Hoogenraad, N. J. (2015). Targeting of Fn14 Prevents Cancer-Induced Cachexia and Prolongs Survival. *Cell*, *162*(6), 1365-1378. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.08.031>
- Jones, D. P. (2008). Radical-free biology of oxidative stress. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, *295*(4), C849-868. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00283.2008>
- Jones, L. W., Hornsby, W. E., Goetzinger, A., Forbes, L. M., Sherrard, E. L., Quist, M., Lane, A. T., West, M., Eves, N. D., Gradison, M., Coan, A., Herndon, J. E., & Abernethy, A. P. (2012). Prognostic significance of functional capacity and exercise behavior in patients with metastatic non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*,

76(2), 248-252. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2011.10.009>

Joseph, A.-M., Adhietty, P. J., Buford, T. W., Wohlgemuth, S. E., Lees, H. A., Nguyen, L. M.-D., Aranda, J. M., Sandesara, B. D., Pahor, M., Manini, T. M., Marzetti, E., & Leeuwenburgh, C. (2012). The impact of aging on mitochondrial function and biogenesis pathways in skeletal muscle of sedentary high- and low-functioning elderly individuals. *Aging Cell*, *11*(5), 801-809. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2012.00844.x>

Joshi, S. K., Liu, X., Samagh, S. P., Lovett, D. H., Bodine, S. C., Kim, H. T., & Feeley, B. T. (2013). mTOR regulates fatty infiltration through SREBP-1 and PPAR γ after a combined massive rotator cuff tear and suprascapular nerve injury in rats. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society*, *31*(5), 724-730. <https://doi.org/10.1002/jor.22254>

Ju, W.-K., Lindsey, J. D., Angert, M., Patel, A., & Weinreb, R. N. (2008). Glutamate receptor activation triggers OPA1 release and induces apoptotic cell death in ischemic rat retina. *Molecular Vision*, *14*, 2629-2638.

Judge, S. M., Nosacka, R. L., Delitto, D., Gerber, M. H., Cameron, M. E., Trevino, J. G., & Judge, A. R. (2018). Skeletal Muscle Fibrosis in Pancreatic Cancer Patients with Respect to Survival. *JNCI Cancer Spectrum*, *2*(3), pky043. <https://doi.org/10.1093/jncics/pky043>

Julian, V., Thivel, D., Miguet, M., Pereira, B., Lambert, C., Costes, F., Richard, R., & Duclos, M. (2020). Eccentric Cycling Training Improves Health-Related Quality of Life in Adolescents with Obesity. *Obesity Facts*, *13*(6), 548-559. <https://doi.org/10.1159/000509961>

Julienne, C. M., Dumas, J.-F., Goupille, C., Pinault, M., Berri, C., Collin, A., Tesseraud, S., Couet, C., & Servais, S. (2012). Cancer cachexia is associated with a decrease in skeletal muscle mitochondrial oxidative capacities without alteration of ATP production efficiency. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, *3*(4), 265-275. <https://doi.org/10.1007/s13539-012-0071-9>

Kadi, F., Charifi, N., Denis, C., & Lexell, J. (2004). Satellite cells and myonuclei in young and elderly women and men. *Muscle & Nerve*, *29*(1), 120-127. <https://doi.org/10.1002/mus.10510>

Kanzleiter, T., Rath, M., Görgens, S. W., Jensen, J., Tangen, D. S., Kolnes, A. J., Kolnes, K. J., Lee, S., Eckel, J., Schürmann, A., & Eckardt, K. (2014). The myokine decorin is regulated by contraction and involved in muscle hypertrophy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *450*(2), 1089-1094. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.06.123>

Karp, J. R. (2001). Muscle Fiber Types and Training. *Strength & Conditioning Journal*, *23*(5), 21.

Kasum, M., Beketić-Orešković, L., Peddi, P. F., Orešković, S., & Johnson, R. H. (2014). Fertility after breast cancer treatment. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, *173*, 13-18. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2013.11.009>

Kaur, A., & Sharma, S. (2017). Mammalian target of rapamycin (mTOR) as a potential therapeutic target in various diseases. *Inflammopharmacology*, *25*(3), 293-312. <https://doi.org/10.1007/s10787-017-0336-1>

Kavazis, A. N., Smuder, A. J., & Powers, S. K. (2014). Effects of short-term endurance exercise training on acute doxorubicin-induced FoxO transcription in cardiac and skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *117*(3), 223-230. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00210.2014>

Kawanishi, N., Funakoshi, T., & Machida, S. (2018). Time-course study of macrophage infiltration and inflammation in cast immobilization-induced atrophied muscle of mice. *Muscle & Nerve*, *57*(6), 1006-1013. <https://doi.org/10.1002/mus.26061>

Kawashima, S., Akima, H., Kuno, S.-Y., Gunji, A., & Fukunaga, T. (2004). Human adductor muscles atrophy after short duration of unweighting. *European Journal of Applied Physiology*, *92*(4-5), 602-605. <https://doi.org/10.1007/s00421-004-1184-4>

Kazemi-Bajestani, S. M. R., Becher, H., Fassbender, K., Chu, Q., & Baracos, V. E. (2014). Concurrent evolution of cancer cachexia and heart failure : Bilateral effects exist. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, *5*(2), 95-104. <https://doi.org/10.1007/s13539-014-0137-y>

- Kelley, G. A., & Kelley, K. S. (2017). Is sarcopenia associated with an increased risk of all-cause mortality and functional disability? *Experimental Gerontology*, *96*, 100-103. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2017.06.008>
- Khal, J., Hine, A. V., Fearon, K. C. H., Dejong, C. H. C., & Tisdale, M. J. (2005). Increased expression of proteasome subunits in skeletal muscle of cancer patients with weight loss. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, *37*(10), 2196-2206. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2004.10.017>
- Kim, K. W., Baek, M.-O., Yoon, M.-S., & Son, K. H. (2021). Deterioration of mitochondrial function in the human intercostal muscles differs among individuals with sarcopenia, obesity, and sarcopenic obesity. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, *40*(5), 2697-2706. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2021.03.009>
- Kitajima, Y., Yoshioka, K., & Suzuki, N. (2020). The ubiquitin-proteasome system in regulation of the skeletal muscle homeostasis and atrophy : From basic science to disorders. *The Journal of Physiological Sciences: JPS*, *70*(1), 40. <https://doi.org/10.1186/s12576-020-00768-9>
- Kitamura, A., Seino, S., Abe, T., Nofuji, Y., Yokoyama, Y., Amano, H., Nishi, M., Taniguchi, Y., Narita, M., Fujiwara, Y., & Shinkai, S. (2021). Sarcopenia : Prevalence, associated factors, and the risk of mortality and disability in Japanese older adults. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, *12*(1), 30-38. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12651>
- Klassen, O., Schmidt, M. E., Ulrich, C. M., Schneeweiss, A., Potthoff, K., Steindorf, K., & Wiskemann, J. (2017). Muscle strength in breast cancer patients receiving different treatment regimes. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, *8*(2), 305-316. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12165>
- Klionsky, D. J., Abdel-Aziz, A. K., Abdelfatah, S., Abdellatif, M., Abdoli, A., Abel, S., Abeliovich, H., Abildgaard, M. H., Abudu, Y. P., Acevedo-Arozena, A., Adamopoulos, I. E., Adeli, K., Adolph, T. E., Adornetto, A., Aflaki, E., Agam, G., Agarwal, A., Aggarwal, B. B., Agnello, M., ... Tong, C.-K. (2021). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition). *Autophagy*, 1-382. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1797280>
- Knuiman, P., Hopman, M. T. E., Hangelbroek, R., & Mensink, M. (2018). Plasma cytokine responses to resistance exercise with different nutrient availability on a concurrent exercise day in trained healthy males. *Physiological Reports*, *6*(11), e13708. <https://doi.org/10.14814/phy2.13708>
- Knuiman, P., Straw, S., Gierula, J., Koshy, A., Roberts, L. D., Witte, K. K., Ferguson, C., & Bowen, T. S. (2021). Quantifying the relationship and contribution of mitochondrial respiration to systemic exercise limitation in heart failure. *ESC Heart Failure*, *8*(2), 898-907. <https://doi.org/10.1002/ehf2.13272>
- Koryak, Y. A. (1998). Influence of 120-days 6 degrees head-down tilt bed rest on the functional properties of the neuromuscular system in man. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, *69*(8), 766-770.
- Koryak, Y. A. (2019). Changes in human skeletal muscle architecture and function induced by extended spaceflight. *Journal of Biomechanics*, *97*, 109408. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2019.109408>
- Koukourikos, K., Tsaloglidou, A., & Kourkouta, L. (2014). Muscle atrophy in intensive care unit patients. *Acta Informatica Medica: AIM: Journal of the Society for Medical Informatics of Bosnia & Herzegovina: Casopis Društva Za Medicinsku Informatiku BiH*, *22*(6), 406-410. <https://doi.org/10.5455/aim.2014.22.406-410>
- Krivickas, L. S., Dorer, D. J., Ochala, J., & Frontera, W. R. (2011). Relationship between force and size in human single muscle fibres. *Experimental Physiology*, *96*(5), 539-547. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2010.055269>
- Kudryavtseva, A. V., Krasnov, G. S., Dmitriev, A. A., Alekseev, B. Y., Kardymon, O. L., Sadritdinova, A. F., Fedorova, M. S., Pokrovsky, A. V., Melnikova, N. V., Kaprin, A. D., Moskalev, A. A., & Snezhkina, A. V. (2016). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in aging and cancer. *Oncotarget*, *7*(29), 44879-44905. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9821>
- Kulhánová, I., Znaor, A., Shield, K. D., Arnold, M., Vignat, J., Charafeddine, M., Fadhil, I., Fouad, H., Al-Omari, A., Al-Zahrani, A. S., El-Basmy, A., Shamseddine, A., Bray, F., & Soerjomataram, I. (2020). Proportion of cancers attributable to major lifestyle and environmental risk factors in the Eastern Mediterranean region.

International Journal of Cancer, 146(3), 646-656. <https://doi.org/10.1002/ijc.32284>

Kunte, S., Abraham, J., & Montero, A. J. (2020). Novel HER2-targeted therapies for HER2-positive metastatic breast cancer. *Cancer*, 126(19), 4278-4288. <https://doi.org/10.1002/cncr.33102>

Kunz, H. E., Port, J. D., Kaufman, K. R., Jatoi, A., Hart, C. R., Gries, K. J., Lanza, I. R., & Kumar, R. (2022). Skeletal muscle mitochondrial dysfunction and muscle and whole body functional deficits in cancer patients with weight loss. *Journal of Applied Physiology*, 132(2), 388-401. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00746.2021>

Kunzke, T., Buck, A., Prade, V. M., Feuchtinger, A., Prokopchuk, O., Martignoni, M. E., Heisz, S., Hauner, H., Janssen, K.-P., Walch, A., & Aichler, M. (2020). Derangements of amino acids in cachectic skeletal muscle are caused by mitochondrial dysfunction. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 11(1), 226-240. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12498>

Kuzel, B. R., Grindel, S., Papandrea, R., & Ziegler, D. (2013). Fatty infiltration and rotator cuff atrophy. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 21(10), 613-623. <https://doi.org/10.5435/JAAOS-21-10-613>

Kwan, M. L., Sternfeld, B., Ergas, I. J., Timperi, A. W., Roh, J. M., Hong, C.-C., Quesenberry, C. P., & Kushi, L. H. (2012). Change in physical activity during active treatment in a prospective study of breast cancer survivors. *Breast Cancer Research and Treatment*, 131(2), 679-690. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1788-4>

Kyu, H. H., Bachman, V. F., Alexander, L. T., Mumford, J. E., Afshin, A., Estep, K., Veerman, J. L., Delwiche, K., Iannarone, M. L., Moyer, M. L., Cercy, K., Vos, T., Murray, C. J. L., & Forouzanfar, M. H. (2016). Physical activity and risk of breast cancer, colon cancer, diabetes, ischemic heart disease, and ischemic stroke events : Systematic review and dose-response meta-analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 354, i3857. <https://doi.org/10.1136/bmj.i3857>

Lange, M., Licaj, I., Clarisse, B., Humbert, X., Grellard, J.-M., Tron, L., & Joly, F. (2019). Cognitive complaints in cancer survivors and expectations for support : Results from a web-based survey. *Cancer Medicine*, 8(5), 2654-2663. <https://doi.org/10.1002/cam4.2069>

Larsen, S., Nielsen, J., Hansen, C. N., Nielsen, L. B., Wibrand, F., Stride, N., Schroder, H. D., Boushel, R., Helge, J. W., Dela, F., & Hey-Mogensen, M. (2012). Biomarkers of mitochondrial content in skeletal muscle of healthy young human subjects. *The Journal of Physiology*, 590(Pt 14), 3349-3360. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.230185>

Larsson, L., Degens, H., Li, M., Salviati, L., Lee, Y. I., Thompson, W., Kirkland, J. L., & Sandri, M. (2019). Sarcopenia : Aging-Related Loss of Muscle Mass and Function. *Physiological Reviews*, 99(1), 427-511. <https://doi.org/10.1152/physrev.00061.2017>

Lastayo, P. C., Reich, T. E., Urquhart, M., Hoppeler, H., & Lindstedt, S. L. (1999). Chronic eccentric exercise : Improvements in muscle strength can occur with little demand for oxygen. *The American Journal of Physiology*, 276(2), R611-615. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1999.276.2.R611>

Leal, L. G., Lopes, M. A., & Batista, M. L. (2018). Physical Exercise-Induced Myokines and Muscle-Adipose Tissue Crosstalk : A Review of Current Knowledge and the Implications for Health and Metabolic Diseases. *Frontiers in Physiology*, 9. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2018.01307>

Lecker, S. H., Jagoe, R. T., Gilbert, A., Gomes, M., Baracos, V., Bailey, J., Price, S. R., Mitch, W. E., & Goldberg, A. L. (2004). Multiple types of skeletal muscle atrophy involve a common program of changes in gene expression. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 18(1), 39-51. <https://doi.org/10.1096/fj.03-0610com>

Leduc-Gaudet, J.-P., Hussain, S. N. A., Barreiro, E., & Gouspillou, G. (2021). Mitochondrial Dynamics and Mitophagy in Skeletal Muscle Health and Aging. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), 8179. <https://doi.org/10.3390/ijms22158179>

Lee, B. M., Cho, Y., Kim, J. W., Ahn, S. G., Kim, J. H., Jeung, H. C., Jeong, J., & Lee, I. J. (2021). Association between Skeletal Muscle Loss and the Response to Neoadjuvant Chemotherapy for Breast Cancer. *Cancers*,

13(8). <https://doi.org/10.3390/cancers13081806>

Lee, H., Heo, J.-W., Kim, A.-R., Kweon, M., Nam, S., Lim, J.-S., Sung, M.-K., Kim, S.-E., & Ryu, J.-H. (2019). Z-ajoene from Crushed Garlic Alleviates Cancer-Induced Skeletal Muscle Atrophy. *Nutrients*, *11*(11). <https://doi.org/10.3390/nu11112724>

Lee, J. H., Jeon, J. H., & Lee, M. J. (2020). Docosahexaenoic Acid, a Potential Treatment for Sarcopenia, Modulates the Ubiquitin–Proteasome and the Autophagy–Lysosome Systems. *Nutrients*, *12*(9), 2597. <https://doi.org/10.3390/nu12092597>

Lee, S. M. C., Moore, A. D., Everett, M. E., Stenger, M. B., & Platts, S. H. (2010). Aerobic exercise deconditioning and countermeasures during bed rest. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, *81*(1), 52-63. <https://doi.org/10.3357/ASEM.2474.2010>

Lee, S.-J. (2007). Quadrupling muscle mass in mice by targeting TGF-beta signaling pathways. *PLoS One*, *2*(8), e789. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000789>

Lee, S.-J., Lee, Y.-S., Zimmers, T. A., Soleimani, A., Matzuk, M. M., Tsuchida, K., Cohn, R. D., & Barton, E. R. (2010). Regulation of muscle mass by follistatin and activins. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, *24*(10), 1998-2008. <https://doi.org/10.1210/me.2010-0127>

Leinroth, A. P., Mirando, A. J., Rouse, D., Kobayashi, Y., Tata, P. R., Rueckert, H. E., Liao, Y., Long, J. T., Chakkalakal, J. V., & Hilton, M. J. (2022). Identification of distinct non-myogenic skeletal-muscle-resident mesenchymal cell populations. *Cell Reports*, *39*(6), 110785. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110785>

Lemieux, J., Maunsell, E., & Provencher, L. (2008). Chemotherapy-induced alopecia and effects on quality of life among women with breast cancer: A literature review. *Psycho-Oncology*, *17*(4), 317-328. <https://doi.org/10.1002/pon.1245>

Lemos, D. R., Babaeijandaghi, F., Low, M., Chang, C.-K., Lee, S. T., Fiore, D., Zhang, R.-H., Natarajan, A., Nedospasov, S. A., & Rossi, F. M. V. (2015). Nilotinib reduces muscle fibrosis in chronic muscle injury by promoting TNF-mediated apoptosis of fibro/adipogenic progenitors. *Nature Medicine*, *21*(7), 786-794. <https://doi.org/10.1038/nm.3869>

Leong, C. H., McDermott, W. J., Elmer, S. J., & Martin, J. C. (2014). Chronic eccentric cycling improves quadriceps muscle structure and maximum cycling power. *International Journal of Sports Medicine*, *35*(7), 559-565. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1358471>

Lepers, R., Maffiuletti, N. A., Rochette, L., Brugniaux, J., & Millet, G. Y. (2002). Neuromuscular fatigue during a long-duration cycling exercise. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *92*(4), 1487-1493. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00880.2001>

Leto, G., Incorvaia, L., Badalamenti, G., Tumminello, F. M., Gebbia, N., Flandina, C., Crescimanno, M., & Rini, G. (2006). Activin A circulating levels in patients with bone metastasis from breast or prostate cancer. *Clinical & Experimental Metastasis*, *23*(2), 117-122. <https://doi.org/10.1007/s10585-006-9010-5>

Lexell, J. (1995). Human aging, muscle mass, and fiber type composition. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, *50* Spec No, 11-16. https://doi.org/10.1093/gerona/50a.special_issue.11

Lexell, J., & Taylor, C. C. (1991). Variability in muscle fibre areas in whole human quadriceps muscle: Effects of increasing age. *Journal of Anatomy*, *174*, 239-249.

Lexell, J., Taylor, C. C., & Sjöström, M. (1988). What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *Journal of the Neurological Sciences*, *84*(2-3), 275-294. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(88\)90132-3](https://doi.org/10.1016/0022-510x(88)90132-3)

Li, J., Chen, Z., Su, K., & Zeng, J. (2015). Clinicopathological classification and traditional prognostic indicators of breast cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, *8*(7), 8500-8505.

- Li, Y.-P. (2003). TNF-alpha is a mitogen in skeletal muscle. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 285(2), C370-376. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00453.2002>
- Liang, H., Xu, L., Tian, X., Wang, S., Liu, X., Dai, Y., Kang, L., Chen, L., Jin, L., Li, Q., & Chen, W. (2020). The comparative efficacy of supervised- versus home-based exercise programs in patients with ankylosing spondylitis : A meta-analysis. *Medicine*, 99(8), e19229. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000019229>
- Lindstedt, S. L., LaStayo, P. C., & Reich, T. E. (2001). When active muscles lengthen : Properties and consequences of eccentric contractions. *News in Physiological Sciences: An International Journal of Physiology Produced Jointly by the International Union of Physiological Sciences and the American Physiological Society*, 16, 256-261. <https://doi.org/10.1152/physiologyonline.2001.16.6.256>
- Liu, D., Qiao, X., Ge, Z., Shang, Y., Li, Y., Wang, W., Chen, M., Si, S., & Chen, S.-Z. (2019). IMB0901 inhibits muscle atrophy induced by cancer cachexia through MSTN signaling pathway. *Skeletal Muscle*, 9(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s13395-019-0193-2>
- Liu, G. Y., & Sabatini, D. M. (2020). MTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 21(4), 183-203. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0199-y>
- Liu, X., Joshi, S. K., Samagh, S. P., Dang, Y.-X., Laron, D., Lovett, D. H., Bodine, S. C., Kim, H. T., & Feeley, B. T. (2012). Evaluation of Akt/mTOR activity in muscle atrophy after rotator cuff tears in a rat model. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society*, 30(9), 1440-1446. <https://doi.org/10.1002/jor.22096>
- Lønbro, S., Farup, J., Bentsen, S., Voss, T., Rittig, N., Wang, J., Ørskov, M., Højris, I., & Mikkelsen, U. R. (2017). Lean body mass, muscle fibre size and muscle function in cancer patients during chemotherapy and 10 weeks exercise. *JCSM Clinical Reports*, 2(1). <https://doi.org/10.17987/jcsm-cr.v2i1.26>
- Loo, D. T. (2011). In situ detection of apoptosis by the TUNEL assay : An overview of techniques. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 682, 3-13. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-409-8_1
- Lopez, P., Galvão, D. A., Taaffe, D. R., Newton, R. U., Souza, G., Trajano, G. S., & Pinto, R. S. (2020). Resistance training in breast cancer patients undergoing primary treatment : A systematic review and meta-regression of exercise dosage. *Breast Cancer (Tokyo, Japan)*. <https://doi.org/10.1007/s12282-020-01147-3>
- Losón, O. C., Song, Z., Chen, H., & Chan, D. C. (2013). Fis1, Mff, MiD49, and MiD51 mediate Drp1 recruitment in mitochondrial fission. *Molecular Biology of the Cell*, 24(5), 659-667. <https://doi.org/10.1091/mbc.E12-10-0721>
- Loumaye, A., de Barys, M., Nachit, M., Lause, P., Frateur, L., van Maanen, A., Trefois, P., Gruson, D., & Thissen, J.-P. (2015). Role of Activin A and myostatin in human cancer cachexia. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 100(5), 2030-2038. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-4318>
- Loumaye, A., de Barys, M., Nachit, M., Lause, P., van Maanen, A., Trefois, P., Gruson, D., & Thissen, J.-P. (2017). Circulating Activin A predicts survival in cancer patients. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 8(5), 768-777. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12209>
- Lukjanenko, L., Karaz, S., Stuelsatz, P., Gurriaran-Rodriguez, U., Michaud, J., Dammoni, G., Sizzano, F., Mashinchian, O., Ancel, S., Migliavacca, E., Liot, S., Jacot, G., Metairon, S., Raymond, F., Descombes, P., Palini, A., Chazaud, B., Rudnicki, M. A., Bentzinger, C. F., & Feige, J. N. (2019). Aging Disrupts Muscle Stem Cell Function by Impairing Matricellular WISP1 Secretion from Fibro-Adipogenic Progenitors. *Cell Stem Cell*, 24(3), 433-446.e7. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.12.014>
- Luo, D., Edwards, S., Smeuninx, B., McKendry, J., Nishimura, Y., Perkins, M., Philp, A., Joannisse, S., & Breen, L. (2020). Immobilization Leads to Alterations in Intracellular Phosphagen and Creatine Transporter Content in Human Skeletal Muscle. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00072.2020>
- MacDonald, E. M., Andres-Mateos, E., Mejias, R., Simmers, J. L., Mi, R., Park, J.-S., Ying, S., Hoke, A., Lee, S.-J., & Cohn, R. D. (2014). Denervation atrophy is independent from Akt and mTOR activation and is not rescued

- by myostatin inhibition. *Disease Models & Mechanisms*, 7(4), 471-481. <https://doi.org/10.1242/dmm.014126>
- Madaro, L., Passafaro, M., Sala, D., Etxaniz, U., Lugarini, F., Proietti, D., Alfonsi, M. V., Nicoletti, C., Gatto, S., De Bardi, M., Rojas-García, R., Giordani, L., Marinelli, S., Pagliarini, V., Sette, C., Sacco, A., & Puri, P. L. (2018). Denervation-activated STAT3–IL-6 signalling in fibro-adipogenic progenitors promotes myofibres atrophy and fibrosis. *Nature Cell Biology*, 20(8), 917-927. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0151-y>
- Madzima, T. A., Ormsbee, M. J., Schleicher, E. A., Moffatt, R. J., & Panton, L. B. (2017). Effects of Resistance Training and Protein Supplementation in Breast Cancer Survivors. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 49(7), 1283-1292. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001250>
- Maginador, G., Lixandrão, M. E., Bortolozo, H. I., Vechin, F. C., Sarian, L. O., Derchain, S., Telles, G. D., Zopf, E., Ugrinowitsch, C., & Conceição, M. S. (2020). Aerobic Exercise-Induced Changes in Cardiorespiratory Fitness in Breast Cancer Patients Receiving Chemotherapy : A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cancers*, 12(8), E2240. <https://doi.org/10.3390/cancers12082240>
- Mahmassani, Z. S., Reidy, P. T., McKenzie, A. I., Stubben, C., Howard, M. T., & Drummond, M. J. (2019). Age-dependent skeletal muscle transcriptome response to bed rest-induced atrophy. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 126(4), 894-902. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00811.2018>
- Mallard, J., Hucteau, E., Charles, A.-L., Bender, L., Baeza, C., Pélissie, M., Trenz, P., Pflumio, C., Kalish-Weindling, M., Gény, B., Schott, R., Favret, F., Pivot, X., Hureau, T. J., & Pagano, A. F. (2022a). Chemotherapy impairs skeletal muscle mitochondrial homeostasis in early breast cancer patients. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12991>
- Mallard, J., Hucteau, E., Bender, L., Charlot, A., Debrut, L., Pflumio, C., Trenz, P., Schott, R., Favret, F., Pivot, X., Hureau, T. J., & Pagano, A. F. (2022b). Development of skeletal muscle atrophy and intermuscular adipose tissue in early breast cancer patients treated with chemotherapy. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00373.2022>
- Mallard, J., Hucteau, E., Hureau, T. J., & Pagano, A. F. (2021). Skeletal Muscle Deconditioning in Breast Cancer Patients Undergoing Chemotherapy : Current Knowledge and Insights From Other Cancers. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcell.2021.719643>
- Mallard, J., Hucteau, E., Schott, R., Petit, T., Demarchi, M., Belletier, C., Ben Abdelghani, M., Carinato, H., Chiappa, P., Fischbach, C., Kalish-Weindling, M., Bousinière, A., Dufour, S., Favret, F., Pivot, X., Hureau, T. J., & Pagano, A. F. (2020). Evolution of Physical Status From Diagnosis to the End of First-Line Treatment in Breast, Lung, and Colorectal Cancer Patients : The PROTECT-01 Cohort Study Protocol. *Frontiers in Oncology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01304>
- Mancini, D. M., Walter, G., Reichek, N., Lenkinski, R., McCully, K. K., Mullen, J. L., & Wilson, J. R. (1992). Contribution of skeletal muscle atrophy to exercise intolerance and altered muscle metabolism in heart failure. *Circulation*, 85(4), 1364-1373. <https://doi.org/10.1161/01.cir.85.4.1364>
- Manini, T. M., Clark, B. C., Nalls, M. A., Goodpaster, B. H., Ploutz-Snyder, L. L., & Harris, T. B. (2007). Reduced physical activity increases intermuscular adipose tissue in healthy young adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85(2), 377-384. <https://doi.org/10.1093/ajcn/85.2.377>
- Manning, B. D., & Cantley, L. C. (2003). Rheb fills a GAP between TSC and TOR. *Trends in Biochemical Sciences*, 28(11), 573-576. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2003.09.003>
- Mao, H., Bao, T., Shen, X., Li, Q., Seluzicki, C., Im, E.-O., & Mao, J. J. (2018). Prevalence and risk factors for fatigue among breast cancer survivors on aromatase inhibitors. *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)*, 101, 47-54. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.06.009>
- Marques, V. A., Ferreira-Junior, J. B., Lemos, T. V., Moraes, R. F., Junior, J. R. de S., Alves, R. R., Silva, M. S., Freitas-Junior, R. de, & Vieira, C. A. (2020). Effects of Chemotherapy Treatment on Muscle Strength, Quality of Life, Fatigue, and Anxiety in Women with Breast Cancer. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(19), 7289. <https://doi.org/10.3390/ijerph17197289>

- Martien, S., Delecluse, C., Boen, F., Seghers, J., Pelssers, J., Van Hoecke, A.-S., & Van Roie, E. (2015). Is knee extension strength a better predictor of functional performance than handgrip strength among older adults in three different settings? *Archives of Gerontology and Geriatrics*, *60*(2), 252-258. <https://doi.org/10.1016/j.archger.2014.11.010>
- Martin, A., Castells, J., Allibert, V., Emerit, A., Zolotoff, C., Cardot-Ruffino, V., Gallot, Y. S., Vernus, B., Chauvet, V., Bartholin, L., Schaeffer, L., Durieux, A.-C., Houdé, C., Favier, F. B., Mazelin, L., & Freyssenet, D. (2022). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation and glucocorticoid-responsive gene expression in skeletal muscle and liver of Apc mice. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12939>
- Martin, A., & Freyssenet, D. (2021). Phenotypic features of cancer cachexia-related loss of skeletal muscle mass and function : Lessons from human and animal studies. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, *12*(2), 252-273. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12678>
- Marusic, U., Narici, M., Simunic, B., Pisot, R., & Ritzmann, R. (2021). Nonuniform loss of muscle strength and atrophy during bed rest : A systematic review. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *131*(1), 194-206. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00363.2020>
- Marzetti, E., Calvani, R., Cesari, M., Buford, T. W., Lorenzi, M., Behnke, B. J., & Leeuwenburgh, C. (2013). Mitochondrial dysfunction and sarcopenia of aging : From signaling pathways to clinical trials. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, *45*(10), 2288-2301. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.06.024>
- Marzetti, E., Lees, H. A., Manini, T. M., Buford, T. W., Jr, J. M. A., Calvani, R., Capuani, G., Marsiske, M., Lott, D. J., Vandenborne, K., Bernabei, R., Pahor, M., Leeuwenburgh, C., & Wohlgemuth, S. E. (2012). Skeletal Muscle Apoptotic Signaling Predicts Thigh Muscle Volume and Gait Speed in Community-Dwelling Older Persons : An Exploratory Study. *PLOS ONE*, *7*(2), e32829. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032829>
- Marzetti, E., Lorenzi, M., Landi, F., Picca, A., Rosa, F., Tanganelli, F., Galli, M., Doglietto, G. B., Pacelli, F., Cesari, M., Bernabei, R., Calvani, R., & Bossola, M. (2017). Altered mitochondrial quality control signaling in muscle of old gastric cancer patients with cachexia. *Experimental Gerontology*, *87*(Pt A), 92-99. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2016.10.003>
- Masiero, E., Agatea, L., Mammucari, C., Blaauw, B., Loro, E., Komatsu, M., Metzger, D., Reggiani, C., Schiaffino, S., & Sandri, M. (2009). Autophagy is required to maintain muscle mass. *Cell Metabolism*, *10*(6), 507-515. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.10.008>
- Matsen, C. B., & Neumayer, L. A. (2013). Breast cancer : A review for the general surgeon. *JAMA Surgery*, *148*(10), 971-979. <https://doi.org/10.1001/jamasurg.2013.3393>
- Matsuyama, T., Ishikawa, T., Okayama, T., Oka, K., Adachi, S., Mizushima, K., Kimura, R., Okajima, M., Sakai, H., Sakamoto, N., Katada, K., Kamada, K., Uchiyama, K., Handa, O., Takagi, T., Kokura, S., Naito, Y., & Itoh, Y. (2015). Tumor inoculation site affects the development of cancer cachexia and muscle wasting. *International Journal of Cancer*, *137*(11), 2558-2565. <https://doi.org/10.1002/ijc.29620>
- Mauro, A. (1961). Satellite cell of skeletal muscle fibers. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, *9*, 493-495. <https://doi.org/10.1083/jcb.9.2.493>
- Mavropalias, G., Wu, Y.-F., Boppart, M. D., Blazevich, A. J., & Nosaka, K. (2022). Increases in Integrin-ILK-RICTOR-Akt Proteins, Muscle Mass, and Strength after Eccentric Cycling Training. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *54*(1), 89-97. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000002778>
- McCullagh, K. J. A., & Perlingeiro, R. C. R. (2015). Coaxing stem cells for skeletal muscle repair. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *84*, 198-207. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.07.007>
- McLean, J. B., Moylan, J. S., & Andrade, F. H. (2014). Mitochondria dysfunction in lung cancer-induced muscle wasting in C2C12 myotubes. *Frontiers in Physiology*, *5*, 503. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00503>
- McLoon, L. K., Falkenberg, J. H., Dykstra, D., & Iazzo, P. A. (1998). Doxorubicin chemomyectomy as a

treatment for cervical dystonia : Histological assessment after direct injection into the sternocleidomastoid muscle. *Muscle & Nerve*, 21(11), 1457-1464. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4598\(199811\)21:11<1457::aid-mus14>3.0.co;2-y](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4598(199811)21:11<1457::aid-mus14>3.0.co;2-y)

McTiernan, A., Friedenreich, C. M., Katzmarzyk, P. T., Powell, K. E., Macko, R., Buchner, D., Pescatello, L. S., Bloodgood, B., Tennant, B., Vaux-Bjerke, A., George, S. M., Troiano, R. P., Piercy, K. L., & 2018 PHYSICAL ACTIVITY GUIDELINES ADVISORY COMMITTEE*. (2019). Physical Activity in Cancer Prevention and Survival : A Systematic Review. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 51(6), 1252-1261. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001937>

McTiernan, A., Kooperberg, C., White, E., Wilcox, S., Coates, R., Adams-Campbell, L. L., Woods, N., Ockene, J., & Women's Health Initiative Cohort Study. (2003). Recreational physical activity and the risk of breast cancer in postmenopausal women : The Women's Health Initiative Cohort Study. *JAMA*, 290(10), 1331-1336. <https://doi.org/10.1001/jama.290.10.1331>

Mehl, K. A., Davis, J. M., Berger, F. G., & Carson, J. A. (2005). Myofiber degeneration/regeneration is induced in the cachectic ApcMin/+ mouse. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 99(6), 2379-2387. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00778.2005>

Memme, J. M., Slavin, M., Moradi, N., & Hood, D. A. (2021a). Mitochondrial Bioenergetics and Turnover during Chronic Muscle Disuse. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(10), 5179. <https://doi.org/10.3390/ijms22105179>

Memme, J. M., Erlich, A. T., Phukan, G., & Hood, D. A. (2021b). Exercise and mitochondrial health. *The Journal of Physiology*, 599(3), 803-817. <https://doi.org/10.1113/JP278853>

Menshikova, E. V., Ritov, V. B., Ferrell, R. E., Azuma, K., Goodpaster, B. H., & Kelley, D. E. (2007). Characteristics of skeletal muscle mitochondrial biogenesis induced by moderate-intensity exercise and weight loss in obesity. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 103(1), 21-27. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01228.2006>

Merton, P. A. (1954). Voluntary strength and fatigue. *The Journal of Physiology*, 123(3), 553. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1954.sp005070>

Meyer, W. L., Fischer, E. H., & Krebs, E. G. (1964). ACTIVATION OF SKELETAL MUSCLE PHOSPHORYLASE B KINASE BY CA. *Biochemistry*, 3, 1033-1039. <https://doi.org/10.1021/bi00896a004>

Mijwel, S., Cardinale, D. A., Norrbom, J., Chapman, M., Ivarsson, N., Wengström, Y., Sundberg, C. J., & Rundqvist, H. (2018a). Exercise training during chemotherapy preserves skeletal muscle fiber area, capillarization, and mitochondrial content in patients with breast cancer. *The FASEB Journal*, fj.201700968R. <https://doi.org/10.1096/fj.201700968R>

Mijwel, S., Backman, M., Bolam, K. A., Olofsson, E., Norrbom, J., Bergh, J., Sundberg, C. J., Wengström, Y., & Rundqvist, H. (2018b). Highly favorable physiological responses to concurrent resistance and high-intensity interval training during chemotherapy : The OptiTrain breast cancer trial. *Breast Cancer Research and Treatment*, 169(1), 93-103. <https://doi.org/10.1007/s10549-018-4663-8>

Mijwel, S., Backman, M., Bolam, K. A., Jervaeus, A., Sundberg, C. J., Margolin, S., Browall, M., Rundqvist, H., & Wengström, Y. (2018c). Adding high-intensity interval training to conventional training modalities : Optimizing health-related outcomes during chemotherapy for breast cancer: the OptiTrain randomized controlled trial. *Breast Cancer Research and Treatment*, 168(1), 79-93. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4571-3>

Milan, G., Romanello, V., Pescatore, F., Armani, A., Paik, J.-H., Frasson, L., Seydel, A., Zhao, J., Abraham, R., Goldberg, A. L., Blaauw, B., DePinho, R. A., & Sandri, M. (2015). Regulation of autophagy and the ubiquitin-proteasome system by the FoxO transcriptional network during muscle atrophy. *Nature Communications*, 6, 6670. <https://doi.org/10.1038/ncomms7670>

Min, K., Kwon, O.-S., Smuder, A. J., Wiggs, M. P., Sollanek, K. J., Christou, D. D., Yoo, J.-K., Hwang, M.-H., Szeto, H. H., Kavazis, A. N., & Powers, S. K. (2015). Increased mitochondrial emission of reactive oxygen species and

calpain activation are required for doxorubicin-induced cardiac and skeletal muscle myopathy. *The Journal of Physiology*, 593(8), 2017-2036. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.286518>

Mitchell, R. G., Duscha, B. D., Robbins, J. L., Redfern, S. I., Chung, J., Bensimhon, D. R., Kraus, W. E., Hiatt, W. R., Regensteiner, J. G., & Annex, B. H. (2007). Increased levels of apoptosis in gastrocnemius skeletal muscle in patients with peripheral arterial disease. *Vascular Medicine (London, England)*, 12(4), 285-290. <https://doi.org/10.1177/1358863X07084858>

Miyatani, M., Kawano, H., Masani, K., Gando, Y., Yamamoto, K., Tanimoto, M., Oh, T., Usui, C., Sanada, K., Higuchi, M., Tabata, I., & Miyachi, M. (2008). Required muscle mass for preventing lifestyle-related diseases in Japanese women. *BMC Public Health*, 8(1), 291. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-8-291>

Miyazaki, M., & Esser, K. A. (2009). Cellular mechanisms regulating protein synthesis and skeletal muscle hypertrophy in animals. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 106(4), 1367-1373. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.91355.2008>

Molina, T., Fabre, P., & Dumont, N. A. (2021). Fibro-adipogenic progenitors in skeletal muscle homeostasis, regeneration and diseases. *Open Biology*, 11(12), 210110. <https://doi.org/10.1098/rsob.210110>

Møller, A. B., Lønbro, S., Farup, J., Voss, T. S., Rittig, N., Wang, J., Højris, I., Mikkelsen, U. R., & Jessen, N. (2019). Molecular and cellular adaptations to exercise training in skeletal muscle from cancer patients treated with chemotherapy. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 145(6), 1449-1460. <https://doi.org/10.1007/s00432-019-02911-5>

Montalvo, R. N., Doerr, V., Min, K., Szeto, H. H., & Smuder, A. J. (2020). Doxorubicin-induced oxidative stress differentially regulates proteolytic signaling in cardiac and skeletal muscle. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 318(2), R227-R233. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00299.2019>

Montaño-Rojas, L. S., Romero-Pérez, E. M., Medina-Pérez, C., Reguera-García, M. M., & de Paz, J. A. (2020). Resistance Training in Breast Cancer Survivors : A Systematic Review of Exercise Programs. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(18). <https://doi.org/10.3390/ijerph17186511>

Moore-Carrasco, R., Busquets, S., Almendro, V., Palanki, M., López-Soriano, F. J., & Argilés, J. M. (2007). The AP-1/NF-kappaB double inhibitor SP100030 can revert muscle wasting during experimental cancer cachexia. *International Journal of Oncology*, 30(5), 1239-1245.

Moses, A. G. W., Maingay, J., Sangster, K., Fearon, K. C. H., & Ross, J. A. (2009). Pro-inflammatory cytokine release by peripheral blood mononuclear cells from patients with advanced pancreatic cancer : Relationship to acute phase response and survival. *Oncology Reports*, 21(4), 1091-1095. https://doi.org/10.3892/or_00000328

Mugele, H., Freitag, N., Wilhelmi, J., Yang, Y., Cheng, S., Bloch, W., & Schumann, M. (2019). High-intensity interval training in the therapy and aftercare of cancer patients : A systematic review with meta-analysis. *Journal of Cancer Survivorship: Research and Practice*. <https://doi.org/10.1007/s11764-019-00743-3>

Mulder, E. R., Kuebler, W. M., Gerrits, K. H. L., Rittweger, J., Felsenberg, D., Stegeman, D. F., & de Haan, A. (2007). Knee extensor fatigability after bedrest for 8 weeks with and without countermeasure. *Muscle & Nerve*, 36(6), 798-806. <https://doi.org/10.1002/mus.20870>

Muñoz-Cánoves, P., & Serrano, A. L. (2015). Macrophages decide between regeneration and fibrosis in muscle. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 26(9), 449-450. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2015.07.005>

Murach, K. A., Dungan, C. M., Kosmac, K., Voigt, T. B., Tourville, T. W., Miller, M. S., Bamman, M. M., Peterson, C. A., & Toth, M. J. (2019). Fiber typing human skeletal muscle with fluorescent immunohistochemistry. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 127(6), 1632-1639. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00624.2019>

Murphy, J. C., McDaniel, J. L., Mora, K., Villareal, D. T., Fontana, L., & Weiss, E. P. (2011). Preferential

reductions in intermuscular and visceral adipose tissue with exercise-induced weight loss compared with calorie restriction. *Journal of Applied Physiology*, 112(1), 79-85. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00355.2011>

Murton, A. J., Constantin, D., & Greenhaff, P. L. (2008). The involvement of the ubiquitin proteasome system in human skeletal muscle remodelling and atrophy. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1782(12), 730-743. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2008.10.011>

Murton, A. J., Maddocks, M., Stephens, F. B., Marimuthu, K., England, R., & Wilcock, A. (2017). Consequences of Late-Stage Non-Small-Cell Lung Cancer Cachexia on Muscle Metabolic Processes. *Clinical Lung Cancer*, 18(1), e1-e11. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2016.06.003>

Mustian, K. M., Alfano, C. M., Heckler, C., Kleckner, A. S., Kleckner, I. R., Leach, C. R., Mohr, D., Palesh, O. G., Peppone, L. J., Piper, B. F., Scarpato, J., Smith, T., Sprod, L. K., & Miller, S. M. (2017). Comparison of Pharmaceutical, Psychological, and Exercise Treatments for Cancer-Related Fatigue : A Meta-analysis. *JAMA Oncology*, 3(7), 961-968. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.6914>

Naito, Y., Kai, Y., Ishikawa, T., Fujita, T., Uehara, K., Doihara, H., Tokunaga, S., Shimokawa, M., Ito, Y., & Saeki, T. (2020). Chemotherapy-induced nausea and vomiting in patients with breast cancer : A prospective cohort study. *Breast Cancer (Tokyo, Japan)*, 27(1), 122-128. <https://doi.org/10.1007/s12282-019-01001-1>

Nakamura, Y., Yokoya, S., Harada, Y., Shiraishi, K., Adachi, N., & Ochi, M. (2017). The prospective evaluation of changes in fatty infiltration and shoulder strength in nonsurgically treated rotator cuff tears. *Journal of Orthopaedic Science*, 22(4), 676-681. <https://doi.org/10.1016/j.jos.2017.02.008>

Nakatogawa, H. (2020). Mechanisms governing autophagosome biogenesis. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 21(8), 439-458. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0241-0>

Narici, M., McPhee, J., Conte, M., Franchi, M. V., Mitchell, K., Tagliaferri, S., Monti, E., Marcolin, G., Atherton, P. J., Smith, K., Phillips, B., Lund, J., Franceschi, C., Maggio, M., & Butler-Browne, G. S. (2021). Age-related alterations in muscle architecture are a signature of sarcopenia : The ultrasound sarcopenia index. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 12(4), 973-982. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12720>

Narici, M. V., & Maganaris, C. N. (2007). Plasticity of the muscle-tendon complex with disuse and aging. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 35(3), 126-134. <https://doi.org/10.1097/jes.0b013e3180a030ec>

Nascimbeni, A. C., Fanin, M., Masiero, E., Angelini, C., & Sandri, M. (2012). Impaired autophagy contributes to muscle atrophy in glycogen storage disease type II patients. *Autophagy*, 8(11), 1697-1700. <https://doi.org/10.4161/auto.21691>

Navasiolava, N. M., Custaud, M.-A., Tomilovskaya, E. S., Larina, I. M., Mano, T., Gauquelin-Koch, G., Gharib, C., & Kozlovskaya, I. B. (2011). Long-term dry immersion : Review and prospects. *European Journal of Applied Physiology*, 111(7), 1235-1260. <https://doi.org/10.1007/s00421-010-1750-x>

Neil, S. E., Klika, R. J., Garland, S. J., McKenzie, D. C., & Campbell, K. L. (2013). Cardiorespiratory and neuromuscular deconditioning in fatigued and non-fatigued breast cancer survivors. *Supportive Care in Cancer: Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, 21(3), 873-881. <https://doi.org/10.1007/s00520-012-1600-y>

Neil-Sztramko, S. E., Winters-Stone, K. M., Bland, K. A., & Campbell, K. L. (2019). Updated systematic review of exercise studies in breast cancer survivors : Attention to the principles of exercise training. *British Journal of Sports Medicine*, 53(8), 504-512. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2017-098389>

Nemazanyy, I., Blaauw, B., Paolini, C., Caillaud, C., Protasi, F., Mueller, A., Proikas-Cezanne, T., Russell, R. C., Guan, K.-L., Nishino, I., Sandri, M., Pende, M., & Panasyuk, G. (2013). Defects of Vps15 in skeletal muscles lead to autophagic vacuolar myopathy and lysosomal disease. *EMBO Molecular Medicine*, 5(6), 870-890. <https://doi.org/10.1002/emmm.201202057>

Neyroud, D., Nosacka, R. L., Judge, A. R., & Hepple, R. T. (2019). Colon 26 adenocarcinoma (C26)-induced cancer cachexia impairs skeletal muscle mitochondrial function and content. *Journal of Muscle Research and*

Cell Motility, 40(1), 59-65. <https://doi.org/10.1007/s10974-019-09510-4>

Neyroud, D., Vallotton, A., Millet, G. Y., Kayser, B., & Place, N. (2014). The effect of muscle fatigue on stimulus intensity requirements for central and peripheral fatigue quantification. *European Journal of Applied Physiology*, 114(1), 205-215. <https://doi.org/10.1007/s00421-013-2760-2>

Nicolazzi, M. A., Carnicelli, A., Fuorlo, M., Scaldaferrri, A., Masetti, R., Landolfi, R., & Favuzzi, A. M. R. (2018). Anthracycline and trastuzumab-induced cardiotoxicity in breast cancer. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 22(7), 2175-2185. https://doi.org/10.26355/eurrev_201804_14752

Nipp, R. D., Fuchs, G., El-Jawahri, A., Mario, J., Troschel, F. M., Greer, J. A., Gallagher, E. R., Jackson, V. A., Kambadakone, A., Hong, T. S., Temel, J. S., & Fintelmann, F. J. (2018). Sarcopenia Is Associated with Quality of Life and Depression in Patients with Advanced Cancer. *The Oncologist*, 23(1), 97-104. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2017-0255>

Nissinen, T. A., Degerman, J., Räsänen, M., Poikonen, A. R., Koskinen, S., Mervaala, E., Pasternack, A., Ritvos, O., Kivelä, R., & Hulmi, J. J. (2016). Systemic blockade of ACVR2B ligands prevents chemotherapy-induced muscle wasting by restoring muscle protein synthesis without affecting oxidative capacity or atrogenes. *Scientific Reports*, 6, 32695. <https://doi.org/10.1038/srep32695>

Nissinen, T. A., Hentilä, J., Penna, F., Lampinen, A., Lautaoja, J. H., Fachada, V., Holopainen, T., Ritvos, O., Kivelä, R., & Hulmi, J. J. (2018). Treating cachexia using soluble ACVR2B improves survival, alters mTOR localization, and attenuates liver and spleen responses. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 9(3), 514-529. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12310>

Norman, K., Stobäus, N., Smoliner, C., Zocher, D., Scheufele, R., Valentini, L., Lochs, H., & Pirlich, M. (2010). Determinants of hand grip strength, knee extension strength and functional status in cancer patients. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 29(5), 586-591. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2010.02.007>

Nunnari, J., & Suomalainen, A. (2012). Mitochondria : In sickness and in health. *Cell*, 148(6), 1145-1159. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.035>

Obeng-Gyasi, S., Ong, C., & Hwang, E. S. (2016). Contemporary management of ductal carcinoma in situ and lobular carcinoma in situ. *Chinese Clinical Oncology*, 5(3), 32. <https://doi.org/10.21037/cco.2016.04.02>

Oberholzer, L., Mølmen, K. S., Hammarström, D., Falch, G. S., Meinild Lundby, A.-K., Rønnestad, B. R., Ellefsen, S., & Lundby, C. (s. d.). Resistance exercise training increases skeletal muscle mitochondrial respiration in chronic obstructive pulmonary disease. *JCSM Rapid Communications*, n/a(n/a). <https://doi.org/10.1002/rco2.58>

Olsson Möller, U., Beck, I., Rydén, L., & Malmström, M. (2019). A comprehensive approach to rehabilitation interventions following breast cancer treatment—A systematic review of systematic reviews. *BMC Cancer*, 19(1), 472. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5648-7>

Op den Kamp, C. M., Gosker, H. R., Lagarde, S., Tan, D. Y., Snepvangers, F. J., Dingemans, A.-M. C., Langen, R. C., & Schols, A. M. (2015). Preserved muscle oxidative metabolic phenotype in newly diagnosed non-small cell lung cancer cachexia. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 6(2), 164-173. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12007>

Op den Kamp, C. M., Langen, R. C., Minnaard, R., Kelders, M. C., Snepvangers, F. J., Hesselink, M. K., Dingemans, A. C., & Schols, A. M. (2012). Pre-cachexia in patients with stages I–III non-small cell lung cancer : Systemic inflammation and functional impairment without activation of skeletal muscle ubiquitin proteasome system. *Lung Cancer*, 76(1), 112-117. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2011.09.012>

Op den Kamp, C. M., Langen, R. C., Snepvangers, F. J., de Theije, C. C., Schellekens, J. M., Laugs, F., Dingemans, A.-M. C., & Schols, A. M. (2013). Nuclear transcription factor κ B activation and protein turnover adaptations in skeletal muscle of patients with progressive stages of lung cancer cachexia. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 98(3), 738-748. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.058388>

Ormel, H. L., van der Schoot, G., Sluiter, W. J., Jalving, M., Gietema, J. A., & Walenkamp, A. (2017). Predictors

of adherence to exercise interventions during and after cancer treatment : A systematic review. *Psycho-Oncology*. <https://doi.org/10.1002/pon.4612>

Otis, J. S., Niccoli, S., Hawdon, N., Sarvas, J. L., Frye, M. A., Chicco, A. J., & Lees, S. J. (2014). Pro-inflammatory mediation of myoblast proliferation. *PLoS One*, *9*(3), e92363. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092363>

Padrão, A. I., Oliveira, P., Vitorino, R., Colaço, B., Pires, M. J., Márquez, M., Castellanos, E., Neuparth, M. J., Teixeira, C., Costa, C., Moreira-Gonçalves, D., Cabral, S., Duarte, J. A., Santos, L. L., Amado, F., & Ferreira, R. (2013). Bladder cancer-induced skeletal muscle wasting : Disclosing the role of mitochondria plasticity. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, *45*(7), 1399-1409. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.04.014>

Pagano, A. F., Arc-Chagnaud, C., Brioché, T., Chopard, A., & Py, G. (2019). Muscle Resting and TGF- β Inhibitor Treatment Prevent Fatty Infiltration Following Skeletal Muscle Injury. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, *53*(1), 62-75. <https://doi.org/10.33594/00000121>

Pagano, A. F., Brioché, T., Arc-Chagnaud, C., Demangel, R., Chopard, A., & Py, G. (2018). Short-term disuse promotes fatty acid infiltration into skeletal muscle. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, *9*(2), 335-347. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12259>

Pagano, A. F., Demangel, R., Brioché, T., Jublanc, E., Bertrand-Gaday, C., Candau, R., Dechesne, C. A., Dani, C., Bonnieu, A., Py, G., & Chopard, A. (2015). Muscle Regeneration with Intermuscular Adipose Tissue (IMAT) Accumulation Is Modulated by Mechanical Constraints. *PLOS ONE*, *10*(12), e0144230. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144230>

Pandya, S., & Moore, R. G. (2011). Breast development and anatomy. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, *54*(1), 91-95. <https://doi.org/10.1097/GRF.0b013e318207ffe9>

Park, B.-K., Hong, S.-H., & Jeong, W.-K. (2020). Effectiveness of Ultrasound in Evaluation of Fatty Infiltration in Rotator Cuff Muscles. *Clinics in Orthopedic Surgery*, *12*(1), 76-85. <https://doi.org/10.4055/cios.2020.12.1.76>

Parker, E., Khayrullin, A., Kent, A., Mendhe, B., Youssef El Baradie, K. B., Yu, K., Pihkala, J., Liu, Y., McGee-Lawrence, M., Johnson, M., Chen, J., & Hamrick, M. (2022). Hindlimb Immobilization Increases IL-1 β and Cdkn2a Expression in Skeletal Muscle Fibro-Adipogenic Progenitor Cells : A Link Between Senescence and Muscle Disuse Atrophy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *9*. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fcell.2021.790437>

Parkin, D. M. (2011). 1. The fraction of cancer attributable to lifestyle and environmental factors in the UK in 2010. *British Journal of Cancer*, *105 Suppl 2*, S2-5. <https://doi.org/10.1038/bjc.2011.474>

Parry, S. M., El-Ansary, D., Cartwright, M. S., Sarwal, A., Berney, S., Koopman, R., Annoni, R., Puthuchery, Z., Gordon, I. R., Morris, P. E., & Denehy, L. (2015). Ultrasonography in the intensive care setting can be used to detect changes in the quality and quantity of muscle and is related to muscle strength and function. *Journal of Critical Care*, *30*(5), 1151.e9-14. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2015.05.024>

Parzych, K. R., & Klionsky, D. J. (2014). An overview of autophagy : Morphology, mechanism, and regulation. *Antioxidants & Redox Signaling*, *20*(3), 460-473. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5371>

Pauly, M., Chabi, B., Favier, F. B., Vanterpool, F., Matecki, S., Fouret, G., Bonafos, B., Vernus, B., Feillet-Coudray, C., Coudray, C., Bonnieu, A., & Ramonatxo, C. (2015). Combined Strategies for Maintaining Skeletal Muscle Mass and Function in Aging : Myostatin Inactivation and AICAR-Associated Oxidative Metabolism Induction. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, *70*(9), 1077-1087. <https://doi.org/10.1093/gerona/glu147>

Peel, A. B., Thomas, S. M., Dittus, K., Jones, L. W., & Lakoski, S. G. (2014). Cardiorespiratory fitness in breast cancer patients : A call for normative values. *Journal of the American Heart Association*, *3*(1), e000432. <https://doi.org/10.1161/JAHA.113.000432>

- Peng, J., Ren, K.-D., Yang, J., & Luo, X.-J. (2016). Mitochondrial E3 ubiquitin ligase 1 : A key enzyme in regulation of mitochondrial dynamics and functions. *Mitochondrion*, 28, 49-53. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2016.03.007>
- Penna, F., Baccino, F. M., & Costelli, P. (2014). Coming back : Autophagy in cachexia. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 17(3), 241-246. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000048>
- Penna, F., Ballarò, R., Beltrà, M., De Lucia, S., García Castillo, L., & Costelli, P. (2019). The Skeletal Muscle as an Active Player Against Cancer Cachexia. *Frontiers in Physiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00041>
- Penna, F., Ballarò, R., Martinez-Cristobal, P., Sala, D., Sebastian, D., Busquets, S., Muscaritoli, M., Argilés, J. M., Costelli, P., & Zorzano, A. (2019). Autophagy Exacerbates Muscle Wasting in Cancer Cachexia and Impairs Mitochondrial Function. *Journal of Molecular Biology*, 431(15), 2674-2686. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.05.032>
- Penna, F., Costamagna, D., Fanzani, A., Bonelli, G., Baccino, F. M., & Costelli, P. (2010). Muscle wasting and impaired myogenesis in tumor bearing mice are prevented by ERK inhibition. *PloS One*, 5(10), e13604. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013604>
- Penna, F., Costamagna, D., Pin, F., Camperi, A., Fanzani, A., Chiarpotto, E. M., Cavallini, G., Bonelli, G., Baccino, F. M., & Costelli, P. (2013). Autophagic degradation contributes to muscle wasting in cancer cachexia. *The American Journal of Pathology*, 182(4), 1367-1378. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2012.12.023>
- Perandini, L. A., Chimin, P., Lutkemeyer, D. da S., & Câmara, N. O. S. (2018). Chronic inflammation in skeletal muscle impairs satellite cells function during regeneration : Can physical exercise restore the satellite cell niche? *The FEBS Journal*. <https://doi.org/10.1111/febs.14417>
- Perdiguero, E., Sousa-Victor, P., Ruiz-Bonilla, V., Jardí, M., Caelles, C., Serrano, A. L., & Muñoz-Cánoves, P. (2011). P38/MKP-1-regulated AKT coordinates macrophage transitions and resolution of inflammation during tissue repair. *The Journal of Cell Biology*, 195(2), 307-322. <https://doi.org/10.1083/jcb.201104053>
- Pernas, L., & Scorrano, L. (2016). Mito-Morphosis : Mitochondrial Fusion, Fission, and Cristae Remodeling as Key Mediators of Cellular Function. *Annual Review of Physiology*, 78, 505-531. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021115-105011>
- Peters, S. J., van Helvoort, A., Kegler, D., Argilès, J. M., Luiking, Y. C., Laviano, A., van Bergenhenegouwen, J., Deutz, N. E. P., Haagsman, H. P., Gorselink, M., & van Norren, K. (2011). Dose-dependent effects of leucine supplementation on preservation of muscle mass in cancer cachectic mice. *Oncology Reports*, 26(1), 247-254. <https://doi.org/10.3892/or.2011.1269>
- Petruzzelli, M., & Wagner, E. F. (2016). Mechanisms of metabolic dysfunction in cancer-associated cachexia. *Genes & Development*, 30(5), 489-501. <https://doi.org/10.1101/gad.276733.115>
- Pham, T., MacRae, C. L., Broome, S. C., D'souza, R. F., Narang, R., Wang, H. W., Mori, T. A., Hickey, A. J. R., Mitchell, C. J., & Merry, T. L. (2020). MitoQ and CoQ10 supplementation mildly suppresses skeletal muscle mitochondrial hydrogen peroxide levels without impacting mitochondrial function in middle-aged men. *European Journal of Applied Physiology*, 120(7), 1657-1669. <https://doi.org/10.1007/s00421-020-04396-4>
- Phillips, S. M., Lloyd, G. R., Awick, E. A., & McAuley, E. (2016). Correlates of objectively measured sedentary behavior in breast cancer survivors. *Cancer Causes & Control: CCC*, 27(6), 787-795. <https://doi.org/10.1007/s10552-016-0756-z>
- Picca, A., Lezza, A. M. S., Leeuwenburgh, C., Pesce, V., Calvani, R., Landi, F., Bernabei, R., & Marzetti, E. (2017). Fueling Inflamm-Aging through Mitochondrial Dysfunction : Mechanisms and Molecular Targets. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(5), E933. <https://doi.org/10.3390/ijms18050933>
- Pierre, N., Appriou, Z., Gratas-Delamarche, A., & Derbré, F. (2016). From physical inactivity to immobilization : Dissecting the role of oxidative stress in skeletal muscle insulin resistance and atrophy. *Free Radical Biology & Medicine*, 98, 197-207. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.12.028>

- Pigna, E., Berardi, E., Aulino, P., Rizzuto, E., Zampieri, S., Carraro, U., Kern, H., Merigliano, S., Gruppo, M., Mericskay, M., Li, Z., Rocchi, M., Barone, R., Macaluso, F., Di Felice, V., Adamo, S., Coletti, D., & Moresi, V. (2016). Aerobic Exercise and Pharmacological Treatments Counteract Cachexia by Modulating Autophagy in Colon Cancer. *Scientific Reports*, *6*, 26991. <https://doi.org/10.1038/srep26991>
- Pin, F., Barreto, R., Kitase, Y., Mitra, S., Erne, C. E., Novinger, L. J., Zimmers, T. A., Couch, M. E., Bonewald, L. F., & Bonetto, A. (2018). Growth of ovarian cancer xenografts causes loss of muscle and bone mass : A new model for the study of cancer cachexia. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, *9*(4), 685-700. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12311>
- Pizzimenti, M., Meyer, A., Charles, A.-L., Giannini, M., Chakfé, N., Lejay, A., & Geny, B. (2020). Sarcopenia and peripheral arterial disease : A systematic review. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, *11*(4), 866-886. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12587>
- Plant, P. J., Brooks, D., Faughnan, M., Bayley, T., Bain, J., Singer, L., Correa, J., Pearce, D., Binnie, M., & Batt, J. (2010). Cellular markers of muscle atrophy in chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, *42*(4), 461-471. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2008-0382OC>
- Ploquin, C., Chabi, B., Fouret, G., Vernus, B., Feillet-Coudray, C., Coudray, C., Bonnieu, A., & Ramonatxo, C. (2012). Lack of myostatin alters intermyofibrillar mitochondria activity, unbalances redox status, and impairs tolerance to chronic repetitive contractions in muscle. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, *302*(8), E1000-1008. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00652.2011>
- Ploumi, C., Daskalaki, I., & Tavernarakis, N. (2017). Mitochondrial biogenesis and clearance : A balancing act. *The FEBS Journal*, *284*(2), 183-195. <https://doi.org/10.1111/febs.13820>
- Ploutz-Snyder, L. L., Downs, M., Ryder, J., Hackney, K., Scott, J., Buxton, R., Goetchius, E., & Crowell, B. (2014). Integrated resistance and aerobic exercise protects fitness during bed rest. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *46*(2), 358-368. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3182a62f85>
- Poirier, A. E., Ruan, Y., Volesky, K. D., King, W. D., O'Sullivan, D. E., Gogna, P., Walter, S. D., Villeneuve, P. J., Friedenreich, C. M., Brenner, D. R., & ComPARE Study Team. (2019). The current and future burden of cancer attributable to modifiable risk factors in Canada : Summary of results. *Preventive Medicine*, *122*, 140-147. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2019.04.007>
- Pondé, N. F., Zardavas, D., & Piccart, M. (2019). Progress in adjuvant systemic therapy for breast cancer. *Nature Reviews. Clinical Oncology*, *16*(1), 27-44. <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0089-9>
- Popov, L.-D. (2020). Mitochondrial biogenesis : An update. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *24*(9), 4892-4899. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15194>
- Powers, S. K., Ji, L. L., Kavazis, A. N., & Jackson, M. J. (2011). Reactive oxygen species : Impact on skeletal muscle. *Comprehensive Physiology*, *1*(2), 941-969. <https://doi.org/10.1002/cphy.c100054>
- Powers, S. K., Lynch, G. S., Murphy, K. T., Reid, M. B., & Zijdewind, I. (2016). Disease-Induced Skeletal Muscle Atrophy and Fatigue. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *48*(11), 2307-2319. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000000975>
- Powers, S. K., Ozdemir, M., & Hyatt, H. (2020). Redox Control of Proteolysis During Inactivity-Induced Skeletal Muscle Atrophy. *Antioxidants & Redox Signaling*, *33*(8), 559-569. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.8000>
- Powers, S. K., Smuder, A. J., & Judge, A. R. (2012). Oxidative stress and disuse muscle atrophy : Cause or consequence? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, *15*(3), 240-245. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e328352b4c2>
- Proske, U., & Morgan, D. L. (2001). Muscle damage from eccentric exercise : Mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *The Journal of Physiology*, *537*(Pt 2), 333-345. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.00333.x>
- Puig-Vilanova, E., Rodriguez, D. A., Lloreta, J., Ausin, P., Pascual-Guardia, S., Broquetas, J., Roca, J., Gea, J., &

- Barreiro, E. (2015). Oxidative stress, redox signaling pathways, and autophagy in cachectic muscles of male patients with advanced COPD and lung cancer. *Free Radical Biology & Medicine*, 79, 91-108. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.11.006>
- Puppa, M. J., Gao, S., Narsale, A. A., & Carson, J. A. (2014). Skeletal muscle glycoprotein 130's role in Lewis lung carcinoma-induced cachexia. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 28(2), 998-1009. <https://doi.org/10.1096/fj.13-240580>
- Purintrapiban, J., Wang, M., & Forsberg, N. E. (2003). Degradation of sarcomeric and cytoskeletal proteins in cultured skeletal muscle cells. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 136(3), 393-401. [https://doi.org/10.1016/s1096-4959\(03\)00201-x](https://doi.org/10.1016/s1096-4959(03)00201-x)
- Qualls, A. E., Southern, W. M., & Call, J. A. (2021). Mitochondria-cytokine crosstalk following skeletal muscle injury and disuse : A mini-review. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 320(5), C681-C688. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00462.2020>
- Quan-Jun, Y., Yan, H., Yong-Long, H., Li-Li, W., Jie, L., Jin-Lu, H., Jin, L., Peng-Guo, C., Run, G., & Cheng, G. (2017). Selumetinib Attenuates Skeletal Muscle Wasting in Murine Cachexia Model through ERK Inhibition and AKT Activation. *Molecular Cancer Therapeutics*, 16(2), 334-343. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-16-0324>
- Raben, N., Hill, V., Shea, L., Takikita, S., Baum, R., Mizushima, N., Ralston, E., & Plotz, P. (2008). Suppression of autophagy in skeletal muscle uncovers the accumulation of ubiquitinated proteins and their potential role in muscle damage in Pompe disease. *Human Molecular Genetics*, 17(24), 3897-3908. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn292>
- Rakha, E. A., Reis-Filho, J. S., Baehner, F., Dabbs, D. J., Decker, T., Eusebi, V., Fox, S. B., Ichihara, S., Jacquemier, J., Lakhani, S. R., Palacios, J., Richardson, A. L., Schnitt, S. J., Schmitt, F. C., Tan, P.-H., Tse, G. M., Badve, S., & Ellis, I. O. (2010). Breast cancer prognostic classification in the molecular era : The role of histological grade. *Breast Cancer Research: BCR*, 12(4), 207. <https://doi.org/10.1186/bcr2607>
- Ramos da Silva, B., Mialich, M. S., Cruz, L. P., Rufato, S., Gozzo, T., & Jordao, A. A. (2021). Performance of functionality measures and phase angle in women exposed to chemotherapy for early breast cancer. *Clinical Nutrition ESPEN*, 42, 105-116. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2021.02.007>
- Ranjbar, K., Ballarò, R., Bover, Q., Pin, F., Beltrà, M., Penna, F., & Costelli, P. (2019). Combined Exercise Training Positively Affects Muscle Wasting in Tumor-bearing Mice. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001916>
- Ravi, R., Haider, G., Ahmed, K., Sami, A., Zahoor, S., & Lata, R. (2020). Amenorrhea After Chemotherapy In Breast Cancer Patient. *Journal of Ayub Medical College, Abbottabad: JAMC*, 32(1), 73-77.
- Ray, P. D., Huang, B.-W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling*, 24(5), 981-990. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2012.01.008>
- Reding, K. W., Brubaker, P., D'Agostino, R., Kitzman, D. W., Nicklas, B., Langford, D., Grodesky, M., & Hundley, W. G. (2019). Increased skeletal intermuscular fat is associated with reduced exercise capacity in cancer survivors : A cross-sectional study. *Cardio-Oncology*, 5(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s40959-019-0038-5>
- Reggio, A., Rosina, M., Palma, A., Cerquone Perpetuini, A., Petrilli, L. L., Gargioli, C., Fuoco, C., Micarelli, E., Giuliani, G., Cerretani, M., Bresciani, A., Sacco, F., Castagnoli, L., & Cesareni, G. (2020). Adipogenesis of skeletal muscle fibro/adipogenic progenitors is affected by the WNT5a/GSK3/β-catenin axis. *Cell Death and Differentiation*, 27(10), 2921-2941. <https://doi.org/10.1038/s41418-020-0551-y>
- Relizani, K., Mouisel, E., Giannesini, B., Hourdé, C., Patel, K., Morales Gonzalez, S., Jülich, K., Vignaud, A., Piétri-Rouxel, F., Fortin, D., Garcia, L., Blot, S., Ritvos, O., Bendahan, D., Ferry, A., Ventura-Clapier, R., Schuelke, M., & Amthor, H. (2014). Blockade of ActRIIB signaling triggers muscle fatigability and metabolic myopathy. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 22(8), 1423-1433. <https://doi.org/10.1038/mt.2014.90>

- Reya, T., Morrison, S. J., Clarke, M. F., & Weissman, I. L. (2001). Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, *414*(6859), 105-111. <https://doi.org/10.1038/35102167>
- Rhoads, M. G., Kandarian, S. C., Pacelli, F., Doglietto, G. B., & Bossola, M. (2010). Expression of NF-kappaB and IkappaB proteins in skeletal muscle of gastric cancer patients. *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)*, *46*(1), 191-197. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2009.10.008>
- Riccardi, D. M. dos R., das Neves, R. X., de Matos-Neto, E. M., Camargo, R. G., Lima, J. D. C. C., Radloff, K., Alves, M. J., Costa, R. G. F., Tokeshi, F., Otoch, J. P., Maximiano, L. F., de Alcantara, P. S. M., Colquhoun, A., Laviano, A., & Seelaender, M. (2020). Plasma Lipid Profile and Systemic Inflammation in Patients With Cancer Cachexia. *Frontiers in Nutrition*, *7*. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00004>
- Richards, R., Keating, E., & Boucher, J. E. (2019). Targeted Therapies : Treatment Options for Patients With Metastatic Breast Cancer. *Clinical Journal of Oncology Nursing*, *23*(4), 434-438. <https://doi.org/10.1188/19.CJON.434-438>
- Ried-Larsen, M., Aarts, H. M., & Joyner, M. J. (2017). Effects of strict prolonged bed rest on cardiorespiratory fitness : Systematic review and meta-analysis. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *123*(4), 790-799. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00415.2017>
- Rier, H. N., Jager, A., Sleijfer, S., Maier, A. B., & Levin, M.-D. (2016). The Prevalence and Prognostic Value of Low Muscle Mass in Cancer Patients : A Review of the Literature. *The Oncologist*, *21*(11), 1396-1409. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2016-0066>
- Rier, H. N., Jager, A., Sleijfer, S., van Rosmalen, J., Kock, M. C. J. M., & Levin, M.-D. (2017). Low muscle attenuation is a prognostic factor for survival in metastatic breast cancer patients treated with first line palliative chemotherapy. *The Breast*, *31*, 9-15. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2016.10.014>
- Rier, H. N., Jager, A., Sleijfer, S., van Rosmalen, J., Kock, M. C. J. M., & Levin, M.-D. (2018). Changes in body composition and muscle attenuation during taxane-based chemotherapy in patients with metastatic breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, *168*(1), 95-105. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4574-0>
- Rius-Pérez, S., Torres-Cuevas, I., Millán, I., Ortega, Á. L., & Pérez, S. (2020). PGC-1 α , Inflammation, and Oxidative Stress : An Integrative View in Metabolism. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2020*, 1452696. <https://doi.org/10.1155/2020/1452696>
- Roberts, D. R., Ramsey, D., Johnson, K., Kola, J., Ricci, R., Hicks, C., Borckardt, J. J., Bloomberg, J. J., Epstein, C., & George, M. S. (2010). Cerebral cortex plasticity after 90 days of bed rest : Data from TMS and fMRI. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, *81*(1), 30-40. <https://doi.org/10.3357/asem.2532.2009>
- Robinson, M. M., Dasari, S., Konopka, A. R., Johnson, M. L., Manjunatha, S., Esponda, R. R., Carter, R. E., Lanza, I. R., & Nair, K. S. (2017). Enhanced Protein Translation Underlies Improved Metabolic and Physical Adaptations to Different Exercise Training Modes in Young and Old Humans. *Cell Metabolism*, *25*(3), 581-592. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.02.009>
- Rochette, L., Guenancia, C., Gudjoncik, A., Hachet, O., Zeller, M., Cottin, Y., & Vergely, C. (2015). Anthracyclines/trastuzumab : New aspects of cardiotoxicity and molecular mechanisms. *Trends in Pharmacological Sciences*, *36*(6), 326-348. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.03.005>
- Rodriguez, J., Vernus, B., Chelh, I., Cassar-Malek, I., Gabillard, J. C., Hadj Sassi, A., Seiliez, I., Picard, B., & Bonnieu, A. (2014). Myostatin and the skeletal muscle atrophy and hypertrophy signaling pathways. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, *71*(22), 4361-4371. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1689-x>
- Rodríguez Martín, B., Fernández Rodríguez, E. J., Rihuete Galve, M. I., & Cruz Hernández, J. J. (2020). Study of Chemotherapy-Induced Cognitive Impairment in Women with Breast Cancer. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(23), E8896. <https://doi.org/10.3390/ijerph17238896>
- Roeland, E. J., Ma, J. D., Nelson, S. H., Seibert, T., Heavey, S., Revta, C., Gallivan, A., & Baracos, V. E. (2017). Weight loss versus muscle loss : Re-evaluating inclusion criteria for future cancer cachexia interventional trials. *Supportive Care in Cancer*, *25*(2), 365-369. <https://doi.org/10.1007/s00520-016-3402-0>

- Rojas, K., & Stuckey, A. (2016). Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 59(4), 651-672. <https://doi.org/10.1097/GRF.0000000000000239>
- Rooney, K. J., Herbert, R. D., & Balnave, R. J. (1994). Fatigue contributes to the strength training stimulus. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 26(9), 1160-1164.
- Rosa-Caldwell, M. E., Brown, J. L., Perry, R. A., Shimkus, K. L., Shirazi-Fard, Y., Brown, L. A., Hogan, H. A., Fluckey, J. D., Washington, T. A., Wiggs, M. P., & Greene, N. P. (2020). Regulation of mitochondrial quality following repeated bouts of hindlimb unloading. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition Et Metabolisme*, 45(3), 264-274. <https://doi.org/10.1139/apnm-2019-0218>
- Ross, L. M., Porter, R. R., & Durstine, J. L. (2016). High-intensity interval training (HIIT) for patients with chronic diseases. *Journal of Sport and Health Science*, 5(2), 139-144. <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2016.04.005>
- Rossi, F., Torri, L., Lambertini, M., De Giorgis, S., Calabrese, M., & Tagliafico, A. S. (2020). Muscle mass loss after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer : Estimation on breast magnetic resonance imaging using pectoralis muscle area. *European Radiology*. <https://doi.org/10.1007/s00330-020-06799-5>
- Rossiter, H. B., Kowalchuk, J. M., & Whipp, B. J. (2006). A test to establish maximum O₂ uptake despite no plateau in the O₂ uptake response to ramp incremental exercise. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 100(3), 764-770. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00932.2005>
- Ruhstaller, T., Giobbie-Hurder, A., Colleoni, M., Jensen, M.-B., Ejlersen, B., de Azambuja, E., Neven, P., Láng, I., Jakobsen, E. H., Gladiëff, L., Bonnefoi, H., Harvey, V. J., Spazzapan, S., Tondini, C., Del Mastro, L., Veyret, C., Simoncini, E., Gianni, L., Rochlitz, C., ... members of the BIG 1-98 Collaborative Group and the International Breast Cancer Study Group. (2019). Adjuvant Letrozole and Tamoxifen Alone or Sequentially for Postmenopausal Women With Hormone Receptor-Positive Breast Cancer : Long-Term Follow-Up of the BIG 1-98 Trial. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 37(2), 105-114. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.00440>
- Ryan, A. M., Prado, C. M., Sullivan, E. S., Power, D. G., & Daly, L. E. (2019). Effects of weight loss and sarcopenia on response to chemotherapy, quality of life, and survival. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 67-68, 110539. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.06.020>
- Ryan, Z. C., Craig, T. A., Wang, X., Delmotte, P., Salisbury, J. L., Lanza, I. R., Sieck, G. C., & Kumar, R. (2018). 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ mitigates cancer cell mediated mitochondrial dysfunction in human skeletal muscle cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 496(2), 746-752. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.01.092>
- Sachs, S., Zarini, S., Kahn, D. E., Harrison, K. A., Perreault, L., Phang, T., Newsom, S. A., Strauss, A., Kerege, A., Schoen, J. A., Bessesen, D. H., Schwarzmayr, T., Graf, E., Lutter, D., Krumsiek, J., Hofmann, S. M., & Bergman, B. C. (2019). Intermuscular adipose tissue directly modulates skeletal muscle insulin sensitivity in humans. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 316(5), E866-E879. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00243.2018>
- Salazar-Degracia, A., Blanco, D., Vilà-Ubach, M., de Biurrun, G., de Solórzano, C. O., Montuenga, L. M., & Barreiro, E. (2016). Phenotypic and metabolic features of mouse diaphragm and gastrocnemius muscles in chronic lung carcinogenesis : Influence of underlying emphysema. *Journal of Translational Medicine*, 14(1), 244. <https://doi.org/10.1186/s12967-016-1003-9>
- Salazar-Degracia, A., Busquets, S., Argilés, J. M., Bargalló-Gispert, N., López-Soriano, F. J., & Barreiro, E. (2018). Effects of the beta2 agonist formoterol on atrophy signaling, autophagy, and muscle phenotype in respiratory and limb muscles of rats with cancer-induced cachexia. *Biochimie*, 149, 79-91. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.04.009>
- Samuels, S. E., Knowles, A. L., Tilignac, T., Debiton, E., Madelmont, J. C., & Attaix, D. (2001). Higher skeletal muscle protein synthesis and lower breakdown after chemotherapy in cachectic mice. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 281(1), R133-139. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.2001.281.1.R133>

- Sanchez, A. M. J., Candau, R. B., Csibi, A., Pagano, A. F., Raibon, A., & Bernardi, H. (2012). The role of AMP-activated protein kinase in the coordination of skeletal muscle turnover and energy homeostasis. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 303(5), C475-485. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00125.2012>
- Sanchis-Gomar, F., García-Giménez, J. L., Gómez-Cabrera, M. C., & Pallardó, F. V. (2014). Mitochondrial biogenesis in health and disease. Molecular and therapeutic approaches. *Current Pharmaceutical Design*, 20(35), 5619-5633. <https://doi.org/10.2174/1381612820666140306095106>
- Sancho-Muñoz, A., Guitart, M., Rodríguez, D. A., Gea, J., Martínez-Llorens, J., & Barreiro, E. (2021). Deficient muscle regeneration potential in sarcopenic COPD patients : Role of satellite cells. *Journal of Cellular Physiology*, 236(4), 3083-3098. <https://doi.org/10.1002/jcp.30073>
- Sandri, M. (2008). Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 23, 160-170. <https://doi.org/10.1152/physiol.00041.2007>
- Sandri, M. (2013). Protein breakdown in muscle wasting : Role of autophagy-lysosome and ubiquitin-proteasome. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 45(10), 2121-2129. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.04.023>
- Sandri, M., Barberi, L., Bijlsma, A. Y., Blaauw, B., Dyar, K. A., Milan, G., Mammucari, C., Meskers, C. G. M., Pallafacchina, G., Paoli, A., Pion, D., Roceri, M., Romanello, V., Serrano, A. L., Toniolo, L., Larsson, L., Maier, A. B., Muñoz-Cánoves, P., Musarò, A., ... Schiaffino, S. (2013). Signalling pathways regulating muscle mass in ageing skeletal muscle : The role of the IGF1-Akt-mTOR-FoxO pathway. *Biogerontology*, 14(3), 303-323. <https://doi.org/10.1007/s10522-013-9432-9>
- Santagnello, S. B., Martins, F. M., de Oliveira Junior, G. N., de Freitas Rodrigues de Sousa, J., Nomelini, R. S., Murta, E. F. C., & Orsatti, F. L. (2020). Improvements in muscle strength, power, and size and self-reported fatigue as mediators of the effect of resistance exercise on physical performance breast cancer survivor women : A randomized controlled trial. *Supportive Care in Cancer: Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, 28(12), 6075-6084. <https://doi.org/10.1007/s00520-020-05429-6>
- Sartori, R., Romanello, V., & Sandri, M. (2021a). Mechanisms of muscle atrophy and hypertrophy : Implications in health and disease. *Nature Communications*, 12(1), 330. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20123-1>
- Sartori, R., Hagg, A., Zampieri, S., Armani, A., Winbanks, C. E., Viana, L. R., Haidar, M., Watt, K. I., Qian, H., Pezzini, C., Zanganeh, P., Turner, B. J., Larsson, A., Zanchettin, G., Pierobon, E. S., Moletta, L., Valmasoni, M., Ponzone, A., Attar, S., ... Sandri, M. (2021b). Perturbed BMP signaling and denervation promote muscle wasting in cancer cachexia. *Science Translational Medicine*, 13(605), eaay9592. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aay9592>
- Schaum, N., Karkanas, J., Neff, N., May, A., Quake, S., Wyss-Coray, T., Darmanis, S., Batson, J., Botvinnik, O., Chen, M., Chen, S., Green, F., Jones, R., Maynard, A., Penland, L., Sit, R., Stanley, G., Webber, J., Zanini, F., ... Wa, B. (2017). *Single-cell transcriptomic characterization of 20 organs and tissues from individual mice creates a <i>Tabula Muris</i>*. <https://doi.org/10.1101/237446>
- Schiaffino, S., Dyar, K. A., Ciciliot, S., Blaauw, B., & Sandri, M. (2013). Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *The FEBS Journal*, 280(17), 4294-4314. <https://doi.org/10.1111/febs.12253>
- Schmid, D., & Leitzmann, M. F. (2014). Association between physical activity and mortality among breast cancer and colorectal cancer survivors : A systematic review and meta-analysis. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 25(7), 1293-1311. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu012>
- Schmidt, M. E., Wiskemann, J., Ulrich, C. M., Schneeweiss, A., & Steindorf, K. (2017). Self-reported physical activity behavior of breast cancer survivors during and after adjuvant therapy : 12 months follow-up of two randomized exercise intervention trials. *Acta Oncologica*, 56(4), 618-627. <https://doi.org/10.1080/0284186X.2016.1275776>
- Schmidt, T., Weisser, B., Dürkop, J., Jonat, W., Van Mackelenbergh, M., Röcken, C., & Mundhenke, C. (2015).

Comparing Endurance and Resistance Training with Standard Care during Chemotherapy for Patients with Primary Breast Cancer. *Anticancer Research*, 35(10), 5623-5629.

Schmitt, T. L., Martignoni, M. E., Bachmann, J., Fechtner, K., Friess, H., Kinscherf, R., & Hildebrandt, W. (2007). Activity of the Akt-dependent anabolic and catabolic pathways in muscle and liver samples in cancer-related cachexia. *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*, 85(6), 647-654. <https://doi.org/10.1007/s00109-007-0177-2>

Schmitz, K. H., Ahmed, R. L., Hannan, P. J., & Yee, D. (2005). Safety and efficacy of weight training in recent breast cancer survivors to alter body composition, insulin, and insulin-like growth factor axis proteins. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 14(7), 1672-1680. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-04-0736>

Schmitz, K. H., Campbell, A. M., Stuiver, M. M., Pinto, B. M., Schwartz, A. L., Morris, G. S., Ligibel, J. A., Cheville, A., Galvão, D. A., Alfano, C. M., Patel, A. V., Hue, T., Gerber, L. H., Sallis, R., Gusani, N. J., Stout, N. L., Chan, L., Flowers, F., Doyle, C., ... Matthews, C. E. (2019). Exercise is medicine in oncology : Engaging clinicians to help patients move through cancer. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 69(6), 468-484. <https://doi.org/10.3322/caac.21579>

Schoenfeld, B. J. (2010). The Mechanisms of Muscle Hypertrophy and Their Application to Resistance Training: *Journal of Strength and Conditioning Research*, 24(10), 2857-2872. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181e840f3>

Schumacher, A. N., Shackelford, D. Y. K., Brown, J. M., & Hayward, R. (2019). Validation of the 6-min Walk Test for Predicting Peak V'O₂ in Cancer Survivors. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 51(2), 271-277. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001790>

Schwarzkopf, M., Coletti, D., Sassoon, D., & Marazzi, G. (2006). Muscle cachexia is regulated by a p53–PW1/Peg3-dependent pathway. *Genes & Development*, 20(24), 3440-3452. <https://doi.org/10.1101/gad.412606>

Scott, H. R., McMillan, D. C., Crilly, A., McArdle, C. S., & Milroy, R. (1996). The relationship between weight loss and interleukin 6 in non-small-cell lung cancer. *British Journal of Cancer*, 73(12), 1560-1562. <https://doi.org/10.1038/bjc.1996.294>

Seynnes, O. R., Maganaris, C. N., de Boer, M. D., di Prampero, P. E., & Narici, M. V. (2008). Early structural adaptations to unloading in the human calf muscles. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, 193(3), 265-274. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2008.01842.x>

Shachar, S. S., Deal, A. M., Weinberg, M., Williams, G. R., Nyrop, K. A., Popuri, K., Choi, S. K., & Muss, H. B. (2017). Body Composition as a Predictor of Toxicity in Patients Receiving Anthracycline and Taxane–Based Chemotherapy for Early-Stage Breast Cancer. *Clinical Cancer Research*, 23(14), 3537-3543. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-2266>

Shao, X., Wang, M., Wei, X., Deng, S., Fu, N., Peng, Q., Jiang, Y., Ye, L., Xie, J., & Lin, Y. (2016). Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ : Master Regulator of Adipogenesis and Obesity. *Current Stem Cell Research & Therapy*, 11(3), 282-289. <https://doi.org/10.2174/1574888x10666150528144905>

Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam, M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M. E., Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docea, A. O., ... Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants : Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2020.00694>

Shul'zhenko, E. B., & Will-Williams, I. F. (1976). [Possibility of carrying out prolonged water immersion by the method of « dry » submersion]. *Kosmicheskaja Biologija i Aviakosmicheskaja Meditsina*, 10(2), 82-84.

Shum, A. M. Y., Mahendradatta, T., Taylor, R. J., Painter, A. B., Moore, M. M., Tsoli, M., Tan, T. C., Clarke, S. J., Robertson, G. R., & Polly, P. (2012). Disruption of MEF2C signaling and loss of sarcomeric and mitochondrial

integrity in cancer-induced skeletal muscle wasting. *Aging*, 4(2), 133-143. <https://doi.org/10.18632/aging.100436>

Sieber, C. C. (2019). Malnutrition and sarcopenia. *Aging Clinical and Experimental Research*, 31(6), 793-798. <https://doi.org/10.1007/s40520-019-01170-1>

Silva, S. P. da, Santos, J. M. O., Silva, M. P. C. e, Costa, R. M. G. da, & Medeiros, R. (2020). Cancer cachexia and its pathophysiology : Links with sarcopenia, anorexia and asthenia. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 11(3), 619-635. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12528>

Silva, K. A. S., Dong, J., Dong, Y., Dong, Y., Schor, N., Tweardy, D. J., Zhang, L., & Mitch, W. E. (2015). Inhibition of Stat3 activation suppresses caspase-3 and the ubiquitin-proteasome system, leading to preservation of muscle mass in cancer cachexia. *The Journal of Biological Chemistry*, 290(17), 11177-11187. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.641514>

Singh, B., Spence, R. R., Steele, M. L., Sandler, C. X., Peake, J. M., & Hayes, S. C. (2018). A Systematic Review and Meta-Analysis of the Safety, Feasibility, and Effect of Exercise in Women With Stage II+ Breast Cancer. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 99(12), 2621-2636. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2018.03.026>

Sirago, G., Conte, E., Fracasso, F., Cormio, A., Fehrentz, J.-A., Martinez, J., Musicco, C., Camerino, G. M., Fonzino, A., Rizzi, L., Torsello, A., Lezza, A. M. S., Liantonio, A., Cantatore, P., & Pesce, V. (2017). Growth hormone secretagogues hexarelin and JMV2894 protect skeletal muscle from mitochondrial damages in a rat model of cisplatin-induced cachexia. *Scientific Reports*, 7(1), 13017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13504-y>

Skipworth, R. J. E., Moses, A. G. W., Sangster, K., Sturgeon, C. M., Voss, A. C., Fallon, M. T., Anderson, R. A., Ross, J. A., & Fearon, K. C. H. (2011). Interaction of gonadal status with systemic inflammation and opioid use in determining nutritional status and prognosis in advanced pancreatic cancer. *Supportive Care in Cancer: Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, 19(3), 391-401. <https://doi.org/10.1007/s00520-010-0832-y>

Skorokhod, A., Bachmann, J., Giese, N. A., Martignoni, M. E., & Krakowski-Roosen, H. (2012). Real-imaging cDNA-AFLP transcript profiling of pancreatic cancer patients : Egr-1 as a potential key regulator of muscle cachexia. *BMC Cancer*, 12, 265. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-265>

Skrzypczak, D., Skrzypczak-Zielińska, M., Ratajczak, A. E., Szymczak-Tomczak, A., Eder, P., Słomski, R., Dobrowolska, A., & Krela-Kaźmierczak, I. (2021). Myostatin and Follistatin—New Kids on the Block in the Diagnosis of Sarcopenia in IBD and Possible Therapeutic Implications. *Biomedicines*, 9(10), 1301. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9101301>

Smith, H. J., Greenberg, N. A., & Tisdale, M. J. (2004). Effect of eicosapentaenoic acid, protein and amino acids on protein synthesis and degradation in skeletal muscle of cachectic mice. *British Journal of Cancer*, 91(2), 408-412. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601981>

Smith, H. K., Maxwell, L., Martyn, J. A., & Bass, J. J. (2000). Nuclear DNA fragmentation and morphological alterations in adult rabbit skeletal muscle after short-term immobilization. *Cell and Tissue Research*, 302(2), 235-241. <https://doi.org/10.1007/s004410000280>

Smith, I. J., Lecker, S., & Hasselgren, P. (2008). Calpain activity and muscle wasting in sepsis. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90226.2008>

Smith, K. L., & Tisdale, M. J. (1993). Increased protein degradation and decreased protein synthesis in skeletal muscle during cancer cachexia. *British Journal of Cancer*, 67(4), 680-685. <https://doi.org/10.1038/bjc.1993.126>

Smith, L. R., & Barton, E. R. (2014). SMASH - semi-automatic muscle analysis using segmentation of histology : A MATLAB application. *Skeletal Muscle*, 4, 21. <https://doi.org/10.1186/2044-5040-4-21>

Smuder, A. J., Kavazis, A. N., Min, K., & Powers, S. K. (2011). Exercise protects against doxorubicin-induced

markers of autophagy signaling in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 111(4), 1190-1198. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00429.2011>

Snijders, T., Nederveen, J. P., McKay, B. R., Joannis, S., Verdijk, L. B., van Loon, L. J. C., & Parise, G. (2015). Satellite cells in human skeletal muscle plasticity. *Frontiers in Physiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00283>

Sorensen, J. C., Petersen, A. C., Timpani, C. A., Campelj, D. G., Cook, J., Trewin, A. J., Stojanovska, V., Stewart, M., Hayes, A., & Rybalka, E. (2017). BGP-15 Protects against Oxaliplatin-Induced Skeletal Myopathy and Mitochondrial Reactive Oxygen Species Production in Mice. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 137. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00137>

Souron, R., Nosaka, K., & Jubeau, M. (2018). Changes in central and peripheral neuromuscular fatigue indices after concentric versus eccentric contractions of the knee extensors. *European Journal of Applied Physiology*, 118(4), 805-816. <https://doi.org/10.1007/s00421-018-3816-0>

Sousa-Victor, P., García-Prat, L., & Muñoz-Cánoves, P. (2021). Control of satellite cell function in muscle regeneration and its disruption in ageing. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00421-2>

Srikanthan, P., & Karlamangla, A. S. (2014). Muscle mass index as a predictor of longevity in older adults. *The American Journal of Medicine*, 127(6), 547-553. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2014.02.007>

Staff, N. P., Fehrenbacher, J. C., Caillaud, M., Damaj, M. I., Segal, R. A., & Rieger, S. (2020). Pathogenesis of paclitaxel-induced peripheral neuropathy : A current review of in vitro and in vivo findings using rodent and human model systems. *Experimental Neurology*, 324, 113121. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2019.113121>

Standley, R. A., Distefano, G., Trevino, M. B., Chen, E., Narain, N. R., Greenwood, B., Kondakci, G., Tolstikov, V. V., Kiebish, M. A., Yu, G., Qi, F., Kelly, D. P., Vega, R. B., Coen, P. M., & Goodpaster, B. H. (2020). Skeletal Muscle Energetics and Mitochondrial Function Are Impaired Following 10 Days of Bed Rest in Older Adults. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 75(9), 1744-1753. <https://doi.org/10.1093/gerona/glaa001>

Stout, N. L., Santa Mina, D., Lyons, K. D., Robb, K., & Silver, J. K. (2021). A systematic review of rehabilitation and exercise recommendations in oncology guidelines. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(2), 149-175. <https://doi.org/10.3322/caac.21639>

Straughn, A. R., Kelm, N. Q., & Kakar, S. S. (2021). Withaferin A and Ovarian Cancer Antagonistically Regulate Skeletal Muscle Mass. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 636498. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.636498>

Streicher, L., & Simon, J. A. (2018). Sexual Function Post-Breast Cancer. *Cancer Treatment and Research*, 173, 167-189. https://doi.org/10.1007/978-3-319-70197-4_11

Suárez-Calvet, X., Fernández-Simón, E., Piñol-Jurado, P., Alonso-Pérez, J., Carrasco-Rozas, A., Lleixà, C., López-Fernández, S., Pons, G., Soria, L., Bigot, A., Mouly, V., Illa, I., Gallardo, E., Jaiswal, J. K., & Díaz-Manera, J. (2021). Isolation of human fibroadipogenic progenitors and satellite cells from frozen muscle biopsies. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 35(9), e21819. <https://doi.org/10.1096/fj.202100588R>

Sun, R., Zhang, S., Hu, W., Lu, X., Lou, N., Yang, Z., Chen, S., Zhang, X., & Yang, H. (2016). Valproic acid attenuates skeletal muscle wasting by inhibiting C/EBP β -regulated atrogin1 expression in cancer cachexia. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 311(1), C101-115. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00344.2015>

Sun, Y.-S., Zhao, Z., Yang, Z.-N., Xu, F., Lu, H.-J., Zhu, Z.-Y., Shi, W., Jiang, J., Yao, P.-P., & Zhu, H.-P. (2017). Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *International Journal of Biological Sciences*, 13(11), 1387-1397. <https://doi.org/10.7150/ijbs.21635>

- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020 : GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *71*(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Taivassalo, T., & Hussain, S. N. A. (2016). Contribution of the Mitochondria to Locomotor Muscle Dysfunction in Patients With COPD. *Chest*, *149*(5), 1302-1312. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2015.11.021>
- Tang, J. E., Hartman, J. W., & Phillips, S. M. (2006). Increased muscle oxidative potential following resistance training induced fibre hypertrophy in young men. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, *31*(5), 495-501. <https://doi.org/10.1139/h06-026>
- Tao, J. J., Visvanathan, K., & Wolff, A. C. (2015). Long term side effects of adjuvant chemotherapy in patients with early breast cancer. *Breast (Edinburgh, Scotland)*, *24 Suppl 2*, S149-153. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2015.07.035>
- Tarnopolsky, M. A., Pearce, E., Smith, K., & Lach, B. (2011). Suction-modified Bergström muscle biopsy technique : Experience with 13,500 procedures. *Muscle & Nerve*, *43*(5), 717-725. <https://doi.org/10.1002/mus.21945>
- Temparis, S., Asensi, M., Taillandier, D., Aurousseau, E., Larbaud, D., Obléd, A., Béchet, D., Ferrara, M., Estrela, J. M., & Attaix, D. (1994). Increased ATP-ubiquitin-dependent proteolysis in skeletal muscles of tumor-bearing rats. *Cancer Research*, *54*(21), 5568-5573.
- Tews, D. S., Behrhof, W., & Schindler, S. (2005). Expression patterns of initiator and effector caspases in denervated human skeletal muscle. *Muscle & Nerve*, *31*(2), 175-181. <https://doi.org/10.1002/mus.20253>
- Theeuwes, W. F., Gosker, H. R., Langen, R. C. J., Verhees, K. J. P., Pansters, N. a. M., Schols, A. M. W. J., & Remels, A. H. V. (2017). Inactivation of glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) enhances skeletal muscle oxidative metabolism. *Biochimica Et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease*, *1863*(12), 3075-3086. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.09.018>
- Theret, M., Rossi, F. M. V., & Contreras, O. (2021). Evolving Roles of Muscle-Resident Fibro-Adipogenic Progenitors in Health, Regeneration, Neuromuscular Disorders, and Aging. *Frontiers in Physiology*, *12*, 673404. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.673404>
- Thériault, M.-E., Paré, M.-È., Lemire, B. B., Maltais, F., & Debigaré, R. (2014). Regenerative defect in vastus lateralis muscle of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Research*, *15*, 35. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-15-35>
- Thomas, K., Brownstein, C. G., Dent, J., Parker, P., Goodall, S., & Howatson, G. (2018). Neuromuscular Fatigue and Recovery after Heavy Resistance, Jump, and Sprint Training. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *50*(12), 2526-2535. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001733>
- Ticinesi, A., Meschi, T., Narici, M. V., Lauretani, F., & Maggio, M. (2017). Muscle Ultrasound and Sarcopenia in Older Individuals : A Clinical Perspective. *Journal of the American Medical Directors Association*, *18*(4), 290-300. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2016.11.013>
- Tierney, A. J., Taylor, J., & Closs, S. J. (1992). Knowledge, expectations and experiences of patients receiving chemotherapy for breast cancer. *Scandinavian Journal of Caring Sciences*, *6*(2), 75-80. <https://doi.org/10.1111/j.1471-6712.1992.tb00128.x>
- Toledo, M., Busquets, S., Penna, F., Zhou, X., Marmonti, E., Betancourt, A., Massa, D., López-Soriano, F. J., Han, H. Q., & Argilés, J. M. (2016). Complete reversal of muscle wasting in experimental cancer cachexia : Additive effects of activin type II receptor inhibition and β -2 agonist. *International Journal of Cancer*, *138*(8), 2021-2029. <https://doi.org/10.1002/ijc.29930>
- Tomas, C., Brown, A., Strassheim, V., Elson, J. L., Newton, J., & Manning, P. (2017). Cellular bioenergetics is impaired in patients with chronic fatigue syndrome. *PLoS One*, *12*(10), e0186802. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186802>

- Toth, M. J., Voigt, T. B., Tourville, T. W., Prior, S. M., Guigni, B. A., Schlosberg, A. V., Smith, I. B., Forest, T. J., Kaufman, P. A., Wood, M. E., Rehman, H., & Dittus, K. (2020). Effect of neuromuscular electrical stimulation on skeletal muscle size and function in patients with breast cancer receiving chemotherapy. *Journal of Applied Physiology*, *128*(6), 1654-1665. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00203.2020>
- Trestini, I., Carbognin, L., Monteverdi, S., Zanelli, S., De Toma, A., Bonaiuto, C., Nortilli, R., Fiorio, E., Pilotto, S., Di Maio, M., Gasbarrini, A., Scambia, G., Tortora, G., & Bria, E. (2018). Clinical implication of changes in body composition and weight in patients with early-stage and metastatic breast cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, *129*, 54-66. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2018.06.011>
- Tsang, W. P., Chau, S. P. Y., Kong, S. K., Fung, K. P., & Kwok, T. T. (2003). Reactive oxygen species mediate doxorubicin induced p53-independent apoptosis. *Life Sciences*, *73*(16), 2047-2058. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(03\)00566-6](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(03)00566-6)
- Tsaras, K., Papathanasiou, I. V., Mitsi, D., Veneti, A., Kelesi, M., Zyga, S., & Fradelos, E. C. (2018). Assessment of Depression and Anxiety in Breast Cancer Patients : Prevalence and Associated Factors. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, *19*(6), 1661-1669. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.6.1661>
- Twomey, R., Martin, T., Temesi, J., Culos-Reed, S. N., & Millet, G. Y. (2018). Tailored exercise interventions to reduce fatigue in cancer survivors : Study protocol of a randomized controlled trial. *BMC Cancer*, *18*(1), 757. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4668-z>
- Tzika, A. A., Fontes-Oliveira, C. C., Shestov, A. A., Constantinou, C., Psychogios, N., Righi, V., Mintzopoulos, D., Busquets, S., Lopez-Soriano, F. J., Milot, S., Lepine, F., Mindrinou, M. N., Rahme, L. G., & Argiles, J. M. (2013). Skeletal muscle mitochondrial uncoupling in a murine cancer cachexia model. *International Journal of Oncology*, *43*(3), 886-894. <https://doi.org/10.3892/ijo.2013.1998>
- Uezumi, A., Fukada, S., Yamamoto, N., Ikemoto-Uezumi, M., Nakatani, M., Morita, M., Yamaguchi, A., Yamada, H., Nishino, I., Hamada, Y., & Tsuchida, K. (2014). Identification and characterization of PDGFR α + mesenchymal progenitors in human skeletal muscle. *Cell Death & Disease*, *5*, e1186. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.161>
- Uezumi, A., Fukada, S., Yamamoto, N., Takeda, S., & Tsuchida, K. (2010). Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. *Nature Cell Biology*, *12*(2), 143-152. <https://doi.org/10.1038/ncb2014>
- Uezumi, A., Ikemoto-Uezumi, M., Zhou, H., Kurosawa, T., Yoshimoto, Y., Nakatani, M., Hitachi, K., Yamaguchi, H., Wakatsuki, S., Araki, T., Morita, M., Yamada, H., Toyoda, M., Kanazawa, N., Nakazawa, T., Hino, J., Fukada, S.-I., & Tsuchida, K. (2021). Mesenchymal Bmp3b expression maintains skeletal muscle integrity and decreases in age-related sarcopenia. *The Journal of Clinical Investigation*, *131*(1), 139617. <https://doi.org/10.1172/JCI139617>
- Uezumi, A., Ito, T., Morikawa, D., Shimizu, N., Yoneda, T., Segawa, M., Yamaguchi, M., Ogawa, R., Matev, M. M., Miyagoe-Suzuki, Y., Takeda, S., Tsujikawa, K., Tsuchida, K., Yamamoto, H., & Fukada, S. (2011). Fibrosis and adipogenesis originate from a common mesenchymal progenitor in skeletal muscle. *Journal of Cell Science*, *124*(Pt 21), 3654-3664. <https://doi.org/10.1242/jcs.086629>
- Urbina-Varela, R., Castillo, N., Videla, L. A., & Del Campo, A. (2020). Impact of Mitophagy and Mitochondrial Unfolded Protein Response as New Adaptive Mechanisms Underlying Old Pathologies : Sarcopenia and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(20). <https://doi.org/10.3390/ijms21207704>
- Ushmorov, A., Hack, V., & Dröge, W. (1999). Differential reconstitution of mitochondrial respiratory chain activity and plasma redox state by cysteine and ornithine in a model of cancer cachexia. *Cancer Research*, *59*(14), 3527-3534.
- Vainshtein, A., & Sandri, M. (2020). Signaling Pathways That Control Muscle Mass. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(13), E4759. <https://doi.org/10.3390/ijms21134759>
- Valencia, A. P., Lai, J. K., Iyer, S. R., Mistretta, K. L., Spangenburg, E. E., Davis, D. L., Lovering, R. M., & Gilotra,

- M. N. (2018). Fatty Infiltration Is a Prognostic Marker of Muscle Function After Rotator Cuff Tear. *The American Journal of Sports Medicine*, 0363546518769267. <https://doi.org/10.1177/0363546518769267>
- van der Leeden, M., Huijsmans, R. J., Geleijn, E., de Rooij, M., Konings, I. R., Buffart, L. M., Dekker, J., & Stuiver, M. M. (2018). Tailoring exercise interventions to comorbidities and treatment-induced adverse effects in patients with early stage breast cancer undergoing chemotherapy : A framework to support clinical decisions. *Disability and Rehabilitation*, 40(4), 486-496. <https://doi.org/10.1080/09638288.2016.1260647>
- VanderVeen, B. N., Hardee, J. P., Fix, D. K., & Carson, J. A. (2018). Skeletal muscle function during the progression of cancer cachexia in the male ApcMin/+ mouse. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 124(3), 684-695. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00897.2017>
- Vandervoort, A. A. (2002). Aging of the human neuromuscular system. *Muscle & Nerve*, 25(1), 17-25. <https://doi.org/10.1002/mus.1215>
- Vanhorebeek, I., Gunst, J., Derde, S., Derese, I., Boussemaere, M., Güiza, F., Martinet, W., Timmermans, J.-P., D'Hoore, A., Wouters, P. J., & Van den Berghe, G. (2011). Insufficient activation of autophagy allows cellular damage to accumulate in critically ill patients. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 96(4), E633-645. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-2563>
- van Waart, H., Stuiver, M. M., van Harten, W. H., Geleijn, E., Kieffer, J. M., Buffart, L. M., de Maaker-Berkhof, M., Boven, E., Schrama, J., Geenen, M. M., Meerum Terwogt, J. M., van Bochove, A., Lustig, V., van den Heiligenberg, S. M., Smorenburg, C. H., Hellendoorn-van Vreeswijk, J. A. J. H., Sonke, G. S., & Aaronson, N. K. (2015). Effect of Low-Intensity Physical Activity and Moderate- to High-Intensity Physical Exercise During Adjuvant Chemotherapy on Physical Fitness, Fatigue, and Chemotherapy Completion Rates : Results of the PACES Randomized Clinical Trial. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 33(17), 1918-1927. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.59.1081>
- Varricchi, G., Ameri, P., Cadeddu, C., Ghigo, A., Madonna, R., Marone, G., Mercurio, V., Monte, I., Novo, G., Parrella, P., Pirozzi, F., Pecoraro, A., Spallarossa, P., Zito, C., Mercurio, G., Pagliaro, P., & Tocchetti, C. G. (2018). Antineoplastic Drug-Induced Cardiotoxicity: A Redox Perspective. *Frontiers in Physiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00167>
- Veldhuizen, J. W., Verstappen, F. T., Vroemen, J. P., Kuipers, H., & Greep, J. M. (1993). Functional and morphological adaptations following four weeks of knee immobilization. *International Journal of Sports Medicine*, 14(5), 283-287. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1021178>
- Verdijk, L. B., Dirks, M. L., Snijders, T., Prompers, J. J., Beelen, M., Jonkers, R. A. M., Thijssen, D. H. J., Hopman, M. T. E., & Van Loon, L. J. C. (2012). Reduced satellite cell numbers with spinal cord injury and aging in humans. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 44(12), 2322-2330. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3182667c2e>
- Verdijk, L. B., Snijders, T., Drost, M., Delhaas, T., Kadi, F., & van Loon, L. J. C. (2014). Satellite cells in human skeletal muscle; from birth to old age. *Age (Dordrecht, Netherlands)*, 36(2), 545-547. <https://doi.org/10.1007/s11357-013-9583-2>
- Vettor, R., Milan, G., Franzin, C., Sanna, M., De Coppi, P., Rizzuto, R., & Federspil, G. (2009). The origin of intermuscular adipose tissue and its pathophysiological implications. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 297(5), E987-998. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00229.2009>
- Vincent, F., Labourey, J. L., Leobon, S., Antonini, M. T., Lavau-Denes, S., & Tubiana-Mathieu, N. (2013). Effects of a home-based walking training program on cardiorespiratory fitness in breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy : A pilot study. *European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine*, 49(3), 319-329.
- von Minckwitz, G., Procter, M., de Azambuja, E., Zardavas, D., Benyunes, M., Viale, G., Suter, T., Arahmani, A., Rouchet, N., Clark, E., Knott, A., Lang, I., Levy, C., Yardley, D. A., Bines, J., Gelber, R. D., Piccart, M., Baselga, J., & APHINITY Steering Committee and Investigators. (2017). Adjuvant Pertuzumab and Trastuzumab in Early HER2-Positive Breast Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 377(2), 122-131.

<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1703643>

Wall, B. T., Dirks, M. L., & van Loon, L. J. C. (2013). Skeletal muscle atrophy during short-term disuse : Implications for age-related sarcopenia. *Ageing Research Reviews*, 12(4), 898-906. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2013.07.003>

Wan, J.-J., Qin, Z., Wang, P.-Y., Sun, Y., & Liu, X. (2017). Muscle fatigue : General understanding and treatment. *Experimental & Molecular Medicine*, 49(10), e384. <https://doi.org/10.1038/emm.2017.194>

Wang, D.-T., Yang, Y.-J., Huang, R.-H., Zhang, Z.-H., & Lin, X. (2015). Myostatin Activates the Ubiquitin-Proteasome and Autophagy-Lysosome Systems Contributing to Muscle Wasting in Chronic Kidney Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, 684965. <https://doi.org/10.1155/2015/684965>

Wang, H., Li, T.-L., Hsia, S., Su, I.-L., Chan, Y.-L., & Wu, C.-J. (2015). Skeletal muscle atrophy is attenuated in tumor-bearing mice under chemotherapy by treatment with fish oil and selenium. *Oncotarget*, 6(10), 7758-7773. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3483>

Wang, H.-L., Ding, T.-T., Lu, S., Xu, Y., Tian, J., Hu, W.-F., & Zhang, J.-Y. (2013). Muscle mass loss and intermuscular lipid accumulation were associated with insulin resistance in patients receiving hemodialysis. *Chinese Medical Journal*, 126(24), 4612-4617.

Wang, R., Kumar, B., Bhat-Nakshatri, P., Prasad, M. S., Jacobsen, M. H., Ovale, G., Maguire, C., Sandusky, G., Trivedi, T., Mohammad, K. S., Guise, T., Penthala, N. R., Crooks, P. A., Liu, J., Zimmers, T., & Nakshatri, H. (2021). Aging-associated skeletal muscle defects in HER2/Neu transgenic mammary tumor model. *JCSM Rapid Communications*, 4(1), 24-39. <https://doi.org/10.1002/rco2.23>

Wang, X., Hu, S., & Liu, L. (2017). Phosphorylation and acetylation modifications of FOXO3a : Independently or synergistically? *Oncology Letters*, 13(5), 2867-2872. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.5851>

Wang, Y., & Zhang, H. (2019). Regulation of Autophagy by mTOR Signaling Pathway. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1206, 67-83. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0602-4_3

Ward, T. J. C., Lindley, M. R., Ferguson, R. A., Constantin, D., Singh, S. J., Bolton, C. E., Evans, R. A., Greenhaff, P. L., & Steiner, M. C. (2021). Submaximal Eccentric Cycling in People With COPD : Acute Whole-Body Cardiopulmonary and Muscle Metabolic Responses. *Chest*, 159(2), 564-574. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2020.08.2082>

Warinhomhoun, S., Muangnoi, C., Buranasudja, V., Mekboonsonglarp, W., Rojsitthisak, P., Likhitwitayawuid, K., & Sritularak, B. (2021). Antioxidant Activities and Protective Effects of Dendropachol, a New Bisbibenzyl Compound from *Dendrobium pachyglossum*, on Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress in HaCaT Keratinocytes. *Antioxidants*, 10(2), 252. <https://doi.org/10.3390/antiox10020252>

Waters, D. L. (2019). Intermuscular Adipose Tissue : A Brief Review of Etiology, Association With Physical Function and Weight Loss in Older Adults. *Annals of Geriatric Medicine and Research*, 23(1), 3-8. <https://doi.org/10.4235/agmr.19.0001>

Webster, J. M., Kempen, L. J. A. P., Hardy, R. S., & Langen, R. C. J. (2020). Inflammation and Skeletal Muscle Wasting During Cachexia. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.597675>

Weibel, E. R., Bacigalupe, L. D., Schmitt, B., & Hoppeler, H. (2004). Allometric scaling of maximal metabolic rate in mammals : Muscle aerobic capacity as determinant factor. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 140(2), 115-132. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2004.01.006>

Wesolowski, S., Orłowski, T. M., & Kram, M. (2020). The 6-min walk test in the functional evaluation of patients with lung cancer qualified for lobectomy. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*, 30(4), 559-564. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivz313>

White, J. P., Baynes, J. W., Welle, S. L., Kostek, M. C., Matesic, L. E., Sato, S., & Carson, J. A. (2011). The regulation of skeletal muscle protein turnover during the progression of cancer cachexia in the *Apc(Min/+)* mouse. *PLoS One*, 6(9), e24650. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024650>

- White, J. P., Puppa, M. J., Sato, S., Gao, S., Price, R. L., Baynes, J. W., Kostek, M. C., Matesic, L. E., & Carson, J. A. (2012). IL-6 regulation on skeletal muscle mitochondrial remodeling during cancer cachexia in the ApcMin/+ mouse. *Skeletal Muscle*, 2, 14. <https://doi.org/10.1186/2044-5040-2-14>
- White, M. J., Davies, C. T., & Brooksby, P. (1984). The effects of short-term voluntary immobilization on the contractile properties of the human triceps surae. *Quarterly Journal of Experimental Physiology (Cambridge, England)*, 69(4), 685-691. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1984.sp002860>
- White, T. A., & LeBrasseur, N. K. (2014). Myostatin and sarcopenia : Opportunities and challenges - a mini-review. *Gerontology*, 60(4), 289-293. <https://doi.org/10.1159/000356740>
- Whiteman, D. C., Webb, P. M., Green, A. C., Neale, R. E., Fritschi, L., Bain, C. J., Parkin, D. M., Wilson, L. F., Olsen, C. M., Nagle, C. M., Pandeya, N., Jordan, S. J., Antonsson, A., Kendall, B. J., Hughes, M. C. B., Ibiebele, T. I., Miura, K., Peters, S., & Carey, R. N. (2015). Cancers in Australia in 2010 attributable to modifiable factors : Summary and conclusions. *Australian and New Zealand Journal of Public Health*, 39(5), 477-484. <https://doi.org/10.1111/1753-6405.12471>
- Whitman, S. A., Wacker, M. J., Richmond, S. R., & Godard, M. P. (2005). Contributions of the ubiquitin-proteasome pathway and apoptosis to human skeletal muscle wasting with age. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*, 450(6), 437-446. <https://doi.org/10.1007/s00424-005-1473-8>
- Wiederin, J., Gu, C., Jewett, P., & Blaes, A. H. (2020). Pectoralis muscle wasting during chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*, 38(15_suppl), e24069-e24069. https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.e24069
- Williams, A., Sun, X., Fischer, J. E., & Hasselgren, P. O. (1999). The expression of genes in the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway is increased in skeletal muscle from patients with cancer. *Surgery*, 126(4), 744-749; discussion 749-750.
- Wilson, H. E., Rhodes, K. K., Rodriguez, D., Chahal, I., Stanton, D. A., Bohlen, J., Davis, M., Infante, A. M., Hazard-Jenkins, H., Klink, D. J., Pugacheva, E. N., & Pistilli, E. E. (2019). Human Breast Cancer Xenograft Model Implicates Peroxisome Proliferator-activated Receptor Signaling as Driver of Cancer-induced Muscle Fatigue. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 25(7), 2336-2347. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-1565>
- Wilson, H. E., Stanton, D. A., & Pistilli, E. E. (2020). Breast cancer-associated skeletal muscle mitochondrial dysfunction and lipid accumulation is reversed by PPAR γ . *BioRxiv*, 2020.04.05.026617. <https://doi.org/10.1101/2020.04.05.026617>
- Winters-Stone, K. M., Dobek, J., Nail, L. M., Bennett, J. A., Leo, M. C., Torgrimson-Ojerio, B., Luoh, S.-W., & Schwartz, A. (2013). Impact + resistance training improves bone health and body composition in prematurely menopausal breast cancer survivors : A randomized controlled trial. *Osteoporosis International*, 24(5), 1637-1646. <https://doi.org/10.1007/s00198-012-2143-2>
- Wosczyzna, M. N., Biswas, A. A., Cogswell, C. A., & Goldhamer, D. J. (2012). Multipotent progenitors resident in the skeletal muscle interstitium exhibit robust BMP-dependent osteogenic activity and mediate heterotopic ossification. *Journal of Bone and Mineral Research*, 27(5), 1004-1017. <https://doi.org/10.1002/jbmr.1562>
- Wosczyzna, M. N., Konishi, C. T., Perez Carbajal, E. E., Wang, T. T., Walsh, R. A., Gan, Q., Wagner, M. W., & Rando, T. A. (2019). Mesenchymal Stromal Cells Are Required for Regeneration and Homeostatic Maintenance of Skeletal Muscle. *Cell Reports*, 27(7), 2029-2035.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.04.074>
- Wu, H.-S., Dodd, M., & Cho, M. (2008). Patterns of Fatigue and Effect of Exercise in Patients Receiving Chemotherapy for Breast Cancer. *Oncology Nursing Forum - ONCOL NURS FORUM*, 35. <https://doi.org/10.1188/08.ONF.E90-E99>
- Wyart, E., Hsu, M. Y., Sartori, R., Mina, E., Rausch, V., Pierobon, E. S., Mezzanotte, M., Pezzini, C., Bindels, L. B., Lauria, A., Penna, F., Hirsch, E., Martini, M., Mazzone, M., Roetto, A., Geninatti Crich, S., Prenen, H., Sandri, M., Menga, A., & Porporato, P. E. (2022). Iron supplementation is sufficient to rescue skeletal muscle mass

- and function in cancer cachexia. *EMBO Reports*, 23(4), e53746. <https://doi.org/10.15252/embr.202153746>
- Yamakawa, H., Kusumoto, D., Hashimoto, H., & Yuasa, S. (2020). Stem Cell Aging in Skeletal Muscle Regeneration and Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), E1830. <https://doi.org/10.3390/ijms21051830>
- Yildiz Kabak, V., Gursen, C., Aytar, A., Akbayrak, T., & Duger, T. (2020). Physical activity level, exercise behavior, barriers, and preferences of patients with breast cancer-related lymphedema. *Supportive Care in Cancer: Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*. <https://doi.org/10.1007/s00520-020-05858-3>
- Yokota, T., Kinugawa, S., Hirabayashi, K., Yamato, M., Takada, S., Suga, T., Nakano, I., Fukushima, A., Matsushima, S., Okita, K., & Tsutsui, H. (2021). Systemic oxidative stress is associated with lower aerobic capacity and impaired skeletal muscle energy metabolism in heart failure patients. *Scientific Reports*, 11(1), 2272. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81736-0>
- Yoo, S.-M., & Jung, Y.-K. (2018). A Molecular Approach to Mitophagy and Mitochondrial Dynamics. *Molecules and Cells*, 41(1), 18-26. <https://doi.org/10.14348/molcells.2018.2277>
- Yoon, M.-S., & Choi, C. S. (2016). The role of amino acid-induced mammalian target of rapamycin complex 1(mTORC1) signaling in insulin resistance. *Experimental & Molecular Medicine*, 48(1), e201-e201. <https://doi.org/10.1038/emm.2015.93>
- Yoshida, H., Ishiko, O., Sumi, T., Honda, K. I., Hirai, K., & Ogita, S. (2001). Expression of apoptosis regulatory proteins in the skeletal muscle of tumor-bearing rabbits. *Japanese Journal of Cancer Research: Gann*, 92(6), 631-637. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2001.tb01141.x>
- Yoshida, T., & Delafontaine, P. (2020). Mechanisms of IGF-1-Mediated Regulation of Skeletal Muscle Hypertrophy and Atrophy. *Cells*, 9(9), E1970. <https://doi.org/10.3390/cells9091970>
- Yu, A. F., Flynn, J. R., Moskowitz, C. S., Scott, J. M., Oeffinger, K. C., Dang, C. T., Liu, J. E., Jones, L. W., & Steingart, R. M. (2020). Long-term Cardiopulmonary Consequences of Treatment-Induced Cardiotoxicity in Survivors of ERBB2-Positive Breast Cancer. *JAMA Cardiology*, 5(3), 309-317. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2019.5586>
- Yu, A. P., Pei, X. M., Sin, T. K., Yip, S. P., Yung, B. Y., Chan, L. W., Wong, C. S., & Siu, P. M. (2014). Acylated and unacylated ghrelin inhibit doxorubicin-induced apoptosis in skeletal muscle. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, 211(1), 201-213. <https://doi.org/10.1111/apha.12263>
- Yue, G. H., Bilodeau, M., Hardy, P. A., & Enoka, R. M. (1997). Task-dependent effect of limb immobilization on the fatigability of the elbow flexor muscles in humans. *Experimental Physiology*, 82(3), 567-592. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1997.sp004048>
- Zachwieja, J. J., Smith, S. R., Sinha-Hikim, I., Gonzalez-Cadavid, N., & Bhasin, S. (1999). Plasma myostatin-immunoreactive protein is increased after prolonged bed rest with low-dose T3 administration. *Journal of Gravitational Physiology: A Journal of the International Society for Gravitational Physiology*, 6(2), 11-15.
- Zampieri, S., Doria, A., Adami, N., Biral, D., Vecchiato, M., Savastano, S., Corbianco, S., Carraro, U., & Merigliano, S. (2010). Subclinical myopathy in patients affected with newly diagnosed colorectal cancer at clinical onset of disease : Evidence from skeletal muscle biopsies. *Neurological Research*, 32(1), 20-25. <https://doi.org/10.1179/016164110X12556180205997>
- Zampieri, S., Pietrangelo, L., Loeffler, S., Fruhmann, H., Vogelauer, M., Burggraf, S., Pond, A., Grim-Stieger, M., Cvecka, J., Sedliak, M., Tirpáková, V., Mayr, W., Sarabon, N., Rossini, K., Barberi, L., De Rossi, M., Romanello, V., Boncompagni, S., Musarò, A., ... Kern, H. (2015). Lifelong physical exercise delays age-associated skeletal muscle decline. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 70(2), 163-173. <https://doi.org/10.1093/gerona/glu006>
- Zhang, J., Zhou, Y., Feng, Z., Xu, Y., & Zeng, G. (2018). Longitudinal Trends in Anxiety, Depression, and Quality of Life During Different Intermittent Periods of Adjuvant Breast Cancer Chemotherapy. *Cancer Nursing*, 41(1),

62-68. <https://doi.org/10.1097/NCC.0000000000000451>

Zhang, Y., Wang, J., Wang, X., Gao, T., Tian, H., Zhou, D., Zhang, L., Li, G., & Wang, X. (2020). The autophagic-lysosomal and ubiquitin proteasome systems are simultaneously activated in the skeletal muscle of gastric cancer patients with cachexia. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *111*(3), 570-579. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz347>

Zhao, H. (2021). The prognosis of invasive ductal carcinoma, lobular carcinoma and mixed ductal and lobular carcinoma according to molecular subtypes of the breast. *Breast Cancer (Tokyo, Japan)*, *28*(1), 187-195. <https://doi.org/10.1007/s12282-020-01146-4>

Zhao, J., Zhai, B., Gygi, S. P., & Goldberg, A. L. (2015). mTOR inhibition activates overall protein degradation by the ubiquitin proteasome system as well as by autophagy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(52), 15790-15797. <https://doi.org/10.1073/pnas.1521919112>

Zhong, X., Pons, M., Poirier, C., Jiang, Y., Liu, J., Sandusky, G. E., Shahda, S., Nakeeb, A., Schmidt, C. M., House, M. G., Ceppa, E. P., Zyromski, N. J., Liu, Y., Jiang, G., Couch, M. E., Koniaris, L. G., & Zimmers, T. A. (2019). The systemic activin response to pancreatic cancer : Implications for effective cancer cachexia therapy. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, *10*(5), 1083-1101. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12461>

Zhou, X., Wang, J. L., Lu, J., Song, Y., Kwak, K. S., Jiao, Q., Rosenfeld, R., Chen, Q., Boone, T., Simonet, W. S., Lacey, D. L., Goldberg, A. L., & Han, H. Q. (2010). Reversal of cancer cachexia and muscle wasting by ActRIIB antagonism leads to prolonged survival. *Cell*, *142*(4), 531-543. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.07.011>

Zimmers, T. A., Davies, M. V., Koniaris, L. G., Haynes, P., Esquela, A. F., Tomkinson, K. N., McPherron, A. C., Wolfman, N. M., & Lee, S.-J. (2002). Induction of cachexia in mice by systemically administered myostatin. *Science (New York, N.Y.)*, *296*(5572), 1486-1488. <https://doi.org/10.1126/science.1069525>

Zou, X., Ratti, B. A., O'Brien, J. G., Lautenschlager, S. O., Gius, D. R., Bonini, M. G., & Zhu, Y. (2017). Manganese superoxide dismutase (SOD2) : Is there a center in the universe of mitochondrial redox signaling? *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, *49*(4), 325-333. <https://doi.org/10.1007/s10863-017-9718-8>

Zullo, A., Fleckenstein, J., Schleip, R., Hoppe, K., Wearing, S., & Klingler, W. (2020). Structural and Functional Changes in the Coupling of Fascial Tissue, Skeletal Muscle, and Nerves During Aging. *Frontiers in Physiology*, *11*, 592. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00592>

Zuo, Y., Qiang, L., & Farmer, S. R. (2006). Activation of CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) alpha expression by C/EBP beta during adipogenesis requires a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-associated repression of HDAC1 at the C/ebp alpha gene promoter. *The Journal of Biological Chemistry*, *281*(12), 7960-7967. <https://doi.org/10.1074/jbc.M510682200>

Déconditionnement du muscle strié squelettique chez la patiente atteinte d'un cancer du sein traité par chimiothérapie : étude de la fonction, des mécanismes cellulaires et d'une contremesure par exercice excentrique

Résumé

La chimiothérapie, un traitement de référence dans le cancer du sein, est connue pour induire un déconditionnement musculaire. Cependant, la caractérisation de ce phénomène et la compréhension des mécanismes cellulaires associés étaient nécessaires. À travers 6 études cliniques menées sur 132 patientes, nous avons d'abord rapporté un déconditionnement musculaire rapide, caractérisé par une diminution de la masse musculaire, de la force et de la capacité d'exercice. En utilisant des biopsies musculaires, nous avons expliqué ces désadaptations par : des altérations mitochondriales, le développement d'infiltrations graisseuses et une atrophie musculaire. À partir de l'identification de ces mécanismes cellulaires sous-jacents, nous avons testé la faisabilité d'une contremesure basée sur le pédalage excentrique. Nous avons déterminé que le pédalage excentrique n'entraînait pas de dommage musculaire au niveau systémique et induisait un stimulus neuromusculaire élevé, permettant de considérer ce type d'exercice comme un candidat prometteur pour lutter contre le déconditionnement musculaire et améliorer *in fine* la qualité de vie des patientes.

Mots clefs : atrophie musculaire ; altérations mitochondriales ; infiltrations graisseuses ; exercice excentrique ; cancer du sein ; chimiothérapie

Abstract

Chemotherapy is extensively used to treat breast cancer and is associated with skeletal muscle deconditioning. However, the characterization of this phenomenon and the comprehensive understanding of the associated cellular processes were needed. Through 6 studies conducted on 134 patients, we first reported a fast development of skeletal muscle deconditioning as soon as 8 weeks of treatment and characterized by a decrease in muscle mass, force and exercise tolerance. Using muscle biopsies, we found these alterations to be caused by: mitochondrial alterations, intermuscular adipose tissue development and skeletal muscle atrophy. Finally, given the identification of these mechanisms, we tested the feasibility of a countermeasure based on eccentric cycling. We determined that eccentric cycling was safe in breast cancer patients and induced a high neuromuscular stimulus. Consequently, this type of exercise appears as a promising candidate to fight against skeletal muscle deconditioning and improve the patients' quality of life.

Key words: muscle atrophy; mitochondrial alterations; intermuscular adipose tissue; eccentric exercise; breast cancer; chemotherapy