HAL
open science

Exercice physique et progression du cancer de la prostate : effets combinés avec la prise d'antioxydants naturels ou la radiothérapie externe : identification de voies de signalisation redox-dépendantes

Jordan Guéritat

To cite this version:

Jordan Guéritat. Exercice physique et progression du cancer de la prostate : effets combinés avec la prise d'antioxydants naturels ou la radiothérapie externe : identification de voies de signalisation redox-dépendantes. Education. Université Rennes 2, 2015. Français. NNT : 2015REN20012 . tel-01143870

HAL Id: tel-01143870

https://theses.hal.science/tel-01143870

Submitted on 20 Apr 2015

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.

THESE / UNIVERSITE RENNES 2
sous le sceau de l'Université européenne de Bretagne

pour obtenir le titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE RENNES 2

Mention : STAPS
Ecole doctorale Vie-Agro-Santé

présentée par
Jordan Guéritat
Préparée au laboratoire Mouvement, Sport, Santé M2S (EA1274, Rennes)

Exercice physique et progression du cancer de la prostate.

Effets combinés avec la prise d'antioxydants naturels ou la radiothérapie externe : identification de voies de signalisation redox-dépendantes.

Thèse soutenue en mars 2015
devant le jury composé de :

Philippe Bougnoux
Cancérologue et Professeur, Université François Rabelais- Tours / *rapporteur*

Isabelle Petropoulos
Professeur, Université Pierre et Marie Curie - Paris / *rapporteur*

Betty Mercier
Maitre de Conférence/HDR, Université Montpellier 1 / *examinateur*

Dominique Guenot
Directeure de recherches/HDR, Université de Strasbourg / *examinateur*

Eric Le Ferrec
Maitre de conférence, Université Rennes 1 / *examinateur*

Amélie Rebillard
Maitre de conférence /HDR, Université Rennes 2 / Co-directeur de thèse

Françoise Bekono-Rannou
Professeur, Université Rennes 2 / Directeur de thèse

« On attend beaucoup de ce troisième homme, le médecin interniste cancérologue ...
Polydisciplinaire en clinique, apte à faire le progrès et à l'intégrer dans le développement de la thérapeutique, c'est ainsi qu'il doit connaître des notions approfondies de la biologie des cellules normales et des cellules cancéreuses pour appliquer en chimiothérapie les médicaments selon l'administration la plus efficace et la moins dangereuse ... C'est ainsi qu'il doit, établir la stratégie thérapeutique qu'est l'art de combiner les différents traitements entre eux. »

Georges Mathé

Il faut, pour triompher, la force du lion et la ruse du renard.

Proverbe français

« La réussite n'est pas toujours une preuve d'épanouissement,
elle est souvent même le bénéfice secondaire d'une souffrance cachée. »

Boris Cyrulnik

Je ne peux pas dire que cette page a été la plus difficile à écrire car on ne me croira pas mais il n'est jamais simple de rédiger des remerciements. D'une part parce que l'on a peur d'oublier quelqu'un, et d'autre part car cela peut sembler trop formel et trop impersonnel pour être sincère. J'espère avoir pu montrer aux gens au cours de ces années de thèse combien ils avaient comptés pour moi. Il m'est plus aisé de dire les choses que de les écrire ... mais il faut malgré tout se lancer :

Je tenais tout d'abord à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'examiner mon travail de thèse. Je remercie Monsieur Philippe Bougnoux, cancérologue et professeur de l'Université François Rabelais de Tours et Madame Isabelle Petropoulos, professeur de l'Université Pierre et Marie Curie, d'avoir accepté de rapporter ce manuscrit. Mes remerciements s'adressent également à Madame Betty Mercier, Maitre de conférences à l'Université Montpellier 1, à Madame Dominique Guenot, directeure de recherches au sein de l'Université de Strasbourg, et à Eric Le Frerrec, maitre de conférences à l'Université Rennes 1, d'avoir accepté d'être parmi les membres de ce jury.

Je remercie Monsieur Paul Delamarche, professeur de l'Université Rennes 2 et ancien directeur du laboratoire Mouvement Sport Santé, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et pour la confiance qu'il m'a accordé. Merci également à Monsieur Benoit Bideau, actuel directeur du laboratoire, qui a poursuivi cette confiance.

Mes remerciements s'adressent tout particulièrement à Amélie. Merci pour l'investissement que tu as consacré à ma formation technique et « spirituelle » à la recherche. Ta rigueur, ta curiosité, ta culture scientifique et de manière générale ton intérêt pour la recherche, sont autant de qualité qui ont motivé nos discussions quasi quotidiennes au cours desquelles tu m'as beaucoup appris. J'ai énormément apprécié ta disponibilité. Merci de m'avoir permis de m'investir dans ton projet de faire naitre au sein du laboratoire une nouvelle thématique : Exercice physique et Cancer. Je suis heureux d'avoir partagé cette longue expérience de recherche avec toi. Aussi, je tiens à te remercier pour nos discussions autres que scientifiques qui ont notamment été nombreuses lors de nos allers-retours Rennes-Nantes. Je tiens également à exprimer mes remerciements et ma reconnaissance à Françoise, ma directrice de thèse, pour ses conseils et son appui dans la réalisation de ce travail.

Mes sincères remerciements à l'ensemble du personnel du laboratoire pour leur soutien dans la résolution des problèmes techniques et administratifs et pour leurs sympathies.

Merci aux membres de mon comité de thèse, le professeur Josiane Cillard, les docteurs Marie-Thérèse Dimanche-Boitrel et Laurent Corcos, qui m'ont écouté et conseillé.

Un grand merci à l'ensemble des financeurs de ces projets : la Région Bretagne, l'Université de Rennes 2, la Fédération française de golf ou encore la Ligue contre le Cancer.

Mes plus vifs remerciements s'adressent à l'ensemble des doctorants ou anciens doctorants et je citerai Pierre dit Plantouille, Pierre-Yves, Rémy, Antoine, Thomas, Caro, Anthony pour les très bons moments que nous avons pu vivre lors de ces fructueuses années de thèse au sein du laboratoire comme à l'extérieur. Je tiens à remercier tout particulièrement Mohamad, pour nos discussions scientifiques mais aussi personnelles. J'espère t'avoir transmis la passion d'entrainer les souris !!!

Et non Camille dit Poupou, je ne t'oublie pas. Quel plaisir d'avoir pu partager avec toi la passion de la recherche mais aussi celle de la pratique du golf. Certes tes tentatives pour me faire comprendre la biomécanique ont été vaines malgré l'appui de Plantouille, mais tu as été un co-équipier brillant durant les différents trophées étudiants régionaux et nationaux de golf. Et, je compte bien sur toi pour que l'on soit sur la plus haute marche du podium cette année pour ma dernière participation à ces trophées de golf ...

Je dédie ce travail à mes parents et grands-parents pour leur amour, leur soutien et leur sacrifice, en témoignage de ma grande estime et mon amour pour eux. Merci à ma soeurette et à mon neveu pour leur motivation et les encouragements incessants qu'ils m'ont fournis en élaborant ce travail et ce malgré la distance qui nous sépare.

Un grand merci à mon cœur, pour son soutien, son aide, son écoute et surtout son amour qui me sont si précieux.

Merci à tous ceux qui ont participé, de près ou de loin, au bon déroulement de cette thèse.

Introduction..... p 15

Revue de littérature..... p 19

Chapitre I. Le cancer de la prostate : du diagnostic à la prise en charge..... p 21
- **A.** Généralités sur la prostate humaine : de la structure aux fonctions..... p 23
  - **1.** L'anatomie de la glande prostatique. ..... p 23
  - **2.** Le rôle physiologique de la prostate. ..... p 24
- **B.** De l'histoire naturelle à la classification du cancer de la prostate. ..... p 25
  - **1.** L'anatomopathologie. ..... p 25
  - **2.** La classification TNM..... p 26
- **C.** Le diagnostic clinique du cancer de la prostate..... p 28
  - **1.** Le toucher rectal. ..... p 28
  - **2.** Les marqueurs prostatiques. ..... p 28
  - **3.** Les biopsies prostatiques. ..... p 30
- **D.** Les facteurs de risque et les facteurs préventifs du cancer de la prostate. ..... p 31
  - **1.** Les facteurs de risque endogènes. ..... p 31
    - **a.** L'âge. ..... p 31
    - **b.** L'origine ethnique et géographique. ..... p 31
    - **c.** Les facteurs génétiques. ..... p 32
    - **d.** Les hormones androgènes. ..... p 33
  - **2.** Les facteurs de risques comportementaux. ..... p 33
  - **3.** Les facteurs préventifs du cancer de la prostate. ..... p 34
- **E.** La prise en charge du cancer de la prostate localisé. ..... p 37
  - **1.** La surveillance active. ..... p 37
  - **2.** La prostatectomie. ..... p 39
  - **3.** La radiothérapie. ..... p 39
    - **a.** La radiothérapie externe. ..... p 40
    - **b.** La curiethérapie. ..... p 41
  - **4.** Les nouvelles formes de thérapie. ..... p 42
- **F.** Les stratégies non-médicamenteuses dans la prise en charge du cancer. ..... p 42
  - **1.** La nutrition, un pillier des soins de support. ..... p 42
  - **2.** L'exercice physique dans la prise en charge du cancer de la prostate. ..... p 44

Chapitre II. L'implication du stress oxydant dans la carcinogenèse prostatique..... p 51
- **A.** Généralités sur le stress oxydant. ..... p 53
  - **1.** La production d'espèces réactives. ..... p 54
    - **a.** Les sources exogènes. ..... p 54
    - **b.** Les sources endogènes. ..... p 55
  - **2.** Les systèmes antioxydants. ..... p 58
    - **a.** Les défenses antioxydantes enzymatiques. ..... p 59
    - **b.** Les défenses antioxydantes non-enzymatiques. ..... p 60
  - **3.** Les effets bénéfiques des ERO et ERN. ..... p 62

4. Les dommages cellulaires oxydatifs. ..... p 63
a. La peroxydation lipidique. ..... p 63
b. L'oxydation des protéines. ..... p 64
c. L'oxydation des acides nucléiques. ..... p 65
B. L'implication du stress oxydant dans la tumorigenèse prostatique. ..... p 67
1. Le stress oxydant et les étapes de la carcinogenèse prostatique. ..... p 67
2. La perturbation des défenses antioxydantes dans le cancer de la prostate. ..... p 70
3. L'origine des ERO dans le cancer de la prostate. ..... p 71
a. L'implication des modulations génétiques et épigénétiques dans l'homéostasie redox prostatique. ..... p 71
b. La mitochondrie : une source d'ERO dans le cancer de la prostate. ..... p 72
c. Le rôle des Nox dans la production d'ERO. ..... p 73
d. Les hormones stéroïdiennes à l'origine d'ERO. ..... p 74
e. La production d'ERO induite par l'inflammation. ..... p 76
4. Les voies de signalisation cellulaire activées par les ERO à l'origine de l'évolution du cancer de la prostate. ..... p 77
a. ERO et prolifération tumorale prostatique. ..... p 78
b. ERO, de l'angiogenèse à l'invasion tumorale prostatique. ..... p 88
c. ERO et la mort des cellules tumorales prostatiques. ..... p 89
d. ERO et la régulation de l'expression des miARNs. ..... p 91

Chapitre III. Exercice physique, antioxydants et progression du cancer de la prostate : modulation du stress oxydant ? ..... p 95
A. L'exercice physique, le stress oxydant et le cancer de la prostate. ..... p 97
1. L'exercice physique : un potentiel régulateur du stress oxydant. ..... p 97
a. Les effets d'une activité physique exhaustive. ..... p 97
b. L'exercice régulier et la réponse adaptative au stress oxydant. ..... p 99
2. Les effets de l'exercice physique sur la progression tumorale. ..... p 103
B. Les apports en antioxydants naturels comme stratégie contre le cancer. ..... p 107
1. Les composés phytochimiques, les voies de signalisation et les facteurs de transcription redox impliqués dans la tumorigenèse prostatique. ..... p 107
2. *Focus* sur le jus de grenade : effets sur la tumorigenèse prostatique et mécanismes moléculaires impliqués. ..... p 110
a. Caractérisation, biodisponibilité et propriétés antioxydantes. ..... p 110
b. Jus de grenade, cancer de la prostate et mécanismes moléculaires. ..... p 112

Synthèse et Objectifs..... p 115

Contribution personnelle..... p 121

Chapitre I. Travaux expérimentaux et revue. ..... p 121
Etude expérimentale n°1..... p 123
Etude expérimentale n°2 ..... p 151
Etude expérimentale n°3..... p 169
Etude expérimentale n°4..... p 189
Revue de question..... p 207

Chapitre II. Discussion générale et perspectives. ..... p 235
A. L'exercice physique régulier ralentit la progression du cancer de la prostate. ..... p 237
B. L'identification des mécanismes moléculaires induits par l'exercice physique et impliqués dans la prévention de la progression du cancer de la prostate. ..... p 239
1. L'exercice physique prévient l'évolution tumorale prostatique via une modulation du stress oxydant et des voies de signalisation associées. ..... p 239
2. L'exercice physique limite la progression du cancer de la prostate via une modulation du profil d'expression des miARNs au sein de la tumeur. ..... p 244
3. De la modulation du cholestérol circulant à la perturbation des radeaux lipidiques : l'impact de l'exercice dans la carcinogenèse prostatique. ..... p 246
C. Les effets de l'exercice physique combiné à d'autres stratégies thérapeutiques. ..... p 249
1. L'exercice physique combiné à la prise d'antioxydants naturels inhibe les adaptations moléculaires induites par les stratégies seules. ..... p 249
2. L'exercice physique potentialise les effets de la radiothérapie concernant l'évolution du cancer de la prostate. ..... p 253

Conclusion..... p 257

Références bibliographiques ..... p 263

Annexes ..... p 315
Publications et communications..... p 317
Formations doctorales..... p 318

AMPK: *AMP-activated protein kinase*

AP-1: *activator protein-1*

Apaf-1: *apoptotic peptidase activating factor 1*

AR: androgen receptor

ARE: *antioxidant response element*

ARNm: *acide ribonucléique messager*

ASK1: *apoptosis signal related kinase*

ASMase: *acid sphingomyelinase*

Bad: *Bcl-2-associated death*

BER: *base excision repair*

CAT: *catalase*

CDK: *cyclin-dependant-kinase*

Cu/Zn-SOD: *copper zinc superoxide dismutase*

CYP3A4: *cytochrome P450, family 3, subfamily A, polypeptide 4*

DHT: *dihydrotestosterone*

EGCG: *epigallocatechin gallate*

EGFR: *epidermal growth factor receptor*

ERO: *espèces réactives de l'oxygène*

ERN: *espèces réactives de l'azote*

ERK: *extracellular signal-regulated kinase*

FOXO: *forkhead box class O*

GADD45a: *growth arrest and DNA damage 45*

GPx: *glutathione peroxidase*

GR: *glutathione reductase*

GS°: *glutathionyl radical*

GSH: *glutathione*

G*STP1: gluthation-S-transférase*

GSSG: glutathione disulfide

H°: *atomic hydrogen*

H_2: *dihydrogen*

HIF1α: *hypoxia inductible factor*

HMGcoA: *3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coenzyme A*

4-HNE: *4-hydroxynonenal*

H_2O_2: *hydrogen peroxide*

HO-1: *heme oxygenase-1*

HPC1: heriditary prostate cancer 1

HPGPx: *phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase*

HSP: *heat shock protein*

IGF: *insulin growth factor*

IKKβ: *I kappaB kinase β*

IsoP: *isoprostane*

JNK: *c-Jun NH2-terminal kinase*

LDL : *low-density lipoprotein*

LOO°: *peroxide radical*

LOOH: *lipid hydroperoxide*

MAPK: *mitogen-activated protein kinase*

MAP3K: *MAPK kinase kinases*

MDA: *malondialdehyde*

MEK: *MAPK-ERK-Kinase*

MET: *metabolic equivalent of task*

miRISC: *miRNA-containing RNA induced silencing complex*

MMPs : *matrix metalloproteinases*

Mn-SOD: *manganese superoxide dismutase*

MSR1: *macrophage scavenger receptor 1*

NADPH-oxydase ou Nox: *nicotinamide adénine di-nucléotide phosphate oxydase*

NER: nucleotide excision repair

NF-ƙB: *nuclear factor-kappa B*

NO°: *nitrogen monoxide*

Nos: *NO synthase*

Nrf-2: *nuclear related factor 2*

$O_2^{\circ -}$: superoxide anion

OGG1: *oxoguanine DNA glycosylase*

°OH: *radical hydroxyle*

8-OHdG: *8-hydroxy-2'-deoxyguanosine*

$ONOO^-$: *peroxynitrite*

8-oxodG: 8-*oxo-7,8-dihydro-2'deoxyguanosine*

OXPHOS: *oxidative phosphorylation*

PAP: *prostatic acid phosphatase*

PCAP: predisposing for cancer of prostate

PDK1: *phosphoinositide-dependent kinase 1*

PG1: prostate cancer susceptibility gene 1

PHB: *prohibitin*

PI3K: *phosphatidylinositol-3-kinase*

PIP2: *phosphatidylinositol-4,5-diphosphate*

PIP3: *phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate*

PNNS: *plan national nutrition santé*

Prx: *peroxyredoxin*

$PrxSO_3$: *peroxyredoxin sulfinylation*

PSA: *prostate antigen specific*

PTEN: *Phosphatase and Tensin homolog deleted on chromosome Ten*

PTP: *permeability transition pore*

Ref-1: *redox factor-1*

RISC: *RNA-induced silencing complex*

RR: *relative risk*

SHBG: *sex hormone binding globulin*

SGK: *serum and glucocorticoid inducible kinase*

siRNA: *small interfering RNA*

SM: *sphingomyeline*

SMase: *sphingomyelinase*

SMO: *spermine oxydase*

SNP: *single nucleotide polymorphism*

SRD5A2 : *5α-réductase de type 2*

STAT3: s*ignal transducer and activator of transcription 3*

TBARS: *thiobarbituric acid*

TNF: *tumor necrosis factor*

TNM: *tumor node metastasis*

TRAMP: *transgenic adenocarcinoma of the mouse prostate*

TRIB1: *Tribbles homolog 1*

Trx: *thioredoxin*

TrxR: *thioredoxin reductase*

VEGFA: *vascular endothelial growth factor*

XO: *xanthine oxidase*

Zip1: *zinc uptake transpoter*

Figure 1. L'appareil génital masculin (Institut National du Cancer). ..... p 23
Figure 2. Les zones anatomiques de la glande prostatique. ..... p 24
Figure 3. Représentation des grades histologiques du cancer de la prostate. ..... p 25
Figure 4. Classification TNM de 2010 et classification de D'Amico. ..... p 27
Figure 5. Accélérateur de particules (droite) et image radiographique des grains d'iodes implantés. ..... p 40
Figure 6. Les marqueurs de la tumorigenèse prostatique. ..... p 53
Figure 7. Effet des radiations sur l'ADN et formation des espèces radicalaires et non radicalaires issues de la radiolyse de l'eau. ..... p 55
Figure 8. Espèces radicalaires produites par la chaine de transport d'électron mitochondriale. ..... p 56
Figure 9. Structure des NADPH oxydases actives. ..... p 57
Figure 10. Elimination du H_2O_2 par les réactions enzymatiques combinées de la GPx et de la GR. ..... p 60
Figure 11. Mécanisme d'action du système redox thiorédoxine. ..... p 61
Figure 12. Mécanisme d'action combiné de la vitamine E et C. ..... p 62
Figure 13. Mécanisme en chaine de la peroxydation des acides gras. ..... p 64
Figure 14. Les lésions de l'ADN induites par les ERO et ERN. ..... p 65
Figure 15. Implication du stress oxydant dans la tumorigenèse prostatique. ..... p 68
Figure 16. Désordres génétiques impliqués dans la tumorigenèse prostatique. ..... p 69
Figure 17. Origine et implication des ERO dans la cellule cancéreuse prostatique. ..... p 77
Figure 18. ERO et ERN, la régulation des voies de signalisation et la modulation des facteurs de transcription impliqués dans la carcinogenèse prostatique. ..... p 83
Figure 19. Le facteur de transcription FOXO et son rôle dans la tumorigenèse prostatique. ..... p 87
Figure 20. Implication des ERO dans le processus de mort cellulaire par apoptose. ..... p 90
Figure 21. Biosynthèse et mécanismes moléculaires d'action des miARNs. ..... p 92
Figure 22. Les effets d'un exercice exhaustif ou régulier sur le statut redox. ..... p 97
Figure 23. Représentation schématique des voies de signalisation impliquées dans la régulation des défenses antioxydantes induites par l'exercice physique. ..... p 101
Figure 24. Mécanismes moléculaires suggérés par lesquels l'exercice physique régulier pourrait prévenir la progression du cancer de la prostate. ..... p 106
Figure 25. Marquage immuno-histochimique de tissus prostatiques humains. ..... p 241
Figure 26. Schéma des mécanismes moléculaires redox sensibles par lesquels l'exercice physique prévient la progression du cancer de la prostate. ..... p 243
Figure 27. Schéma de la régulation du profil d'expression des miARNs de la tumeur induite par l'exercice physique dans la prévention de la carcinogenèse prostatique. ..... p 244
Figure 28. Schéma hypothétique de la régulation des radeaux lipidiques enrichis en cholestérol induite par l'exercice physique dans la prévention du cancer. ..... p 248
Figure 29. Schéma hypothétique de l'effet potentialisé de l'exercice physique et de la radiothérapie sur l'évolution du cancer de la prostate. ..... p 256

Tableau 1. Incidence et mortalité par cancer en France chez l'homme (statistiques 2012). ..... p 22
Tableau 2. Données indispensables dans le compte rendu des résultats biopsiques. ..... p 30
Tableau 3. Critères de sélection pour la surveillance active. ..... p 38
Tableau 4. Codification de l'intensité des exercices. ..... p 45
Tableau 5. Liste non-exhaustive des dépenses en MET-h de diverses activités physiques. ..... p 48
Tableau 6. Principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote associées à leur temps de demi-vie en seconde. ..... p 54
Tableau 7. Liste non exhaustive de miARNs impliqués dans le cancer de la prostate. ..... p 93

Introduction

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, l'inactivité physique représente le quatrième facteur de risque de décès dans le monde. L'inactivité physique est l'un des problèmes de santé publique les plus sérieux à notre époque. L'évolution des modes de vie, avec une diminution de l'exercice physique, fait que les populations actuelles sont davantage sujettes à des maladies chroniques incluant le cancer. Il est par ailleurs estimé que 10% des cancers sont liés à l'inactivité [Lee2012]. Le cancer de la prostate est lui aussi un problème de santé publique majeur dans de nombreux pays occidentaux. En France, 73 609 nouveaux cas ont été recensés en 2012 et il s'agit de la troisième cause de décès chez l'homme. Au-delà des facteurs de risque non modifiables que sont l'âge et la génétique, le style de vie occidental est également mis en cause dans l'évolution du cancer de la prostate. Les mauvais comportements alimentaires et l'accroissement de la sédentarité sont étroitement corrélés à l'évolution tumorale.

L'exercice physique régulier pourrait être un facteur clé dans la prise en charge des patients atteints d'un cancer de la prostate. De nombreuses études épidémiologiques ont démontré qu'une activité physique régulière en prévention primaire diminue le risque d'adénocarcinome prostatique et contribue au bien-être et à la qualité de vie des patients [Liu2011]. Antonelli et collaborateurs ont rapporté que le stade tumoral de bas grade serait lié à la pratique d'une activité physique, chez des hommes dont la biopsie se révèle cancéreuse [Antonelli2009]. Le risque de mortalité pourrait diminuer chez les personnes augmentant leur niveau d'exercice après un diagnostic de cancer de la prostate [Kenfield2011]. Des études réalisées *in vivo* chez l'animal ont conduit à des résultats similaires. En effet, il est montré que la course ralentit de manière dose-dépendante la progression du cancer au sein d'un modèle de souris transgéniques [Esser2009]. Concernant l'alimentation, une alimentation riche en antioxydants semble réduire le risque de cancer de la prostate chez des sujets opérés ou irradiés. Ainsi, chez les hommes porteurs d'une tumeur prostatique en échappement hormonal, le jus de grenade consommé une fois par jour prolonge significativement le temps de doublement du PSA [Pantuck2006]. Une hygiène de vie saine, associant un exercice physique régulier et une alimentation équilibrée, pourrait réduire la progression et les risques de récidive du cancer de la prostate.

Quelques études récentes se sont intéressées aux voies de signalisation impliquées dans l'inhibition de la prolifération et/ou l'induction de l'apoptose. Néanmoins, **les mécanismes moléculaires impliqués restent aujourd'hui peu décrits**. Le stress oxydant pourrait précisément en faire partie car il est étroitement lié à l'âge, à l'alimentation et à l'exercice. Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers, conduisant à une perturbation du contrôle et de la signalisation redox des cellules et/ou à des dommages moléculaires [Sies2007]. En conditions physiologiques « normales », les espèces pro-

oxydantes constituées principalement par les espèces réactives de l'oxygène sont maintenues à un faible taux par le système de défenses antioxydantes qui est chargé de les neutraliser. Un exercice physique régulier et modéré permet de générer des espèces réactives de l'oxygène [Asthon1998 ; Groussard2003] capables d'engendrer des adaptations [Venditti1999] et ainsi augmenter les défenses antioxydantes de l'organisme, principalement systémiques mais aussi tissulaires [Miyazaki2001]. Même si l'augmentation du stress oxydant avec le cancer de la prostate parait inéluctable, on pourrait néanmoins le diminuer en pratiquant un exercice régulier. Les urologues recommandent, ainsi, à leurs patients en surveillance active de pratiquer 30 minutes de marche quotidiennement et de consommer du jus de grenade.

Bien que l'activité physique régulière puisse représenter une option intéressante et peu coûteuse dans la prise en charge du cancer de la prostate, en particulier dans le cadre de la surveillance active, des questions restent en suspens. A ce jour, **aucune étude ne montre l'effet de la combinaison de deux stratégies antioxydantes sur l'évolution du cancer de la prostate.** Récemment, des études montrent le rôle bénéfique de l'activité physique dans la prise en charge de la fatigue liée à la radiothérapie [Cramp2012] et de nombreux Centres de Lutte Contre le Cancer offrent aux patients la possibilité, au sein des soins de support, de bénéficier de séances d'exercice régulier. Toutefois, **aucune étude n'a étudié l'impact de l'exercice sur l'efficacité de la radiothérapie dans un modèle de cancer de prostate.** En effet, le principal effet cytotoxique de l'irradiation est la radiolyse de l'eau, conduisant à la production d'espèces réactives de l'oxygène et à la génération d'un stress oxydant qui peut induire la mort des cellules cancéreuses par apoptose. Or la combinaison d'un traitement à fort potentiel oxydant tel que la radiothérapie et l'activité physique de nature antioxydante soulève de fait une autre question : **l'exercice physique module t'elle l'efficacité de la radiothérapie ?** A l'heure actuelle, plusieurs études traitant du lien entre antioxydants exogènes et radiothérapie pointent une controverse [Borek2004] montrant que la supplémentation en antioxydants peut être soit bénéfique, soit délétère. La prise en charge par l'activité physique des patients atteints de cancer est en plein essor et montre des bénéfices sur la qualité de vie. Toutefois, il apparait légitime de devoir cartographier le statut pro/antioxydant des patients afin d'optimiser la période pendant laquelle l'exercice physique peut être envisagée.

Au cours de ce travail de thèse, nous nous sommes donc intéressés aux effets de l'exercice physique sur la progression du cancer de la prostate lorsqu'il est combiné ou non à la prise d'antioxydants alimentaires ou à la radiothérapie. Notre attention s'est principalement focalisée sur le rôle de l'exercice physique régulier dans la modulation des mécanismes moléculaires redox-sensibles impliqués dans la carcinogenèse prostatique.

Revue de littérature

Chapitre I.

Le cancer de la prostate :

Du diagnostic à la prise en charge.

En 2012, le nombre de nouveaux cas de cancer était estimé à 371 676 (211 320 chez l'homme et 160 356 chez la femme) en France et le nombre de décès à 90 111 chez l'homme et 64 461 chez la femme (Globocan 2012). Le cancer représente la première cause de mortalité depuis 2004 devant les maladies cardiovasculaires. Le coût de la prise en charge du cancer est aujourd'hui chiffré à 14,5 milliards d'euros par an, soit 10% des dépenses de l'Assurance maladie (Institut Curie 2011).

Parmi l'ensemble des cancers, l'adénocarcinome prostatique constitue un problème de santé publique majeur par sa fréquence. Le cancer de la prostate est le second cancer dans le monde et le premier en Europe et en Amérique du Nord. En 2012, son incidence était de 1,1 millions de nouveaux cas dans le monde et il représentait 15% des cancers, soit un taux standardisé de 31,1 pour 100 000 personnes-année. La mortalité du cancer de la prostate était estimée à 6,6% en 2012 avec 307 471 décès, soit la cinquième cause de mortalité par cancer chez l'homme dans le monde. En France, l'incidence du cancer de la prostate atteignait 73 609 nouveaux cas en 2012 selon les statistiques Globocan 2012. Il reste de loin le cancer le plus incident chez l'homme devant le cancer du poumon et du côlon. En 2012, le cancer de la prostate était la troisième cause de mortalité par cancer avec 8 606 décès, derrière le cancer broncho-pulmonaire et le cancer colorectal (Tableau 1).

Cancer	Incidence	Mortalité
Prostate	73 609	8 606
Poumon	28 033	22 907
Côlon-rectum	21 524	8 991

Tableau 1. Incidence et mortalité par cancer en France chez l'homme (statistiques 2012). (http : http://www.e-cancer.fr/)

Rare avant 50 ans, la grande majorité des cancers de la prostate surviennent entre 60 et 80 ans avec une nette tendance au rajeunissement. L'âge médian au diagnostic est actuellement de 73 ans. Malgré un taux d'incidence standardisé passé sous la barre des 100 cas pour 100 000 personnes-années en 2009, il est estimé qu'un homme sur huit sera atteint d'un adénocarcinome prostatique [BinderFoucard2013].

A. Généralités sur la prostate humaine : de la structure aux fonctions.

1. L'anatomie de la glande prostatique.

La prostate est une glande exocrine pelvienne, de formation musculo-glandulaire, logée dans l'espace sous péritonéal entre la symphyse pubienne et le rectum. Située à un carrefour stratégique entre la voie urinaire et la voie génitale, elle entoure la partie supérieure de l'urètre. De la forme et de la taille d'une châtaigne, elle mesure environ 3 cm de haut, 4 cm de large à sa base et 2 cm de profondeur. La glande prostatique non maligne a un volume d'environ 20 cm^3 et pèse 20 à 25 grammes chez un adulte jeune (Figure 1). La prostate est traversée par les canaux éjaculateurs, formés par la convergence des ampoules déférentielles et des vésicules séminales. Ces dernières sont des glandes accessoires appendues à la prostate.

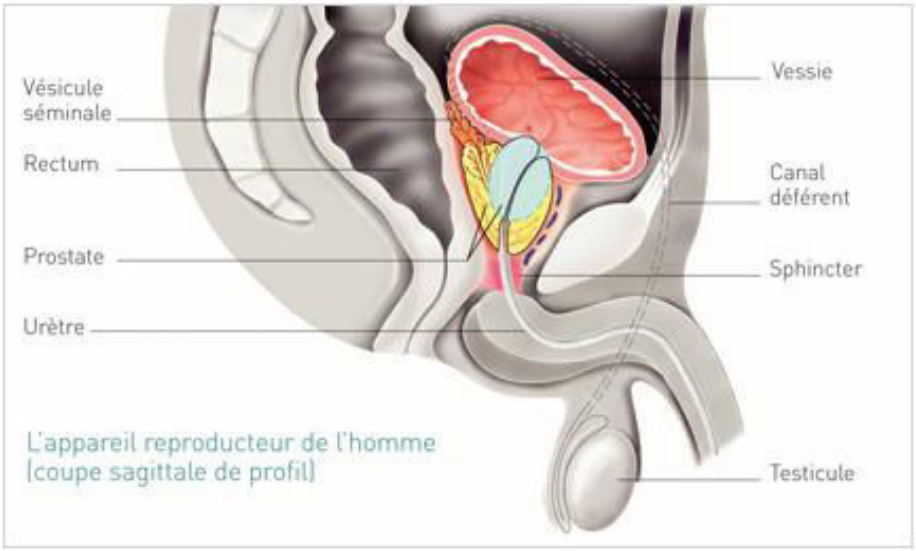

Figure 1. L'appareil génital masculin (Institut National du Cancer).

Selon le modèle anatomique proposé par Mac Neal en 1988, la prostate est composée d'un ensemble tissulaire, séparé en trois zones distinctes (Figure 2). La ***zone périphérique***, principalement composée de tissu glandulaire, est située dans les parties postérieure, latérale et apicale. Elle est le siège de la majorité des cancers de la prostate puisqu'il prend naissance dans cette zone dans 68% des cas. La ***zone de transition***, qui donne naissance à 24% des adénocarcinomes, est formée de deux lobes discoïdes entourant de part et d'autre l'urètre intra-prostatique. La ***zone centrale***, qui reçoit les canaux déférents et les vésicules séminales est rarement le siège des cancers prostatiques avec seulement 8% des cas diagnostiqués.

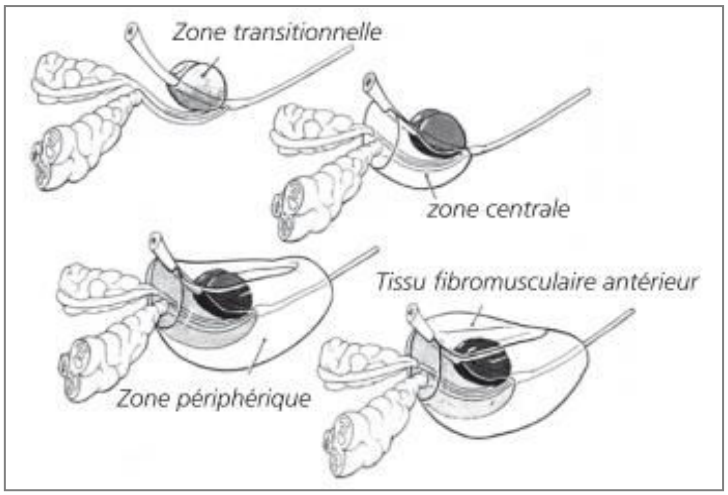

Figure 2. Les zones anatomiques de la glande prostatique (Adapté de Crawford, 2009).

Les différentes fréquences d'adénocarcinome prostatique selon les zones anatomiques sont liées aux variations histologiques subtiles au sein de la prostate. En effet, elle est composée de deux compartiments séparés par une membrane basale et une matrice extracellulaire. Le *compartiment glandulaire* représente la majorité du tissu prostatique. Il est constitué de cellules épithéliales sécrétrices et de cellules basales. Les premières forment des structures glandulaires acineuses responsables de la sécrétion du liquide séminal. Elles sont bien différenciées, riches en PSA (*prostate antigen specific*), et nécessitent une exposition continue aux androgènes pour survivre. C'est au niveau des acini que la grande majorité des tumeurs prostatiques prennent naissance. Le *compartiment fibromusculaire*, encore appelé stroma, est constitué de fibroblastes et de cellules musculaires lisses. On y retrouve également des nerfs, des cellules dendritiques et des vaisseaux sanguins. La prostate est séparée des structures adjacentes par une bande de collagène appelée capsule prostatique [Cunha2004 ; Vandenbos2004 ; Crawford2009 ; Seisen20012].

2. Le rôle physiologique de la prostate.

La prostate contient de nombreuses glandes acineuses qui synthétisent 10 à 20% du liquide séminal. Le sperme participe à la viabilité et favorise la motilité des spermatozoïdes à travers la glaire cervicale et le corps de l'utérus. Les principaux composants sécrétés par la prostate et présents dans le liquide séminal sont l'acide citrique, le zinc, la spermine, les prostaglandines, des enzymes incluant le PSA (*prostate antigen specific*) et la PAP (*phosphatase acide prostatique*) ou encore des facteurs de croissance comme EGF (*epidermal growth factors*). Un autre rôle de la prostate est la conversion de plusieurs hormones sexuelles stéroïdiennes telles que la testostérone et les œstrogènes. Par exemple, la testostérone circulante est métabolisée en DHT (*dihydrotestostérone*) dans la prostate. Il est important de préciser que la DHT est dix fois plus active sur le récepteur des androgènes au niveau des cellules épithéliales sécrétrices que la testostérone [Cussenot2004 ; Platz2004].

A l'état normal, la division des cellules est contrôlée de manière stricte et les cellules se divisent seulement quand l'organisme en a besoin. Toutefois, dans certaines circonstances, des cellules peuvent échapper à ce contrôle conduisant à la formation de cellules dites « transformées ». Les cellules « transformées » peuvent se multiplier sans raison apparente et former ainsi une tumeur.

B. De l'histoire naturelle à la classification du cancer de la prostate.

1. L'anatomopathologie.

Le cancer de la prostate est un adénocarcinome dans 95% des cas avec un point de départ attribué aux cellules sécrétrices des acini prostatiques. Dans 70% des cas, la tumeur se développe dans la zone périphérique de la prostate, tandis que la zone de transition et la zone centrale sont le siège respectivement d'environ 20% et 10% des cancers de la prostate. Par ailleurs, les adénocarcinomes prostatiques sont le plus souvent multifocaux. La progression tumorale est généralement lente avec un temps de doublement du cancer pouvant atteindre plusieurs années. Le cancer de la prostate est initialement intra-capsulaire, mais après pénétration capsulaire, la tumeur peut s'étendre aux organes du voisinage en commençant par la graisse péri-prostatique puis les vésicules séminales. L'évolution du cancer pourra être marquée par une dissémination métastasique aux niveaux ganglionnaires et osseux. L'atteinte pulmonaire est rarement décelée en clinique mais est fréquemment observée lors d'autopsies [Fournier2004a ; Vandenbos2004 ; Crawforf2009].

L'examen histologique des biopsies prostatiques occupe une place prépondérante dans le diagnostic du cancer de la prostate, dans la classification tumorale et dans la détermination de la prise en charge thérapeutique du patient. Les résultats anatomopathologiques des biopsies prostatiques sont exprimés selon la classification de Gleason. Cette dernière est basée sur le degré de différenciation ou degré d'agressivité des cellules tumorales. Le score de Gleason est le standard en matière de graduation du cancer de la prostate et repose uniquement sur des critères architecturaux définis à faible grossissement, sans tenir compte des atypies cytologiques [Collectif2002].

Le grade de Gleason comporte cinq sous-groupes notés de 1 (bien différencié) à 5 (indifférencié) selon l'architecture glandulaire de la tumeur (Figure 3). En raison de l'hétérogénéité habituelle des carcinomes prostatiques, le score de Gleason est obtenu par la somme du grade des deux contingents tumoraux les plus agressifs et les plus représentés dans la tumeur analysée. Le score de Gleason varie de 2 à 10. Le pronostic est d'autant plus défavorable que les tumeurs sont moins bien différenciées, ainsi un score élevé sera évocateur d'une tumeur agressive.

On distingue trois groupes selon le score : les tumeurs *bien différenciées* avec un score de 2 à 4, les tumeurs *moyennement différenciées* avec un score de 5 à 7 et les tumeurs *peu ou pas différenciées* dont le score est compris entre 8 et 10. Les formes les plus fréquentes diagnostiquées sur biopsie sont de score 6. Le score de Gleason est étroitement corrélé avec la mortalité par cancer, le volume tumoral, l'extension extra-prostatique et la fréquence des métastases [Gleason1992 ; Collectif2002 ; Vandenbos2004].

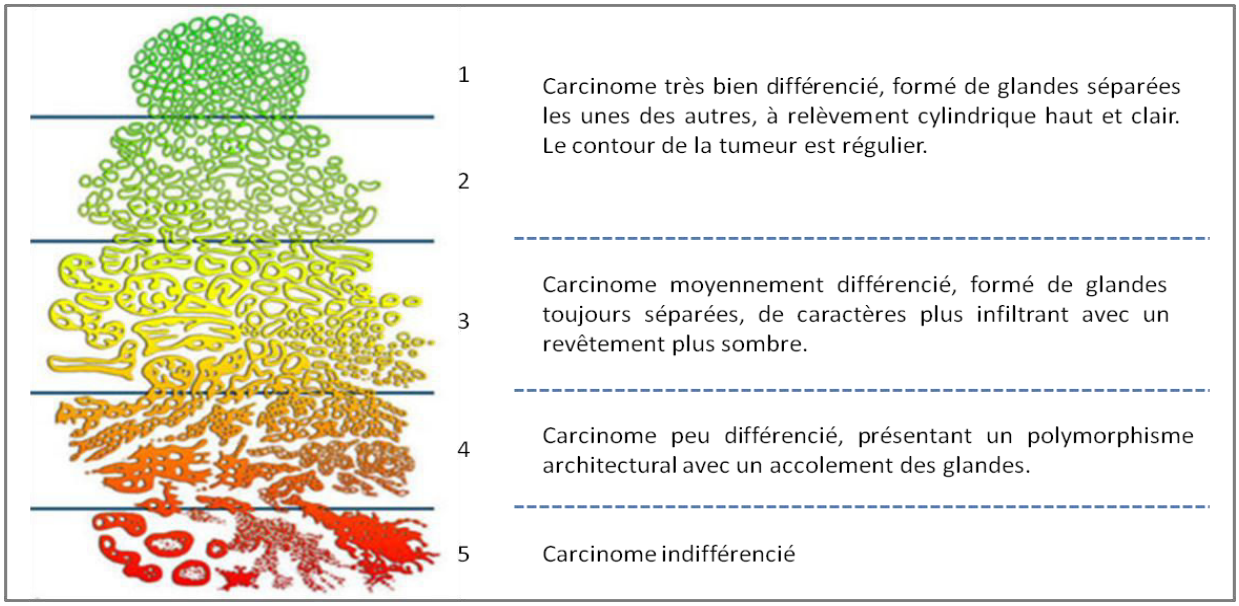

Figure 3. Représentation des grades histologiques du cancer de la prostate.
(Adapté de Gleason, 1992)

2. La classification TNM.

En association avec le score de Gleason, la stadification clinico-radiologique (TNM) est indispensable au choix et à l'ordre des traitements du cancer de la prostate. La classification TNM est une classification internationale dont l'emploi est recommandé par le Comité de cancérologie de l'Association française d'urologie. Elle évalue l'étendue du cancer au moment du diagnostic ainsi que son évolution potentielle.

Dans le système TNM, le T pour *Tumeur* correspond à l'extension locale de la tumeur primitive (tumeur localisée, localement avancée ou extra-capsulaire), le N pour *Node* (ganglion en anglais) évalue les extensions ganglionnaires des chaines pelviennes et lombo-aortiques, tandis que le M pour *Métastase* s'intéresse aux extensions métastasiques à distance (Figure 4). Un coefficient est associé à chaque lettre pour symboliser l'étendue du cancer.

Les tumeurs primitives sont parfois décrites selon leur degré d'extension sous la forme de deux lots : les *adénocarcinomes prostatiques localisés* qui correspondent aux stades T1 ou T2 et à une tumeur intra-capsulaire confinée à la glande prostatique, et les *adénocarcinomes localement avancés*, stades T3 et T4 dans lesquels la tumeur devient extra-capsulaire et s'étend ainsi aux organes avoisinants (Figure 4). Le corps médical dispose de la classification histologique de Gleason et de la classification TNM pour évaluer de manière fiable et reproductible le stade du cancer afin d'établir un pronostic précis et mettre en place une prise en charge thérapeutique adaptée [Carbillet1997, Salomon2013].

Classification TNM 2010 du cancer de la prostate

T Tumeur primitive

- TX : tumeur primitive non évaluée
- T0 : tumeur primitive non retrouvée
- T1 : tumeur ni palpable au toucher rectal (TR), ni visible en imagerie
  - T1a : tumeur occupant moins de 5 % du tissu réséqué avec un score de Gleason < 7 ou absence de grade 4 ou 5
  - T1b : tumeur occupant plus de 5 % du tissu réséqué ou un score de Gleason > 7 ou présence de grade 4 ou 5
  - T1c : tumeur découverte sur une biopsie prostatique en raison d'une élévation de la valeur des PSA
- T2 : tumeur limitée à la prostate
  - T2a : tumeur atteignant la moitié d'un lobe ou moins
  - T2b : tumeur atteignant plus de la moitié d'un lobe mais sans atteindre les 2 lobes
  - T2c : tumeur atteignant les 2 lobes
- T3 : extension au- delà de la capsule
  - T3a : extension extra- capsulaire uni- ou bilatérale
  - T3b : extension aux vésicules séminales uni- ou bilatérale
- T4 : tumeur fixée ou atteignant d'autres structures que les vésicules séminales (sphincter externe, rectum, muscles releveurs de l'anus ou la paroi pelvienne)

N Ganglions régionaux

- NX : ganglions régionaux non évalués
- N0 : absence de métastase ganglionnaire régionale
- N1 : atteinte ganglionnaire régionale
- N1 mi : métastase ganglionnaire ≤ 0,2 cm (optionnel)

Métastases à distance

- MX : métastases à distance non évaluées
- M0 : absence de métastase à distance
- M1 : métastases à distance
- M1a : atteinte des ganglions non régionaux
- M1b : atteinte osseuse
- M1c : autres sites avec ou sans atteinte osseuse

Classification pathologique (pTNM)

- pT0 : absence de tumeur identifiée après prostatectomie totale
- pT2 : tumeur limitée à la prostate
  - pT2a : tumeur limitée à un demi-lobe ou moins
  - pT2b : tumeur unilatérale avec atteinte de plus d'un demi-lobe, mais pas des 2 lobes

Classification de D'Amico du cancer de la prostate localisé

- Faible risque
  PSA ≤ 10 ng/ml **et** score de Gleason ≤ 6
  et stade clinique T1c ou T2a.
- Risque intermédiaire
  PSA entre 10 et 20 ng/ml **ou** score de Gleason 7
  ou stade clinique T2b.
- Risque élevé
  PSA > 20 ng/ml **ou** score de Gleason > 7
  ou stade clinique T2c.

Figure 4. Classification TNM de 2010 et classification de D'Amico.
(Adapté de Salomon et al., 2010)

C. Le diagnostic clinique du cancer de la prostate.

A un stade précoce, le cancer de la prostate est asymptotique et sa découverte peut être fortuite. Les signes cliniques sont perceptibles que tardivement dans la chronologie de la maladie et témoignent généralement d'un cancer localement avancé ou métastasique. Selon le volume et l'envahissement tumoral, ce cancer peut toutefois causer des symptômes généraux (fatigue, perte d'appétit, perte de poids), des douleurs pelviennes ou encore des troubles mictionnels (diminution de la force du jet urinaire, des envies fréquentes d'uriner). La dysurie témoigne souvent d'une tumeur prostatique étendue localement à l'urètre. Depuis les années 1980 et la découverte du PSA, les circonstances de diagnostic ont changé. En effet, la réalisation d'un toucher rectal et d'un dosage des PSA tous les ans dès 50 ans sont devenus les deux examens cliniques permettant un diagnostic à un stade précoce d'anomalies de la prostate chez des hommes asymptomatiques.

1. Le toucher rectal.

Comme la prostate est située juste en avant du rectum, le toucher rectal permet de palper la face postérieure de la prostate à travers la paroi rectale et donne ainsi un accès à la zone périphérique de la glande. Le clinicien peut examiner le volume, la régularité des contours et la consistance de la glande. En cas de cancer, le toucher rectal peut montrer une induration localisée ou étendue respectant ou non les contours de la prostate. D'autres causes telles que des calculs prostatiques ou une prostatite peuvent néanmoins provoquer une consistance plus dure que la prostate normale. L'absence d'induration au toucher rectal n'exclut pas la présence d'un cancer car certaines tumeurs modifient très peu la glande. Isolément, le toucher rectal est un outil insuffisant pour le diagnostic ; toutefois, il reste complémentaire au dosage du PSA sérique car jusqu'à 25% des cancers peuvent être dépistés par toucher rectal alors que le taux de PSA est normal. Une anomalie du toucher rectal est une indication formelle à la réalisation de biopsies prostatiques, et ce, même en l'absence d'élévation du PSA. Afin d'éviter les faux positifs, il est recommandé d'effectuer le bilan biologique à distance du toucher rectal [Fournier2004a ; Collectif2002].

2. Les marqueurs prostatiques.

Depuis la découverte de l'antigène prostatique spécifique (PSA) en 1979 par Wang et collaborateurs, ce marqueur sérique est devenu indispensable dans le dépistage, le diagnostic et le suivi du cancer de la prostate [Nash2000]. Il s'agit d'une sérine protéase appartenant à la famille des kallikréines, codée par le gène KLK3. Elle est sécrétée presque exclusivement par les cellules épithéliales prostatiques, mais également, en faible quantité par les glandes péri-urétrales. Le liquide séminal est richement pourvu en PSA afin de liquéfier le coagulum séminal et ainsi faciliter la migration des

spermatozoïdes. De faibles quantités de PSA sont présentes dans le sang à l'état normal chez l'homme. Le PSA circulant est sous forme complexée à des inhibiteurs de protéases (65-95% du PSA total) ou sous forme libre (5-35%) [Nogueira2009]. Une élévation du PSA sérique est le résultat d'une rupture de la membrane basale des cellules épithéliales prostatiques. Cette augmentation indique la présence d'une pathologie de la glande telle que le cancer de la prostate, mais le PSA n'est pas spécifique au cancer. En effet, la variation du PSA sérique peut être causée par une hypertrophie bénigne prostatique, une prostatite, un cancer de la prostate ou encore après une manipulation de la glande prostatique. L'origine ethnique, l'âge et l'indice de masse corporelle peuvent également influencer les niveaux de PSA. Par exemple, la population noire-africaine sans cancer de la prostate a une concentration en PSA plus élevée que les hommes caucasiens [Nogueira2009 ; Stephan2014].

Le taux de PSA est souvent difficile à interpréter. En effet, il dépend du volume de la glande, de la masse tumorale et du degré de différenciation de la prostate. Toutefois, il est admis que la limite supérieure normale est de 4 $ng.ml^{-1}$. Entre 4 et 10 $ng.ml^{-1}$, la probabilité d'avoir un cancer de la prostate est compris entre 30 et 45%. Au dessus d'un taux de PSA de 10 $ng.ml^{-1}$, la probabilité de développer un cancer est élevée : 60% si le toucher rectal est normal et 75% s'il est anormal. L'indication des biopsies prostatiques est alors indiscutable. Au-delà de 100 $ng.ml^{-1}$, les cancers détectés sont souvent avancés ou métastatiques et les patients ne peuvent plus bénéficier d'un traitement curatif par chirurgie ou radiothérapie [Ravery2002].

Pour améliorer la spécificité du PSA dans le diagnostic des tumeurs et réduire les biopsies inutiles, différents paramètres ont été développés tels que la cinétique du PSA, le temps de doublement du PSA, la densité du PSA ou encore le ratio PSA libre/total [Dijkstra2014]. Une progression rapide du taux de PSA de 0,75 $ng.ml^{-1}$ par an est un élément qui fait suspecter un cancer de la prostate. De plus, chez les patients atteints d'un adénocarcinome prostatique, on observe un taux plus élevé de PSA complexé et inversement un taux de PSA libre plus faible. Ainsi, le ratio PSA libre/total permet de discriminer le cancer d'une hypertrophie bénigne prostatique. En cas de PSA total entre 4 et 10 $ng.ml^{-1}$, au dessous de 15% PSA libre, il y a une forte probabilité de cancer et au dessus de 25% PSA libre, l'incidence d'une tumeur prostatique est seulement de 8% [Ravery2002 ; Nogueira2009].

Le dosage du PSA étant non spécifique au cancer de la prostate, il peut induire un sur-diagnostic et conduire à un sur-traitement, exposant les patients à de potentiels effets indésirables et à majorer les coûts de santé. C'est pourquoi la recherche de nouveaux bio-marqueurs plus spécifiques à la tumeur prostatique est en plein essor. Le gène PCA3 (*prostate cancer antigen 3*) et le gène de fusion TMPRSS2-ERG (*transmembrane protease, serine 2-ETS*) sont deux marqueurs urinaires surexprimés en présence d'un adénocarcinome prostatique. On peut également citer les microARNs, qui sont des

séquences non codantes d'une vingtaine de nucléotides, détectables dans le plasma, la salive ou les urines. En étant couplé au dosage du PSA, ces marqueurs pourraient améliorer la détection du cancer de la prostate et ainsi limiter le sur-diagnostic et les biopsies inutiles [Stephan20014 ; Dijkstra2014].

3. Les biopsies prostatiques.

Les biopsies prostatiques sont actuellement le seul moyen de confirmer, à la suite d'un examen clinique et d'un dosage du PSA, le diagnostic positif du cancer de la prostate. Il s'agit de prélever sans intervention chirurgicale plusieurs fragments de prostate sous guidage échographique et de les faire analyser par un médecin anatomopathologiste. Ces prélèvements sont faits à l'aide d'une aiguille spéciale, par voie rectale et sous anesthésie locale, en ambulatoire. Les biopsies, de l'ordre de dix à douze échantillons, sont réalisées au niveau médio-lobaire et latéral dans les différentes parties de la prostate (base, milieu, apex).

Le diagnostic positif d'adénocarcinome prostatique est basé sur des « critères minimum de malignité » qui reposent principalement sur des arguments architecturaux et cytologiques. Les signes majeurs sont la désorganisation architecturale des acini, des atypies cytologiques et l'absence de cellules basales. Les biopsies permettent de fournir des informations pronostiques sur le caractère unilatéral ou bilatéral du cancer, sur la taille du foyer et l'agressivité tumorale (grade du cancer exprimé selon le score de Gleason), sur le nombre de biopsies positives et éventuellement de détecter une extension extra-prostatique (Tableau 2). De nouveaux prélèvements peuvent être nécessaires après une première série de biopsies normales, notamment si une anomalie de la prostate est détectée et persiste au toucher rectal ou que les marqueurs prostatiques sériques et urinaires continuent à augmenter au cours de la surveillance [Berger2004 ; BocconGibod2004 ; Vandenbos2004 ; Salomon2010].

En cas de cancer	Longueur de la biopsie, longueur du cancer Type histologique (acinaire, ductal, autre) Score de Gleason, en précisant le grade tumoral prédominant Préciser si : - extension extra-capsulaire, - infiltration périnerveuse, - invasion vasculaire
En cas d'absence de cancer	Longueur de la biopsie (en mm) Préciser si : - néoplasie intra-épithéliale prostatique, - foyer atypique, - prostatite marquée ou granulomateuse

Tableau 2. Données indispensables dans le compte rendu des résultats biopsiques.
(adapté de Salomon et al., 2013)

D. Les facteurs de risque et les facteurs préventifs du cancer de la prostate.

Le cancer de la prostate semble lié à trois facteurs de risque clés que sont l'âge, les facteurs génétiques et l'origine ethno-géographique, et dans une moindre mesure, à des facteurs tels que l'environnement, les facteurs hormonaux et l'alimentation.

1. Les facteurs de risque endogènes.

a. L'âge.

Le cancer de la prostate est très peu diagnostiqué avant l'âge de 50 ans (0,1% des cas). Il existe une relation directement proportionnelle entre l'avancement en âge et le risque de développer un cancer de la prostate. L'âge moyen des patients diagnostiqués est compris entre 70 et 74 ans, plus de 75% des adénocarcinomes prostatiques sont diagnostiqués après 65 ans [Fournier2004b]. Une tendance à la baisse de l'âge médian de diagnostic est observée en raison du dépistage systématique par un dosage des PSA et un toucher rectal dès 50 ans. En France, les statistiques rapportent en 2012 une incidence annuelle inférieure à 300 pour 100 000 personnes-années avant 60 ans, passant à 960 pour 100 000 hommes au-delà de 70 ans [BinderFoucard2013].

Le vieillissement cellulaire semblerait perturber la physiologie et l'intégrité du tissu prostatique. L'émergence du cancer de la prostate au fil de l'avancement en âge pourrait être liée à l'accumulation de dommages à l'ADN et à la perte de contrôle du cycle cellulaire [Maudelonde2004]. De plus, la théorie radicalaire [Harman1956] ou encore l'altération de la biosynthèse d'hormones androgènes [Wang2005 ; Midzak2009] liées au vieillissement font de l'âge un facteur de risque majeur dans le développement du cancer de la prostate.

b. L'origine ethnique et géographique.

Les données issues des registres mondiaux montrent qu'il existe une très grande variation d'incidence selon les pays et des disparités sont observées également selon l'origine ethnique. Le cancer de la prostate est plus répandu en Amérique du Nord et en Europe du Nord-Ouest qu'en Asie. En Amérique, les hommes d'origine africaine ont un risque plus important de développer un cancer de la prostate (220/100 000) par rapport aux Américains caucasiens (138,6/100 000), qui sont eux-mêmes, plus à risque que les asiatiques (75/100 000) [Siegel2014]. La population d'origine noire-africaine est plus susceptible d'être diagnostiquée à un plus jeune âge, tout comme la tumeur risque d'être plus agressive et à un stade plus avancé [Ravery2002 ; Kumar2005].

Les Asiatiques expatriés aux États-Unis ont un risque plus élevé de développer un cancer de la prostate que leurs homologues restés en Asie. Cependant, l'incidence de ce type de cancer chez les Asiatiques vivants aux États-Unis reste de moitié inférieure à la population caucasienne vivant dans la même zone [Fournier2004b]. Les études de migration des populations ont conduit à prendre en compte deux notions : les contributions génétiques et environnementales.

Pour expliquer les formes plus précoces et plus agressives de tumeur prostatique dans la population noire, des facteurs génétiques et épigénétiques mais aussi hormonaux ont été évoqués. Il est par exemple observé une différence ethnique de la stimulation androgénique de la prostate. Des études ont montré une expression protéique plus importante du récepteur aux androgènes ou de la SHBG (*sex hormone binding globulin*) chez les sujets noirs africains *versus* les sujets caucasiens [Gaston2003 ; Mohler2004]. L'existence d'un polymorphisme racial pour de nombreux gènes impliqués dans la synthèse ou l'inactivation des androgènes et estrogènes tels que les gènes *SRD5A1* et *CYP3A4* pourrait expliquer les nettes variations d'incidence observées entre populations [Cussenot2004 ; Platz2004]. La variation ethnique de la synthèse et du métabolisme des hormones stéroïdiennes pourrait expliquer les taux plus élevés de cancer de la prostate chez les sujets d'origine africaine. De telles variations d'incidence géographique indiquent également que les facteurs de style de vie jouent un rôle important dans l'étiologie de la tumeur [Xiao2007]. L'incidence d'adénocarcinome prostatique est plus importante dans les pays industrialisés dans lesquels le style de vie occidental conduit à une alimentation riche en graisses et à une majoration de la sédentarité.

c. Les facteurs génétiques.

Les **formes** dites **« familiales »** sont les plus fréquentes avec environ 20% des cas de cancer de la prostate. Plus un homme a d'antécédents et plus ces derniers sont génétiquement proches de lui, plus grand est son risque de développer cette pathologie. On retrouve un risque de développer un tel cancer multiplié par deux pour des hommes ayant un parent de 1er degré atteint [Fournier2004b]. Si les antécédents de premier degré sont supérieurs ou égaux à deux alors le risque est multiplié par quatre chez les hommes caucasiens ou asiatiques et par 10 chez la population noire-africaine [CancelTassin2005].

Les **formes héréditaires** représentent 5% des cas de tumeur prostatique. La transmission peut se faire selon un mode autosomique dominant ou encore sur un mode lié au sexe. Cette mutation est donc transmise génétiquement contrairement à la forme familiale qui est favorisée par l'environnement. Depuis 1996, plusieurs locus pour des gènes de prédisposition aux formes héréditaires ont été identifiés : *HPC1 (heriditary prostate cancer 1), PCAP (predisposing for cancer of*

prostate), PG1 (prostate cancer susceptibility gene 1), MSR1 (macrophage scavenger receptor 1), HPCx, HPC20. Plusieurs variants (*single nucleotide polymorphisms*) pour les gènes *RNSAEL*, *ELAC2*, *MSR1* ont été associés au risque de tumeur prostatique [CancelTassin2005 ; Cussenot2004 ; Fournier2004b].

d. Les hormones androgènes.

La glande prostatique est un organe androgéno-dépendant. Depuis les travaux de Huggins dans les années 1940, il est largement établi que les androgènes jouent un rôle crucial dans le développement, la croissance et l'homéostasie de la prostate. Une des fonctions importantes du récepteur aux androgènes est d'activer l'expression de gènes cibles contrôlant la différenciation et la prolifération des cellules prostatiques. Les androgènes interviennent également dans la cancérogénèse prostatique en modulant une multitude de processus impliqués dans l'initiation tumorale, la croissance, la migration, l'angiogenèse, l'apoptose ou encore l'invasion [Cunha2004].

Il est important de préciser qu'au sein de la prostate, le métabolite des androgènes le plus actif est la dihydrotestostérone. Elle est synthétisée dans les cellules prostatiques via la métabolisation de la testostérone circulante par l'enzyme 5α-réductase. Il a été montré que les individus déficients en 5α-réductase et les enfants castrés avant la puberté sont protégés du développement de cancer de la prostate [ImperatoMcGinley2002 ; Oudard2005]. Même si des études ont montré qu'une testostéronémie endogène élevée pouvait majorer les facteurs de risque pour le cancer de la prostate [Makridakis2001], les données de la littérature restent controversées face à ce sujet [Eaton1999 ; Lasselin2013]. Comme évoqué précédemment, plusieurs polymorphismes du récepteur aux androgènes et des gènes impliqués dans la synthèse et le métabolisme des androgènes ont été identifiés comme facteurs de risque pour le cancer de la prostate. Par exemple, le polymorphisme du gène de l'enzyme SRD5A2 (*5α-réductase de type 2*) pourrait expliquer les variations d'activité de cette enzyme entre les différentes ethnies, et de ce fait, expliquer les variations d'incidence entre les populations [Ntais2003 ; Fournier2004b].

2. Les facteurs de risques comportementaux.

Les facteurs comportementaux comme l'alimentation influencent l'incidence du cancer de la prostate. Un régime alimentaire occidental avec une forte consommation de graisses et une consommation pauvre en végétaux semble être un facteur de risque supplémentaire [Mandair2014]. Par exemple, l'incidence de développer un adénocarcinome est majorée chez les populations asiatiques expatriées aux Etats-Unis. De même, une consommation plus importante en graisses

saturées serait responsable de l'augmentation de l'incidence de cette tumeur en Orient [Cussenot2000]. Les hommes consommant entre 30 et 40% de graisses ont un risque plus important de développer un cancer que les hommes consommant moins de 30% de graisses [Ravery2002]. Cette augmentation des risques pourrait provenir de multiples mécanismes tels que l'augmentation du taux d'hormones sexuelles, de la formation de radicaux libres, d'IGF-1 (*Insulin growth factor-1*) ou encore de l'action de la 5α-réductase [Boyle2003].

L'inactivité physique est un enjeu majeur de la santé publique puisqu'elle est responsable de 6 à 10% des maladies non transmissibles à travers le monde. Le manque d'activité physique est un véritable fléau, presque aussi important que le tabac ou l'obésité. L'inactivité est le quatrième facteur de risque de décès toutes causes confondues dans le monde. En 2012, un rapport publié dans le *Lancet* montrait qu'une personne sur 10 décède du fait d'une inactivité physique, ce qui représentait plus de 5,3 millions de décès recensés dans le monde en 2008 [Lee2012]. Friedenreich et collaborateurs ont rapporté que 9 à 19% des cancers peuvent être imputables à une activité physique insuffisante en Europe [Friedenreich2010]. Une personne est qualifiée d'inactive lorsqu'elle réalise moins de 30 minutes d'exercice physique modéré 5 jours/semaine ou moins de 20 min d'activité physique intense 3 fois/semaine ou équivalent [Pate2008 ; Tremblay2012]. Comme montré par l'Organisation Mondiale de la Santé, la cartographie mondiale de l'inactivité présente une grande hétérogénéité qui semble étroitement lié au risque de cancer. En effet, les asiatiques connus pour leur faible risque de cancers sont peu inactifs, alors que 32,5% de la population française est inactive. Au vu de ces données alarmantes, des chercheurs se sont intéressés aux effets de l'exercice physique sur le risque de cancers, et notamment de cancer de la prostate.

3. Les facteurs préventifs du cancer de la prostate.

La consommation de fruits et légumes pourrait avoir un effet protecteur contre le cancer de la prostate. Un homme consommant plus de 28 légumes par semaine diminuerait son risque d'adénocarcinome de 35% par rapport à celui qui en mange moins de 14. Ce risque passerait à 41% lorsqu'il consomme au moins 3 crucifères par semaine [Chan2001]. En effet, les crucifères contiennent des indoles et des isothiocyanates issus de l'hydrolyse des glucosinolates. Ces composés pourraient inhiber la tumorigenèse prostatique notamment par induction de la Glutathion S-Transférase Pi et de la NADPH-quinone oxydoreductase. Il a été démontré que les composants actifs des crucifères peuvent induire l'arrêt du cycle cellulaire, inhiber l'invasion et l'angiogenèse tumorale ou encore moduler des voies de signalisation cellulaire [Mandair2014]. La lutéine, contenue en grande quantité dans les crucifères diminuerait de 32% le risque de cancer de la prostate [Cohen2000].

Certains flavonoïdes, notamment l'apigénine contenue dans les fruits et légumes, exerceraient un puissant effet protecteur contre le cancer de la prostate [Shukla2005 ; 2007 and 2010]. Des études prospectives mais aussi de cas témoins et de cohortes ont pu démontrer une relation inverse entre la consommation de lycopène et le risque de tumeur prostatique. La consommation de tomates cuisinées ou crues diminuerait le risque relatif (RR=0,81-0,89) de développer une tumeur [Etminan2004]. Le lycopène, responsable du pigment rouge des tomates, pourrait moduler IGF-1 ou encore bloquer la prolifération des cellules malignes en phase G_0-G_1 du cycle cellulaire [Kucuk2002 ; Giovannucci2002].

Une alimentation équilibrée permet également de réduire les risques de cancer de la prostate via l'apport de composés antioxydants tels que les polyphénols ou les isoflavones, les vitamines ou les minéraux. Le sélénium et la vitamine E sont connus pour leurs rôles antioxydants contre les radicaux libres qui induisent des dommages cellulaires et pour leurs propriétés anti-proliératrices et pro-apoptotiques. Toutefois, une supplémentation à haute concentration pourrait conduire à l'effet inverse en étant pro-carcinogène. L'étude Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT) conclut qu'une supplémentation en sélénium ou en vitamine E ou les deux associés ne prévient pas le cancer de la prostate dans une population hétérogène d'hommes en bonne santé [Lippman2009].

Les aliments à base de soja contenant des isoflavones sont connus pour leur rôle protecteur dans l'incidence du cancer de la prostate. La génistéine, principale isoflavone, possède des propriétés inhibitrices des récepteurs de la tyrosine kinase (*epidermal growth factor receptor, EGFR*) et de la voie des MAPKs (*mitogen-activated protein kinases*) en particulier la cascade ERK (*extracellular signal-regulated kinase*) impliqués dans la tumorigenèse prostatique [Wang2004]. Le thé vert est aussi connu pour limiter l'incidence du cancer de la prostate. L'épigallocatéchine gallate (EGCG) est la principale catéchine, un polyphénol, que l'on trouve dans le thé vert. Ces actions anti-tumorales sont multiples puisque l'EGCG peut induire l'arrêt du cycle cellulaire, moduler la signalisation cellulaire, inhiber les processus inflammatoires ou encore moduler l'IGF-1 ainsi que le récepteur aux androgènes [Johnson2010 ; Geybels2013]. Sans oublier le rôle protecteur du jus de grenade dans le cancer de la prostate qui a la capacité de ralentir la progression tumorale en inhibant la prolifération cellulaire et en induisant l'apoptose [Pantuck2006 ; Seeram2007 ; Lansky2007 ; Adhami2012].

L'activité physique est associée à une réduction des risques de cancers totaux et de certains types de cancer en particulier. Il est évident que l'activité physique diminue le risque de cancer du côlon et du sein, toutefois la relation avec le cancer de la prostate reste très débattue. L'association inverse observée pour l'ensemble des cancers est exclusivement significative pour des activités physiques modérées ou vigoureuses, indépendamment de l'IMC initial ou de la consommation de tabac et

d'alcool. Depuis 1976, il existe plus de 40 études observationnelles, 44% d'études de cohorte et 66% d'études de cas, qui ont examinées l'association entre le risque de cancer de la prostate et l'activité physique [Lui2011]. La majorité de ces études ont suggéré une baisse de 10 à 20% du risque de tumeur prostatique avec une augmentation du niveau d'exercice physique [Friedenreich2001 and 2002 ; Miles2007 ; Moore2008 ; YoungMcCaughan2012]. L'étude de Wannamethee et collaborateurs montre une diminution du risque d'adénocarcinome prostatique corrélée à l'intensité de l'exercice : un risque relatif (RR)=1 pour une activité physique inférieure à modérée, un RR=0,89 pour une pratique modérée et un RR=0,25 pour des exercices vigoureux (p=0.06) [Wannamethee2002].

Dans une étude menée en 2009, tous les niveaux d'activité physique (≥3METs-h/semaine) sont associés à une tendance réductrice des risques de développer un adénocarcinome prostatique (p=0,07). La diminution du risque d'une telle tumeur est dépendante de l'intensité de l'exercice. Une réduction significative est notée pour les hommes réalisant une activité ≥9 MET-h/semaine. Ainsi, chez les hommes dont la biopsie se révèle cancéreuse, le stade tumoral de bas grade serait lié à la pratique d'une activité physique [Antonelli2009]. Ces résultats sont en adéquation avec ceux de Giovannucci et collaborateurs qui montrent qu'une pratique physique soutenue (plus de 3 heures par semaine) abaisse le risque de développer un adénocarcinome métastatique [Giovannucci2005]. De la même façon, d'autres travaux ont pu corréler un risque moindre de cancer de la prostate avec la pratique d'une activité physique de loisirs [Clarke2000 ; Littman2006 ; Patel2005 ; Orsini2009 ; Brown2012 ; Kruk2013].

Toutes les activités professionnelles manuelles, actives ou qui nécessitent d'être debout réduisent significativement le risque de développer un cancer de la prostate, et en particulier de stade avancé [Thune2001 ; Norman2002 ; Khrishnadasan2008]. Un homme sans emploi a un risque inférieur d'avoir cette pathologie par rapport à un homme ayant un travail assis [Johnsen2009]. De plus, aucune association entre l'activité professionnelle et le taux de mortalité lié à la tumorigenèse prostatique n'est relevée. Les hommes qui ont un travail exigeant une faible dépense énergétique ont un risque majoré de 10 à 50% de développer ce type de cancer. Une récente étude prospective Finlandaise a trouvé une légère diminution pour des emplois requérant de la marche mais pas pour des travaux de manœuvre [Giovannucci1998]. Bien que la plupart des études aient tendance à soutenir une relation inverse entre l'activité physique et le risque de cancer de la prostate, les résultats ne sont pas toujours significatifs et sont souvent liés à des sous-groupes spécifiques [Patel2005 ; Johnsen2009] ou à une intensité d'activité physique puisqu'un effet dose réponse est noté, avec un impact visible à partir de 9 MET-h/ semaine, seuil en dessous duquel la population est qualifiée d'inactive physiquement.

E. La prise en charge du cancer de la prostate localisé.

Les indications thérapeutiques sont établies selon trois critères : les caractéristiques histologiques du cancer dont les résultats sont issus des biopsies (score de Gleason, classification TNM et de d'Amico), les caractéristiques de la prostate (volume de la glande, retentissement sur le fonctionnement de la vessie) et les caractéristiques du patient (âge, espérance de vie, état de santé global, antécédents médicaux et chirurgicaux). En fonction de ce bilan, la prise en charge la plus adaptée à la situation est définie en accord avec le patient. Notre attention se focalisera plus spécifiquement sur les adénocarcinomes prostatiques de bas grade. La particularité des cancers de la prostate à faible risque évolutif est qu'ils relèvent d'un traitement curatif. Ainsi, quatre modalités thérapeutiques sont accessibles aux patients atteints d'un cancer de la prostate localisé. Il s'agit de la surveillance active, de la prostatectomie radicale, de la radiothérapie externe et de la curiethérapie.

1. La surveillance active.

La surveillance active est une option thérapeutique du cancer de la prostate localisé proposée à des patients qui ont une tumeur localisée à faible risque de progression. Cette stratégie consiste à ne pas traiter immédiatement le cancer de la prostate nouvellement diagnostiqué et ainsi à différer ou même éviter les traitements classiques (prostatectomie totale, radiothérapie) et leurs potentiels effets secondaires. Comme vu précédemment, le dépistage du cancer de la prostate par le dosage du PSA est associé à une augmentation considérable de son incidence et une proportion croissante de tumeurs localisées. Les adénocarcinomes prostatiques à faible risque de progression représentent la moitié des cancers de la prostate nouvellement diagnostiqués [Schröder2009]. Il existe des formes latentes du cancer, encore appelées indolentes ou non significatives, qui sont associées à un risque minime voire nulle de progression clinique et de décès. Ainsi, on estime que le risque de sur-traitement liés à la morbidité et aux complications à court et long terme des traitements radicaux toucherait près de 50% des hommes, ayant un cancer de la prostate localisé à faible risque [Miller2006 ; Bangma2013]. Au-delà du respect de la qualité de vie du patient, la surveillance active reste la stratégie thérapeutique la plus économique, et ce, malgré une augmentation des coûts médicaux au cours du suivi. En effet, il passe de 1 154$ la première année à 13 116$ au bout de 10 ans de surveillance [Eldefrawy2013].

Décrite pour la première fois en 2001, la surveillance active repose sur une sélection optimale des patients, une surveillance régulière et rigoureuse de ces derniers (clinique, biologique et histologique), ainsi que sur l'initiation d'un traitement curatif dès qu'il existe un critère de progression. Au fil du temps, les critères de sélection et de surveillance n'ont cessé d'augmenter et

de se préciser, afin de ne proposer cette stratégie thérapeutique qu'aux seuls patients dont on est presque sûr que leur cancer n'évoluera pas. En effet, les critères d'inclusion se sont affinés depuis la première étude prospective randomisée : l'étude ProtecT. Ces critères de sélection au diagnostic combinent les données du toucher rectal, du PSA et des biopsies prostatiques (Tableau 3) [Perrin2006 ; Bastian2009 ; Drouin2010 ; Xylinas2011 ; Staerman2011 ; Bul2013].

Les critères de surveillance active sont assez empiriques et varient selon les équipes. Si on se base sur le protocole de l'essai prospectif SurACaP débuté en France en 2008, il consiste pendant les deux premières années à un dosage du PSA tous les trois mois, un toucher rectal tous les six mois et des biopsies prostatiques tous les ans avec au moins dix prélèvements. Puis les années suivantes, la surveillance consiste en un dosage du PSA et un toucher rectal tous les 6 mois et des biopsies tous les deux ans [Xylinas2011]. Certaines équipes suggèrent l'utilisation de la cinétique du PSA, avec un temps de doublement inférieur à trois, comme critère de progression. D'autres s'intéressent au rapport PSA libre/total ou encore à l'estimation précise du volume tumoral par IRM de diffusion. Dès qu'un critère ne correspond plus aux critères de sélection (Tableau 3), l'adénocarcinome prostatique doit être considéré comme agressif. La surveillance active est alors stoppée et une nouvelle option thérapeutique est envisagée pour traiter la tumeur [Bastian2009 ; Drouin2010 ; Staerman2011].

Critères admis	**- PSA ≤ 10 ng.ml^{-1}** **- stade tumoral ≤ T2a** **- score de Gleason ≤ 7**
Critères supplémentaires	- densité du PSA < 0.1 - doublement des PSA < 2 à 3 ans - biopsie sans grade 4 ou 5 - biopsies positives < 3 sur un nombre de carottes ≥ 10 - envahissement par biopsie < 50% - foyer unique de cancer < 5% du volume des biopsies prostatiques - foyer unique de cancer ≤ 3 mm sur une seule biopsie - consentement du patient

Tableau 3. Critères de sélection pour la surveillance active.

Malgré des divergences quant à la caractérisation des formes latentes du cancer de la prostate, il existe quelques données sur la surveillance active des tumeurs localisées à faible risque de progression. L'étude prospective la plus aboutie est l'expérience canadienne de Klotz et collaborateurs montrant une survie globale de 78,6% et une survie spécifique de 97,2% à dix ans. Après 64 mois de traitement, seuls 34% des patients ont arrêté la surveillance active, dont quasi la moitié sur demande sans qu'il y ait d'évolution tumorale.

Une des limites des critères de sélection et de surveillance utilisés par cette équipe est liée au sous-diagnostic des tumeurs des 24 patients ayant subi une prostatectomie totale [Klotz2010]. Une autre étude reposant sur des critères d'inclusion et de suivi plus stricts montre qu'un traitement différé de trois ans n'a pas d'effet négatif sur les caractéristiques anatomopathologiques des pièces opératoires *versus* celles de patients aux mêmes critères d'inclusion initiaux ayant choisi directement une prostatectomie [Warlick2006]. La surveillance active semble donc être une option thérapeutique à part entière dans la prise en charge de patients atteints d'un cancer de la prostate localisé. Malgré tout, les modalités d'inclusion et de suivi non standardisées imposent la réalisation d'un travail prospectif contrôlé. Les résultats de l'essai SurACaP, réalisé dans le cadre d'un PHRC en France, conduiront peut-être à une optimisation des critères de sélection et de suivi des patients désireux de différer ou éviter les traitements classiques et leurs complications.

2. La prostatectomie.

La prostatectomie totale est le traitement de référence des tumeurs localisées de la prostate pour des hommes âgés de moins de 75 ans dont l'espérance de vie est supérieure à dix ans. C'est un traitement local du cancer qui consiste à l'exérèse de la glande prostatique dans son ensemble ainsi que des vésicules séminales. Après avoir retiré la prostate, une anastomose est réalisée entre la vessie et l'urètre [Bastide2009 ; Long2011 ; Salomon2013]. L'ensemble des tissus retirés sont analysés au sein d'un laboratoire d'anatomopathologie afin de déterminer jusqu'où les cellules cancéreuses se sont propagées. Cette analyse permettra la stadification précise du cancer et de définir si un traitement complémentaire tel que la radiographie est nécessaire après chirurgie [Salomon2013].

3. La radiothérapie.

La radiothérapie est avec la chirurgie et la chimiothérapie, une des méthodes de traitement les plus anciennes et les plus utilisées dans la lutte contre le cancer. La radiothérapie est un traitement locorégional des cancers qui est impliqué dans le traitement de 60% des patients atteints de cancer. Cette stratégie thérapeutique d'irradiation peut être employée seule et est alors appelée radiothérapie exclusive, mais elle est souvent associée avec la chirurgie ou un traitement médicamenteux. On distingue la radiothérapie externe où la source de rayonnements ionisants est située à proximité du patient et la curiethérapie où les sources radioactives sont implantées directement à l'intérieur de l'organisme du patient (Figure 5).

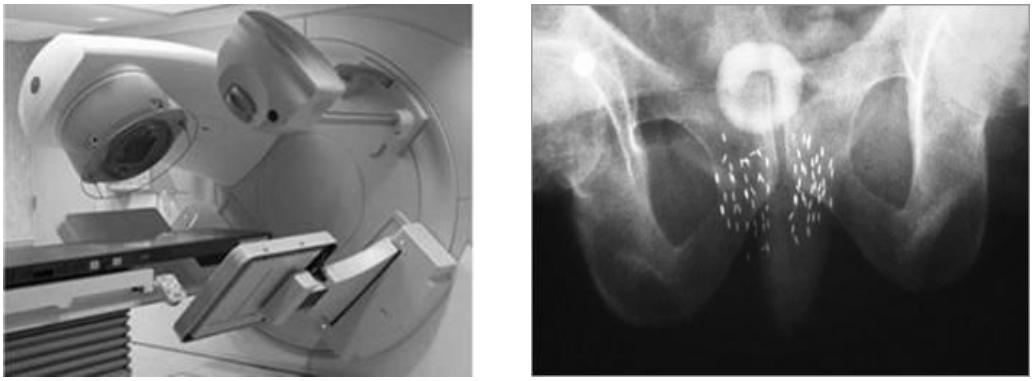

Figure 5. Accélérateur de particules (droite) et image radiographique des grains d'iodes implantés. (gauche) (http://www.centre-eugene-marquis.fr/)

a. La radiothérapie externe.

Cette option thérapeutique est reconnue comme étant l'un des traitements de référence pour les adénocarcinomes prostatiques localisés [Collectif2002]. La radiothérapie externe consiste à utiliser des rayonnements ionisants pour détruire les cellules cancéreuses en bloquant leur capacité à se multiplier. L'objectif est de détruire les cellules tumorales tout en minimisant la toxicité sur les tissus sains et les organes avoisinants, aussi appelés organes à risque. Le fractionnement de la dose totale de la radiothérapie a pour but de diminuer la toxicité sur les tissus normaux qui ont la capacité de réparer les lésions radio-induites sub-létales, tout en préservant l'efficacité sur les tumeurs qui accumulent les lésions sans pouvoir les réparer : c'est l'effet différentiel de la radiothérapie. En radiothérapie externe, la dose de rayonnements recommandée par séance est de 1,8 à 2 Gy/séance à raison de cinq séances par semaine étalées sur sept à huit semaines de traitement pour une dose totale de 70 à 76 Gy [Toledano2012].

Les progrès technologiques ont permis une évolution vers des techniques de conformation tridimensionnelle offrant une répartition de la dose adaptée à l'anatomie de chaque patient. La généralisation de la radiothérapie conformationnelle du cancer de la prostate tend à allonger la survie des patients tout en réduisant les complications à long terme [Gross2011]. Ainsi les taux de survie à 10 ans, sans signe de récidive, sont de 70% pour les stades T1 et 50% pour les T2. Les résultats de contrôle local clinique, de 80 à 100% pour les stades T1-T2, démontrent l'efficacité de cette technique qui représente une alternative à la prostatectomie [Lee1994].

Aujourd'hui de nouveaux fractionnements sont testés dans le cadre d'essais prospectifs randomisés. Au cours de ces dix dernières années, de nombreux essais se sont intéressés à l'hypofractionnement dans le traitement du cancer de la prostate localisé. Son principe consiste à délivrer une dose de rayonnements ionisants identique, voire supérieure à un schéma standard, tout en diminuant le nombre de séances et en augmentant la dose de radiations ionisantes par séance [Boissier2010 ;

Supiot2013]. L'hypofractionnement pourrait améliorer les résultats carcinologiques selon l'étude comparative d'Arcangeli et collaborateurs. En effet, ils ont montré qu'un hypofractionnement de la radiothérapie sur une durée de trois semaines améliore significative le taux de survie sans récidive à quatre ans (82%) et que la radiotoxicité était acceptable voire inférieure comparée à une radiothérapie normofractionnée [Arcangeli2010]. Toutefois, le recul de cette stratégie n'est pas encore suffisamment long pour permettre à l'hypofractionnement de devenir un standard dans le traitement du cancer localisé de la prostate par radiothérapie.

En dépit d'une amélioration des techniques de radiothérapie, il existe un risque d'altération de cellules saines situées à proximité de la zone traitée par les rayonnements. Bien que les cellules saines soient capables de se régénérer à l'inverse des cellules tumorales, ces altérations peuvent entrainer des effets secondaires immédiats transitoires (urinaire et rectal) et/ou des effets tardifs au niveau urinaire, digestif ou sexuel. Une étude montre une mortalité de 0,2%, des effets secondaires sévères et une incontinence dans respectivement 1,9% et 0,9% des cas avec un recul de cinq ans. Ainsi, la principale complication semble être les troubles de l'érection qui surviennent progressivement chez 40 à 67% des patients [Fournier2004c]. Au-delà de ces effets indésirables liés directement à la radiothérapie, la fatigue physique et morale est souvent la conséquence du protocole thérapeutique. L'appréhension des traitements et les déplacements quotidiens pour se rendre aux séances de radiothérapie entrainent un état de fatigue généralisée aux répercussions importantes sur les activités quotidiennes ainsi que sur la qualité de vie.

b. La curiethérapie.

La curiethérapie est une modalité thérapeutique possible pour certains cancers de la prostate localisés à faible risque. Elle représente notamment une alternative crédible à la prostatectomie radicale. Ce traitement très localisé de la tumeur consiste à placer des sources radioactives à l'intérieur de la prostate. Les grains radioactifs sont implantés de manière définitive dans la prostate par voie transpérinéale écho-guidée. Les isotopes sont l'iode 125 qui est le plus fréquemment utilisé en France et le palladium 103. Ces implants radioactifs de faible énergie émettent des rayonnements ionisants limités à la prostate et aux tissus situés trois à quatre millimètres au-delà de la capsule prostatique [Chauveinc2002 ; Peiffert2005]. L'objectif de cette option thérapeutique est double, d'une part majorer l'efficacité anti-tumorale et d'autre part minimiser les effets secondaires sur les tissus sains environnants. Avec la curiethérapie exclusive par implants permanents, le taux de survie sans rechute biologique à dix ans varie de 85 à 95% [Chauveinc2002 ; Fournier2004c ; Peiffert2005 ; Cosset2008 ; Salomon2010 ; Bossi2010].

Concernant les effets secondaires, la curiethérapie entraine le plus souvent des troubles mictionnels immédiats après implantation des éléments radioactifs. La seule toxicité tardive en lien avec la curiethérapie exclusive serait des troubles de l'érection observés dans 25 à 50% des cas. A cela s'ajoute évidemment la fatigue physique et/ou morale engendrée par le traitement [Fournier2004C ; Peiffert2005 ; Cosset2008 and 2013].

4. Les nouvelles formes de thérapie.

De nouvelles options thérapeutiques dans le traitement du cancer de la prostate localisé sont en cours d'évaluation et de validation. Ces traitements focalisés ont pour objectif de traiter les tumeurs en réduisant les effets secondaires sur les tissus sains péri-tumoraux afin de préserver les fonctions génito-urinaires et la qualité de vie des patients. Il s'agit du traitement par ultrasons de haute fréquence (HIFU) et du traitement par cryothérapie ou cryochirurgie.

F. Les stratégies non-médicamenteuses dans la prise en charge du cancer.

En association avec les options thérapeutiques classiques précédemment décrites, il existe également des soins dits de support qui sont proposés afin d'assurer aux patients atteints d'un cancer une prise en charge globale tout au long de la maladie. Les soins de support répondent à des besoins pouvant survenir pendant et après le cancer, et qui concernent principalement la prise en compte des symptômes liés à la pathologie et aux traitements tels que la douleur, la fatigue, les problèmes nutritionnels, les troubles génito-urinaires, les difficultés sociales et psychologiques. L'un des aspects fondamentaux de ces soins de support est la continuité entre les établissements de soins et le domicile des patients (circulaire DHOS/SDO/2005/101).

1. La nutrition, un pilier des soins de support.

Un régime alimentaire équilibré induit des effets bénéfiques sur l'évolution de la pathologie, comme précédemment décrits. Une alimentation optimale présente aussi de multiples avantages pour les patients atteints d'un cancer pendant et après les traitements. Une intervention nutritionnelle en accompagnement des traitements curatifs classiques permet notamment une meilleure réponse à la chimiothérapie et/ou à la radiothérapie, tout en limitant la toxicité et les effets secondaires associés à ses options thérapeutiques [McGough2004 ; Ornish2005 ; Rock2005]. La malnutrition et la perte de poids touche environ 20% des patients atteints d'un cancer et varie très largement entre les cancers puisque la prévalence est de 9% pour les patientes atteintes d'un cancer du sein et est de 80% pour les patients ayant un cancer de l'œsophage [Capra2001 ; DemoorGoldschmid2009].

A la suite du diagnostic d'un cancer, les patients ont tendance à changer leurs habitudes alimentaires en raison des effets systémiques de la maladie, des effets directs de la tumeur, des effets psychologiques ou des effets des traitements [Rock2012]. De plus, la modulation du statut nutritionnel semble également résulter de perturbations du métabolisme des glucides, lipides et protides ayant pour origine le cancer lui-même ou les thérapies anticancéreuses [VanCutsem2005]. Les conséquences de la malnutrition incluent un affaiblissement de la réponse aux traitements, de la fonction immunitaire, de la fonction musculaire et une augmentation significative des effets indésirables tels que la fatigue et les malaises. Ceci contribue à réduire la qualité de vie des patients, accroitre les temps d'hospitalisation et impacte donc la morbidité et la mortalité [Brown2003 ; MarínCaro2007 ; Paccagnella2011].

L'American Cancer Society (ACS) recommande de limiter les aliments riches en sucre, en sel et en matière grasse, et de limiter les viandes rouges ou transformées, mais aussi de réduire la consommation d'alcool à un maximum d'un verre par jour chez l'homme. Par contre, il est recommandé de consommer cinq portions de fruits et légumes par jour [Davies2011; Doyle2006; Kushi2012]. Pendant la phase active du traitement d'un cancer, les objectifs globaux associés aux soins de supports nutritionnels consistent à empêcher ou résoudre des insuffisances nutritives, maintenir ou obtenir un poids sain stable, limiter la perte de masse maigre, réduire au minimum l'agueusie et la perte d'appétit, et ce, notamment afin de maximiser la qualité de vie du patient [Rock2012].

Si une alimentation équilibrée, riche en fruits et légumes, semble avoir de nombreux effets bénéfiques, les données restent très controversées concernant la prise de compléments alimentaires durant et après le traitement. Actuellement, il est donc recommandé de ne pas avoir recours à une supplémentation en vitamines, minéraux ou autres antioxydants en absence de carence [Doyle2006]. Ces indications reposent sur la théorie, selon laquelle la prise de compléments non naturellement apportés par l'alimentation pourraient prévenir les dommages oxydatifs des cellules cancéreuses et ainsi limiter l'efficacité des traitements classiques basés sur un effet oxydant tels que la radiothérapie et la chimiothérapie [Rock2012 ; Kristal2014]. L'utilisation de compléments alimentaires doit être prescrite par un médecin en raison d'une insuffisance et/ou carence diagnostiquée à la suite d'une analyse sanguine.

2. L'exercice physique dans la prise en charge du cancer de la prostate.

L'activité physique est définie comme « tout mouvement corporel, produit par la contraction des muscles squelettiques entrainant une augmentation de la dépense d'énergie » au dessus de la dépense de repos [Caspersen1985]. Elle est composée de quatre catégories que sont les activités professionnelles ou occupationnelles, les activités de loisirs, les activités domestiques et les activités de déplacement [Khan2012]. L'activité physique au sens large inclus donc tous les mouvements effectués dans la vie quotidienne et ne se réduit pas à la seule pratique sportive. Un exercice physique régulier ou entrainement physique correspond à une activité physique planifiée, structurée et répétée dont la finalité est d'améliorer ou de maintenir les capacités physiques d'un individu [Caspersen1985].

Un exercice physique régulier d'intensité modérée, tel que la marche, induit de multiples bénéfices sur la santé mais son rôle dans le cancer a été peu exploré. Ce n'est que depuis une dizaine d'années que les chercheurs tentent de comprendre les éventuels liens entre la pratique d'une activité physique et le cancer. Il a été démontré que l'exercice physique pouvait réduire le risque de cancers, moduler l'évolution de certains types de cancers mais aussi impacter directement les symptômes des patients [Courneya2011]. Le cancer pour lequel ces éléments sont le plus décrits est le cancer du sein. Il est clairement admis aujourd'hui qu'un exercice physique régulier et bien conduit diminue le risque de cancer du sein, son évolution et sa rechute [Courneya2011], tout en contrôlant les troubles associés à cette pathologie comme la fatigue, la détresse psychologique, la prise de masse grasse, la perte de force musculaire et la qualité de vie. Le premier essai randomisé dans ce domaine date de 1989. Il montre chez 45 femmes porteuses d'un cancer du sein de stade II sous chimiothérapie qu'un exercice aérobie de dix semaines améliore non seulement la capacité fonctionnelle et la composition corporelle, mais réduit également les nausées induites par la chimiothérapie. Cette étude pionnière dans ce domaine démontre la faisabilité ainsi que les bénéfices apportés par l'exercice physique dans la prise en charge des patients sous chimiothérapie [Winningham1988 et 1989 ; MacVicar1989].

Certains des mécanismes conduisant aux effets anticancéreux de l'exercice physique chez des femmes atteintes d'un cancer du sein ont même été identifiés: modulation des taux d'œstrogènes libres, régulation de certaines adipokines (adiponectine, leptine), amélioration de la sensibilité à l'insuline, modulation des voies de signalisation impliquées dans la dépense énergétique (AMPK). En ce qui concerne le cancer de la prostate, les effets restent plus controversés. La majorité des études chez l'homme s'est concentrée sur l'effet de l'exercice physique en prévention primaire. Très peu de travaux ont étudié son effet chez des patients au cours ou après les traitements.

En 2012, une revue systématique indique que l'exercice physique (marche, vélo, exercice de force, yoga) chez des patients atteints d'un cancer, incluant le cancer de la prostate, sous traitement conduit à de nombreux effets bénéfiques que ce soit sur la qualité de vie, la fonction physiologique, la fonction émotionnelle et sociale. Il est également observé une diminution de la fatigue, de l'anxiété et de la dépression induite par le cancer et les traitements [Mishra2012]. Tous ces effets positifs induits par l'exercice physique régulier sont plus prononcés avec des activités d'intensité modérée ou vigoureuse *versus* des programmes d'exercice d'intensité légère (Tableau 4).

Lorsque l'on s'intéresse aux effets de l'exercice physique chez des patients porteurs de tumeurs de la prostate, les auteurs ont préférentiellement axé leurs recherches sur les symptômes (qualité de vie, fatigue, capacités cardiorespiratoires, composition corporelle, dépense énergétique) et une abondante littérature traite des patients sous hormonothérapie. Une récente revue rapporte chez des hommes ayant un cancer de la prostate traité par déprivation androgénique que des exercices physiques réguliers d'endurance et/ou de renforcement musculaire améliorent la fatigue, la force musculaire, les capacités cardiorespiratoires, la masse maigre et la qualité de vie [Gardner2014].

Intensité	Indicateur	Type d'exercice
Légère	30-40% FC-max	marche (3-5 km/h) ou vélo (16 km/h)
Modérée	55-70% FC-max	marche (≥ 5 km/h) ou vélo (16-30 km/h)
Vigoureuse	71-95% FC-max	marche (≥ 8 km/h) ou vélo (≥ 30 km/h)

Tableau 4. Codification de l'intensité des exercices (Mishra et al., 2012).

L'équipe du Pr. Newton montre par exemple qu'un programme de douze semaines d'exercice aérobie et de renforcement musculaire augmente significativement la masse maigre et la force musculaire de patients sous hormonothérapie *versus* des hommes atteints d'un cancer prostatique non inclus dans le programme d'entrainement. Ils observent également un progrès significatif des patients au test de marche de six minutes. Ce programme d'exercice a donc conduit à une amélioration de la qualité de vie des patients sous traitement et à une diminution de la fatigue [Galvao2010]. Segal et collaborateurs montrent qu'un programme d'exercice de renforcement musculaire 3 fois/semaine pendant douze semaines réduit la fatigue, améliore la qualité de vie et la condition physique musculaire chez des hommes sous hormonothérapie anti-androgénique atteints d'un cancer de la prostate *versus* des hommes traités ne pratiquant pas d'exercice [Segal2003]. Similairement, il est rapporté qu'un entrainement progressif de renforcement musculaire mène à des effets bénéfiques sur la force et la performance fonctionnelle musculaire aboutissant à une amélioration de la fonction physique et donc de la qualité de vie des patients atteints d'un

adénocarcinome prostatique sous thérapie [Galvao2006]. L'exercice physique pourrait prévenir les effets secondaires cognitifs et psychosociaux liés au cancer mais aussi aux traitements [Lee2012].

Un entrainement en endurance améliore la sensibilité à l'insuline dans le tissu périphérique, la composition corporelle notamment en réduisant la masse grasse et la quantité de tissu viscéral adipeux chez les patients atteints d'un cancer de la prostate recevant un traitement anti-androgénique. L'ensemble de ces données confirme que l'exercice physique régulier pourrait prévenir les effets secondaires induits par les traitements thérapeutiques curatifs [Hvid2013]. Une étude pilote s'intéresse aux effets d'un programme de marche sur la densité minérale osseuse de patients atteints d'un cancer de la prostate sous traitement. Les stratégies anticancéreuses sont fréquemment associées à des effets secondaires musculo-squelettiques qui augmente le risque d'ostéoporose et de fracture, pouvant compromettre la qualité de vie du patient. Un exercice de marche pourrait chez ces patients promouvoir leur santé osseuse et ainsi assurer le maintien de leur fonction physique et de leur qualité de vie [Lee2012]. L'exercice a également été montré pour améliorer le dysfonctionnement sexuel de patients sous thérapie anti-androgénique pour des cancers de la prostate avancé. Après douze semaines d'exercice aérobie et de renforcement musculaire deux fois par semaine, les hommes inclus dans le groupe d'intervention rapportent une augmentation significative de l'intérêt et de l'activité sexuelle *versus* le groupe contrôle pour lequel il est observé une diminution de ces deux paramètres [Cormie2013].

Quelques rares études s'intéressent aux effets d'un programme d'exercice aérobie ou de renforcement musculaire chez des patients atteints d'un cancer de la prostate sous radiothérapie. Monga et collaborateurs montrent qu'un exercice de marche de 30 minutes sur tapis roulant améliore significativement la fatigue, les capacités cardiorespiratoires, la force et la souplesse *versus* des patients sous radiothérapie non inclus dans le programme d'exercice. Au-delà de ces observations, il est rapporté une amélioration du bien-être physique, moral, social et fonctionnel des patients suivant un entrainement physique pendant leur traitement [Monga2007]. Windsor et collaborateurs montrent chez des patients atteints d'un adénocarcinome prostatique localisé sous radiothérapie qu'un exercice de 30 min de marche au moins trois jours/semaine à 60-70% de la FC-max durant le traitement permet de prévenir l'augmentation de la fatigue liée au traitement *versus* le groupe contrôle. Une augmentation significative de 13,2% de la distance de marche est rapportée à la suite d'un test navette [Windsor2004]. Une autre étude montre qu'à court terme, les exercices de résistance et d'endurance préviennent la fatigue chez des hommes atteints d'un cancer de la prostate sous radiothérapie.

Toutefois, seul l'entrainement en renforcement musculaire permet de maintenir ces bénéfices sur le long terme. Au-delà de la fatigue, les exercices de résistance ont permis l'amélioration de la qualité de vie, de la force musculaire, des triglycérides et du pourcentage de masse grasse chez ces patients [Segal2009]. Par conséquent, de nombreuses études et revues rapportent les bienfaits de l'exercice physique régulier dans la prévention des symptômes associés au cancer de la prostate et aux traitements.

En France, le développement de l'activité physique en cancérologie a été promu par le 2nd Plan cancer 2009-2013. A l'instar de ce dernier, le 3ième Plan cancer 2014-2019 s'inscrit dans une continuité et met l'accent sur la promotion de l'activité physique encadrée et adaptée dans la prise en charge des personnes atteintes de cancer. Les objectifs de ce Plan cancer sont d'une part de systématiser la prévention des comportements sédentaires en rendant accessible l'offre d'activité physique ou sportive adaptée dans le quotidien des patients, au sein des établissements de santé comme à l'extérieur, et d'autre part de sensibiliser les professionnels de santé et les patients de l'intérêt d'intégrer une activité physique adaptée dans le parcours de soins.

L'exercice physique peut être proposé de manière bénéfique à toute personne atteinte de cancer, en cours de traitement ou après traitement. Toutefois, la mise en place d'un programme d'activité physique adaptée nécessite une étude des aptitudes et des facteurs limitant à la pratique d'un exercice. Un certificat médical est obligatoire quelques soient les conditions de pratique. Le type d'activité, son intensité, sa fréquence et sa durée permettent de doser et caractériser l'activité physique. Toute activité physique provoque une dépense énergétique qui est mesurée en kilocalories (kcal) ou en kilojoules (kJ) dont l'équivalence est 1 kcal = 4,184 kJ [Caspersen1985]. Le niveau d'effort ou coût énergétique requis pour une activité physique est estimé en multiples du métabolisme de base ou équivalent métabolique, noté MET (*metabolic equivalent of task*). La valeur du MET pour un adulte correspond à la dépense énergétique de repos 3,5 ml O_2/min/kg [Howley2001]. Un exercice physique modéré, 3-6 METs, exige par exemple une consommation d'oxygène 3 à 6 fois plus importante que la dépense énergétique de repos estimée à 1 MET [Ainsworth2000]. Un compendium des activités physiques permet d'accéder à une classification des activités physiques spécifiques par niveau de dépense énergétique en MET (Tableau 5). Toutefois, les coûts énergétiques sont à ajuster selon le niveau d'activité physique initial de la personne et le poids. Le niveau d'activité physique peut être exprimé en MET-h/semaine définissant ainsi l'intensité totale d'activité physique au décours d'une semaine ; par exemple, un homme pratiquant trois parcours de golf 18 trous par semaine a un niveau d'activité physique de 3 (fréquence) x 4 (durée en heure) x 3 (dépense en MET-h pour la pratique du golf) = 36 MET-h/semaine.

Des recommandations ont été élaborées en vue d'informer les professionnels de santé et les personnes atteintes de cancer des bénéfices d'une alimentation équilibré et d'une activité physique quotidienne pour le maintien de la santé notamment en prévention des maladies non transmissibles telles que le cancer. Ces recommandations englobent les activités récréatives, de loisirs, sportives, professionnelles mais aussi de déplacement et les tâches ménagères réalisées dans la vie quotidienne. Actuellement, les recommandations internationales en activité physique préconisent de limiter les comportements d'inactivité en pratiquant au moins 150 min d'exercice physique modéré par semaine en y intégrant au moins deux séances de renforcement musculaire [Rock2012]. Les recommandations françaises, quant à elles, mises en place via le PNNS (*plan national nutrition santé*) recommandent d'effectuer 30 min d'activité physique modérée (3-6 METs) tous les jours ou équivalent supérieur à 9 METs-h/semaine. Ces conseils en hygiène de vie permettent un niveau d'exercice physique minimum pour le maintien de l'état de santé. Toutefois, pour augmenter les bénéfices sur la santé, il est préconisé d'effectuer au minimum 300 min d'activité physique modérée ou 150 min d'activité soutenue par semaine.

Marche ordinaire (5 km/h) 3 MET	Marche au travail (5 km/h) 3 MET	Marche rapide (≥5 km/h) 5 MET	Activité extérieure (jardinage) 5 MET
Jogging (8 km/h) 8 MET	Jogging (10 km/h) 10 MET	Natation 7 MET	Aviron 6 MET
Cyclotourisme 7 MET	Ski alpin 6 MET	Ski de randonnée 8 MET	Marche en raquette 8 MET
Tennis 7 MET	Squash 12 MET	Golf avec chariot 3 MET	Golf avec sac trépied 5 MET
Tai-chi 4 MET	Yoga 3 MET	Musculation 3 MET	

Tableau 5. Liste non-exhaustive des dépenses en MET-h de diverses activités physiques.

Pour les personnes atteintes d'un cancer, la prise en charge par l'exercice physique doit être progressive et personnalisée. Selon le niveau d'activité initial du patient, un reconditionnement ou un entrainement à l'effort lui sera proposé. Les activités physiques adaptées intégrées dans le processus de soins sont différentes des activités de loisirs puisqu'elles s'inscrivent dans une

éducation thérapeutique centrée sur la modification des habitudes de vie, et ce, afin que l'exercice physique devienne un projet de soin et de vie. La pratique physique doit être régulière (2 à 5 fois/semaine), d'intensité progressive, modérée à soutenue en fonction du niveau d'activité physique ou de déconditionnement initial de la personne. La durée des séances est de l'ordre de 10-20 à 40-60 min, auxquelles il faut ajouter un échauffement, une période de repos et de détente à la fin de l'exercice. Certaines structures et associations proposent, à des patients atteints d'un cancer, des programmes hebdomadaires d'activités physiques adaptées, pendant et après le traitement. Il existe par exemple la Fédération Nationale CAMI Sport et Cancer ainsi que le programme « APESEO » de la Ligue contre le cancer. Des guides d'activités physiques adaptées pour les personnes atteintes de cancer sont également disponibles en libre accès tels que le *Guide d'activité physique de la Ligue contre le cancer* ou encore le *ACS Guidelines on Physical activity for cancer prevention*. Dans ces derniers, des séances d'exercice physique réalisables au domicile des patients sont présentées. Toutefois, la pratique collective d'activité physique au sein d'une structure de soin ou association pourrait induire des bénéfices sur la fonction sociale, en plus de participer à l'amélioration de la qualité de vie des patients.

En dépit des connaissances scientifiques sur les effets bénéfiques et préventifs de l'exercice physique, les mécanismes moléculaires expliquant comment une activité physique régulière prévient le cancer de la prostate restent actuellement méconnus. Diverses hypothèses ont alors été suggérées. L'exercice physique pourrait prévenir la progression tumorale et la mortalité via une réduction bénéfique des niveaux d'insuline et d'IGF-1 sérique, ou encore via une modulation des dommages oxydatifs à l'ADN [Ornish2005 ; Barnard2007 ; Davies2011 ; Richman2011]. La pratique régulière d'une activité physique, connue pour améliorer la sensibilité à l'insuline, augmenter les défenses antioxydantes ou prévenir l'inflammation chronique, pourrait avoir un effet direct sur la tumeur en plus des effets indirects observés et validés incluant l'amélioration de l'état de santé général des patients atteints d'un cancer [Leitzman2012 ; Lemanne2013 ; Jeon2013 ; Thomas2014].

De plus, aucune étude ne s'est intéressée aux potentielles interactions entre l'exercice physique et les autres stratégies non-médicamenteuses. Bien que l'exercice physique prévienne les symptômes associés aux traitements anticancéreux, aucune étude ne s'est intéressée aux effets de cette stratégie additionnelle sur l'efficacité des traitements curatifs et sur l'évolution de la tumeur. L'identification des mécanismes moléculaires impliqués dans la carcinogenèse prostatique pourrait permettre une amélioration des connaissances quant aux effets de l'exercice physique sur le tissu tumoral prostatique.

Chapitre II.

L'implication du stress oxydant dans la carcinogenèse prostatique.

L'incidence du cancer de la prostate n'a cessé de s'accroitre au cours de ces dernières années, et ce, en raison de l'amélioration des techniques de dépistage qui ont permis de diagnostiquer des adénocarcinomes localisés de bas grade. Parallèlement, l'émergence de nouvelles techniques de biologie moléculaire a permis une amélioration croissante des connaissances sur les événements moléculaires complexes responsables de l'initiation et de la progression tumorale.

La cancérogenèse est un processus multi-étapes et multifactoriel qui s'étale sur une ou plusieurs décennies. Elle résulte d'une part de l'accumulation d'altérations génétiques et épigénétiques dans le génome d'une cellule, et d'autre part de la modulation de l'homéostasie cellulaire [Ito1995 ; Hahn2002]. L'instabilité génétique est une des caractéristiques des cellules tumorales prostatiques comme le souligne la présence de formes héréditaires et de formes sporadiques d'adénocarcinome. Au-delà de prédisposition génétique au cancer de la prostate comme vues dans le précédent chapitre, il existe de nombreuses anomalies chromosomiques à l'origine de l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs (*PTEN*) et de l'activation d'oncogènes (*MYC*). L'étiologie du cancer de la prostate est également dépendante de modifications épigénétiques (méthylation de G*STP1*), de l'activation accrue des télomérases, de l'inactivation de gènes impliqués dans le maintien de l'intégrité du génome ($p27^{kip1}$), ou dans l'apoptose (*BCL-2*), ou encore dans les processus d'invasion et de métastases (*TP53*) [DeMarzo2003 ; Shen2010 ; Vinall2012].

Au cours de ces dix dernières années, il n'a cessé d'être mis en exergue l'importance des interactions entre les cellules précancéreuses, cancéreuses et leur microenvironnement au cours des différentes étapes de la tumorigenèse. Ainsi, la caractérisation du microenvironnement tumoral est devenue un enjeu majeur dans la compréhension de l'évolution du cancer mais également dans l'élaboration de stratégies préventives et thérapeutiques, permettant de limiter la progression de la cancérogenèse prostatique.

Dans ce chapitre, nous focaliserons notre attention sur le stress oxydant. Depuis la dernière décennie, des études épidémiologiques, cliniques et expérimentales ont démontré le rôle primordial du stress oxydant dans le développement et la progression du cancer de la prostate. L'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène formerait un territoire génotoxique favorable au développement de cette pathologie (Figure 6). En 2009, une étude répertorie les marqueurs de la tumorigenèse en incluant en plus des marqueurs classiques de l'oncogenèse, les phénotypes de stress [Luo2009].

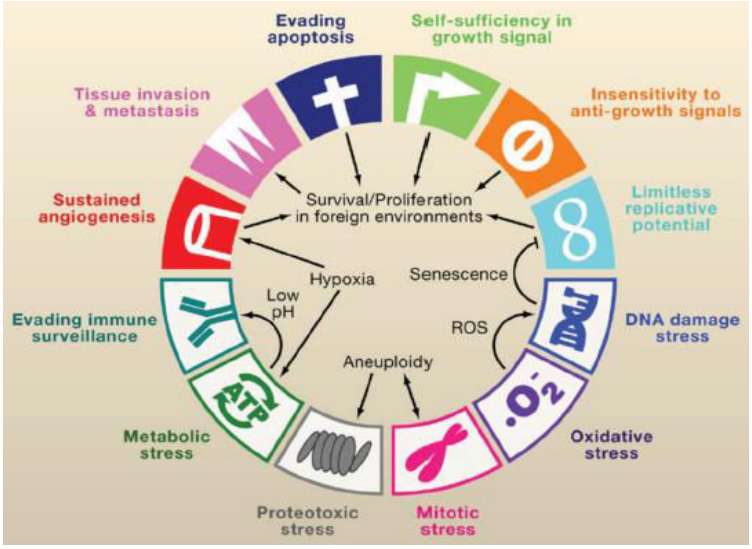

Figure 6. Les marqueurs de la tumorigenèse prostatique (Luo et al., 2009).

A. Généralités sur le stress oxydant.

Le stress oxydant est un phénomène physiologique dont la définition n'a cessé d'évoluer au décours des avancées technologiques et des nouvelles découvertes. En 1991, Sies a défini le stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées activées, suite à un déséquilibre de la balance prooxydants/antioxydants. Aujourd'hui, cette définition a évolué et le stress oxydant est actuellement « un déséquilibre de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers, conduisant à une perturbation du contrôle et de la signalisation redox des cellules et/ou à des dommages moléculaires » [Sies2007].

Au sein de l'organisme, le système prooxydant est principalement constitué par les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN). Ces espèces peuvent être de nature radicalaire ou non radicalaire, mais néanmoins oxydante (Tableau 6). Les principales espèces réactives sont l'anion superoxyde ($O_2°^-$), le radical hydroxyle (°OH), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxynitrite ($ONOO^-$). Les radicaux libres sont des atomes ou des groupements d'atomes qui possèdent un électron non-apparié sur leur couche orbitale externe [Halliwell1990]. Ils sont très instables de part leur configuration électronique et leur durée de vie très courte. Leur réactivité réside dans le fait qu'ils recherchent un électron pour ré-apparier leur électron célibataire, entraînant la propagation du phénomène par création de nouveaux radicaux libres via l'attaque des molécules avoisinantes. Ils peuvent ainsi induire une série de réactions radicalaires engendrant des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en attaquant préférentiellement les lipides, les protéines et les acides nucléiques [GardèsAlbert2003].

Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO)		Espèces Réactives de l'Azote (ERN)	
- Anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$	(10^{-6} sec)		
- Radical hydroxyle °OH	(10^{-9} sec)	- Monoxyde d'azote NO °	stable
- Peroxyde d'hydrogène H_2O_2	stable	- Dioxyde de nitrogène NO_2	stable
- Radical peroxyle ROO°	stable	- Peroxynitrite $ONOO^-$	(10^{-9} sec)
- Hydroperoxyde ROOH	stable	- Acide peroxynitreux ONOOH	assez stable
- Ozone O_3	stable		
- Oxygène singulet $^1O_2$	(10^{-9} sec)		

Tableau 6. Principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote associées à leur temps de demi-vie en seconde.

Dans les circonstances quotidiennes normales, les espèces radicalaires sont produites en permanence en faible quantité, totalement maîtrisées par les systèmes de défenses antioxydantes. Malheureusement avec l'avancement en âge, ce système tend à être de moins en moins efficace. En effet, les défenses antioxydantes ne sont plus à même de prendre en charge la production d'espèces réactives, ce qui engendre une augmentation des dommages oxydatifs [Jones2006]. L'accumulation de ces lésions reste l'une des théories du vieillissement et pourrait expliquer les pathologies liées à l'âge [Harman1956]. Le stress oxydant apparait suite à une surproduction d'ERO et d'ERN et/ou à un affaiblissement simultané des capacités antioxydantes conduisant à un déséquilibre de la balance prooxydants/antioxydants et de l'homéostasie redox [Dröge2002]. Le stress oxydant n'est pas une maladie en soi, mais il constitue un terrain favorable au développement de nombreuses pathologies [Defraigne2008 ; Uttara2009] telles que les cancers [Luo2009] incluant le cancer de la prostate [Khandrika2009].

1. La production d'espèces réactives.

Dans l'organisme, il existe de nombreuses sources d'espèce réactives dont l'importance varie selon les tissus et les conditions physiologiques. On distingue les sources exogènes qui sont surtout d'origines physiques et chimiques (par exemple les radiations X ou gamma ou encore les UV) et les sources endogènes.

a. Les sources exogènes.

Les radiations ionisantes peuvent avoir un effet direct sur les molécules biologiques ou agir indirectement par l'intermédiaire des produits de la radiolyse de l'eau cellulaire. A la suite d'une cascade de réactions, l'ionisation d'une molécule d'eau aboutit en quelques secondes à la formation

de radicaux libres hautement réactifs que sont le radical hydroxyle (°OH), le radical H° (hydrogène atomique) et l'électron aqueux e^-_{aq} et de produits non radicalaires H_2O_2, H_2 et H^+. Les radicaux superoxydes sont des produits secondaires de la radiolyse de l'eau issus la réaction de l'oxygène avec les radicaux réducteurs H° et e^-_{aq} [Spinks1990 ; GardèsAlbert2003]. La radiolyse de l'eau est résumée par l'équation de la Figure 7.

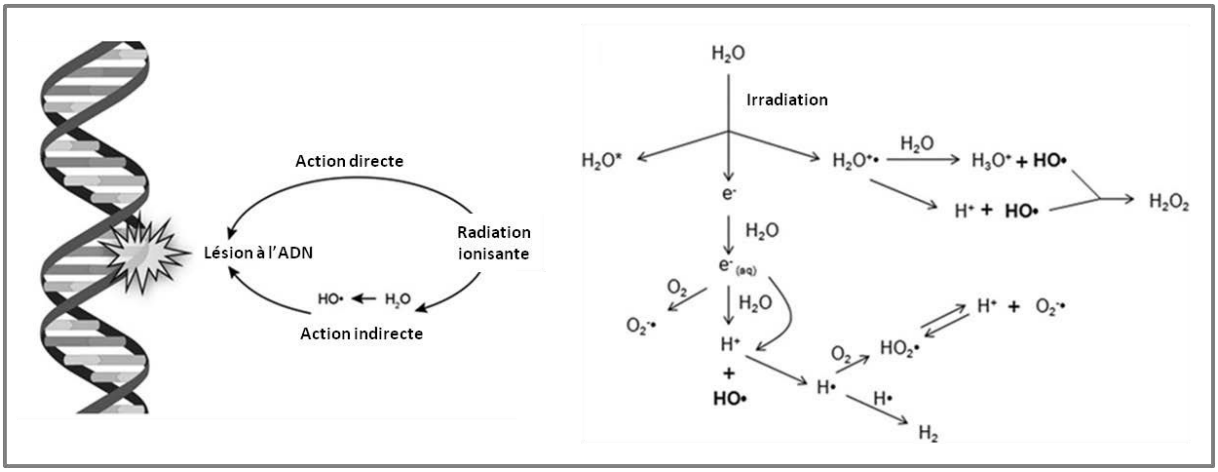

Figure 7. Effet des radiations sur l'ADN et formation des espèces radicalaires et non radicalaires issues de la radiolyse de l'eau (Adaptée de Holley et al., 2014).

b. Les sources endogènes.

Les principales sources endogènes à l'origine d'espèces réactives notamment dans le cancer de la prostate sont la mitochondrie et les différentes voies enzymatiques telles que la NADPH-oxydase, la xanthine oxydase et les NO-synthases [Preiser2012 ; Paschos2013]. Les principaux précurseurs des ERO et ERN sont l'anion superoxyde ($O_2°^-$) et le monoxyde d'azote (NO°).

La mitochondrie est un organite intracellulaire qui est considéré comme une des principales sources endogènes d'ERO dans la cellule, via la chaine de transport d'électrons. Au cours de la respiration cellulaire, 98% de l'oxygène consommé est réduit en eau au niveau du complexe IV (cytochrome c oxydase) de la chaine respiratoire selon la voie tétravalente, c'est-à-dire la voie de réduction normale de l'O_2. Cependant, la chaîne de transport des électrons située dans la membrane interne mitochondriale est imparfaite (Figure 8). La fuite d'une certaine proportion d'électrons célibataires (2%) au niveau du complexe I (NADH-ubiquinone réductase) et du complexe III (Ubiquinone-cytochrome c réductase) aboutit à la formation de radical superoxyde via à une réduction mono-électronique de l'oxygène. La production d'ERO au niveau du complexe I est uniquement présente dans la matrice mitochondriale. L'$O_2°^-$ généré est rapidement transformé par la superoxyde dismutase mitochondriale (Mn-SOD) en H_2O_2. Ce dernier a la capacité de diffuser à travers la

membrane vers le cytoplasme, où il peut à son tour être partiellement réduit en un radical hydroxyle ou réagir avec le monoxyde d'azote afin de former l'anion peroxynitrite ($ONOO^-$). La production d'ERO au niveau du complexe III a lieu dans l'espace inter-membranaire et dans l'espace matriciel. L'$O_2°^-$ généré dans la matrice est dégradé comme précédemment. Le radical contenu dans l'espace inter-membranaire pourra soit réduire le cytochrome c, soit être transformé en H_2O_2 par l'enzyme superoxyde dismutase cytoplasmique (Cu/Zn-SOD) [Liu2002 ; Turrens2003]. Avec l'avancement en âge, il est observé une surproduction mitochondriale d'$O_2°^-$ qui pourrait s'expliquer par des dysfonctionnements de la chaine de transfert des électrons au niveau des complexes I et III [Ji1998 ; Camougrand2001 ; Capel2005].

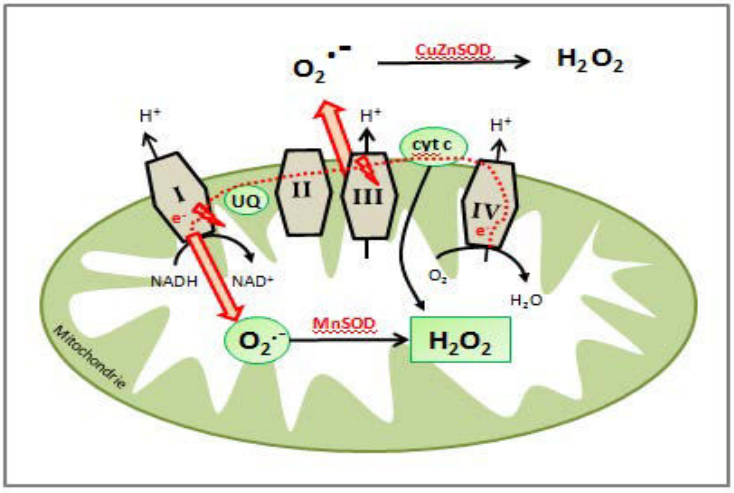

Figure 8. Espèces radicalaires produites par la chaine de transport d'électrons mitochondriale.

Les NADPH-oxydases (*nicotinamide adénine di-nucléotide phosphate oxydase*) encore nommées les protéines Nox sont une autre source de production endogène d'espèces réactives dans le tissu prostatique. Ce sont des complexes enzymatiques membranaires qui catalysent la réduction monovalente de l'oxygène en un anion superoxyde par transfert d'un électron du NADPH intracellulaire sur l'oxygène [Chanock1994]. Initialement, la première NADPH-oxydase découverte était une Nox dite phagocytaire appelée Nox2 présente dans les neutrophiles. L'activation de la Nox2 induit la production d'$O_2°^-$ qui une fois transformé en H_2O_2 permet la destruction des agents pathogènes [Segal1978]. La réaction de H_2O_2 avec du chlore en présence de la myéloperoxydase forme un puissant bactéricide nommé acide hypochloreux. Ce type de Nox phagocytaire est composé de deux protéines membranaires $gp91^{phox}$ (Nox2) et $p22^{phox}$ qui se trouvent au cœur du complexe et forment le cytochrome b_{558}.

A l'état inactivé, ces deux protéines sont associées à des facteurs de régulation cytosoliques que sont les protéines p47^{phox}/ NOXO1 (sous-unité organisateur) et p67^{phox}/ NOXA1 (sous-unité activateur) ainsi que les GTPases comme Rac. Suite à un stimulus, l'activation des Nox nécessite la phosphorylation puis la translocation des régulateurs cytosoliques vers le cytochrome b_{558} inactif (Figure 9). Le complexe enzymatique actif pourra alors produire des radicaux $O_2^{\bullet -}$ qui seront rapidement transformés en H_2O_2 [Chanock1994 ; Dröge2002 ; Ushio2008]. La famille des Nox regroupe en réalité de nombreuses isoformes de gp91^{phox} (Nox 1 à 5 et Duox 1 et 2) réparties dans les différents tissus de l'organisme [Cheng2001 ; Lambeth2004]. Selon leur localisation, les Nox ont une structure multimérique similaire mais non identique et participeraient à des fonctions différentes [Orient2007].

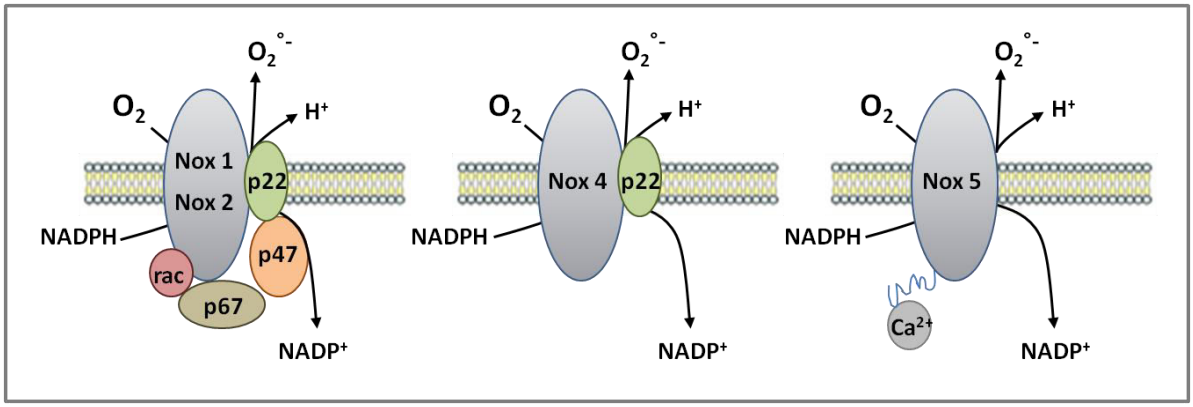

Figure 9. Structure des NADPH oxydases actives (Adapté de Ushio et al., 2008).

Les caractéristiques d'activation des différentes Nox peuvent varier. En effet, l'activation de la Nox1 et de la Nox2 résulte du recrutement de NOXA1 et de NOXO1 par le complexe membranaire p22^{phox} [Banfi2003 ; Kamata2009]. Il semblerait que les protéines p67^{phox} et Rac régulent la catalyse tandis que p47^{phox} est un adaptateur liant p67^{phox} à Nox [Orient2007]. Concernant la Nox4, son activation ne dépendrait pas de la présence de sous-unités régulatrices cytosoliques mais serait contrôlée via le niveau d'ARNm [Serrander2007]. Pour ce qui est de la Nox5, elle présente la particularité d'avoir quatre régions de liaison au calcium, lui permettant une activation spontanée sans facteur de régulation [Fulton2009]. Au-delà des Nox phagocytaires jouant un rôle majeur dans la réponse immunitaire, il existe également des Nox dans les cellules non phagocytaires dont le rôle serait principalement de réguler la croissance cellulaire [Dröge2002].

Dans le cadre d'une ischémie-reperfusion, les sources de production d'ERO au niveau du tissu prostatique peuvent provenir de la mitochondrie et/ou des NADPH-oxydases, mais aussi de la xanthine oxydase [Paschos2013]. La xanthine oxydase (XO) est une enzyme soluble qui catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en acide urique. Dans cette réaction, l'oxygène moléculaire agit

comme un accepteur d'électron produisant ainsi de l'anion superoxyde. Ce dernier est rapidement converti en H_2O_2 qui va ensuite diffuser dans le sang [Parks1988 ; Nakazawa1996 ; Harrison2002].

Les NO synthases (Nos) sont une famille d'enzyme impliquée dans la production d'espèces réactives de l'azote au niveau du tissu prostatique. Elles sont capables d'oxyder une des bases azotées de l'arginine pour former du monoxyde d'azote (NO°) et de la L-citruline. Plusieurs isoformes issues de gènes distincts ont été identifiés : les NO synthases constitutives endothéliale et neuronale, et l'isoforme macrophagique inductible [Andrew1999]. Les radiations ionisantes peuvent également stimuler l'activité de la NO synthase inductible, ce qui génère une surproduction de NO°. Bien que le monoxyde d'azote soit stable dans la plupart des constituants cellulaires, il va réagir avec $O_2°^-$ pour former l'anion peroxynitrite ($ONOO^-$), un radical hautement réactif capable de réagir avec diverses cibles cellulaires [Pacher2007].

Comme nous l'avons montré précédemment, l'$O_2°^-$ produit par les diverses sources endogènes d'ERO est rapidement transformé en H_2O_2 en raison de sa courte demi-vie de 10^{-6} sec. La dismutation du radical superoxyde est assurée par des enzymes appelées superoxyde dismutases (SOD). Le peroxyde d'hydrogène est une espèce non-radicalaire stable, au fort pouvoir oxydant, ayant la capacité de diffuser dans les différents compartiments cellulaires. La majeure partie de la toxicité de l' H_2O_2 provient de sa capacité à générer en présence de cations métalliques le radical hydroxyle °OH via la réaction de Fenton. Ce radical est hautement réactif de part sa courte demi-vie (10^{-6} sec) et est ainsi capable d'attaquer de nombreuses cibles cellulaires [GardèsAlbert2003].

2. Les systèmes antioxydants.

Les ERO et ERN sont formées spontanément et continuellement au sein de notre organisme. Les cellules utilisent des mécanismes protecteurs dit antioxydants et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives, afin de maintenir l'équilibre de la balance prooxydants/antioxydants et de l'homéostasie redox. Les enzymes antioxydantes forment le système de défense antioxydant primaire contre les ERO et ERN. Au contraire, la stratégie non enzymatique fait référence à la composition de notre alimentation qui joue un rôle primordial dans la capacité à nous défendre contre la production non contrôlée d'ERO. La prévention du stress oxydant et de ses conséquences implique des apports en antioxydants par l'alimentation. Les vitamines E, C et A, ou le β-carotène et le lycopène contenus dans les fruits et légumes sont des antioxydants naturels. Ils agissent dans la signalisation redox notamment en piégeant les radicaux libres et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions plus stables [GardèsAlbert2003].

a. Les défenses antioxydantes enzymatiques.

Superoxyde dismutase (SOD)

Une des enzymes antioxydantes intracellulaires les plus efficaces est la superoxyde dismutase (SOD). Cette enzyme catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en une espèce moins réactive, le peroxyde d'hydrogène selon la réaction : $O_2^{\bullet -} + O_2^{\bullet -} \rightarrow H_2O_2 + O_2$. Il existe plusieurs isoformes de la SOD qui diffèrent selon la nature du métal situé au cœur de l'enzyme, mais aussi par leur nombre de sous-unités et leurs cofacteurs [Landis2005]. La superoxyde dismutase à cuivre-zinc (Cu/Zn-SOD) est présente de manière abondante au niveau cytosolique tandis que la superoxyde dismutase à manganèse (Mn-SOD) est exclusivement localisée dans la matrice mitochondriale [Valko2006]. La Mn-SOD est indispensable à la vie puisque sa mutation est non viable [Huang2001]. De plus, il est rapporté que cette enzyme a une activité anti-tumorale. Une surexpression de la Mn-SOD conduit à retarder la croissance tumorale au sein de différentes lignées cellulaires [Behrend2005]. Cependant le rôle de la Mn-SOD comme protéine suppresseur de tumeur reste encore non élucidé.

Catalase (CAT)

La catalase (CAT) fait partie de la famille des dismutases. Cette enzyme est principalement localisée dans le peroxysome et promeut efficacement la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et en dioxygène selon la réaction : $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$. La catalase pourrait jouer un rôle clé en présence de forte concentration en peroxyde d'hydrogène. En effet, une molécule de CAT est capable de convertir environ six millions de molécules d'H_2O_2 chaque minute. Dans certains cancers dont le cancer de la prostate, la diminution de l'élimination du peroxyde d'hydrogène pourrait être associée à un affaiblissement du niveau de catalase [Matés1999 ; Valko2006 ; Battisti2011].

Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase (GPx) est la source majeure de protection contre de faibles niveaux de stress oxydatif car elle accélère non seulement la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène, mais aussi l'élimination des peroxydes organiques toxiques formés par l'oxydation des acides gras et du cholestérol [Favier2003]. La détoxification de ces espèces réactives de l'oxygène (H_2O_2 et LOOH) nécessite la présence du glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électron. Ce dernier est un tripeptide présent en grande concentration dans la cellule. Le glutathion disulfite (GSSG) produit par cette réaction est à nouveau réduit par la glutathion réductase (GR) qui utilise le NADPH comme donneur d'électron (Figure 10).

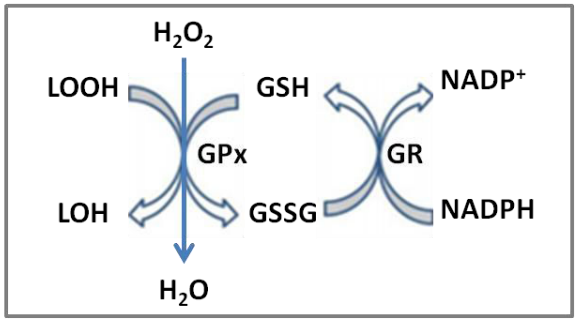

Figure 10. Elimination du H_2O_2 par les réactions enzymatiques combinées de la GPx et de la GR.

Il existe plusieurs isoformes de la GPx contenant du sélénium telles que la GPx cytosolique et mitochondriale ou la GPx phospholipide-hydroperoxyde (HPGPx). Cette dernière est associée à la membrane mitochondriale côté cytosolique et est directement impliquée dans la diminution de la peroxydation lipidique [Matés1999]. Des études rapportent également une corrélation entre une faible activité de la GPx et le cancer de la prostate [Ouyang2005 ; Arsova2009].

b. Les défenses antioxydantes non-enzymatiques.

Glutathion

Le glutathion est un thiol non protéique qui est considéré comme le système de défense antioxydant le plus puissant de la cellule. Ce tripeptide est présent en quantité abondante dans le cytosol, le noyau et la mitochondrie de toutes les cellules animales. Comme vu précédemment, il existe une forme réduite du glutathion (GSH) et une forme oxydée, la glutathion disulphide (GSSG). L'activité antioxydante de ce thiol réside dans sa capacité à former un radical glutathionyl (GS°) plus stable que la plupart des autres radicaux libres selon l'équation : GSH + R° → GS° + RH. Les radicaux glutathionyl générés peuvent par dimérisation former un produit non-radicalaire qui est le GSSG selon la réaction : GS° + GS° → GSSG [Karoui1996].

Le glutathion présente divers rôle dans la protection cellulaire contre le stress oxydant. Il a le rôle de cofacteur au sein de plusieurs enzymes antioxydantes de détoxification des radicaux libres telles que la glutathion peroxydase (GPx). Le GSH a également la capacité de piéger directement °OH et $^1O_2$ ou encore de réduire l'H_2O_2 et les peroxydes organiques grâce à l'action catalysée par la GPx. Le glutathion participe à la régénération des formes actives des vitamines C et E en réduisant les radicaux formés par l'oxydation de ces dernières [Masella2005]. Enfin, il est établi que le glutathion est impliqué dans la modulation de la différenciation cellulaire, la prolifération et l'apoptose ainsi que dans l'activation de facteurs de transcription comme NF-KB et AP-1 (*activator protein-1*) [Valko2006]. Les perturbations de l'homéostasie du GSH sont impliquées dans l'étiologie et la progression du cancer. Il est montré dans les cellules tumorales prostatiques une diminution

significative du ratio GSH/GSSG, un important marqueur de stress oxydant [Battisti2011 ; Kim2014]. Inversement, une élévation du GSH améliore la capacité antioxydante dans plusieurs cancers [Traverso2013].

Thioredoxine

Le système thiorédoxine est composé du NADPH, de la thiorédoxine reductase (TrxR) et de la thiorédoxine (Trx). Ce système est crucial dans le maintien de l'homéostasie redox et la défense contre le stress oxydant, mais aussi dans la croissance cellulaire et le contrôle de l'apoptose [Arnér2006]. Au sein du noyau, Trx peut interagir avec divers facteurs de transcription et donc réguler l'expression génique [Hirota1999]. Chez les mammifères, il existe deux isoformes du système thiorédoxine, le Trx1 cytosolique et le système mitochondrial, Trx2. L'activité antioxydante de la Trx provient de sa capacité à être réduite de manière spécifique par la TrxR qui utilise le NADPH comme donneur d'électrons [Powis2001]. La Trx peut alors à son tour réduire les peroxyrédoxines (Prx) aussi appelées thiorédoxines peroxydases, une famille d'enzymes antioxydantes ubiquitaires (Figure 11). Ces dernières exercent leur rôle antioxydant via leur activité peroxydase, où l'H_2O_2 et différents alkyl hydroperoxydes sont les substrats [Wood2003 ; Rhee2005 ; Miki2012 ; Lu2014].

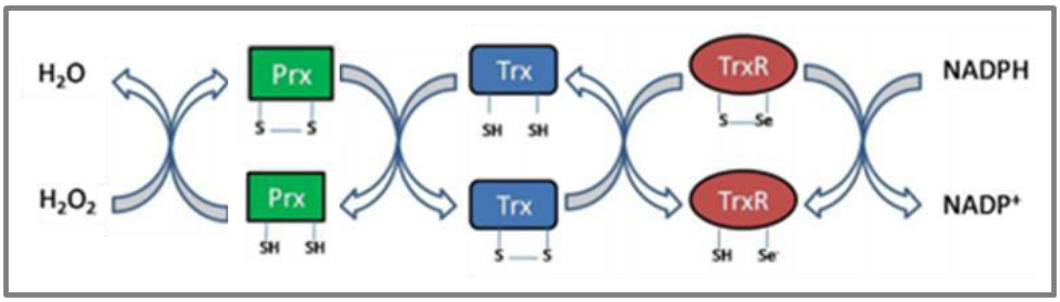

Figure 11. Mécanisme d'action du système redox thiorédoxine (Adapté de Karlenius et al., 2010).

Le stress oxydant conduit à une élévation des niveaux de la Trx oxydée induisant l'activation de facteurs de transcription tels que Nrf-2 (NF-E2 related factor) qui permet d'augmenter les défenses antioxydantes incluant la Trx [Karlenius2010]. Les cellules tumorales étant souvent sous de hautes teneurs en stress oxydant, il n'est pas surprenant d'observer une surexpression de la Trx oxydée dans plusieurs cancers [Lincoln2003 ; Jorgenson2013]. Les perturbations du système thiorédoxine dans les cancers humains incluant le cancer de la prostate sont associées à une croissance tumorale agressive et à une inhibition de l'apoptose. Elle est également corrélée à une diminution de la survie des patients et à une résistance aux traitements anticancéreux [Karlenius2010 ; Shan2010 ; GarcíaSantamarina2013 ; Chaiswing2014].

Vitamine E et C

La vitamine E (α-tocophérol) et la vitamine C (ascorbate) ont une action majeure dans le processus de défense antioxydant (Figure 12). A la différence de la vitamine C, la vitamine E est liposoluble et est donc localisée dans les chaines d'acides gras des phospholipides membranaires. Elle a pour rôle essentiel de bloquer la chaine de réactions de peroxydation lipidique en séquestrant les radicaux peroxyles (LOO°). La vitamine C présente dans le cytosol est un très bon capteur d'ERO, capable de réagir directement avec l'anion superoxyde et le radical hydroxyle dont la résultante et la formation d'un radical ascorbyle. La vitamine C a également la propriété de réduire le radical tocophéryl (issu de l'oxydation de la vitamine E) et le glutathion disulphide (GSSG), afin de permettre à la vitamine E et au GSH de retrouver leur activité antioxydante [Nakazawa1996 ; Wagner1996 ; Gardès2003]. Des études montrent que ce système de défense antioxydant est perturbé au sein de l'épithélium prostatique tumoral [Akinloye2009 ; Battisti2011]

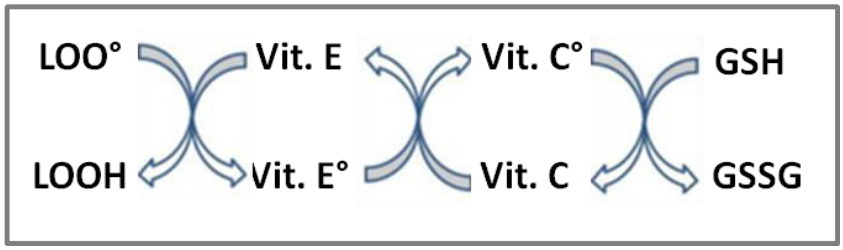

Figure 12. Mécanisme d'action combiné de la vitamine E et C.

De très nombreux composés alimentaires peuvent aussi avoir ce comportement : les polyphénols comme les flavonoïdes, les alcaloïdes et les tanins ont la capacité d'inhiber les chaines de peroxydation lipidique, de façon similaire à la vitamine E. Les oligoéléments exercent également un effet antioxydant par des mécanismes indirects : c'est le cas du sélénium, du cuivre, du zinc et du manganèse. Ils ont une valeur hautement protectrice du fait de leur présence dans de nombreuses métallo-enzymes à action anti-radicalaire [Favier2003].

3. Les effets bénéfiques des ERO et ERN.

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant indispensables à la vie. A faible concentration c'est-à-dire en dehors de leur action délétère, les ERO et ERN participent à la transduction du signal en agissant sur la régulation de facteurs de transcription et sur l'expression de certains gènes. En effet, la signalisation redox joue un rôle important dans de nombreux processus physiologiques tels que le contrôle du cycle cellulaire, la prolifération, la différenciation, l'adhésion, la migration et l'apoptose.

Par exemple, les ERO jouent un rôle crucial en tant que messagers secondaires dans la voie des MAPKs via l'activation de la protéine Ras ou de MAP3K. Les ERO sont capables d'activer certains facteurs de transcription, comme NF-KB et les facteurs de la famille AP-1 [Dröge2002 ; Storz2005 ; Valko2007]. En plus de ces deux facteurs de transcription, il est aussi démontré que l'H_2O_2 régule le facteur de transcription FOXO3a. La présence d'une faible teneur en H_2O_2 pourrait promouvoir la translocation de ce facteur de transcription dans le noyau [Nemoto2002]. Les ERO et ERN jouent également un rôle dans la protection de la cellule face à divers agents stressants. Par exemple, la formation d'acide hypochloreux à la suite de l'activation des Nox permet la détoxification des agents pathogènes [Segal1978]. L'exercice physique régulier induit également un stress qui perturbe de manière transitoire et répétée l'homéostasie redox. Ceci conduit à un processus adaptatif impliquant notamment une up-régulation des défenses antioxydantes enzymatiques [Gomez2008]. Par conséquent, une certaine quantité d'ERO et d'ERN est nécessaire à l'organisme pour répondre à la théorie de l'hormesis, selon laquelle l'exposition à un faible stress induit une meilleure résistance à un stress ultérieur. L'hormesis a été définie comme étant l'ensemble des effets bénéfiques résultant des réponses de cellules soumises à un stress modéré. Comme les capacités de survie d'un système biologique dépendent de son homéostasie, certains travaux ont émis l'hypothèse que l'exposition de cellules ou d'organismes à un stress de faible intensité devrait aboutir à l'expression de réponses adaptatives positives pour l'organisme [Rattan2008].

4. Les dommages cellulaires oxydatifs.

Inversement, les ERO et d'ERN produits en excès vont agresser différents types de constituants cellulaires causant des dommages oxydatifs (lipides, protéines, acide nucléiques) qui sont à l'origine de nombreuses pathologies dont le cancer.

a. La peroxydation lipidique.

Les lipides, et principalement leurs acides gras polyinsaturés, sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle (Figure 13). Ce dernier est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons. Un radical diène conjugué (R=CH-CH=R) est ainsi formé, lequel s'oxyde en un radical peroxyle. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne à l'origine de la formation de nombreux produits secondaires tels que le malondialdéhyde (MDA), les acides thiobarbituriques (TBARS), le 4-hydroxynonénal (4-HNE) et les isoprostanes (IsoP). Ils sont tous mesurables dans les liquides biologiques et forment ainsi des marqueurs de la peroxydation lipidique. Les F_2-isoprostanes sont certainement les marqueurs les plus spécifiques [Sircar2007 ; Michel2008]. L'attaque des lipides membranaires modifie la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs ainsi que la transduction des

signaux [Hong2004]. Les produits secondaires terminaux issus de la peroxydation lipidique peuvent réagir avec les protéines et l'ADN [Marnett1999]. De nombreuses études ont mesuré les produits secondaires de la peroxydation lipidique chez des patients atteints d'un adénocarcinome prostatique et toutes démontrent une augmentation des dommages lipidiques [Ozmen2006 ; Surapaneni2006 ; Akinloy2009 ; Battisti2011 ; Brys2013 ; Kosova2014].

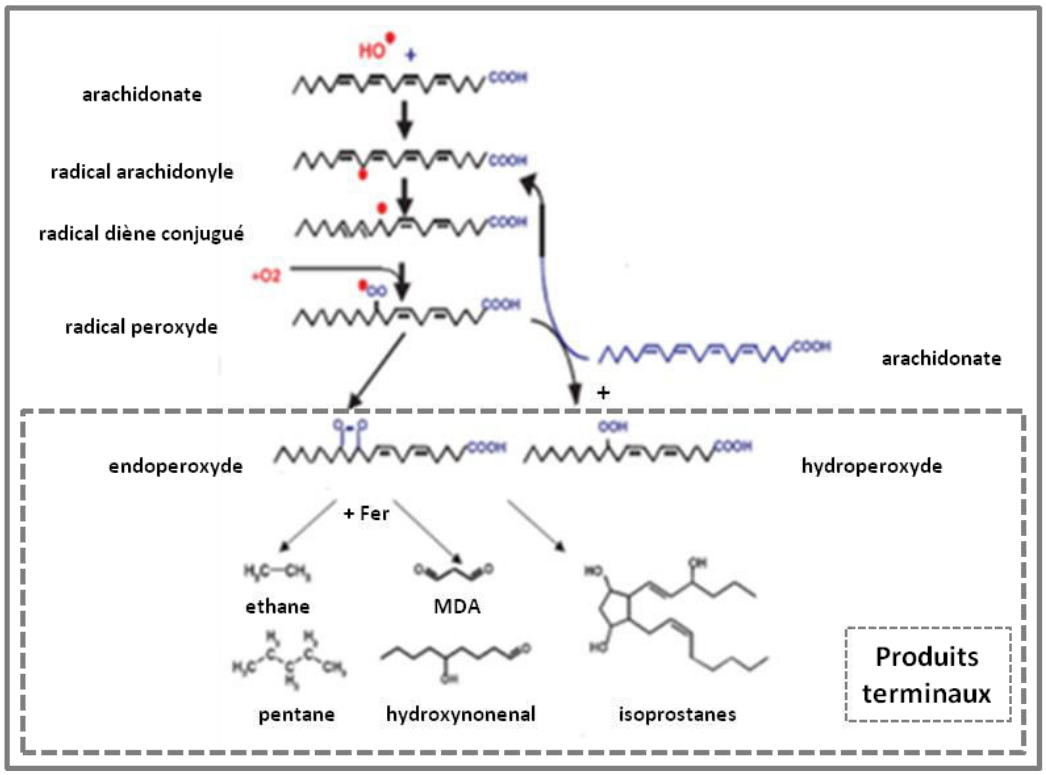

Figure 13. Mécanisme en chaine de la peroxydation des acides gras.

b. L'oxydation des protéines.

Les protéines constituent des cibles majeures des ERO et ERN de par leur abondance au sein des systèmes biologiques et du fait de leur rôle fonctionnel majeur au sein de la cellule. Les espèces radicalaires peuvent s'attaquer aux protéines en endommageant leur structure tertiaire, en les fragmentant, en oxydant les résidus thiols et en altérant différents acides aminés. Dans les conditions classiques, les principales cibles sont les acides aminés soufrés (cystéine, méthionine), les acides aminés basiques (arginine, histidine, lysine) et les acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane). Les réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques tels que Fe^{2+} ou Cu^{2+} [Stadtman1993 ; Levine2002]. L'oxydation irréversible la plus étudiée est la carbonylation qui consiste à introduire un groupe carbonyl dans la protéine [Suzuki2010]. Chez des patients atteints atteint d'un cancer de la prostate, il est observé une augmentation de la carbonylation des protéines *versus* des hommes sains [Battisti2011].

Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques catalytiques ou structurales et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action du protéasome. L'élimination des protéines endommagées est assurée par les systèmes protéolytiques et autophagiques [Costa2007]. Le fonctionnement de ces systèmes est optimisé par les protéines de choc thermique (HSP). Les membres de la famille HSPC70 jouent un rôle de protéines chaperonnes facilitant le repliement des protéines, prévenant l'agrégation protéique et ciblant les protéines mal repliées afin qu'elles soient dégradées [Kiffin2004].

c. L'oxydation des acides nucléiques.

L'ADN nucléaire et l'ADN mitochondrial sont extrêmement sensibles à l'attaque par les ERO de sources endogènes. Le génome mitochondrial présente une susceptibilité deux à dix fois plus forte aux ERO que l'ADN nucléaire en raison de sa proximité directe avec la chaine de transport des électrons (une des principales sources d'ERO), de son faible potentiel de réparation et de l'absence d'histones dans la mitochondrie [Richter1988 ; Stevnsner2002]. Les lésions de l'ADN induites par les ERO et ERN sont multiples et ont des conséquences plus ou moins importantes selon leur nature (Figure 14). Ainsi, les modifications des bases puriques et pyrimidiques, les cassures simples brins et double-brins, et les sites abasiques oxydés ou non constituent les catégories principales de dommages oxydatifs de l'ADN [Cadet2003].

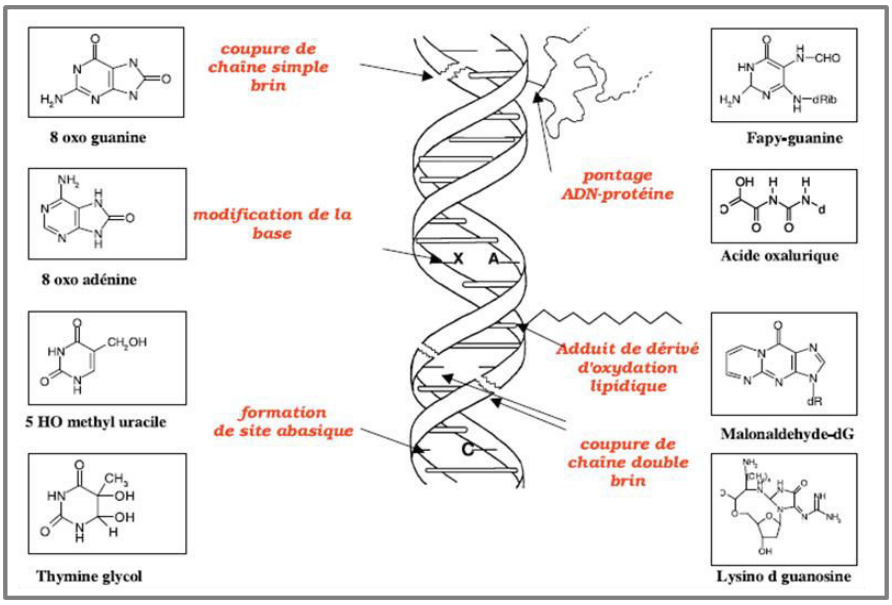

Figure 14. Les lésions de l'ADN induites par les ERO et ERN.

Par exemple, les réactions d'oxydation de la guanine, une base purique particulièrement sensible à l'°OH et au peroxynitrite, induisent la formation de 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) ou de 8-oxo-7,8-dihydro-2'deoxyguanosine (8-oxodG).

En absence de réparation, cette modification de l'ADN induit des mutations par transversion GC (guanine/cytosine) vers TA (thymine/adénine) [Cheng1992 ; Cadet2003]. Le radical °OH a également la capacité d'arracher un atome d'hydrogène sur le résidu 2-désoxyribose, engendrant une cassure d'un groupe sucre-phosphate à l'origine des cassures simple-brin. Les cassures double-brins sont minoritaires et résultent généralement d'une exposition de la cellule à un rayonnement ionisant. De plus, des lésions de l'ADN peuvent être induites indirectement par le biais de pontages entre l'ADN et les protéines ou encore par la fixation d'aldéhydes mutagènes au groupe amine des bases de l'ADN, formant ainsi des adduits de type MDA-guanine ou etheno-ADN [Hu2002 ; Bartsch2005].

Malgré les attaques radicalaires quotidiennes, la fidélité de la séquence de notre ADN cellulaire est conservée grâce à des systèmes de réparation perfectionnés. Les mécanismes de réparation moléculaire éliminent les lésions et radiolésions de manière à reconstituer la structure originale de l'ADN. Cette élimination fait intervenir principalement le système de réparation par excision de base (BER) et à moindre degré le système par excision de nucléotide (NER). L'oxoguanine DNA glycosylase (OGG1) présente au niveau nucléaire et mitochondrial est une enzyme du mécanisme de réparation par excision de base [Dianov2001 ; Olinski2002 ; Bohr2002]. Plusieurs études observent des niveaux élevés de lésions à l'ADN et des perturbations des mécanismes de réparation de l'ADN dans divers tissus tumoraux dont le tissu prostatique. De plus, il est montré que ces altérations sont impliquées dans l'initiation de la tumorigenèse et la progression tumorale [Poulsen1998 ; Malins2001 ; Ouyang2005 ; Reuter2010 ; Gupta2012 ; Kanwal2014]. Une récente étude rapporte que les lésions à l'ADN pourraient induire une augmentation des dommages oxydatifs et par conséquent être impliquées dans la tumorigenèse prostatique [Kosova2014]. En effet, des altérations du génome mitochondrial pourraient exacerber la fuite d'électrons de la chaine respiratoire majorant ainsi la production d'ERO qui pourrait, de fait, amplifier les mutations mitochondriales et accroitre la carcinogenèse par un feedback positif.

De nombreuses observations épidémiologiques et expérimentales ont mis en exergue la place prépondérante du stress oxydant dans l'initiation et la progression du cancer. En effet, une accumulation évidente de preuves suggère que l'augmentation de la production d'ERO et ERN est étroitement liée au processus de vieillissement et à l'étiopathogénie de multiples maladies dépendantes de l'âge comme le cancer incluant le cancer de la prostate.

B. L'implication du stress oxydant dans la tumorigenèse prostatique.

L'épithélium tumoral prostatique, *versus* un épithélium sain, est caractérisé par la présence d'un stress oxydant inhérent et permanent [Kumar2008 ; Khandrika2009 ; Gupta2012 ; Paschos2013]. Ceci a été démontré directement au sein de cellules tumorales par des taux élevés d'ERO et d'ERN tels que le peroxyde d'hydrogène et indirectement via l'augmentation des dommages oxydatifs. L'existence d'un stress oxydant modéré et persistant dans les cellules cancéreuses prostatiques est également liée à une perturbation des défenses antioxydantes et des mécanismes de réparation des dommages oxydatifs *vs* des cellules normales de la prostate.

1. Le stress oxydant et les étapes de la carcinogenèse prostatique.

De nombreuses études montrent une augmentation de la carbonylation des protéines, de la peroxydation lipidique (TBARS et MDA) et des dommages oxydatifs à l'ADN chez les hommes atteints d'un cancer de la prostate [Yilmaz2004 ; Miyake2004 ; Almushatat2006 ; Aydin2006 ; Akinloye2009 ; Arsova2009 ; Battisti2011 ; Akkibinu2011]. En effet, plusieurs études observent des niveaux élevés de 8-oxodGuo dans les tissus tumoraux prostatiques et montre son implication dans la progression tumorale [Malins2001 ; Klaunig2010 ; Reuter2010 ; Gupta2012]. Des polymorphismes de l'enzyme de réparation OGG1 pourraient également être corrélés au risque de cancer de la prostate [Zhang2010]. Ainsi, l'accumulation de dommages à l'ADN via l'absence ou une réparation incomplète du génome pourrait conduire au phénomène de mutagenèse, et tout particulièrement, si ces altérations sont combinées à une déficience de la voie apoptotique [Kryston2011]. Le stress oxydant pourrait donc jouer un rôle majeur dans les différentes étapes de la carcinogenèse (Figure 15).

Durant l'initiation tumorale, les dommages oxydatifs produits par les ERO et ERN peuvent induire des mutations géniques et des altérations structurales qui pourront être à l'origine de l'activation d'oncogènes et de l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeur potentiellement impliquées dans l'initiation de la tumorigenèse [Toyokuni2006]. En présence de non-réparation ou de réparation dite *fautive* de l'ADN, les ERO et ERN vont avoir des effets mutagènes [Guyton1993 ; Reuter2010 ; Ma2010]. En plus des lésions à l'ADN, les processus de peroxydation lipidique sont également impliqués dans le mécanisme de carcinogenèse en formant des adduits avec l'ADN [Hu2002 ; Bartsch2005 ; Valko2007].

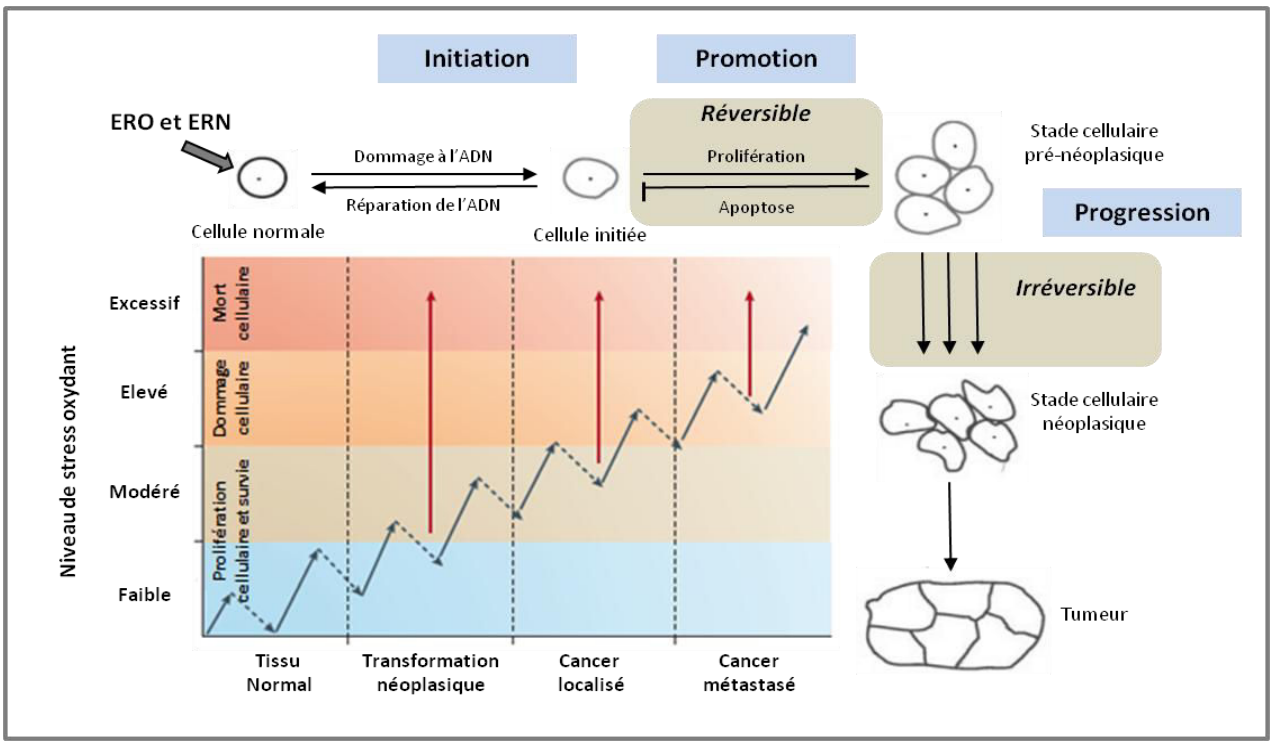

Figure 15. Implication du stress oxydant dans la tumorigenèse prostatique.

Le phénomène de promotion tumorale n'est pas directement associé à des dommages oxydatifs mais est le résultat d'une modulation du potentiel redox de la cellule. Dans cette seconde étape de la tumorigenèse, le stress oxydant modifie l'expression de certains gènes et la transduction de seconds messagers. Les ERO peuvent donc participer à la phase de promotion de la tumorigenèse en modulant des voies de signalisation impliquées dans l'augmentation de la prolifération cellulaire et/ou la diminution de la mort cellulaire [Dreher1996 ; Valko2006 et 2007]. Ces résultats sont confirmés dans le cancer de la prostate humain. Chaiswing et collaborateurs ont montré la présence d'un profil redox différent au sein de deux lignées cancéreuses représentant divers stades dans l'évolution du cancer de la prostate. Les cellules cancéreuses prostatiques humaines LNCaP requièrent un statut prooxydant pour proliférer. *In vitro*, les niveaux d'ERO et d'ERN intracellulaires et extracellulaires sont statistiquement plus élevés durant la croissance cellulaire notamment durant la phase S et G2/M du cycle cellulaire pour les cellules LNCaP *vs* les cellules PC3, une lignée tumorale prostatique plus agressive. Il est suggéré que ces dernières, plus invasives et caractérisées par des niveaux plus élevées de 8-OHdG que les cellules LNCaP, ont acquis un phénotype agressif leur permettant de proliférer même en présence de niveaux prooxydants faibles voire absents [Chaiswing2007]. Tandis qu'un niveau excessif de stress oxydant est cytotoxique et interrompt la prolifération en incitant l'apoptose ou la nécrose, la présence d'un stress oxydant faible à modéré peut stimuler la division cellulaire et ainsi accroitre la promotion de la croissance tumorale [LópezLázaro2007 ; Gupta2012 ; Gorrini2013].

La progression tumorale, dernière étape de la carcinogenèse, implique des changements cellulaires et moléculaires irréversibles, caractérisés par une accumulation de désordres génétiques supplémentaires, par une instabilité génétique et par une perturbation de l'intégrité chromosomique étroitement corrélés à l'augmentation du stress oxydant dans le tissu cancéreux au décours de l'évolution tumorale [Klaunig2011]. En effet, plusieurs gènes suppresseurs de tumeur au rôle majeur dans le contrôle du cycle cellulaire peuvent être génétiquement altérés dans le cancer de la prostate. Par exemple, les mutations des gènes *RB1*, *TP53* et $p27^{Kip1}$ sont rarement observées dans les tumeurs prostatiques localisées de bas grade mais surviennent fréquemment dans les stades avancés de la maladie, suggérant leur implication dans la progression tumorale [Bookstein1993 ; Eastham1995 ; Tsihlias1998 ; Osman1999 ; Dreher2004 ; Sharma2010 ; Muller2013]. Il est également rapporté une surexpression de l'oncoprotéine Bcl-2 dans le tissu tumoral prostatique [Krajewska1996 ; DeMarzo2003 ; Shen2010]. Bcl-2 prévient l'homodimérisation de la protéine pro-apoptotique Bax empêchant, de fait, la libération du cytochrome c dans le cytosol. Une surexpression de Bcl-2 conduit à une accumulation de cellules qui en survivant acquièrent davantage de mutations à l'origine de la progression tumorale [Kirkin2004]. De plus, une élévation anormale de l'expression de Bcl-2 est corrélée à une faible réponse du cancer à la radiothérapie et est associée à un mauvais pronostic vital [Mackey1998 ; Bray2009].

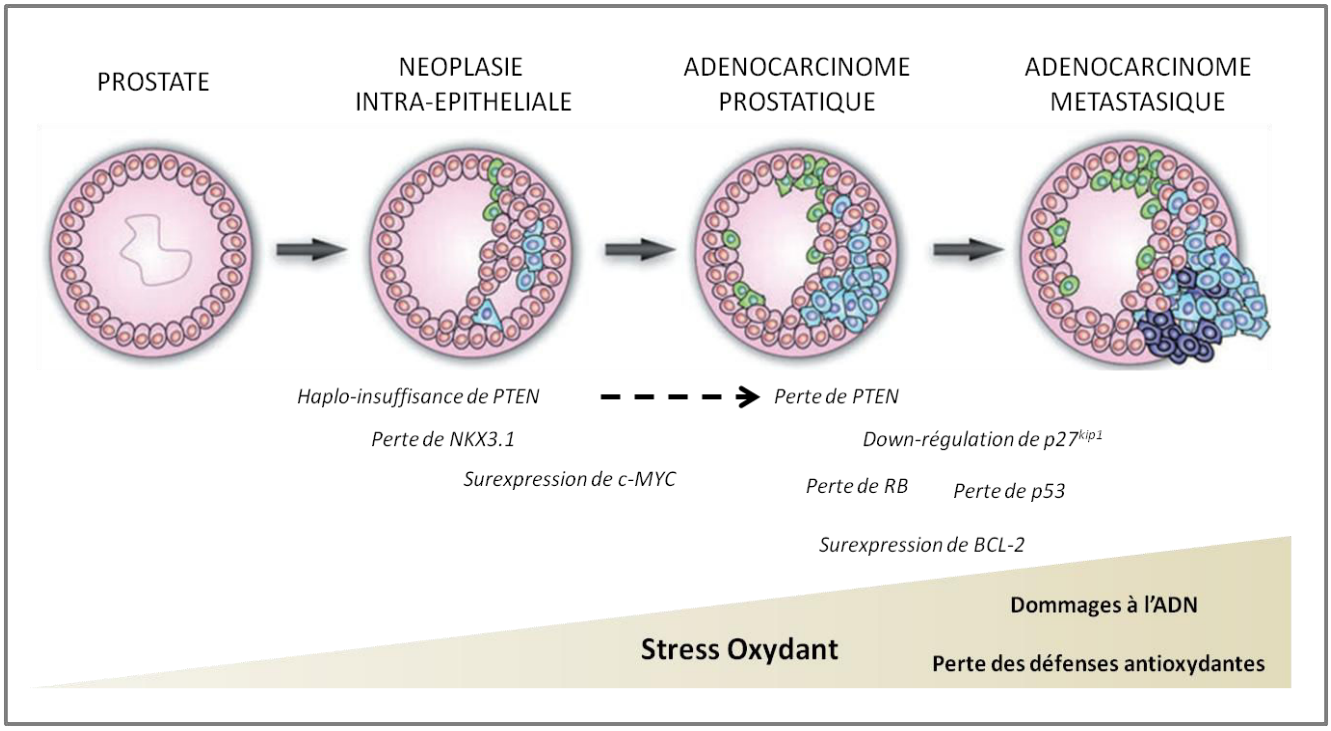

Figure 16. Désordres génétiques impliqués dans la tumorigenèse prostatique.

2. La perturbation des défenses antioxydantes dans le cancer de la prostate.

Les lésions cellulaires oxydatives sont associées à une altération des défenses antioxydantes qui contribue elle-aussi à l'évolution de la tumorigenèse prostatique. En effet, une diminution de l'activité de la SOD et de la GPx érythrocytaire est démontrée chez les patients atteints d'un adénocarcinome prostatique [Yilmaz2004 ; Aydin2006 ; Arsova2009]. Kim et collaborateurs montrent qu'une surexpression de la SOD3 ou un traitement recombinant pour la SOD3 pourrait inhiber la prolifération et l'invasion cellulaire d'une lignée cancéreuse prostatique humaine. De plus, cette surexpression pourrait induire une augmentation du peroxyde d'hydrogène, qui à son tour, provoquerait la mort cellulaire via une accumulation de dommages à l'ADN [Kim2014]. Une faible activité de la GPx notamment de la GPx1 est corrélée avec le risque de cancer de la prostate [Arsova2009]. L'affaiblissement de l'activité de la GPx érythrocytaire pourrait limiter la détoxification des niveaux élevés de H_2O_2 en H_2O et ainsi induire la formation de °OH à l'origine de l'augmentation des dommages oxydatifs [Srivastava2005]. De façon similaire, il est montré une diminution significative de l'activité de la catalase chez les patients atteints d'un cancer de la prostate *vs* les hommes sains [Arsova2009 ; Battisti2011]. Les défenses antioxydantes non-enzymatiques plasmatiques comme les vitamines E et C [Almushatat2006 ; Akinloye2009 ; Battisti2011] ou encore les niveaux en oligoéléments tels que Zn, Cu et Se sont affaiblis chez les hommes porteurs d'un adénocarcinome prostatique [Aydin2006 ; Akiibinu2011]. Dans l'épithélium de ces patients *vs* des épithéliums normaux, il est également observé une diminution ou absence d'expression de la protéine MMR (*mismatch repair*) impliquée dans le système de réparation des mésappariement [Chen2001 ; Jarzen2013].

De récentes études observent une augmentation de la Trx1 dans le noyau, une diminution de la Trx1 réduite et une augmentation de la Trx oxydée dans des épithéliums prostatiques de haut grade tumoral (Gleason 4+4 à 4+5). Ces dernières observations pourraient s'expliquer par un affaiblissement considérable des niveaux de la protéine TrxR1 en fonction de l'évolution tumorale [Shan2010 ; Chaiswing2014]. En absence de sa forme réductase, la Trx pourrait devenir un puissant oxydant capable d'altérer la dynamique redox nucléaire au profit de la prolifération cellulaire et de la progression tumorale [Karlenius2010 ; GarcíaSantamarina2013]. La perte de fonction antioxydante de la Trx serait en partie liée à l'oxydation et à la carbonylation de ces résidus cystéine dans le noyau [Fang2006 ; Shan2010]. L'augmentation de la forme inactive de la Trx pourrait être à l'origine de l'augmentation de la sulfinylation des peroxyrédoxines ($PrxSO_3$), un indicateur de stress oxydant, dans les tissus prostatiques cancéreux [Chaiswing2014]. A un stade avancé, il est observé une augmentation de l'expression de la Mn-SOD en réponse au stress oxydant [Battisti2011 ; Dhar2011].

Le degré d'induction de la Mn-SOD est corrélé avec le degré d'agressivité du cancer de la prostate, augmentant davantage dans les tissus cancéreux prostatiques de haut grade *vs* ceux de bas grade [Chaiswing2014]. Cette induction de la Mn-SOD en réponse au stress oxydant conduit à un effet antioxydant via la réduction d'$O_2^{\bullet -}$, mais également à un effet prooxydant en majorant la production de H_2O_2 en absence d'augmentation compensatoire de la catalase ou de la GPx [Pinho2006]. Chaiswing et collaborateurs montre des ratios activité/protéine de Mn-SOD discordants dans les tumeurs malignes. La perte de fonction de la Mn-SOD dans les tumeurs de haut grade pourrait être due à des modifications post-traductionnelles de la tyrosine et de la lysine par nitration et méthylation [Chaiswing2014]. L'affaiblissement des capacités antioxydantes permet aux radiations ionisantes de conduire les cellules tumorales au-delà de leur tolérance au stress oxydant et de les sensibiliser à la mort cellulaire radio-induite. Toutefois, à un stade avancé du cancer de la prostate, les cellules tumorales prostatiques deviennent de moins en moins sensibles aux espèces radicalaires en raison d'adaptation redox, ce qui conduit à une radiorésistance [Mioa2014]. L'ensemble des perturbations du statut redox suggère que le déséquilibre de l'homéostasie redox pourrait contribuer à la progression du phénotype agressif du cancer de la prostate.

3. L'origine des ERO dans le cancer de la prostate.

Dans le cancer de la prostate, l'élévation de la production d'espèces radicalaires et non radicalaires semble être induite par de multiples processus incluant les altérations métaboliques et hormonales, la sénescence, les mutations génomiques nucléaires et mitochondriales, l'inflammation ou encore l'hypoxie [Gupta2012 ; Paschos2013].

a. L'implication des modulations génétiques et épigénétiques dans l'homéostasie redox prostatique.

Diverses modifications génétiques et épigénétiques influencent de manière cruciale le stress oxydant au sein de l'épithélium tumoral prostatique. Dans les stades précoces du cancer de la prostate, la perte de fonction du gène *NKX3.1* est montré pour jouer un rôle dans la carcinogenèse prostatique [Bowen2000 ; Shen2003 ; Asatiani2005] notamment en augmentant la vulnérabilité de la prostate au stress oxydant [Kim2002 ; Shen2010]. L'altération du gène *NKX3.1* pourrait induire une dérégulation de l'expression de la GPx2 et de la GPx3 [Ouyang2005] et une dérégulation de l'expression des gènes impliqués dans la réparation des lésions à l'ADN [Bowen2010], et ainsi conduire à l'augmentation des niveaux de la 8-OHdG au sein de l'épithélium prostatique [Kanwal2014]. L'altération de ce gène est donc indirectement impliquée dans la tumorigenèse prostatique redox-dépendante via la modulation des défenses antioxydantes.

L'hyperméthylation de *GSTP1* (*gluthation-S-transférase*) et de *Nrf-2* (*nuclear factor-erythroid 2 p45-related factor 2*) fréquemment observée dans le cancer de la prostate conduit également à des altérations de l'homéostasie redox [Lin2001 ; Yu2010]. L'hyperméthylation des séquences dinucléotides des îlots CpG du promoteur *GSTP1* est observée dans 70% des lésions néoplasiques intra-épithéliales prostatiques, 90% des adénocarcinomes localisés et est absente du tissu épithélial normal [Lee1994 ; Nakayama2004]. La protéine GSTP catalyse la conjugaison de nombreux composés hydrophobes et électrophiles (ERO et xénobiotiques) avec le glutathion réduit, ce qui lui concède un rôle important dans les processus de détoxification et de protection du génome contre les radicaux libres et certains carcinogènes [Lin2001]. La perte de fonction de *GSTP1* induite par l'hyperméthylation de son promoteur augmenterait les dommages oxydatifs à l'ADN et favoriserait la carcinogenèse prostatique [Bastian2004]. Une récente étude montre au sein du cancer de la prostate que l'augmentation des niveaux en 8-OHdG est significativement corrélée à la perte d'activité de *GSTP1* induite par l'altération épigénétique de ce gène [Kanwal2014].

Similairement, le facteur de transcription Nrf-2 est supprimé dans le cancer de la prostate probablement par modification épigénétique comme le rapporte Yu et collaborateurs dans un modèle transgénique murin d'adénocarcinome prostatique [Yu2010]. Nrf-2 a un rôle majeur dans la défense cellulaire contre le stress oxydant notamment en contrôlant l'expression de plusieurs gènes codant pour des protéines aux propriétés antioxydantes [Jung2010]. En effet, l'altération de l'axe antioxydant Nrf-2 conduit à augmenter le stress oxydant et les dommages à l'ADN. Ceci pourrait être à l'origine de l'initiation de la carcinogenèse au sein de la glande prostatique [Frohlich2008 ; Klaunig2011 ; Khor2014]. Par conséquent, les modifications épigénétiques et notamment l'hyperméthylation de *GSTP1* et de *Nrf-2* peuvent réduire sévèrement les capacités antioxydantes cellulaires et ainsi mener indirectement à accroitre le stress oxydant au sein des cellules tumorales prostatiques.

b. La mitochondrie : une source d'ERO dans le cancer de la prostate.

Au-delà de mutations génomiques et de modifications épigénétiques, des mutations de l'ADN mitochondrial sont très fréquemment observées dans le cancer de la prostate. Elles s'accompagnent généralement d'altérations fonctionnelles et métaboliques pouvant contribuer à la tumorigenèse prostatique notamment via une augmentation de la production d'ERO [Dakubo2006 ; Petros2005 ; Khandrika2009 ; Paschos2013]. La mitochondrie étant une des principales sources de génération d'ERO, il n'est pas surprenant que les mutations de l'ADN mitochondrial et l'altération du métabolisme mitochondrial soient impliquées dans la carcinogenèse prostatique. Des études montrent, au sein de la tumeur, la présence de mutations de l'ADN nucléaire codant pour des gènes

mitochondriaux [Brandon2006]. Petros et collaborateurs montrent une modulation significative de l'expression génomique nucléaire codant pour le complexe IV mitochondrial au sein de prostates malignes *vs* des prostates saines [Petros2005]. Ils rapportent également une augmentation des mutations de la sous-unité I de la cytochrome oxydase mitochondriale chez des patients atteints d'un cancer de la prostate. Les mutations de l'ADN mitochondrial inhibent la phosphorylation oxydative (OXPHOS) et entravent la chaine mitochondriale de transfert d'électrons conduisant ainsi à augmenter la production d'ERO et à contribuer à la carcinogenèse prostatique. Par exemple, l'introduction d'un ADN mitochondrial mutant dans des cellules PC3 conduit à une augmentation significative de la croissance tumorale en lien avec une production majorée d'ERO [Petros2005].

Comparées aux autres tissus, les cellules épithéliales glandulaires prostatiques humaines accumulent de hautes concentrations en zinc entrainant un blocage du cycle de Krebs et une accumulation du citrate dans le fluide prostatique. Les cellules prostatiques ont une faible activité respiratoire causant une faible oxydation terminale mais également une faible génération d'ERO [Costello1997 et 2005]. Inversement, la transformation maligne des cellules de la prostate est associée précocement à un « switch » du métabolisme mitochondrial. Les mutations et l'instabilité de l'ADN nucléaire peuvent induire une down-régulation de l'expression de Zip1 (*zinc uptake transpoter*) et ainsi activer la m-aconitase, augmentant ainsi l'oxydation du citrate et l'inhibition d'OXPHOS. Ce phénomène est à l'origine d'une augmentation de l'activité de la chaine de transport des électrons et d'une augmentation de la consommation d'oxygène, aboutissant à une majoration de la production d'ERO (Figure 25). L'élévation des niveaux de radicaux libres pourra induire l'activation de voies de signalisation impliquées notamment dans la croissance cellulaire ou encore accroitre les dommages oxydatifs à l'ADN nucléaire et mitochondrial [Costello2005 ; Dakubo2006]. Les rayonnements ionisants up-régulent l'activité de la chaine mitochondriale de transfert des électrons, ce qui induit une production accrue d'ERO mitochondriales notamment en phase G2/M [Yamamori2012].

c. Le rôle des Nox dans la production d'ERO.

Récemment, des sources extra mitochondriales de production d'ERO ont été identifiées dans les cellules tumorales prostatiques. Les Nox représentent non seulement une source majeure de génération d'ERO dans le cas du cancer de la prostate, mais elles sont aussi responsables de la croissance et du maintien du phénotype agressif de l'adénocarcinome. Les NADPH oxydases et le H_2O_2 jouent des rôles importants dans la modulation des voies de signalisation, notamment via la régulation des MAPKs [Suzuki2013 ; Li2013]. De plus, l'anion superoxyde produit par les Nox contribue au développement du cancer en facilitant la résistance à la mort cellulaire [Brar2003 ; Lim2005 ; Kumar2008 ; Khandrika2009].

Dans le cancer de la prostate, les Nox non-phagocytaires génératrices de radicaux libres sont généralement activées en réponse à l'hypoxie, à la sénescence ou à des perturbations hormonales [Paschos2013]. Les Nox1 et Nox5 sont présentent dans les cellules saines et le tissu tumoral prostatique. Les autres isoformes incluant les Nox2, Nox3 et Nox4 ont été identifiées dans des lignées cancéreuses de la prostate mais sont absentes dans les lignées cellulaires prostatiques normales [Khandrika2009]. Kumar et collaborateurs montrent une augmentation de l'expression de l'ARNm des Nox2, Nox4 et Nox5 au sein de trois lignées cellulaires (PC3, Du145 et LNCaP) et une corrélation entre l'élévation des niveaux d'anion superoxyde induite par les Nox et l'augmentation de la prolifération ainsi que de la survie cellulaire [Kumar2008]. Cette étude montre également que l'inhibition des Nox conduit à prévenir la croissance et la prolifération, à diminuer l'activité clonogénique, la migration, l'invasion des cellules tumorales et à arrêter le cycle cellulaire [Kumar2008 ; Khandrika2009]. En effet, l'apocynine, un inhibiteur des Nox, prévient la carcinogenèse prostatique via une inhibition de la production de ERO et un arrêt du cycle cellulaire en G0/G1 [Suzuki2013]. Les Nox1 seraient impliquées dans la croissance, la tumorigénicité et l'angiogenèse [Arbiser2002 ; Lim2005] alors que les Nox5 réguleraient la croissance et l'apoptose des cellules cancéreuses prostatiques [Brar2003].

Tam et collaborateurs montrent une régulation hormonale de la famille des Nox dans l'épithélium prostatique normal de rat. La castration provoque une importante élévation du statut prooxydant en lien avec une augmentation dramatique de trois des Nox incluant la Nox1, la Nox2 et la Nox4. Inversement, une réplétion en androgènes chez ces animaux tend à réduire les niveaux de stress oxydant via une down-régulation de l'expression des Nox et à rétablir les niveaux antioxydants tels que ceux de la SOD2, la GPx1, la Trx et la Prx5 [Tam2003]. Les androgènes augmentent l'expression de la sous-unité catalytique $p22^{Phox}$ et celle de la sous-unité $p91^{Phox}$ du système Nox dans des cellules cancéreuses prostatiques *in vitro* et *in vivo* [Lu2010]. L'inhibition des Nox permet également de sensibiliser les cellules cancéreuses prostatiques aux radiations ionisantes.

d. Les hormones stéroïdiennes à l'origine d'ERO.

Les hormones stéroïdiennes et tout particulièrement les androgènes sont des sources potentielles d'ERO. Des niveaux physiologiques d'androgènes sont capables d'augmenter le stress oxydant au sein de cellules cancéreuses prostatiques humaines LNCaP via une élévation de l'activité mitochondriale et via une altération des défenses antioxydantes comme le glutathion [Ripple1997]. Les androgènes sont connus pour faciliter l'absorption des acides gras dans les cellules cancéreuses prostatiques mais également pour augmenter l'oxydation mitochondriale de ces acides gras, processus à l'origine d'une majoration de la production d'anion superoxyde [Lin2010].

Il est également observé dans des cellules prostatiques stimulées par les androgènes une corrélation entre l'augmentation de la croissance cellulaire, la production de H_2O_2 et une élévation de la protéine p66Shc [Veeramani20008]. L'expression de cette oxydase est significativement augmentée dans les adénocarcinomes prostatiques *vs* les cellules non-cancéreuses adjacentes [Lee2004]. L'up-régulation des niveaux de la protéine p66Shc dans les cellules cancéreuses prostatiques serait en partie liée à une inhibition de son ubiquitination [Kumar2011]. Dans les modèles animaux de cancer de la prostate, la surexpression de p66Shc augmente la tumorigénicité des xénogreffes, et inversement, l'expression mutante de cette protéine inhibe la croissance tumorale androgéno-dépendante [Veeramani2012]. Au sein de cellules androgéno-sensibles, la fixation de la DHT sur le récepteur aux androgènes induit la translocation de p66Shc dans la mitochondrie et donc l'augmentation de la production de H_2O_2 via l'oxydation du cytochrome c. Cette augmentation d'ERO pourra activer des voies de signalisation impliquées dans la prolifération et la survie. Par exemple, la protéine p66Shc, par augmentation des niveaux de H_2O_2 peut inhiber PTP (*permeability transition pore*) et activer le récepteur tyrosine ErbB-2 impliquées dans la prolifération et la promotion de la progression du cycle cellulaire via la cycline D1 [Rajendran2010 ; Veeramani2008 et 2012].

De plus, les androgènes peuvent moduler le stress oxydant via la spermidine/spermine N1-acetyltransferase, un processus utilisant le complexe JunD-AR comme co-activateur. Cette enzyme produit des quantités importantes de H_2O_2 métabolique au sein de la voie du catabolisme des polyamines via la *N'*-acetylpolyamine oxydase [Mehraein2010]. La production d'ERO induite par le récepteur aux androgènes est également associée à une augmentation des niveaux de JunD [Church2005]. Basu et collaborateurs montrent que l'inhibition de la *N'*-acetylpolyamine oxydase bloque le stress oxydant induit par les androgènes et retarde ainsi la progression tumorale tout en augmentant la survie des souris transgéniques qui développent spontanément un cancer de la prostate [Basu2009]. D'autre part dans le cancer de la prostate, la spermine est présente à des concentrations élevées et l'expression de la spermine oxydase (SMO) est un événement précoce dans le développement de la pathologie. SMO est considérée comme la source primaire de peroxyde d'hydrogène cytotoxique pendant le catabolisme des polyamines [Goodwin2008].

Au-delà de l'implication des androgènes, de récentes études rapportent l'importance des récepteurs à l'estrogène dans la progression du cancer de la prostate [Linja2003]. Les deux récepteurs aux estrogènes, ER-α et ER-β, jouent un rôle dans la prostate conduisant à la régulation du stress oxydant via les protéines découplantes et les enzymes antioxydantes. Un taux d'ER-β et un ratio ER-α/ER-β élevés semblent conduire les cellules vers la tumorigenèse [Miró2011]. La signalisation anormale d'ER- α combinée avec des niveaux élevés de testostérone pourrait induire une hyperplasie et un

adénocarcinome prostatique dans un modèle de souris [Ricke2008]. L'administration chronique de DHT et d'œstradiol à des rats induit l'expression de cytokines pro-inflammatoires dans la prostate [Harris2000], générant du H_2O_2 qui pourrait être responsable de dommages oxydatifs et de la transformation de cellules normales en cellules cancéreuses [Ho2004].

e. La production d'ERO induite par l'inflammation.

Dans de nombreux cancers dont le cancer de la prostate, l'inflammation chronique est impliquée dans les différentes étapes de la tumorigenèse incluant la transformation cellulaire, la promotion, la survie, la prolifération, l'invasion et l'angiogenèse [Coussens2002 ; DeMarzo2007 ; Sfanos2012]. L'exposition continuelle du tissu prostatique à des sources d'inflammation est corrélée à une importante augmentation d'ERO et d'ERN à l'origine de modifications structurales et fonctionnelles des protéines, d'altérations génomiques somatiques et de modifications post-traductionnelles [Olinski2002 ; Paschos2013]. Les cellules inflammatoires recrutées au niveau des sites endommagés stimulent la production et la libération d'ERO. Dans un microenvironnement inflammatoire, il est également observé une activation de la myéloperoxidase, de la Nox phagocytaire et de la NO synthase inductible, l'ensemble de ces enzymes conduiront à une surproduction d'ERO et d'ERN [Hussain2003 ; Reuter2010]. En parallèle, les cellules inflammatoires sécrètent des cytokines inflammatoires qui accélèrent les processus inflammatoires et favorisent ainsi la formation de radicaux libres [Harris2000].

L'inflammation chronique prédispose les cellules à une transformation maligne en raison de l'induction de dommages récurrents à l'ADN par les cellules inflammatoires et donc à une élévation de la fréquence des mutations [Azad2008]. Les ERO et ERN générées par les cellules inflammatoires conduisent à une prolifération incontrôlée des cellules tumorales dans un environnement riche en facteurs de croissance et à accroitre les processus de néo-vascularisation, ce qui peut potentialiser et/ou promouvoir le développement de la tumorigenèse prostatique [Araldi2008]. Les changements prooxydants induits par un microenvironnement inflammatoire ne semblent pas être suffisants à eux seuls pour inciter les cellules prostatiques à la carcinogenèse, mais associés à des instabilités génétiques et à des altérations des gènes antioxydants comme *GSTP1*, les processus inflammatoires peuvent initier le développement d'un cancer de la prostate [klein2006]. De même, les médiateurs inflammatoires issus du traitement par radiothérapie contribuent à accroitre les niveaux d'ERO et ERN au sein de l'environnement tumoral, qui pourraient de fait contribuer à une radiorésistance et à une récidive du cancer [Miao2014].

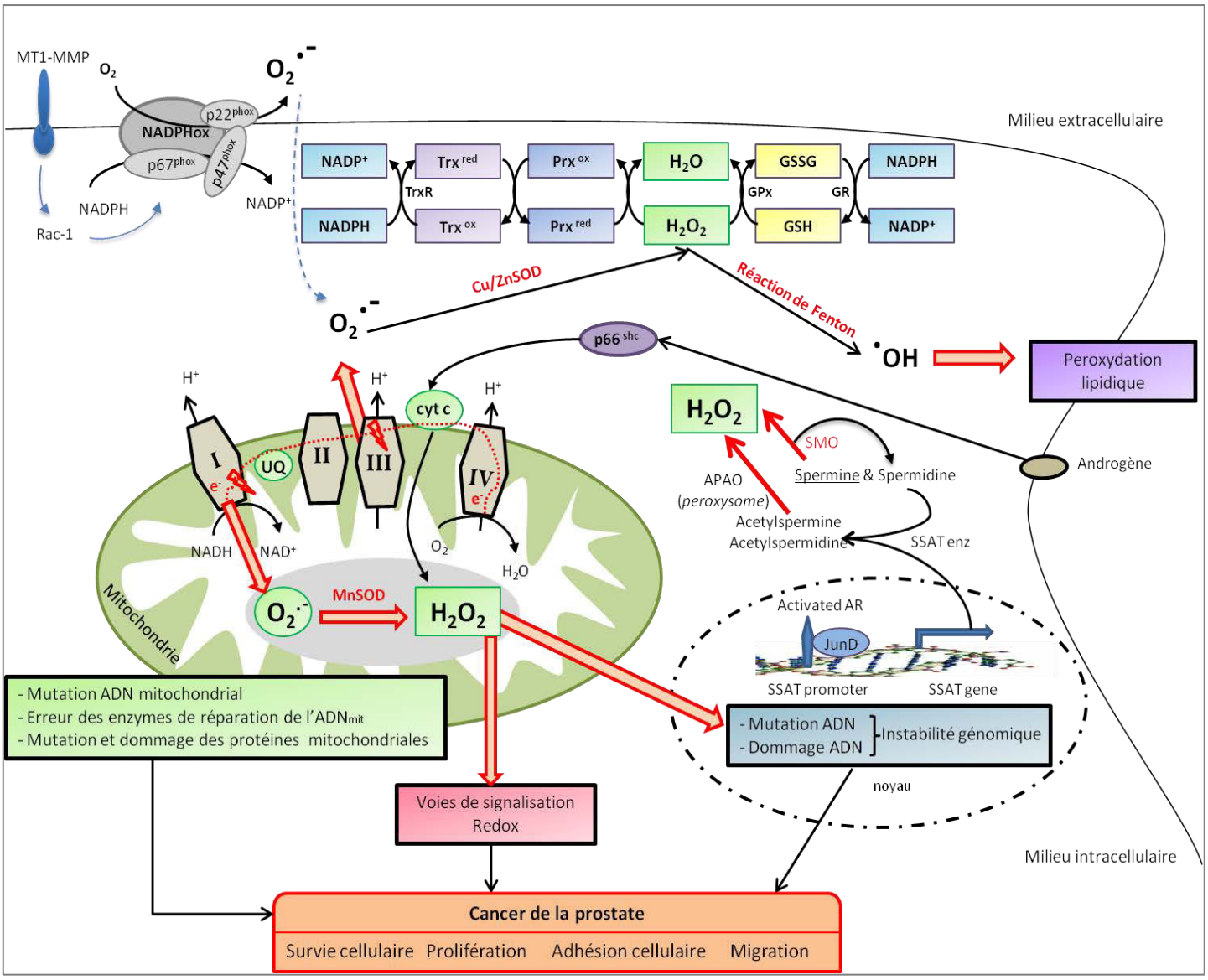

Figure 17. Origine et implication des ERO dans la cellule cancéreuse prostatique.

4. Les voies de signalisation cellulaire activées par les ERO à l'origine de l'évolution du cancer de la prostate.

Comme nous l'avons précisé précédemment, les ERO et ERN sont impliquées dans la carcinogenèse prostatique en induisant des dommages cellulaires, mais elles jouent aussi un rôle physiologique majeur dans divers aspects de la signalisation et de la régulation intracellulaire. Les radicaux libres peuvent interférer avec l'expression de nombreux gènes et les voies de transduction [Thannickal2000 ; Valko2007]. Des concentrations excessives d'ERO auront tendance à activer les voies pro-apoptotiques tandis que des concentrations faibles à modérées en $O_2^{\bullet -}$ et H_2O_2 stimulent la prolifération et augmentent la survie cellulaire [Valko2006 ; Gorrini2013].

a. ERO et prolifération tumorale prostatique.

La voie des MAPKs

Les MAPKs (*Mitogen-activated proteins kinases*) sont des sérine/thréonine kinases connues pour moduler la transcription de nombreux gènes impliqués dans la croissance, la prolifération, la survie, la différenciation cellulaire et l'apoptose. Les trois principaux membres de la famille des MAPKs sont les protéines kinases ERK1/2 (*extracellular signal-regulated kinase*), la protéine kinase JNK (*c-Jun NH2-terminal kinase*) et la protéine kinase SAPK2 (*stress-activated protein kinase 2*) plus connue sous le nom de p38. Actuellement, il est largement établi que les voies de signalisation des MAPKs sont impliquées dans la tumorigenèse prostatique [Maroni2004 ; Robert2010 ; Son2011 ; Rodríguez2012].

L'activation de la voie ERK est classiquement induite par la fixation d'un facteur de croissance (IGF, EGF) sur un récepteur à activité tyrosine kinase. Cette interaction permet le recrutement à la membrane par Ras de la protéine kinase Raf qui est responsable de l'activation par phosphorylation de la MAPK-kinase ou MEK (*MAPK-ERK-Kinase*). À son tour, MEK active ERK par une double phosphorylation, entraînant sa translocation au sein du noyau et une modulation de la transcription génique via l'activation de plusieurs facteurs de transcriptions (Elk1, c-jun, c-fos, NF-KB, CREB) impliqués dans la croissance, la prolifération et la survie cellulaire [Kohno2006 ; Roberts2007 ; Rodríguez2012]. Les ERO et ERN peuvent induire l'activation de la voie de signalisation ERK1/2 en modulant indirectement Ras via les récepteurs de croissance ou en agissant directement sur Ras ou en inhibant l'activité des protéines phosphatases [Lander1996 ; Kamata1999 ; McCubrey2007 ; Son2011]. La voie ERK ne semble pas ou faiblement activée dans les cancers localisés de bas grade (T1-T2 et Gleason ≤6), toutefois Gioeli et collaborateurs montrent une élévation significative de l'activité de ERK avec le score de Gleason (dans 70% des tumeurs, Gleason 8-10) et le stade tumoral (dans 66% des tumeurs, T4). L'activation de la cascade de signalisation ERK est associée à la progression du cancer de la prostate et semble même être corrélée à la malignité de la pathologie ainsi qu'à un mauvais pronostic [Price1999 ; Gioeli1999 ; Royuela2002 ; Shen2010]. L'ensemble de ces données suggère que la voie de signalisation ERK joue un rôle clé dans la progression du cancer de la prostate. De plus, cette cascade peut également phosphoryler des protéines impliquées dans la migration cellulaire [Huang2004], dans l'invasion tumorale en promouvant la dégradation des protéines de la matrice extracellulaire [Chakraborti2003] et dans la survie cellulaire via une modulation des processus apoptotiques [Lu2006 ; Balmanno2009].

A coté de cette voie classique, il existe des cascades de signalisation en tous points parallèles que sont notamment la voie JNK (*c-Jun NH2-terminal kinase*) et la voie p38. Elles sont activées en réponse à des cytokines pro-inflammatoires ou à des stress incluant les lésions à l'ADN, le stress oxydant ou

les radiations ionisantes. L'activation de ces deux voies se fait par phosphorylation via des MAPK-kinases (MAPKK), elle-même phosphorylée par diverses MAPK kinase kinases (MAPKKK). L'activation de la cascade JNK induit la phosphorylation de divers facteurs de transcription (Elk1, p53, AP-1, ATF-2) qui contrôlent l'expression de gènes préférentiellement impliqués dans les processus apoptotiques [Robert2010 ; Rodríguez2012 ; Morrison2012]. Hubner et collaborateurs montrent que l'activation de la voie de signalisation JNK réduit le développement d'adénocarcinome prostatique invasif et inversement une altération de cette cascade augmente la prolifération et le potentiel tumorigénique dans un modèle animal de cancer de la prostate [Hübner2012]. La voie p38 active, quant à elle, des facteurs de transcription (Elk-1, p53, NF-KB, ATF-2) et des médiateurs du cycle cellulaire et de l'apoptose qui empêchent les cellules ayant subi un stress de s'engager dans le cycle cellulaire via une régulation négative de la prolifération cellulaire et inversement une modulation positive de l'apoptose [Robert2010 ; Rodriguez2011 ; Morrison2012]. Les ERO et les ERN tels que $^1O_2$, H_2O_2, NO et $ONOO^-$ induisent l'activation des voies de signalisation JNK et p38 [Guyton1996 ; Lander1996 ; Klotz1999 ; Schieke1999] via ASK1 (*apoptosis signal related kinase*) et MEKK, des kinases de la famille MAPKKK [Matsukawa2004 ; Fujino2006]. Dans des cellules non stressées, ASK1 est liée à la thiorédoxine réduite ; tandis que sous des conditions de stress oxydant, la thiorédoxine est oxydée ou nitrosylée, permettant de fait la dissociation de ASK1, qui pourra alors activer les voies JNK et p38 [Saitoh1998 ; Tobiume2001 ; Yasinska2004 ; Nagai2007 ; Karlenius2010]. Au-delà de leur rôle majeur dans les processus apoptotiques, JNK et p38 pourrait également être impliquées dans les mécanismes d'angiogenèse et d'invasion facilitant la croissance et les métastases du cancer de la prostate [Kwon2009 ; Shen2010 ; Koul2013].

L'importance de la voie MEK5/ERK5 dans le cancer de la prostate a été montrée que très récemment [Mehta2003 ; McCrakens2008]. L'activation de cette cascade est régulée comme les deux voies précédentes via des mitogènes, des cytokines et le stress oxydant [Morrison2012]. Le peroxyde d'hydrogène et l'anion superoxyde sont montrés pour stimuler l'activation de la voie ERK5 [McCubrey2007]. Des études *in vitro*, *in vivo* et cliniques rapportent un rôle important de la signalisation MEK5/ERK5 dans les phénotypes agressifs d'adénocarcinome prostatique. La réduction de l'expression de ERK5 et/ou de sa signalisation inhibent significativement les capacités invasives des cellules PC3 [Mehta2003 ; McCrakens2008 ; Ramsay2011].

L'inhibition de la génération d'ERO extra-mitochondriale par un traitement au diphenyliodonium ou à l'apocynine, deux inhibiteurs des Nox, semblerait moduler l'activité de p38 et d'ERK et ainsi réduire la prolifération cellulaire [Kumar2008 ; Khandrika2009 ; Suzuki2013]. De nombreux inhibiteurs chimiques agissant aux diverses étapes de la voie des MAPKs conduisent à limiter la progression

tumorale [McCubrey2007 ; Munshi2013]. Toutefois, la seule inhibition de la voie ERK entraine généralement l'activation de voies compensatoires qui nécessitent également d'être inhibée afin de potentialiser l'inhibition de la croissance tumorale [Kinkade2008 ; Gioeli2011].

La voie PI3K/Akt

La voie de la phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) est une des voies de signalisation au rôle majeur dans la tumorigenèse prostatique. Cette cascade de signalisation serait up-régulée dans 30 à 50 % des adénocarcinomes prostatiques [Yoshimoto2007 ; DeVelasco2012]. La voie PI3K est initiée par l'interaction d'un facteur de croissance (insuline, IGF, EGF) avec un récepteur à activité tyrosine kinase. Une fois activée, ces récepteurs phosphorylent PI3K qui a son tour phosphoryle le phosphatidylinositol-4,5-diphosphate (PIP2) afin de le transformer en phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate (PIP3). La phosphorylation de l'inositide par la PI3K est contrebalancée par une déphosphorylation assurée par PTEN qui assure la régulation négative de cette voie de signalisation. PIP3 recrute alors à la membrane PDK1 (*Phosphoinositide-dependent kinase 1*) et la protéine Akt. La phosphorylation de Akt est à l'origine de l'activation de multiples effecteurs, qui ont un rôle important dans la régulation de la synthèse protéique et de la croissance, de la survie et de la prolifération cellulaire [Vivanco2002 ; Altomare2005]. Dans le cancer de la prostate, la perte du gène suppresseur de tumeur *PTEN* induit une sur-activation de Akt, qui a son tour est associée à une prolifération incontrôlée et une diminution de l'apoptose à l'origine de la tumorigenèse prostatique [Malik2002 ; Li2005 ; Chow2006 ; Kinkade2008 ; Liu2009 ; Taylor2010 ; Phin2013 ; Bitting2013 ; Edlind2014].

La serine-thréonine kinase Akt connue pour down-réguler les défenses antioxydantes et promouvoir la survie cellulaire peut être activée par les ERO notamment via une inhibition de PTEN [Lu2009]. Akt peut stimuler la croissance cellulaire en stabilisant l'oncogène c-myc et en altérant la régulation du complexe cycline-cdk ou encore l'action de $p27^{Kip1}$. Akt a également d'importantes propriétés anti-apoptotiques due à sa capacité d'inactiver les molécules pro-apoptotiques telles que la caspase-9 ou à sa capacité de déréguler les protéines de la famille BCL-2. De plus, Akt promeut la translocation nucléaire de l'ubiquitine ligase MDM2 qui inhibe les processus apoptotiques induits par p53 [Cantley2002 ; Manning2007 ; Engelman2006 ; Vivanco2007 ; Carnero2008 ; Duronio2008 ; Robert2010 ; Courtney2010]. La voie PI3K/Akt active la survie cellulaire via la régulation des facteurs de transcription apoptotiques tels que les facteurs de transcription FOXO et NF-KB [Courtney2010]. En effet, Akt activée peut phosphoryler les protéines FOXO (f*orkhead box class O*) conduisant ainsi à la séquestration dans le noyau de ces facteurs de transcription connus pour contrôler l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1 et G2, pour réparer les dommages de l'ADN et pour détoxifier la cellule des

radicaux libres produits par le stress oxydatif [Brunet2004 ; Altomare2005]. De plus, la voie de signalisation PI3K/NF-KB induit une régulation positive de la protéine anti-apoptotique Bcl-2 qui pourrait jouer un rôle central dans la progression du cancer de la prostate [Catz2003]. Kim et collaborateurs montrent également que la phosphorylation d'Akt prévient l'activation de JNK et donc l'induction de l'apoptose induite par H_2O_2 [Kim2001]. Les Nox et notamment les Nox1 présentes à des niveaux élevés dans les cellules cancéreuses prostatiques sont impliquées dans l'activation de la voie Akt [Li2013]. Kumar et collaborateurs rapportent que l'inhibition des ERO induite par le diphenyliodonium conduit à une perte d'expression d'Akt au sein des cellules cancéreuses prostatiques [Kumar2008]. Similairement, des études *in vitro* et *in vivo* montrent que la voie PI3K/Akt/FOXO a un rôle crucial dans la carcinogenèse prostatique [Shulka2009 ; 2013 et 2014].

La voie des kinases C

Les kinases telles que la protéine kinase C (PKC) peuvent également être activées par H_2O_2 et ainsi réguler divers processus cellulaires incluant la mitogenèse, l'adhésion cellulaire, l'apoptose, l'angiogenèse et l'invasion [Larsson1989]. Les deux domaines N-terminal et C-terminal de PKC répondent différemment aux prooxydants et aux antioxydants, ainsi l'oxydation du domaine NH2-terminal active la protéine kinase tandis que l'oxydation du domaine COOH-terminal inactive PKC [Gopalakrishna1989]. C'est pourquoi PKC est à la fois une cible privilégiée pour la promotion de la tumorigenèse par les prooxydants et une cible pour la prévention tumorale par les antioxydants [Reuter2010, Klaunig2011]. De la même manière que les autres protéines kinases incluant ERK, JNK, p38, PI3K, la forme activée de PKC phosphoryle des facteurs de transcription tels que AP-1, Nrf-2 et NF-KB ou encore FOXO, pour moduler l'expression de gènes cibles en réponse au stress oxydant.

La voie des androgènes

Les androgènes jouent un rôle clé dans le développement normal et le maintien de l'homéostasie de la prostate, en se fixant sur le récepteur aux androgènes [Heinlein2004]. Toutefois, les androgènes et le récepteur aux androgènes ont également une importance dans la carcinogenèse prostatique. La testostérone est sécrétée quasi exclusivement par les cellules de Leydig du testicule et son précurseur est majoritairement le cholestérol [Midzak2009]. Dans les cellules prostatiques, la testostérone libre est convertie en dihydrotestostérone (DHT) par la 5α-réductase (SRD5A2). La DHT se lie avec une affinité cinq fois plus importante sur le récepteur aux androgènes (AR) que la testostérone. A l'état basal, le AR est lié à des protéines chaperonnes telles que HSP (*heat shock proteins*) dans une conformation qui empêche l'interaction entre le récepteur et l'ADN [Veldscholte1992]. La fixation de la DHT sur le AR présent dans le cytoplasme induit un changement de conformation du récepteur et la dissociation des protéines chaperonnes. La liaison des

androgènes induit une phosphorylation et une dimérisation du récepteur aux androgènes [Brinkmann1999]. Le complexe DHT-AR ainsi formé transloque dans le noyau et se lie au niveau de séquences spécifiques de l'ADN dans les régions promotrices de gènes cibles. L'activation de cette interaction permet la transcription de gènes cibles impliqués dans la régulation de la prolifération et de la survie des cellules épithéliales prostatiques [Feldman2001].

Les androgènes et leur récepteur sont impliqués dans la progression de la tumorigenèse prostatique notamment en modulant des gènes cibles codant pour des protéines contrôlant le cycle cellulaire et l'apoptose. En stimulant l'expression des cyclines et CDK (cyclin-dependant-kinase), la DHT augmente la prolifération cellulaire en permettant la progression en G1 et la transition G1/S du cycle cellulaire. D'autre part, il est observé que les androgènes induisent une diminution de l'expression de protéines inhibitrices des CDKs telles que $p27^{kip1}$ et p16 et une augmentation de la phosphorylation de Rb, nécessaire à la transition G1/S [Chen1996 ; Lu1997 ; Taneja2001 ; Fang2012]. De plus, les androgènes ont la capacité de moduler l'apoptose en bloquant l'activation des caspases au sein des voies apoptotiques intrinsèques et extrinsèques. La DHT régulent positivement les gènes codant pour des protéines anti-apoptotiques comme Bcl-2 et vont down-réguler ceux codant pour des protéines pro-apoptotiques tel que Bax [Kimura2001 ; Wen2014]. Il est également établi que les androgènes favorisent la production des facteurs de croissance (IGF et EGF) par les cellules stromales de la prostate et leur action sur les cellules épithéliales prostatiques [Brass1995 ; Schayek2010].

Comme nous l'avons précédemment montré, les androgènes ont également la capacité de moduler le stress oxydatif dans le cancer de la prostate [Ripple1997 ; Tam2003 ; Pinthus2007 ; Lonergan2011]. Dans leur revue, Shiota et collaborateur ont largement examiné les effets de la signalisation des androgènes sur le stress oxydant et inversement les effets du stress oxydant sur le récepteur aux androgènes, notamment au sein du cancer de la prostate résistant à la castration [Shiota2011]. Le stress oxydant est montré pour moduler la voie de signalisation AR via les cascades MAPK, Akt et PKC [Ueda2002 ; Culig2004 ; Wang2007]. Les facteurs de signalisation incluant NF-KB, CREB, c-myc ou encore FOXO3a, induits par ces cascades en réponse au stress oxydant, régulent la transcription du récepteur aux androgènes [Yang2005 ; Lee2009 ; Zhang2009]. De plus, des études montrent que les peroxyrédoxines, connues pour leur rôle dans la détoxification des radicaux libres (partie A.2.b), sont des co-activateurs de la voie de signalisation des androgènes qui permettent d'accroitre la signalisation hormonale notamment en facilitant la liaison androgène-AR [Park2007 ; Chhipa2009]. Par exemple, l'inactivation du gène Prx2 réduit l'expression de gènes régulés par les androgènes et supprime la croissance des cellules tumorales prostatiques exprimant AR [Shiota2011].

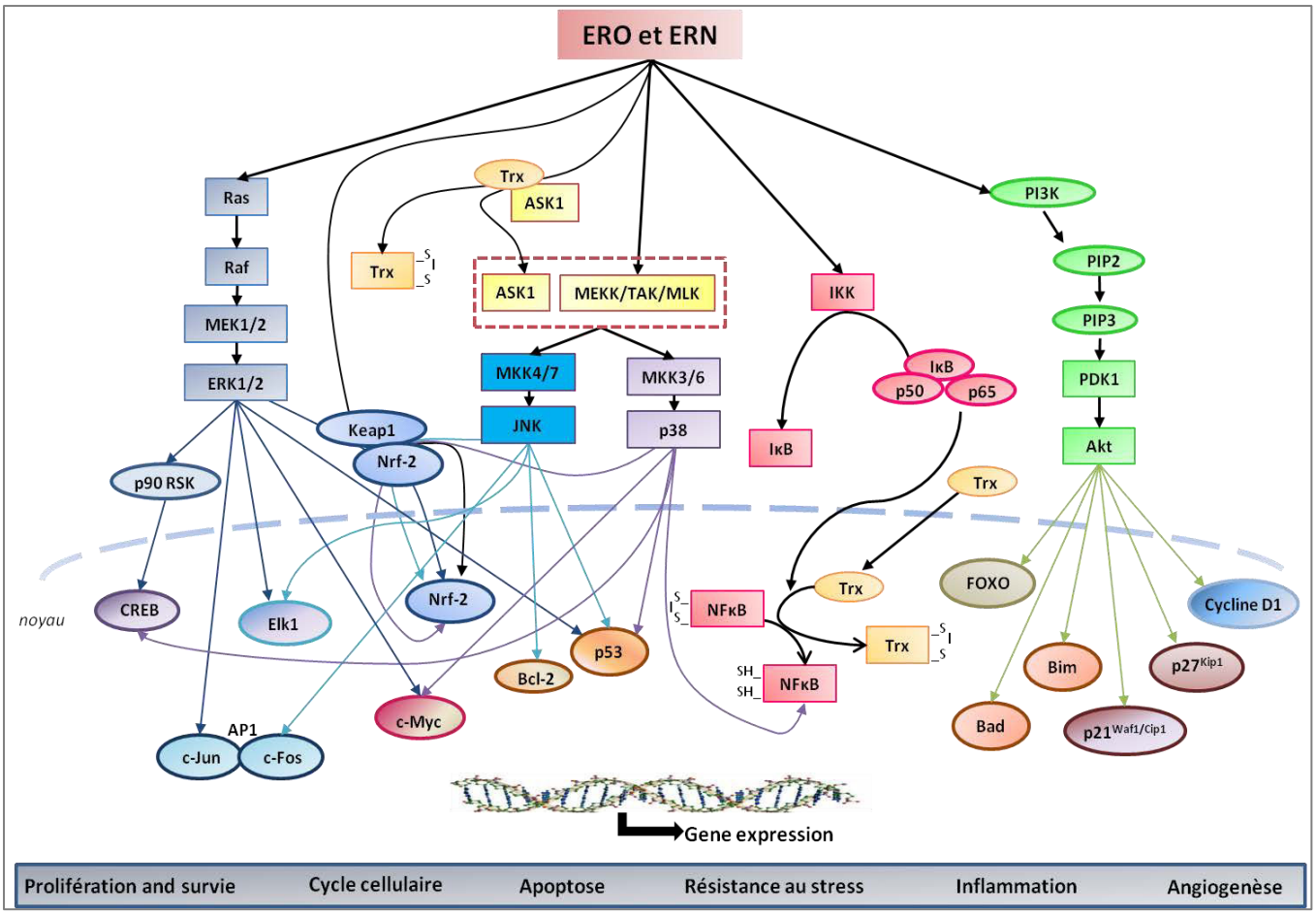

Figure 18. ERO et ERN, la régulation des voies de signalisation et la modulation des facteurs de transcription impliqués dans la carcinogenèse prostatique.

Activator protein-1 (AP-1)

L'activation du facteur de transcription AP-1, composé par la combinaison de protéines des familles c-Fos, c-Jun et ATF (*activating transcription factor*), régule la prolifération cellulaire, l'apoptose, l'inflammation, ainsi que les processus de carcinogénèse [Dhanasekaran2007 ; Reuter2010 ; Ma2010]. L'induction d'AP-1 par les ERO, les cytokines et d'autres médiateurs de stress est principalement contrôlée par les cascades de signalisation des MAPK et plus particulièrement par JNK et p38 [Chang2001]. Une fois activée, la protéine JNK transloque dans le noyau et phosphoryle c-jun et ATF-2 afin d'amplifier leurs activités transcriptionnelles [Gupta1995]. La régulation redox de la fixation du facteur de transcription AP-1 à l'ADN est liée à Ref-1 (*redox factor-1*). La Trx peut augmenter l'activité de fixation du facteur AP-1 à l'ADN en réduisant ces résidus cystéines indirectement via l'intermédiaire Ref-1 [Ma2010 ; Karlenius2010]. c-Jun peut stimuler la progression du cycle cellulaire via l'induction de la cycline D1 et l'inhibition de l'expression de $p21^{Waf1}$ bloquant de fait la transition G1-S et G2-M [Chung2002 ; Waris2006 ; Klaunig2011].

Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf-2)

Nrf-2 est un important facteur de transcription sensible au potentiel redox qui protège contre le stress oxydant en induisant des gènes antioxydants (GPx, Trx, TrxR, Prx) et de détoxification (GST) par sa liaison à l'élément de réponse antioxydante (ARE). La principale fonction de Nrf-2 est de maintenir les niveaux cellulaires de la GSH et de la Trx ainsi que de réduire les niveaux de ERO [Lau2008]. De part son rôle protecteur dans le contrôle de l'état redox, Nrf-2 protège non seulement les cellules normales de leur transformation en cellules cancéreuses mais promeut aussi la survie des cellules tumorales [Lau2008 ; Jaramillo2013]. Nrf-2 a donc une activité protectrice à des stades précoces de la tumorigenèse et un effet néfaste à des stades avancés notamment en induisant une résistance aux traitements [Kansanen2013]. Dans des conditions basales de stress, Keap1, une protéine répresseur cytosolique, est liée à Nrf-2 et promeut sa dégradation par le protéasome. En présence d'un stress tel que les ERO, un changement conformationnel de Keap1 permet la libération de Nrf-2. Ce facteur de transcription transloque alors dans le noyau où il pourra se lier à l'élément de réponse antioxydante et activer la transcription de gènes [Itoh1999 ; Nguyen2009].

De plus, la phosphorylation de Nrf-2 par des kinases telles que ERK, JNK, PI3K et PKC est supposée faciliter la dissociation du complexe Keap1/Nrf-2 et la translocation de Nrf-2 dans le noyau [Surh2003 ; Sporn2005]. Le facteur de transcription Nrf-2 et plusieurs de ses gènes cibles sont significativement down-régulés dans le cancer de la prostate humain [Frohlich2008]. L'altération des niveaux et/ou de l'activité de Nrf-2 sont à l'origine d'une augmentation de la production d'ERO et des lésions à l'ADN, qui promeuvent la tumorigenèse prostatique [Yu2010 ; Khor2014 ; Cheung2014].

Nuclear factor-kappa B (NF-ƙB)

L'activation de NF-ƙB est associée au processus de carcinogenèse [Valko2006 ; Ma2010 ; Reuter2010 ; Klaunig2011] incluant la tumorigenèse prostatique [Paschos2013]. NF-ƙB est un facteur de transcription nucléaire ubiquitairement exprimé qui régule un large nombre de gènes impliqués dans la survie cellulaire, la différenciation, l'inflammation et la croissance [Pande2005 ; Sethi2008]. Normalement, les dimères NF-ƙB sont séquestrés dans le cytoplasme sous une forme inactive en raison de la fixation des protéines inhibitrices IƙB. L'activation de ce facteur de transcription intervient en réponse à des stimuli extracellulaires tels que le stress oxydant, les radicaux libres ou encore les rayonnements ionisants qui induisent la dissociation de IƙB par phosphorylation et dégradation protéolytique. Ce phénomène permet l'entrée du NF-ƙB dans le noyau où il pourra alors transactiver des gènes cibles [Zhang2001 ; Wu2007 ; Sethi2008].

Dans des conditions de stress et en réponse à l'activation de NF-ƙB, la Trx est transloquée rapidement du cytoplasme vers le noyau où elle augmente l'activité de fixation à l'ADN de NF-ƙB. La

Trx joue ainsi un rôle distinct sur la voie de signalisation NF-kB dans le cytoplasme et dans le noyau. Dans le cytosol, la surexpression de Trx inhibe la dégradation de IkB ; cependant dans le noyau, Trx réduit directement les résidus cystéine de NF-kB et augmente ainsi l'expression de gène dépendant de ce facteur de transcription [Hirota1999 ; Karlenius2010]. Or, nous avons précédemment montré une surexpression de Trx1 nucléaire au sein du tissu tumoral prostatique.

Forkhead box subgroup 'O' (FOXO)

Les ERO et notamment le peroxyde d'hydrogène sont connus pour moduler l'activité des protéines de la famille FOXO (*forkhead box subgroup 'O'*) incluant notamment FOXO1 et FOXO3a [Storz2005 ; Shukla2013]. Par exemple, Nemoto et collaborateurs observent une régulation redox négative de l'activité des protéines FOXO via une voie de signalisation dépendante de la protéine p66shc, qui est up-régulée dans le cancer de la prostate comme nous l'avons décrit au préalable [Nemoto2002]. Les facteurs de transcription FOXO sont régulés par divers stimuli externes comme l'insuline, l'IGF-I, les autres facteurs de croissance, les nutriments, les cytokines et le stress oxydant [Nakae2000 ; Greer2005 ; Gross2008]. Les protéines FOXO sont à l'interface d'importants processus cellulaires tels que le cycle cellulaire, la réparation de l'ADN, la résistance au stress oxydatif et l'apoptose en modulant des gènes cibles spécifiques [Furukawa2005 ; Yang2007 ; Greer2008].

Le principal effet de la forme active des membres de la famille FOXO est la promotion de l'arrêt du cycle cellulaire en G1/S et G2/M. Les facteurs FOXO jouent un rôle majeur dans l'arrêt en G1 via l'up-régulation des inhibiteurs cycline-dépendante-kinases que sont $p27^{Kip1}$ et $p21^{Waf1}$ mais également via une répression de l'expression de la cycline D1 et D2, deux activateurs du cycle cellulaire [Medema2000 ; Ramaswany2002 ; Kops2002 ; Furukawa2002 ; Seoane2004 ; Zhang2011]. Associés à la capacité de réguler le cycle cellulaire, les facteurs nucléaires FOXO up-régulent l'expression de gènes impliqués dans la réparation de l'ADN tels que GADD45 (*growth arrest and DNA damage 45*) [Tran2002 ; Chen2008]. Les protéines FOXO ont également la capacité de piéger les ERO en up-régulant la catalase et la MnSOD [Nemoto2002 ; Kops2002]. Concernant la fonction apoptotique, FOXO3a activent la transcription de Bim, un membre de la famille pro-apoptotique Bcl-2 [Dijkers2000 ; Fu2008 ; Zhang2011] et down-régule l'expression de Bcl-xL, un membre de la famille anti-apoptotique de Bcl-2 [Tang2002 ; Fu2008]. De plus, les facteurs FOXO induisent l'apoptose en up-régulant des gènes codant pour des cytokines impliquées dans la mort cellulaire dépendante de la voie des récepteurs de mort telles que FasL, le ligand pour la voie de mort cellulaire médiée par Fas, et TRAIL, un membre pro-apoptotique de la famille TNF (*tumor necrosis factor*) dont l'expression est diminuée dans les adénocarcinomes prostatiques humains métastasés [Brunet1999 ; Modur2002 ; Fu2008 ; Zhang2011].

Les membres de la famille FOXO forment l'une des cibles privilégiées de la protéine kinase Akt et de la protéine kinase SGK (*serum and glucocorticoid inducible kinase*). Ces deux kinases phosphorylent les facteurs FOXO qui interagissent alors avec les protéines chaperonnes 14-3-3 [Biggs1999 ; Brunet1999 ; Tang1999]. Les protéines 14-3-3 préviennent la fixation des protéines FOXO à l'ADN, induisant l'export des facteurs FOXO du noyau vers le cytoplasme [Cahill2001]. Ce phénomène a pour conséquence l'inhibition de la transcription des gènes dépendants de FOXO [Brunet1999 ; Tang1999 ; Storz2005 ; Greer2005 et 2008 ; Tzivion2011].

Dans les cellules cancéreuses prostatiques LNCaP et PC3 *vs* des cellules épithéliales prostatiques saines, Shukla et collaborateurs observent une corrélation entre les hauts niveaux de FOXO3a cytosoliques, l'augmentation d'expression de pAkt Ser473 et l'élévation des protéines chaperonnes 14-3-3. Ils montrent que la fixation de FOXO3a à l'ADN est réduite de 40% pour les cellules LNCaP et de 33% pour les cellules PC3 [Shukla2009]. Ces données renforcent l'hypothèse que FOXO3a pourrait être inactivé puis exclu du noyau via la phosphorylation induite par Akt, et confirment le rôle majeur de la cascade Akt/FOXO/14-3-3 dans la tumorigenèse prostatique.

Shukla et collaborateurs montrent également une expression nucléaire de FOXO3a significativement plus importante dans des tissus prostatiques sains comparés à des sections tumorales de bas grade ($p=0,039$) et de haut grade ($p<0,0001$). De plus, ils relèvent une diminution progressive de la fixation de FOXO3a à l'ADN au décours de la tumorigenèse prostatique et une faible activité transcriptionnelle de FOXO3a pour les adénocarcinomes prostatiques agressifs [Shukla2009]. Dans un modèle de souris TRAMP, l'activité de FOXO3a est négativement régulée par la voie Akt via une modification post-traductionnelle. L'augmentation progressive de l'activation d'Akt au cours de la progression du cancer de la prostate induit une augmentation de la phosphorylation de FOXO3a et sa fixation à la protéine 14-3-3. L'activité de FOXO3a est alors bloquée, ce qui entraine une accélération de la progression du cancer au sein des souris TRAMP [Shukla2013]. Dans ce modèle animal de cancer de la prostate mais également *in vitro* au sein des cellules tumorales LNCaP et PC3, Shukla et collaborateurs démontrent qu'un traitement à l'apigénine, un bi-flavonoïde contenu dans certains végétaux, réduit la phosphorylation de Akt Ser473 et de FOXO3a permettant de fait d'augmenter la rétention nucléaire de ce facteur et de réduire sa fixation à la protéine 14-3-3. Ceci a pour conséquence une réduction de la prolifération cellulaire tumorale prostatique [Shukla2014].

Sous certaines conditions de stress oxydant, JNK et p38 sont des protéines kinases qui ont la capacité de phosphoryler et d'activer les facteurs de transcription FOXO en les maintenant ou en les transloquant dans le compartiment nucléaire [Essers2004 ; Lehtinen2006 ; Asada2007 ; Yang2008]. Ces kinases régulent donc les membres de la famille FOXO de manière contraire à Akt et SGK.

En effet, JNK est connue pour phosphoryler les protéines chaperonnes 14-3-3 conduisant ainsi à la libération des substrats de 14-3-3 incluant les facteurs FOXO [Tsuruta2004]. Le stress oxydant peut également être à l'origine de la poly-ubiquitination des facteurs FOXO, ce qui conduit à leur dégradation protéasomale [Greer2005]. De même, la phosphorylation de FOXO3a dans son extrémité C-terminale induite par IKKβ (*I kappaB kinase β*), connu pour activer le facteur de transcription NF-KB, conduit à l'ubiquitination puis à la dégradation du facteur FOXO3a [Hu2004]. De plus, Yang et collaborateurs ont montré que la voie ERK1/2 peut phosphoryler FOXO3a et ainsi induire la tumorigenèse en activant la dégradation protéasomale de ce facteur de transcription [Yang2008]. Pour conclure sur ce facteur de transcription, la restauration de l'activité de FOXO3a, comme suppresseur de tumeur, représente une attractive cible thérapeutique dans la prévention et probablement dans l'inhibition de la progression du cancer de la prostate. Des stratégies ciblant d'autres intermédiaires de la voie PI3K/Akt sont discutées dans la revue de Kumar et Madison [Kumar2005].

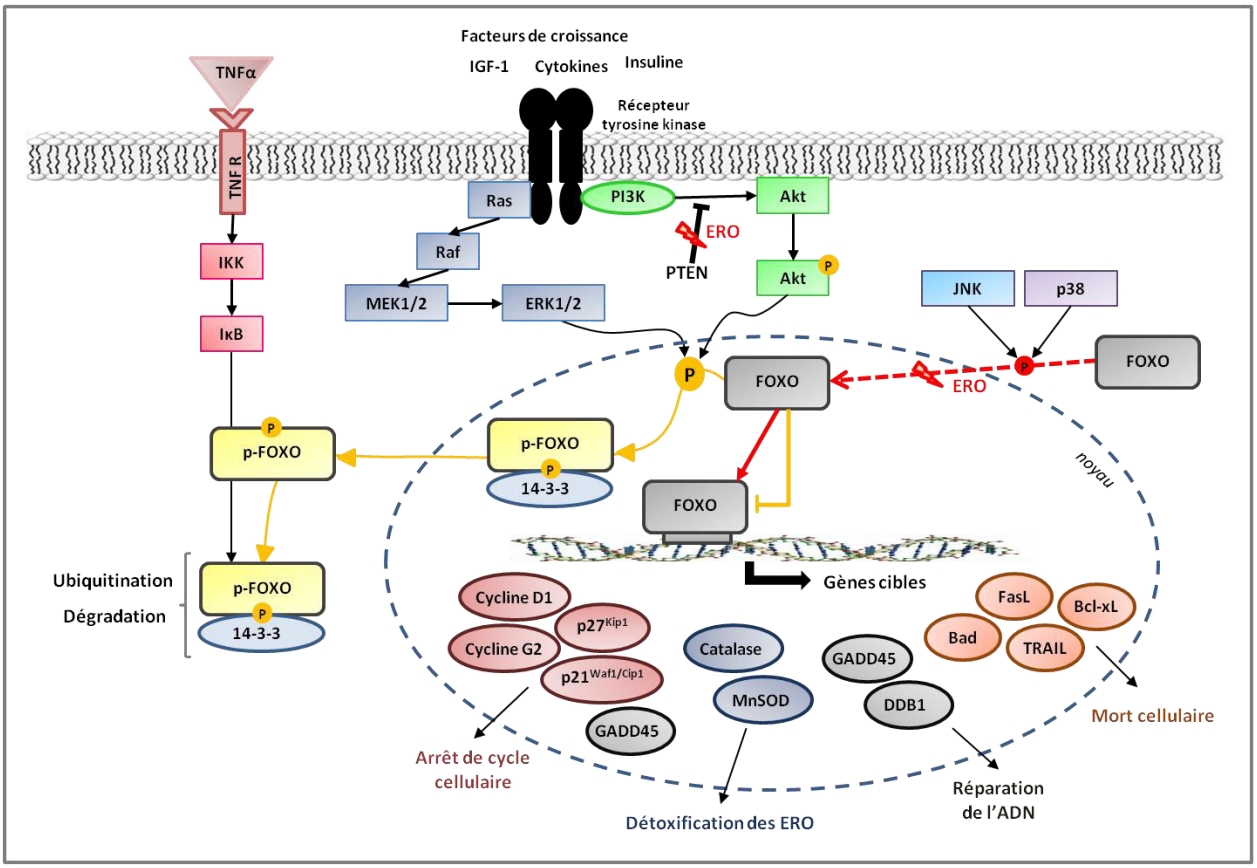

Figure 19. Le facteur de transcription FOXO et son rôle dans la tumorigenèse prostatique.

b. ERO, de l'angiogenèse à l'invasion tumorale prostatique.

De surcroit, les ERO sont d'importants stimuli de la signalisation angiogénique [North2005]. Les cellules tumorales exposées à des conditions hypoxiques libèrent des facteurs de croissance angiogéniques qui permettent de maintenir la progression tumorale [Cheema2010]. Les conditions hypoxiques augmentent la production d'ERO au sein des tumeurs et contribuent ainsi au phénotype agressif du cancer de la prostate et à sa résistance à la radiothérapie [Anastasiadis2003]. H_2O_2 est montré pour stabiliser la protéine HIF1α (*hypoxia inductible factor*) et donc induire la production de facteurs impliqués dans l'angiogenèse [Mazure1996]. Il a été établi que HIF1α est surexprimé dans les stades précoces d'adénocarcinome prostatique et *in vitro* dans les cellules LNCaP [Zhong1999 ; Ghafar2003 ; Kimbro2006]. La surexpression de l'oncogène Ras est étroitement liée à la vascularisation tumorale. En effet, la transformation cellulaire par Ras stabilise HIF1α et up-régule la transcription de VEGFA (*vascular endothelial growth factor*) [Bergers2003]. Dans les cellules cancéreuses prostatiques, l'augmentation des ERO via l'activation des Nox pourrait moduler les voies impliquant HIF1α/VEGF [Khandrika2009]. Li et collaborateurs confirment ces données en montrant qu'une expression élevée de $p22^{phox}$ promeut la croissance et l'angiogenèse des adénocarcinomes prostatiques via la voie Akt/ERK/HIF/VEGF [Li2013]. Similairement, les androgènes auraient la capacité d'activer HIF-1 qui à son tour induirait l'expression de VEGF via la régulation de la voie PI3K/Akt dans les cellules LNCaP [Mabjeesh2003]. Les enzymes antioxydantes HO-1 (*heme oxygenase-1*) interagissent contre les dommages oxydatifs et inflammatoires et jouent donc un rôle clé dans la carcinogenèse prostatique notamment en limitant le déséquilibre de l'homéostasie redox via une réduction des niveaux d'ERO. Ferrando et collaborateurs rapportent que HO-1 pourrait être un modulateur de l'angiogenèse. Ils observent une dow-régulation d'un ensemble de gènes inflammatoires et pro-angiogéniques incluant VEGFA, VEGFC et HIF1α en réponse à une surexpression de HO-1 dans des cellules PC-3 [Ferrando2011]. Cette équipe montre également, au sein d'un modèle *in vivo* sur-exprimant HO-1, une diminution de la vascularisation, une répression du facteur de transcription NF-KB et une diminution des processus d'invasion cellulaire.

En effet, le stress oxydant est également impliqué dans les processus d'invasion et de métastases notamment en up-régulant l'expression génique des MMPs (*matrix metalloproteinases*) telles que MMP-2 et MMP-9 [Westermarck1999 ; Nelson2000]. Au-delà d'une stimulation de l'expression de plusieurs MMPs par les iNOS, il est également montré que les ERO peuvent moduler l'expression de ces protéines d'invasion via l'activation de l'oncogène Ras ou directement via l'activation de la famille MAPK ou encore via l'inactivation de phosphatases régulant ces protéines [Storz2005 ; Reuter2010]. Par exemple, les voies JNK, p38 et ERK5 peuvent moduler MMP-2 et/ou MMP-9

[Mehta2003 ; Kwon2009 ; Shen2010]. L'inhibition de la voie de signalisation EGFR/MEK/ERK dépendante des ERO pourrait down-réguler MMP-2 et MMP-9 [Xiao2012]. De même, Kumar et collaborateurs montrent une forte activité de la MMP-9 dans les cellules PC3 *vs* les cellules LNCaP moins agressives et montrent que l'inhibition des ERO induite par le diphenyliodonium limite l'activité de la MMP-9 au sein de ces cellules cancéreuses prostatiques humaines [Kumar2008].

c. ERO et la mort des cellules tumorales prostatiques.

Au-delà de leur effet carcinogène, les ERO et ERN peuvent aussi, dans certains cas de figures, faciliter la mort des cellules cancéreuses qu'elles ont paradoxalement contribuées à créer. Les deux principaux mécanismes pour la mort cellulaire sont l'apoptose, un processus programmé et régulé par lequel les cellules déclenchent leur autodestruction, et la nécrose, un processus désorganisé dans lequel les cellules gonflent, se désintègrent et libèrent leur contenu.

Les ERO et les dommages à l'ADN mitochondrial sont des stimuli de la voie apoptotique mitochondriale intrinsèque qui peuvent augmenter la perméabilité de la membrane mitochondriale et la translocation du cytochrome c de la mitochondrie vers le cytosol, lequel pourra induire la signalisation apoptotique dépendante des caspases [Circu2010]. En effet, la libération du cytochrome c dans le cytosol permet la formation du complexe apoptosome regroupant le cytochrome c et la protéine Apaf-1 (*apoptotic peptidase activating factor 1*) et le recrutement de la pro-caspase 9, qui induit le clivage de la caspase 3 et donc la mort cellulaire programmée [Hill2004].

Les ERO sont également impliquées dans la modulation de la voie des MAPKs. La balance entre l'activation d'ERK et JNK est un facteur déterminant pour la survie cellulaire, puisque l'induction de l'apoptose requiert l'activation de la voie JNK et p38 couplée à une inhibition de la cascade ERK [Xia1995 ; Waris2006]. En effet, cette dernière est connue pour induire des effets anti-apoptotiques en dérégulant les molécules pro-apoptotiques (Bim, Bad, caspase 9) via une diminution de leur activité ou une réduction de leur expression. La voie ERK peut également promouvoir la survie cellulaire en up-régulant des molécules anti-apoptotiques (Bcl-X_L, CREB) via une augmentation de leur activité ou de leur transcription [Weston2003 ; Lu2006 ; McCubrey2007 ; Balmanno2009]. Par exemple, l'activation de la voie ERK et de la voie Akt est à l'origine de la phosphorylation de FOXO3a, de sa séquestration dans le cytosol puis de sa dégradation, conduisant de fait à la répression de l'expression de Bim [Balmanno2009 ; Kim2010]. Ainsi, les facteurs Bcl-2, Bcl-X_L se lient à Bax et préviennent son activation [McCubrey2007]. De plus, la cascade ERK peut conduire à la translocation de NF-KB dans le noyau et promouvoir l'expression de gènes anti-apoptotiques [Rodríguez2012].

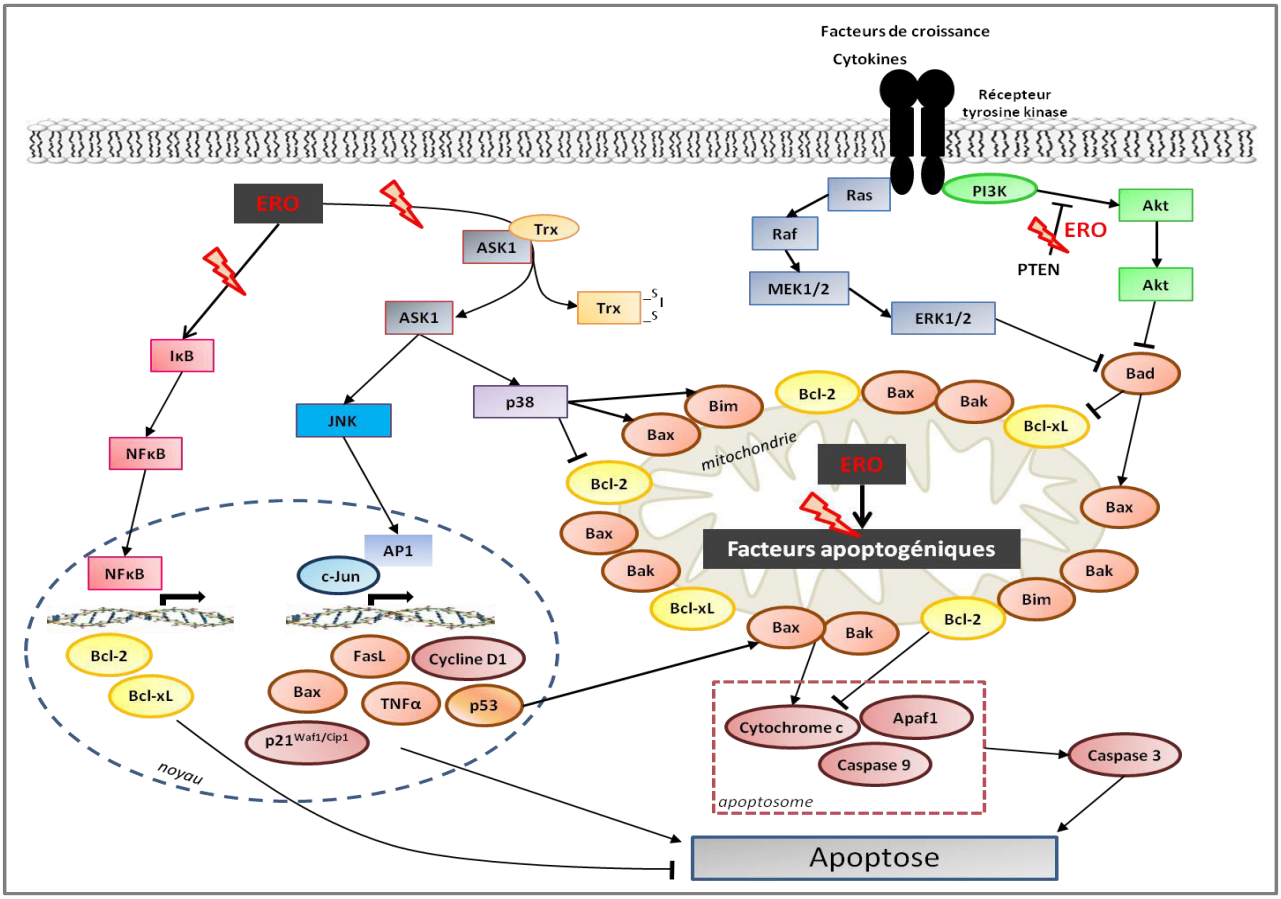

Figure 20. Implication des ERO dans le processus de mort cellulaire par apoptose.

Lorsque des cellules tumorales sont exposées à des concentrations excessives d'ERO qui dépassent un certain seuil, la voie apoptotique se déclenche [Kong2000]. L'étude de Haddad et collaborateurs montrent qu'une élévation accrue des ERO conduit à l'activation de la voie JNK [Haddad2004]. JNK phosphorylée transloque dans le noyau où elle phosphoryle et transactive c-jun [Chang2001]. L'activation de c-jun conduit à la transcription de protéines pro-apoptotiques via le facteur de transcription AP-1 [Dhanasekaran2007 ; Turjanski2007]. La cascade de signalisation JNK/AP-1 conduit ainsi à une augmentation de l'expression de gènes pro-apoptotiques et/ou à une diminution de l'expression de gènes de survie [Fan2001 ; Dhanasekaran2008].

Des études montrent que JNK pourrait induire la signalisation pro-apoptotique via la phosphorylation de Bad, une protéine pro-apoptotique de la famille Bcl2 et par la phosphorylation de 14-3-3, une protéine qui séquestre Bad phosphorylée [Tsuruta2004]. En opposition avec la phosphorylation de Bim par les voies ERK et Akt, la phoshorylation de Bim par JNK peut stimuler la translocation de Bax du cytosol vers la membrane mitochondriale et induire l'apoptose [Lei2003]. Une voie alternative contribuant à l'apoptose induite par JNK implique la phosphorylation de p53 qui permet d'inhiber la dégradation par ubiquitination et donc de stabiliser les niveaux de cette protéine suppresseur de tumeur [Fuchs1998]. La phosphorylation de p53 par JNK2 joue également un rôle crucial dans la voie

apoptotique [Oleinik2007]. L'activation de JNK induite par l'H_2O_2 permet de moduler les fonctions des protéines apoptotiques localisées dans la mitochondrie [Schroeter2003]. Par exemple, les ERO régulent la dissociation du complexe mitochondrial ASK1/ASK2/Trx2 entrainant de fait la libération du cytochrome c dans le cytosol [Circu2010].

Les effets des ERO dans le processus de nécrose des cellules cancéreuses prostatiques sont encore non élucidés [GuptaElera2012]. Deux mécanismes pourraient expliquer le passage de la mort cellulaire par apoptose vers celle induite par nécrose : il pourrait s'agir d'une inactivation des caspases par oxydation ou nitrosylation de leur groupement thiol [Melino1997] ou être lié à une déplétion des niveaux d'ATP cellulaire due à une perturbation de la production mitochondriale d'énergie induite par les ERO [Miyoshi2006].

d. ERO et la régulation de l'expression des miARNs.

Les microARNs encore appelés miARNs sont des ARNs non codants d'une vingtaine de nucléotides, impliqués dans la régulation de l'expression d'environ 30% des gènes du génome humain. Les miARNs sont transcrits sous l'action de l'ARN polymérase–II en de longs précurseurs appelés pri-miARNs (Figure 24). Ces transcrits primaires sont clivés dans le noyau par l'endonucléase Drosha en un pré-miARN qui est une structure en épingle à cheveux d'environ soixante-dix nucléotides. Après un export actif dans le cytoplasme, la structure en épingle est éliminée par la nucléase Dicer permettant l'obtention d'une molécule d'ARN double brin. Celle-ci va être incorporée au complexe RISC (*RNA-induced silencing complex*) au sein duquel la nucléase Ago2 va éliminer l'un des deux brins d'ARN. Le mi-ARN mature formé se retrouve seul dans le complexe miRISC (*miRNA-containing RNA induced silencing complex*) qui va le diriger jusqu'à sa séquence cible sur l'ARNm. Le complexe miRISC interagit avec son ARNm cible au niveau de sa région 3' non codante, en faveur d'une complémentarité imparfaite. Ainsi, un seul et même miARN peut contrôler plusieurs centaines de gènes [Ambs2008 ; Pang2010 ; Sayed2011].

L'appariement entre le miARN et son gène cible induit un « silencing », c'est-à-dire une régulation négative de la synthèse protéique (Figure 21) qui est assurée soit par une répression directe de la traduction, soit par une dégradation exonucléolytique de l'ARNm ou encore par une dégradation de la protéine en cours de synthèse sur le ribosome [Jeanteur2010 ; Khraiwesh2010 ; Fabian2010]. Les miARNs peuvent jouer des rôles importants dans divers processus tels que la différenciation, la prolifération, le contrôle du cycle cellulaire, l'apoptose ou le métabolisme [Bartel2004]. Ainsi, une expression aberrante des miARNs peut impacter de multiples caractéristiques de la biologie moléculaire et être à l'origine d'événements physiopathologiques complexes tels que le cancer.

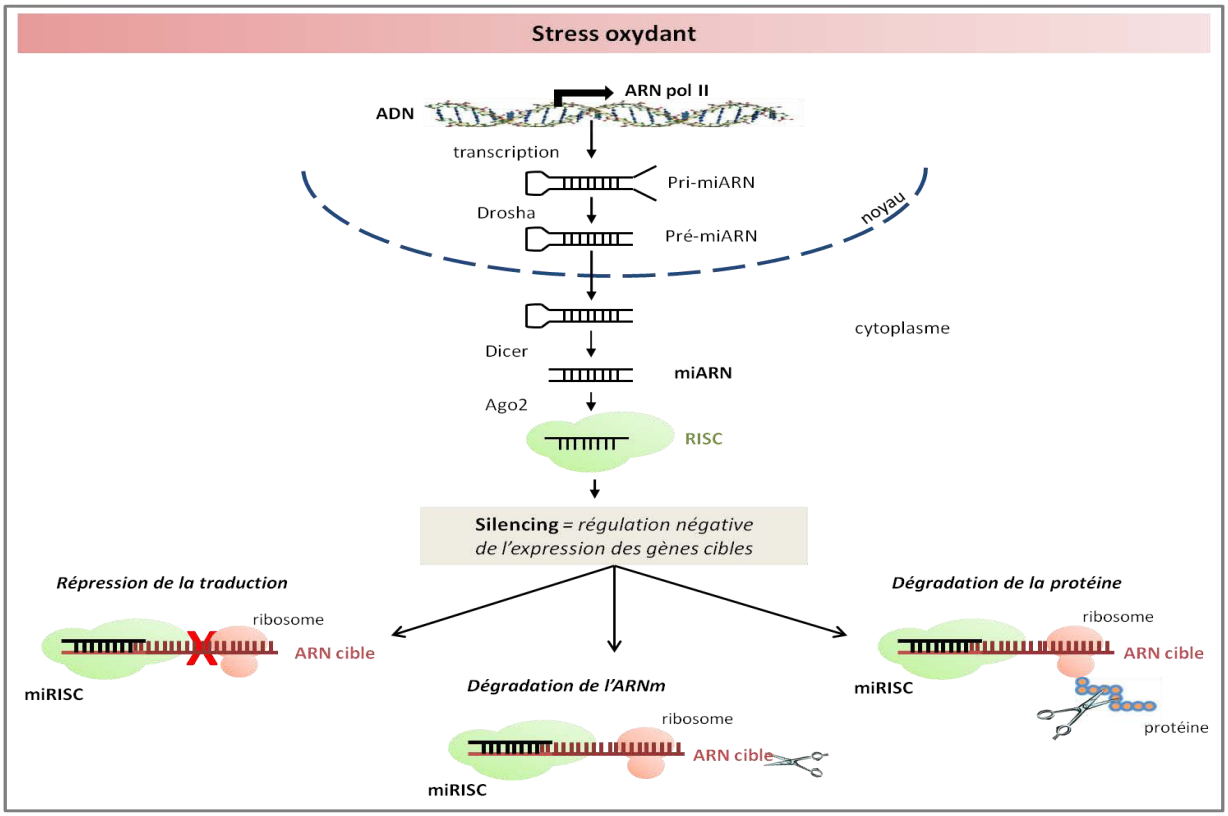

Figure 21. Biosynthèse et mécanismes moléculaires d'action des miARNs

Les mécanismes pouvant conduire à une dérégulation de l'expression des miARNs dans le cancer sont multiples. Il peut s'agir :

- *d'anomalies chromosomiques*, les gènes des miARNs sont localisés dans des régions génomiques altérées de façon récurrente dans les cancers. Par exemple, il est rapporté dans le cancer de la prostate une perte d'homozygotie au locus 13q14.3 qui est une région où sont localisés les miR-15a/16 [Porkka2011],
- *de mutations ou polymorphismes* au niveau des gènes codant pour les miARNs ou leur ARNm cible, ce qui altère la capacité de reconnaissance des deux fragments d'ARN. La présence d'un SNP (*single nucleotide polymorphism*) dans la séquence du pré-miARN 146a entrainerait une diminution du miARN mature miR-146a dans l'adénocarcinome prostatique [Xu2010],
- *de modifications épigénétiques*, la méthylation des îlots CpG des régions promotrices de gènes de certains miARNs induit une diminution de leur expression. Dans le cancer de la prostate, l'aberrante méthylation de la région promotrice de miR-34a conduit à son inactivation [Lodygin2008 ; Kong2012],
- *d'anomalie de la biosynthèse des miARNs*, les nucléases peuvent être dérégulée et ainsi conduire à une diminution de l'expression de certains miARNs. Par exemple, la surexpression de la nucléase Dicer, observée dans 81% des adénocarcinomes prostatiques, serait corrélée au stade tumoral et au score de Gleason [Chiosea2006].

L'équipe de Mitchell a rapporté que des perturbations du statut redox et les dommages à l'ADN pourraient moduler l'expression des miARNs. Il est établi que les radicaux libres et les radiations ionisantes jouent un rôle crucial dans l'altération de l'expression des miARNs, cependant les mécanismes moléculaires induisant une telle réponse restent encore inconnus [Simone2009 ; DIckey2011].

Au cours de la dernière décennie, de nombreuses revues de littérature ont décrit le rôle majeur des miARNs dans la carcinogenèse prostatique [Coppola2010 ; Catto2011 ; Lo2013 ; Kim2013]. Des études du profil d'expression des miARNs au sein de tumeurs prostatiques humaines et de xénogreffes ont suggéré que l'analyse de ce profil pourrait permettre de distinguer les formes tumorales indolentes des formes agressives de cancer de la prostate [Porkka2007 ; Ambs2008 ; Ozen2008 ; Coppola2010]. Gordanpour et collaborateurs montrent qu'environ 150 miARNs présentent une expression aberrante dans le cancer de la prostate localisé et plus de 120 miARNs sont anormalement exprimés dans les tumeurs métastasées [Gordanpour2012]. Les miARNs peuvent agir comme suppresseurs de tumeur ou comme oncogènes (Tableau 7).

Suppresseurs mirs				Oncomirs			
let-7	miR-15a	miR-16	miR-31	miR-21	miR-27a	miR-32	miR-106b
miR-34a	miR-101	miR-124	miR133	miR-125	miR-141	miR-148a	miR-153
miR143	miR-145	miR-146a	miR-200	miR-221	miR-222		
miR-203	miR-205	miR-224	miR-449				

Tableau 7. Liste non exhaustive de miARNs impliqués dans le cancer de la prostate.

Lorsque les miARNs oncogéniques nommés oncomirs sont up-régulés dans le cancer de la prostate, ils peuvent promouvoir la carcinogenèse soit en régulant négativement les gènes suppresseurs de tumeur qui inhibent la prolifération, soit en réprimant des gènes associés au processus de différenciation et d'apoptose. Dans le cancer de la prostate, l'up-régulation de miR-221 et miR-222 peut réguler négativement l'activité de $p27^{KIP1}$. Cette corrélation inverse est à l'origine d'une inhibition de certains points de contrôle du cycle cellulaire ayant pour conséquence la progression en phase G1-S et un accroissement de la carcinogenèse prostatique [Galardi2007]. Fletcher et collaborateurs ont montré que le miR-27a est un oncomir androgéno-régulé dans l'adénocarcinome prostatique. Les androgènes modulent la régulation transcriptionnelle et post-transcriptionnelle de ce miR-27a. L'augmentation de l'expression de ce miARN induit une inhibition de la PHB (*Prohibitin*), augmente l'expression de gènes cibles du récepteur aux androgènes et la croissance des cellules tumorales prostatiques [Fletcher2012]. Cette équipe montre également que l'antisens de miR-27a, appelé miR-27a* pourrait avoir un effet thérapeutique contre le cancer de la prostate.

La down-régulation de miARNs agissant comme suppresseur de tumeur dans le cancer de la prostate peut induire l'activation d'oncogène et donc promouvoir la tumorigenèse. Par exemple, Bonci et collaborateurs ont montré que les miARNs suppresseurs de tumeur miR-15a et miR-16-1 sont down-régulés dans le cancer de la prostate. La perte d'expression de ces deux miARNs conduit à up-réguler Bcl-2 et la cycline D1, ce qui permet respectivement de faciliter la transition G1/S du cycle cellulaire et l'activation de la voie procarcinogénique Wnt [Bonci2008]. En opposition, il est observé qu'une surexpression de miR-15a et miR-16-1 supprime la croissance tumorale et induit une régression du cancer de la prostate [Sayed2011]. Au sein de la famille des suppresseurs miRs, le miR-34a est fréquemment « silencieux » dans le cancer de la prostate en raison d'une aberrante méthylation des îlots CpG de sa région promotrice [Lodygin2008]. La perte de ce miARN diminue l'activité de p53 perturbant ainsi l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose via l'absence d'une down-régulation de protéines telles que les cyclines dépendantes kinases, la cycline D1 ou encore Bcl-2 [RaverShapira2007 ; Coppola2010]. Le miR-34a pourrait également être impliqué dans la carcinogenèse prostatique via la régulation de l'expression de c-Myc [Fang2014]. L'expression de miR-224 est significativement down-régulée en fonction de l'évolution tumorale. En effet, une expression plus élevée de ce miARN est rapportée dans les tumeurs prostatiques peu agressives et de stade précoce [Mavridis2013]. Dans le cancer de la prostate, miR-224 est connu pour prévenir la prolifération, l'invasion et la migration, mais aussi pour promouvoir l'apoptose via une régulation négative de *TRIB1* (*Tribbles homolog 1*). L'expression anormalement faible de miR-224 et la surexpression de la protéine Tribbles-1 seraient associées à la progression tumorale et à un mauvais pronostic du cancer de la prostate [Lin2014]. Par conséquent, les miARNs sont des régulateurs majeurs de l'expression génique qui ont un rôle significatif dans la pathogénie de la prostate.

Dans un avenir proche, les miARNs présents dans le sang et les urines pourraient indubitablement devenir des bio-marqueurs clés dans le diagnostic du cancer de la prostate, tandis que l'analyse des miARNs dans le tissu prostatique pourrait permettre une orientation plus ciblée des traitements à mettre en place via une stratification des patients [Lu2005 ; Volinia2006].

Pour conclure ce chapitre, les ERO et ERN ont un rôle majeur dans la tumorigenèse prostatique. Ils pourraient induire des instabilités génétiques mais aussi activer diverses voies de signalisation spécifiques qui contribuent à la progression tumorale en régulant la prolifération cellulaire, l'angiogenèse, les processus métastasiques et la mort cellulaire. L'enjeu actuel est de définir des stratégies susceptibles de constituer une barrière à la tumorigenèse prostatique via une modulation du statut redox et une régulation des voies de signalisation redox-dépendantes précédemment décrites.

Chapitre III.

Exercice physique, antioxydants et progression du cancer de la prostate : modulation du stress oxydant ?

Comme le chapitre précédent le montre, le stress oxydant a une place majeure dans l'histoire naturelle du cancer de la prostate en agissant dans les phases d'initiation, de promotion et de progression tumorale. La régulation du stress oxydant représente donc un facteur crucial dans la carcinogenèse prostatique mais également dans la réponse aux thérapies anticancéreuses. Des teneurs élevées en ERO sont généralement délétères pour les cellules, et le statut redox des cellules cancéreuses est souvent altéré en comparaison avec celui des cellules normales. Ainsi, des niveaux élevés d'ERO pourraient constituer une barrière à la carcinogenèse. Cependant, les ERO peuvent également promouvoir la tumorigenèse en induisant des mutations génomiques et en activant des voies de signalisation pro-oncogéniques.

Dans ce chapitre, nous focaliserons notre attention non pas sur les stratégies thérapeutiques anticancéreuses mais sur les options complémentaires non-médicamenteuses faisant suite à un diagnostic tumoral positif. De nos jours, les adénocarcinomes prostatiques sont diagnostiqués de plus en plus précocement, ainsi l'utilisation de stratégies non-médicamenteuses pourrait permettre de retarder la mise en place de traitements curatifs ou encore de limiter les doses thérapeutiques et les effets secondaires liés à un traitement médical. Une alimentation riche en fruits et légumes associée à la pratique d'une activité physique régulière pourrait, de part leurs propriétés antioxydantes, être des stratégies non-médicamenteuses très intéressantes pour limiter la tumorigenèse prostatique redox-dépendante.

A. L'exercice physique, le stress oxydant et le cancer de la prostate.

1. L'exercice physique : un potentiel régulateur du stress oxydant.

Depuis plusieurs années, une relation entre le stress oxydant et l'activité physique est établie. L'exercice physique unique, d'intensité et/ou de durée suffisante, est reconnu pour induire inévitablement un stress oxydant via une augmentation de la production d'ERO et d'ERN, formant des dommages oxydatifs. Cependant, l'activité physique n'est pas à déconseiller. En effet, il est établi que les ERO et ERN produits lors de l'exercice vont agir comme des messagers intracellulaires, conduisant à l'activation de voies de signalisation et de facteurs de transcription nécessaires à l'adaptation cellulaire. La répétition régulière d'une activité physique pourrait ainsi induire des adaptations physiologiques bénéfiques, permettant de prévenir les dommages oxydatifs chroniques en réponse à l'exercice mais également au repos.

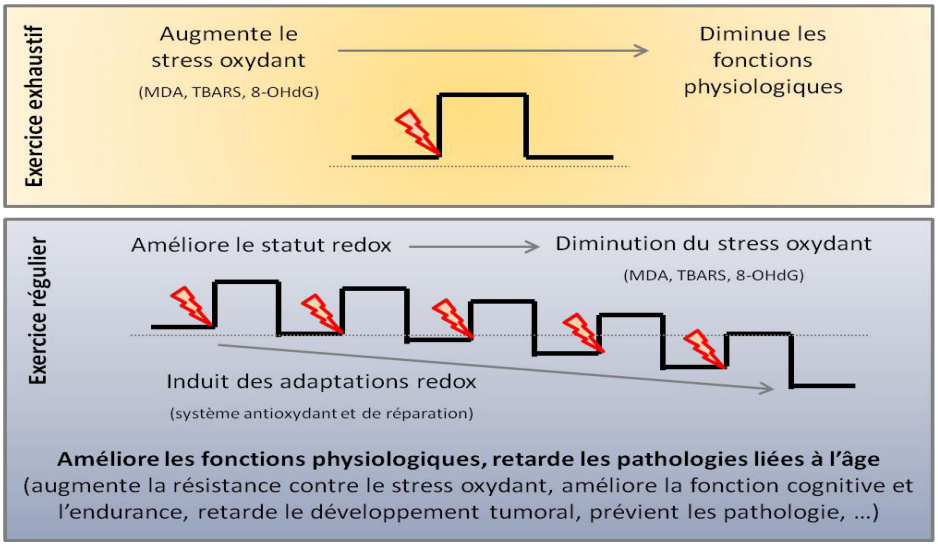

Figure 22. Les effets d'un exercice exhaustif ou régulier sur le statut redox. (adapté de Radák et al., 2013).

a. Les effets d'une activité physique exhaustive.

Durant un exercice physique, la consommation d'oxygène étant plus élevée, les fuites d'électrons au sein de la chaine respiratoire mitochondriale vont être majorées, et ainsi conduire à la formation d'anion superoxyde et de peroxyde d'hydrogène [DiMeo2001 ; Powers2008]. Les principaux sites de génération des ERO dans la mitochondrie sont alors les complexes I et III de la chaine de transport des électrons [Barja1999 ; Muller2004 ; Saborido2011]. Toutefois, des études suggèrent que la mitochondrie n'est pas la source majeure d'ERO dans le muscle squelettique durant un exercice [Papa1997 ; DiMeo2001 ; Powers2008].

La production accrue d'ERO à l'exercice serait davantage liée à l'activité de la xanthine oxydase et des Nox présentes sur le réticulum sarcoplasmique, les tubules transverses et la membrane plasmatique [Bejma1999 ; Urso2003 ; Ji2008 ; Powers2008 ; Goto2009 ; Radák2013]. Il est suggéré que l'ischémie/reperfusion induite par l'exercice convertit la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase. Cette dernière catalyse une réaction dont la finalité est la formation d'anion superoxyde et de peroxyde d'hydrogène. L'activité physique cause également des dommages tissulaires incitant l'activation de cellules phagocytaires. Elles peuvent activer des enzymes oxydases telles que les Nox phagocytaire, dont la résultante sera la formation accrue d'ERO [Leeuwenburgh2001 ; Vollaard2005]. Concernant la production d'ERN, le muscle squelettique exprime les isoformes nNOS et eNOS. Le NO est continuellement généré par le muscle squelettique, une production qui est augmentée par les contractions [Kobzik1994 ; Reid2001 ; Powers2008]. Le shear stress causé par le flux sanguin conduit à activer des NO synthases endothéliales. La production de NO est alors augmentée et pourra réagir avec des anions superoxyde pour former du peroxynitrite, un radical libre très réactif et cytotoxique, ayant la capacité d'inactiver de nombreuses enzymes et protéines [Ogonovsky2005 ; Radak2007 ; Goto2010].

Au vu de la production majorée d'ERO et d'ERN, l'exercice exhaustif est reconnu pour causer de nombreux dommages oxydatifs. En 1982, Davies et collaborateurs sont les premiers à montrer qu'un exercice de course sous-maximal jusqu'à épuisement conduit à multiplier par 2 à 3 fois la production d'ERO dans le muscle squelettique et le foie de rats. Cette observation est concomitante à une augmentation de la peroxydation lipidique [Davies1982]. Il est également montré chez l'animal qu'un activité modérée augmente de 60% la teneur en MDA du muscle, et une activité intense la majore de 150% [Alessio1988]. D'autres études confirment une augmentation de la peroxydation lipidique (MDA et TBARS) à la suite d'un exercice unique sur tapis roulant [Ashton1998 ; Khanna1999 ; Bejma1999]. De plus, il est montré qu'un exercice supra-maximal anaérobie tel que le test de Wingate conduit à multiplier par 2,7 la peroxydation lipidique, à diminuer de 13,6% l'activité de la GPx et de 11,7% celle de la SOD érythrocytaire [Groussard2003]. De façon similaire, Sastre et collaborateurs ont montré chez l'homme et chez le rat qu'un exercice physique exhaustif altère le statut redox du glutathion sanguin en augmentant respectivement les niveaux de GSSG de 72% et de 200% *versus* le niveau au repos [Sastre1992].

Trente années de recherche sur la relation exercice exhaustif et stress oxydant ont été publiées dans une revue, dans laquelle il est décrit qu'un exercice isolé anaérobie ou aérobie peut induire un stress oxydant aigu au sein de différents tissus [Fisher-Wellman2009]. L'activité physique est capable d'inciter des perturbations de l'homéostasie redox dans l'ensemble des fluides, cellules, tissus et

organes, et ce, indépendamment de la souche ou de l'espèce. Le stress oxydant constitue donc une réponse biologique fondamentale et ubiquitaire de l'altération de l'homéostasie redox en réponse au stress physique induit par un exercice isolé [Nikolaidis2012].

b. L'exercice régulier et la réponse adaptative au stress oxydant.

De manière paradoxale, il est rapporté que l'entrainement, répétition d'exercices physiques réguliers et modérés, pourrait atténuer la production d'ERO et les dommages oxydatifs au sein de divers tissus. Un exercice régulier de natation contribuerait à réduire la concentration de protéines carbonylées dans le cerveau et le muscle squelettique de rat. Il est observé qu'une activité régulière de course chez des rats diminue les dommages à l'ADN et notamment de la 8-OHdG *versus* des animaux sédentaires, en raison d'une amélioration de l'activité des enzymes de réparation des acides nucléiques [Ogonovszky2005 ; Radák2008 ; Ji2008 ; Goto2007 et 2009]. Plus récemment, Campbell et collaborateurs démontrent qu'un exercice aérobie à 60-75% de la FCmax, d'au moins 45 minutes, 5 fois par jour pendant 12 mois conduit à réduire de 6,2% la teneur en isoprostanes plasmatiques en comparaison d'un groupe contrôle, pour lequel une élévation de 3,3% de la concentration en isoprostanes est observée [Campbell2010].

Associé à la diminution des dommages oxydatifs, l'entrainement pourrait améliorer les systèmes de défenses antioxydantes. L'activité et la concentration de la SOD augmentent avec l'entrainement en endurance chez le rat et l'Homme, plus particulièrement la Mn-SOD car l'activité de la Cu/Zn-SOD est faiblement majorée par l'exercice régulier [Leeuwenburgh1994 ; Ji2008]. Diverses études chez l'animal et l'Homme ont montré une augmentation de l'activité de la GPx musculaire aussi bien dans le compartiment cytosolique que mitochondrial, et ce, pour une large gamme d'activité physique (course, natation, cyclisme) [Leeuwenburgh1994 ; Ji1998 ; Powers1999]. Les effets de l'exercice sur la catalase au sein du muscle squelettique et des érythrocytes sont quant à eux encore controversés [Ji1991 ; Powers1999]. Un exercice en course à 80% de FC max durant 60 minutes, 5 jours par semaine va réduire la production d'ERO et les dommages oxydatifs, mais également augmenter l'activité de la SOD et de la GPx respectivement de 17,1% et de 11,5% après 12 semaines. Malgré une stabilité de l'activité de la catalase, il se peut que l'entraînement intense puisse améliorer l'activité enzymatique antioxydante [Miyazaki2001]. Une revue rapporte d'ailleurs que des coureurs entrainés ont une activité enzymatique antioxydante érythrocytaire (SOD, GPx et CAT) plus élevée que des sujets non entrainés [Clarkson2000] et la teneur en GSH est augmentée significativement après un entrainement chez l'Homme [Ji2008]. De façon très intéressante, il est montré chez le rongeur que la pratique d'un exercice physique régulier et volontaire durant toute la vie (roue d'activité) induit une augmentation significative de l'activité de la SOD mitochondriale et de la GPx cytosolique au sein du

muscle squelettique *versus* des rat sédentarisés (p<0,05). De plus, les animaux entrainés présentent des niveaux plus faibles des marqueurs du stress oxydant dans le muscle et les urines [Leeuwenburgh1999]. Un entrainement de 5 semaines en endurance à intensité modérée augmente significativement la Mn-SOD mitochondriale musculaire. De plus, une diminution significative de la concentration basale plasmatique des isoprostanes, accompagnée par une nette tendance à la baisse de la concentration en GSSG et par une tendance à l'augmentation de la capacité totale antioxydante (p=0,08) est démontrée après un entrainement [Majerczak2010].

Par conséquent, la génération modérée d'ERO induite par l'exercice régulier peut induire des adaptations potentiellement bénéfiques pour l'organisme, à des fins de performance mais aussi de santé. Ce phénomène permettrait d'initier des processus adaptatifs tels que l'augmentation des défenses antioxydantes et des enzymes de réparation, mais également la réduction des dommages oxydatifs [Radák2005]. Toutefois, ces résultats restent encore très débattus du fait de l'hétérogénéité des marqueurs de statut oxydant et des types d'entrainement utilisés. Les mécanismes moléculaires impliqués restent encore peu connus.

Oh-ishi et collaborateurs montrent que l'augmentation de l'activité de la Mn-SOD dans le muscle soléaire de rats entrainés était accompagnée d'une élévation des niveaux d'ARNm, suggérant un possible contrôle transcriptionnel [Oh-ishi1997]. La production d'une teneur modérée en ERO par l'exercice régulier induit des processus adaptatifs mitochondriaux. En effet, l'exercice modéré pourrait augmenter le niveau et l'activité de la Mn-SOD via des mécanismes impliquant PGC-1α (*proliferator-activated receptor ϒ coactivator-1α*) ou encore NF-ƙB et AP-1 [Ji1999 et 2008 ; Daussin2012 ; Feng2013]. PGC-1α semble être augmenté par l'entrainement [Matiello2010] et être essentiel dans l'expression de plusieurs enzymes et protéines impliquées dans la protection contre les ERO incluant la Mn-SOD, la GPx et la catalase [St-Pierre2006 ; Leick2010]. Diverses voies de signalisation semblent être impliquées dans la régulation de l'expression de PGC-1α induite par l'exercice et la biogenèse mitochondriale. On peut citer l'augmentation des AMPK (*AMP-activated protein kinase*), la phosphorylation et la fixation de CREB à la région promotrice de PGC-1α, et également l'activation de la cascade p38 [Herzig2001 ; Egan2010].

Un exercice modéré permettrait au sein des muscles squelettiques d'activer la voie NF-κB et des MAPK, dont la conséquence est une adaptation cellulaire contre les ERO [Radak2013]. Une activité physique modérée va également générer la production d'ERO activant les voies ERK1/2 et p38 au sein du muscle, permettant à leur tour d'activer NF-κB. Ce facteur de transcription pourra se fixer à une région promotrice de gènes codant pour des enzymes antioxydantes telles que la Mn-SOD et la GPx [Gomez-Cabrera2008] (Figure 23). Par exemple, un exercice sur tapis roulant à 25 m/min avec

une pente à 5% pendant 1h ou jusqu'à épuisement, a pour conséquence l'activation de la transcription du gène *SOD2* via l'augmentation de NF-κB, environ 2h après l'exercice. L'ARNm codant pour la Mn-SOD est augmenté durant l'exercice, mais une élévation significative du taux de protéine Mn-SOD est observé seulement 48h post-exercice [Ji2006 and 2008].

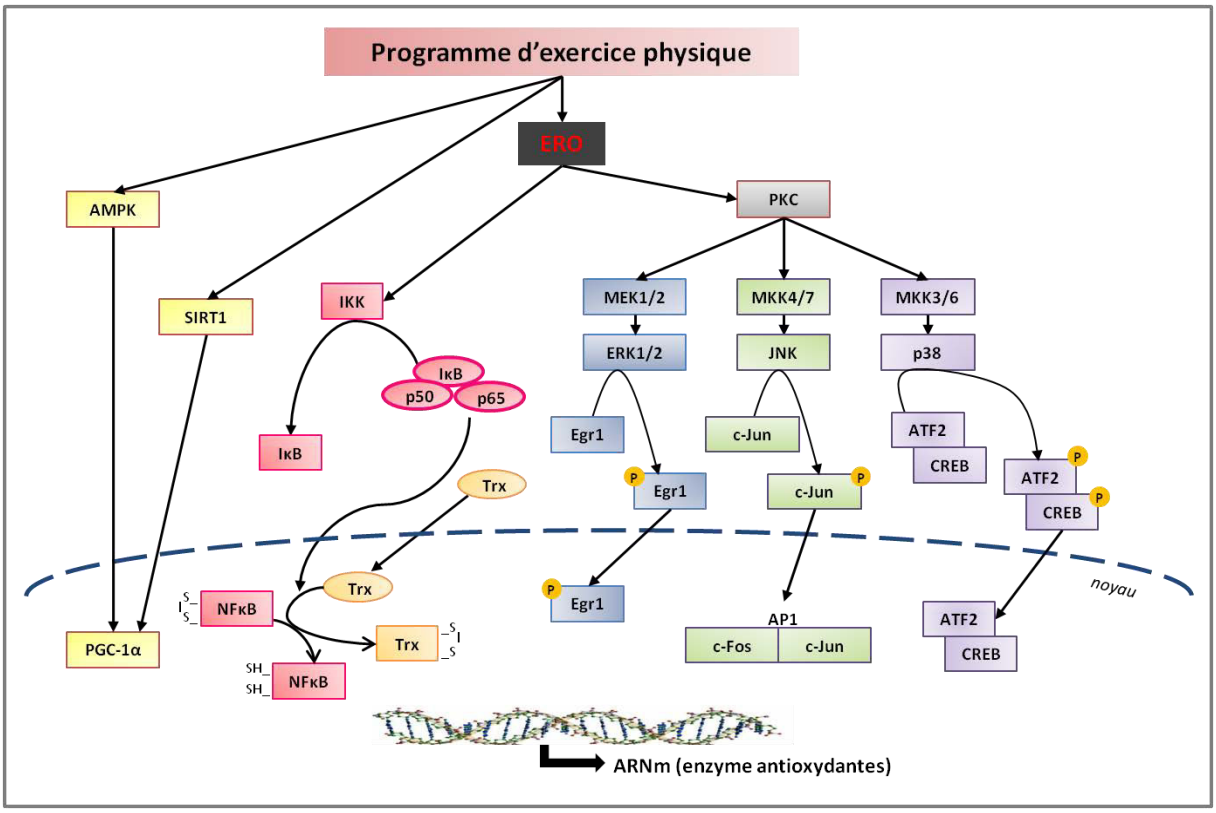

Figure 23. Représentation schématique des voies de signalisation impliquées dans la régulation des défenses antioxydantes induites par l'exercice physique.

Les ERO générées durant la contraction musculaire peuvent moduler la balance pro-/antioxydant cellulaire, dont la résultante est la formation de dommages oxydatifs de divers composants cellulaires. Cependant, les ERO, induites par l'exercice régulier, jouent également un rôle critique dans l'adaptation du muscle au stress oxydant en activant des signaux de transduction codant pour des enzymes antioxydantes et d'autres protéines vitales à la survie et à la fonctionnalité cellulaire [Radak2007 ; Ji2008]. L'injection d'allopurinol, un inhibiteur de la XO, abolit l'augmentation de la formation d'ERO et l'activation des voies de signalisation ERK 1/2 et p38, conduisant à une absence d'amplification de la Mn-SOD et de la GPx [Gomez-Cabrera2008]. De même, de récents rapports indiquent qu'une supplémentation en vitamine A, E et C prévient l'activation de régulateurs moléculaires des défenses antioxydantes endogènes induits par l'entrainement [Khassaf2003 ; Jackson2004]. L'augmentation des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques dans le muscle pourrait être suffisante pour contrer les dommages oxydatifs induits par l'exercice.

Une supplémentation en antioxydants semble ainsi ne pas être nécessaire [McClung2010 ; Powers2011 ; Peternelj2011]. Piéger les ERO via la prise d'antioxydants exogènes peut protéger le muscle squelettique contre les dommages oxydatifs et aussi retarder la fatigue durant un exercice prolongé sous-maximal. Toutefois, le stress oxydant induit par l'exercice est un phénomène transitoire naturel qui joue un rôle essentiel dans la régulation de la production de force musculaire et dans la préservation de l'homéostasie musculaire notamment en permettant des adaptations redox à la suite d'un entrainement [Powers2008 et 2011; Reid2008].

L'exercice régulier répond ainsi au principe de l'hormesis, où l'exposition chronique à de faibles doses d'ERO peut conduire à une amélioration de la tolérance à des teneurs plus élevées de stress oxydant. Il est donc possible de définir l'exercice comme étant une activité biologique régulatrice de l'homéostasie cellulaire, tissulaire, organique, exigeant une adaptation à long terme pour faire face à un potentiel stress. Il est également intéressant de noter que l'exercice physique régulier conduit à moduler les facteurs de transcription redox-sensibles que nous avons décrits dans le précédent chapitre. George et collaborateurs observent chez des rongeurs âgés qu'un exercice sur tapis roulant 5 jours/semaine (1h à 12 m/min, pente 15%) pendant 12 semaines induit, dans les tubules proximaux rénaux, une augmentation des niveaux nucléaires de Nrf-2 (29%) et de NF-κB (25%), deux facteurs de transcription impliqués dans la régulation des enzymes antioxydantes. De façon conjointe, une augmentation de l'expression et de l'activité des enzymes antioxydantes SOD et HO-1 (heme oxygenase-1) est rapportée dans le plasma et dans les tubules rénaux [George2009]. Une récente étude obtient des résultats similaires [Tsou2014]. D'autres travaux ont montré que six à huit semaines d'entrainement augmentent les niveaux basaux de NF-κB, FOXO3a et de AP-1 nucléaires liés à l'ADN chez le rongeur. Ces observations sont couplées à une augmentation significative de la Mn-SOD et de la catalase, mais également à une augmentation de l'expression de l'ARNm de GADD45a et une diminution de la cycline D2 [Ferrara2008 ; Brooks2008].

L'exercice physique est une stratégie non-médicamenteuse complémentaire aux traitements conventionnels dans la prise en charge des patients atteints d'un cancer, connue pour apporter des bienfaits sur la symptomatologie. De plus, nous avons montré l'importance du stress oxydant dans la tumorigenèse prostatique et la nécessité de définir de nouvelles stratégies pour réguler le stress oxydant chroniques au sein de l'épithélium tumoral prostatique. L'exercice physique dont nous venons de décrire les propriétés antioxydantes semblerait s'inscrire dans ces nouvelles stratégies.

2. Les effets de l'exercice physique sur la progression tumorale.

Quelques rares études se sont intéressées aux effets de l'activité physique sur la progression du cancer de la prostate. Une récente étude montre que la marche rapide après diagnostic pourrait retarder ou inhiber la progression du cancer de la prostate chez des hommes ayant un adénocarcinome prostatique localisé [Richman2011]. Les patients pratiquant un exercice régulier de marche rapide ≥ 3 heures/semaine ont un taux significativement plus faible de 57% de progression tumorale *versus* des hommes qui ont une activité physique de marche inférieure à 3 heures/semaine. Par exemple, il est montré qu'un homme atteint d'une tumeur prostatique (Gleason < 7) marchant 7h/semaine ou plus réduit de 67% le risque de progression de son adénocarcinome comparé à un patient marchant moins de 30 min par semaine.

Seules trois études réalisées *in vivo* chez le rongeur se sont intéressées à l'effet de l'exercice physique sur la progression tumorale prostatique. Esser et collaborateurs rapportent que la progression du cancer de la prostate est ralentie ou diminuée de manière dose-dépendante par des exercices de course (roue d'activité volontaire) durant 10 semaines au sein d'un modèle de souris transgénique TRAMP *versus* des souris sédentaires [Esser2009]. De plus, dans cette étude 40% des prostates dorsolatérales de souris courant moins de 5 km/jour sont classifiées comme étant de grade avancé alors qu'aucune souris ayant couru plus de 5 km/jour présente un tel grade tumoral (p=0.05). Les deux autres études réalisées au sein d'un modèle murin de cancer de la prostate orthotopique montrent qu'un programme d'exercice physique module le microenvironnement tumoral en réduisant l'hypoxie tumorale, suggérant l'induction d'un phénotype moins agressif [McCullough2013] et la réduction de métastases [Jones2012].

Un exercice physique associé à une intervention diététique peut apporter les meilleurs bénéfices. L'essai contrôlé randomisé réalisé par Ornish et collaborateurs rapporte qu'un changement radical de l'hygiène de vie conduit à ralentir la progression du taux de PSA chez des patients atteints d'un adénocarcinome prostatique nouvellement diagnostiqués. Le protocole suivi par 93 volontaires consistait à diminuer les graisses de 10%, privilégier la consommation de fruits et légumes, supplémenter leur alimentation (vitamines et sélénium), réaliser un exercice aérobie modéré de 30 min de marche 6 jours/semaine et se relaxer 1h/jour (yoga et respiration). Une année plus tard, ils constatent une diminution significative des taux de PSA de 0,25 ng/ml dans le groupe expérimental et une augmentation statistique de 0,38 ng/ml dans le groupe contrôle. Le sérum du groupe expérimental diminue d'environ huit fois la croissance des cellules prostatiques cancéreuses LNCaP par rapport au sérum des patients témoins [Ornish2005].

Au vu de l'ensemble de ces données, la promotion chez les patients atteints de cancer de l'activité physique et des comportements nutritionnels adaptés pourrait ainsi prévenir des risques de développer un adénocarcinome prostatique, limiter les symptômes liés à la pathologie et au traitement, retarder la progression tumorale et diminuer les risques de rechute. En effet, il semblerait que le risque de mortalité lié au cancer puisse diminuer chez les personnes augmentant leur niveau d'exercice physique après un diagnostic de cancer de la prostate. Une étude a évalué la relation entre l'activité physique et la mortalité toute cause confondue ou liée au cancer de la prostate de 2 705 hommes porteurs d'un adénocarcinome prostatique non-métastasique. Il est démontré que les hommes marchant plus de 90 minutes par semaine à une allure normale à soutenue a un risque moindre estimé à 46% de décès toute cause confondue comparée à ceux ayant une activité de marche de faible allure et de courte durée. Concernant la relation entre la mortalité spécifique au cancer de la prostate et la marche rapide de longue durée, il est observé une tendance inverse mais non statistiquement significative. Toutefois, le risque de décès toute cause confondue et lié au cancer de la prostate serait respectivement abaissé de 49% et de 61% pour des hommes ayant une activité vigoureuse supérieure ou égale à 3 heures par semaine. En conclusion, chez des hommes porteurs d'un adénocarcinome prostatique, les hommes qui mènent une activité supérieure ou égale 9 METs-h/semaine ont un risque plus faible de 35% de décès de leur cancer de la prostate [Kenfield2011].

L'exercice physique pourrait affecter la progression et la mortalité du cancer de la prostate via l'axe insuline/IGF-1. En effet, le système IGF (des ligands au récepteur en passant par les protéines de liaison) joue un rôle crucial dans la croissance et le développement cellulaire normal, aussi bien que dans diverses situations pathologiques incluant la tumorigenèse [Khandwala2000]. Un nombre croissant de données épidémiologiques suggèrent que des hauts niveaux d'IGF-1 circulant constituent un facteur de risque pour la progression du cancer de la prostate. Une relation inverse entre le risque de cancer et les niveaux de IGFBP (*insulin-like growth factor binding proteins*) a également été montrée, bien que cet effet ne soit pas confirmé par toutes les études [Stattin2004 ; LeRoith2003 ; Gallagher2011]. Après fixation à son récepteur tyrosine kinase, IGF-1 peut activer plusieurs voies de signalisation conduisant à la promotion de la croissance cellulaire via l'activation de la cascade ERK et à l'inhibition de l'apoptose via l'activation d'Akt, mais également à l'angiogenèse [Yu2000 ; LeRoith2003 ; Thompson2009]. IGF-1 est donc un puissant mitogène qui exerce son action en augmentant la synthèse de l'ADN et en stimulant l'expression de la cycline D1, qui accélère la progression du cycle cellulaire en G1-S [Furlanetto1994 ; Dufourny1997]. IGF-1 a aussi des propriétés anti-apoptotiques en stimulant l'expression des protéines Bcl (Bcl-2 et Bcl-xL) et en bloquant l'expression de Bax. Il en résulte une augmentation d'hétéro-dimère Bcl/Bax à l'origine du blocage de

l'initiation de la voie apototique [Minshall1997 ; Párrizas1997]. L'activation des voies MAPKs et PI3-K/Akt induites par IGF-1 stimule également l'angiogenèse en stimulant l'expression de HIF-1α et du VEGF [Akagi1998 ; Fukuda2002].

Environ une dizaine d'études *in vitro* se sont intéressées à l'impact du sérum de patients ayant modifiés une ou plusieurs habitudes comportementales sur des cellules LNCaP androgéno-dépendantes. Ces études démontrent qu'une pratique physique régulière, associée ou non à une meilleure alimentation, permet de réguler *in vivo* des métabolites contenus dans le sérum tels que l'IGF-1 et l'IGFBP-1. L'incubation des cellules LNCaP avec le sérum des hommes ayant acquis ces adaptations physiologiques dépendante de IGF induit *in vitro* une diminution significative de la prolifération et une augmentation statistique de l'apoptose [Tymchuk2001 ; Barnard2002 ; 2003 ; 2004 ; 2005 ; 2006 et 2007]. De plus, Aronson et collaborateurs soulignent qu'un régime pauvre en graisse réduit la croissance tumorale *versus* le groupe contrôle, indépendamment de modifications des PSA et de l'IGF-I du sérum des patients [Aronson2010].

Deux études pour lesquelles seule une intervention sur la pratique physique est réalisée retrouvent ces mêmes résultats et montrent également une augmentation de la concentration des protéines p53 et p21, ainsi qu'une diminution de l'expression de la protéine Bcl-2 [Leung2004 ; Barnard2007]. L'augmentation significative de p53 dans les lysats stimulés avec les sera des hommes actifs concorde avec des études montrant que IGF-1 augmente la dégradation de p53 via la cascade MAPK p38 [HéronMilhavet2002]. Donc, la réduction sérique de l'IGF-1 induit par l'exercice conduit à augmenter l'expression de p53 dans les cellules tumorales et à activer l'expression de p21. Similairement, l'augmentation de l'apoptose et la diminution de Bcl-2 dans les cellules LNCaP stimulées avec le sérum des actifs est similaire à des études montrant au sein d'autres lignées cellulaire que IGF-1 augmente la teneur de la protéine Bcl-2 et prévient l'apoptose via la voie PI3K/Akt [Fernández2004 ; Yin2005]. Soliman et collaborateurs retrouvent ces résultats et observent la modulation de la cascade de signalisation de MAPK, PI3K/Akt et NF-κB, normalement impliquées dans l'inflammation, la prolifération et l'apoptose [Soliman2011].

Dans l'ensemble des études précédemment citées, une diminution des niveaux sériques d'IGF est associée à la prévention de la progression tumorale suite à un programme d'exercice physique régulier. Cependant, de récents travaux retrouvent de tels résultats à la suite d'un exercice exhaustif seul. Rundqvist et collaborateurs rapportent que l'incubation des cellules LNCaP avec le sérum d'hommes sains réalisant une activité physique aigue (60 min sur ergo-cycle, intensité croissance) induit une inhibition de 31% de la croissance cellulaire tumorale *versus* le sérum de ces mêmes sujets avant exercice. De plus, la pré-incubation, avant injection sous-cutanée à des souris SCID, des cellules

cancéreuses avec le sérum des sujets après exercice a retardé la formation de la tumeur [Rundqvist2013]. Les analyses du sérum révèlent une augmentation des niveaux d'IGFBP-1 et une réduction des niveaux d'EGF, pouvant être à l'origine des effets bénéfiques induits par l'exercice sur la carcinogenèse prostatique. Au vu de ces résultats, il semblerait que l'activité physique puisse avoir un effet bénéfique sur l'évolution du cancer de la prostate via une modulation du système IGF. Malgré tout, les données restent trop peu nombreuses et nous ne sommes toujours pas en mesure de définir des recommandations précises d'exercice puisque de nombreuses études associent des modifications des niveaux d'activité physique mais aussi de l'alimentation.

A ce jour, il existe seulement quelques rares études suggérant la probable implication d'une modulation du stress oxydant induite en réponse à l'exercice physique dans la régulation de la progression tumorale. Allgayer et collaborateurs montre qu'un exercice physique d'intensité modéré chez des patients porteurs d'un cancer colorectal traité réduit significativement les niveaux de la 8-oxo-2'-deoxyguanosine urinaire, un bio-marqueur des dommages oxydatifs à l'ADN et de la progression tumorale [Allgayer2008]. Concernant le cancer de la prostate, seuls Soliman et collaborateurs suggèrent la probable modulation du stress oxydant induite par l'exercice dans la prévention de la tumorigenèse [Soliman2011]. Ainsi, l'un des objectifs de ce travail de thèse s'intéressera à démontrer si les effets protecteurs de l'exercice physique sur l'évolution tumorale sont dépendants d'une modulation du stress oxydant.

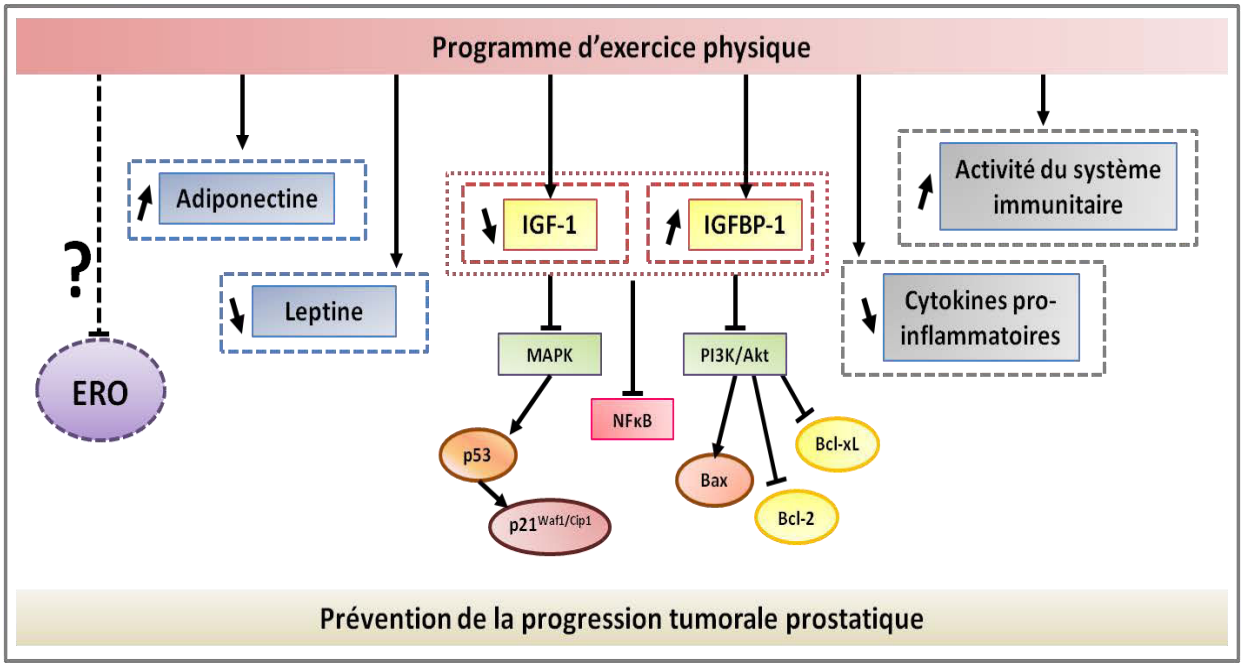

Figure 24. Mécanismes moléculaires suggérés par lesquels l'exercice physique régulier pourrait prévenir la progression du cancer de la prostate.

B. Les apports en antioxydants naturels comme stratégie contre le cancer.

1. Les composés phytochimiques, les voies de signalisation et les facteurs de transcription redox impliqués dans la tumorigenèse prostatique.

Les aliments d'origine végétale contiennent de nombreux composés phytochimiques, des substances non-nutritives naturelles, ayant de substantielles propriétés antioxydantes, anti-carcinogènes et anti-mutagéniques. Parmi les composés phytochimiques les plus connus, nous trouvons la vitamine C, la vitamine E, les *polyphénols* tels que l'EGCG (*epigallocatechin-3-gallate*) du thé vert, la curcumine du curcuma et le resvératrol du raisin, ou les *flavonoïdes* incluant la quercétine des agrumes et le génistéine du soja, ou encore les *caroténoïdes* avec le lycopène des tomates. Il est également possible de citer les composés soufrés tels que l'indole-3-carbinol et les isothiocyanates présents dans les crucifères. Ces antioxydants et anticancéreux naturels contenus dans les fruits et légumes agissent non seulement directement en piégeant les ERO et ERN mais également indirectement en modulant des voies de signalisation cellulaire et des facteurs de transcription redox-dépendants [Surh2003 et 2008 ; Na2006 ; Nair2007 ; Su2013 ; Li2014].

Isoflavones

Les isoflavones incluant la génistéine ont été montré pour inhiber la tumorigenèse prostatique (LNCaP et PC-3) en bloquant l'activation de NF-ƙB dépendante de H_2O_2 et de TNF-α par la réduction de la phosphorylation de IƙB et la translocation de NF-ƙB dans le noyau [Li2002]. Li et collaborateurs confirment que les isoflavones inactivent la voie de signalisation du NF-ƙB et rapportent une inhibition de la phosphorylation de la voie Akt/FOXO3a, ainsi qu'une down-régulation de la voie des androgènes via un blocage de la translocation nucléaire du récepteur aux androgènes. De plus, ces composés phytochimiques augmentent la translocation de FOXO3a dans le noyau et sa fixation sur le promoteur *CDKN1B*, conduisant à une élévation de l'expression de $p27^{KIP1}$. L'ensemble de ces phénomènes mène à une inhibition de la prolifération cellulaire et à l'induction de l'apoptose dans des cellules cancéreuses prostatiques androgéno-sensibles et -insensibles [Li2008].

Lycopène

Le lycopène est un puissant antioxydant et un anti-inflammatoire reconnu qui pourrait exercer ces effets via la régulation de l'activation de la voie NF-ƙB [Hadad2012]. Palozza et collaborateurs révèlent que le lycopène pourrait inhiber la prolifération et induire l'apoptose des cellules cancéreuses prostatiques via une diminution de la production d'ERO et de la phosphorylation des MAPks, une down-régulation de l'expression de Ras, de NF-ƙB, de la cycline D1, de p-Akt et de Bcl-2, associé à une up-régulation de l'expression des protéines p53, $p21^{WAF}$, $p27^{KIP1}$ et Bax [Palozza2010].

De plus, ce composé phytochimique pourrait moduler la voie de signalisation du récepteur aux androgènes de manière dose-dépendante [Zhang2010].

Curcumine

La curcumine présente aussi d'importants effets antioxydants et anticancéreux et à la capacité d'activer plusieurs voies de signalisation [Aggarwal2003]. Tout d'abord, la curcumine a un fort pouvoir inhibiteur de la cascade NF-ƙB en limitant l'activité de fixation à l'ADN, l'activité de transcription et l'expression de ce facteur de transcription, tout en potentialisant l'apoptose induite par le TNF. Ce composé phytochimique est également montré pour son pouvoir pro-apoptotique sur les cellules tumorales prostatiques en réduisant l''expression de Bcl-2 et de Bcl-xL et en augmentant l'expression de la procaspase-3 et la procaspase-8 [Mukhopadhyay2001]. La curcumine a un effet inhibiteur sur l'activation de la cascade Akt sur les cellules cancéreuses prostatiques LNCaP et PC-3 [Chaudhary2003]. Nakamura et collaborateurs rapportent dans une étude expérimentale que la curcumine pourrait inhiber l'activation et l'expression du récepteur aux androgènes et des facteurs de transcription AP-1, NF-ƙB et CREB [Nakamura2002].

EGCG

L'epigallocatéchine gallate est un polyphénol ayant de grandes capacités antioxydantes et anti-tumorales ayant pour cibles les voies de signalisation telles que NF-ƙB, AR, Akt et MAPKs. L'EGCG pourrait ralentir la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques et induire la mort cellulaire apoptotique via la stabilisation de p53 et la down-régulation de NF-ƙB, induisant *in fine* la diminution de l'expression de Bcl-2 et l'augmentation de l'expression de $p21^{WAF}$ et Bax [Hastak2003]. Ce composé phytochimique peut inactiver la voie PI3K/Akt et celle des androgènes via une inhibition de l'expression, de la transactivation et de la translocation du récepteur aux androgènes, causant l'inhibition de la croissance cellulaire prostatique [Ren2000 ; Siddiqui2004 et 2011]. Ce polyphénol a également la capacité de limiter les processus de métastases des cellules d'adénocarcinomes prostatiques notamment en diminuant l'expression de MMP-2 et MMP-9 via l'inactivation des voies de signalisation ERK et p38 ainsi que des facteurs de transcription c-Jun et NF-ƙB [Vayalil2004].

Ces composés phytochimiques combinés avec les thérapies conventionnelles pourraient également potentialiser et augmenter l'activité anticancéreuse de certains agents chimiothérapeutiques. Les isoflavones, et plus particulièrement la génistéine, potentialise les effets anti-tumoraux du docétaxel, un médicament utilisé en chimiothérapie contre le cancer de la prostate. L'augmentation significative de l'inhibition des cellules cancéreuses et de la mort cellulaire serait liée à l'inactivation du facteur de transcription NF-ƙB [Li2005]. Des effets identiques sont observés par la combinaison docétaxel et indole-3-carbinol [Rahman2009]. Une étude chez l'animal rapporte une augmentation de 38% de la

régression de l'adénocarcinome prostatique lorsque le docétaxel est associé avec le lycopène *versus* le docétaxel seul, et ceux via une modulation du système IGF et donc de l'axe IGF/Akt [Tang2011]. La combinaison docétaxel et curcumine induit un double effet, d'une part il est observé une diminution de la résistance des cellules cancéreuses prostatiques au taxane et d'autres part une élévation de l'apoptose induite par TRAIL [Deeb2003 ; CabrespineFaugeras2010]. Similairement, l'EGCG combiné avec le docétaxel majore la mort cellulaire par apoptose en augmentant l'expression de p53, $p21^{WAF}$, la caspase-3 et limite le processus métastasique [Stearns2011]. D'autres travaux ont également rapporté que les composés phytochimiques pourraient potentialiser les effets de la radiothérapie notamment via la modulation de la voie de signalisation NF-ƙB [Chendil2004 ; Raffoul2006 ; Singh-Gupta2009].

Actuellement, il est donc conseillé aux patients atteints d'un cancer de la prostate d'avoir une alimentation riche et variée en fruits et légumes afin d'avoir un bon apport en antioxydants naturels. Chaque composé phytochimique possède des effets antioxydants et anticancéreux qui lui sont propres. Il est donc recommandé de consommer un minimum de cinq fruits et légumes par jour et de préférence en multipliant les types et les couleurs. D'autres études ont rapporté que la génistéine, la curcumine ou encore les caroténoïdes auraient la capacité de moduler le profil d'expression et les effets biologiques de certains miARNs [Saini2010].

Toutefois, l'utilisation d'une supplémentation en antioxydants isolés au-delà du seuil recommandé pour la santé est déconseillée en prévention primaire, tout comme en prévention secondaire [Borek2004 ; Moss2007 ; Rock2012 ; Kristal2014a/b]. Par exemple, le récent rapport de l'étude SELECT (*selenium and vitamin E cancer prevention trial*) rapporte qu'une supplémentation en vitamine E (400 UI/jour sachant que l'apport alimentaire recommandé est de 22,5 UI) chez des hommes en bonne santé augmente le risque de développer un cancer de la prostate *versus* un groupe placebo [Klein2011].

Concernant la combinaison supplémentation en antioxydants isolés et la chimiothérapie ou la radiothérapie, les données restent encore très controversées. Certaines études montrent que l'administration d'antioxydants de synthèse pourrait limiter les effets secondaires associés aux traitements conventionnels en protégeant les cellules saines du stress oxydant induit, à condition que les apports journaliers recommandés de chaque substance antioxydante ne soient pas dépassés. D'autres données rapportent que la supplémentation en antioxydants pourrait protéger les cellules tumorales comme les cellules saines des dommages oxydatifs générés par la radiothérapie ou les agents chimiothérapeutiques [Borek2004 ; Lawenda2008]. Une étude menée sur 540 patients atteints d'un cancer cervico-facial sous radiothérapie rapporte qu'une supplémentation journalière

en vitamine E (400 UI) augmente significativement la mortalité *versus* un groupe placebo [Bairati2006]. Seule l'étude SU.VI.MAX montre qu'un apport quotidien d'antioxydants à doses nutritionnelles, accessibles par l'alimentation (β-carotène : 6 mg, vitamine C : 120 mg, vitamine E : 30 mg, sélénium : 100 µg et zinc : 20 mg) semble diminuer le risque de cancers et de mortalité chez l'homme [Hercberg2004]. Toutefois, les bénéfices obtenus dans cette étude avec les nutriments utilisés est vraisemblablement en dessous de l'efficacité qui peut être attendue lorsque les mêmes nutriments sont consommés dans leur environnement au sein des aliments incluant les fruits et légumes, dans lesquels, beaucoup d'autres nutriments à vocation protectrice comme les fibres ou d'autres substances antioxydantes, tels que les polyphénols sont présents.

Et pourtant, des études révèlent que 14 à 32% des patients commencent une supplémentation à la suite du diagnostic de leur cancer. De plus, 81% des patients ayant été traités pour un cancer ont recourt à une supplémentation en antioxydants (vitamines et minéraux) pour se prévenir d'une éventuelle récidive [Velicer2008]. A l'heure actuelle, aucune étude n'a pu établir que les compléments induisent une plus longue survie, ou préviennent plus efficacement une rechute ou l'apparition d'un nouveau cancer par rapport à un régime alimentaire sain riche en fruits, légumes, légumineuses et céréales [Rock2012]. La prise d'antioxydants doit être prescrite ou recommandée par le cancérologue, l'urologue ou le radiothérapeute [Lippert1999]. Par exemple, certains d'entre eux préconisent aux personnes en surveillance active atteintes d'un adénocarcinome de bas grade de consommer un verre de jus de grenade quotidiennement.

2. *Focus* sur le jus de grenade : effets sur la tumorigenèse prostatique et mécanismes moléculaires impliqués.

a. Caractérisation, biodisponibilité et propriétés antioxydantes.

L'histoire de la grenade remonte à plusieurs siècles. D'origine Perse, la grenade est considérée comme un fruit sacré dans plusieurs religions et est utilisé à des fins médicinales depuis l'Antiquité. La grenade est composée de trois parties que sont l'épiderme ou écorce, les arilles et les pépins. Le jus de grenade se compose de sucres tels que le glucose, le fructose et le saccharose, d'acides organiques, d'une concentration importante en minéraux et métaux lourds incluant le fer, le sodium, le calcium, le potassium, le manganèse, le cuivre, le sélénium. La grenade est également parmi les fruits les plus riches en vitamine C et en composés phénoliques et surtout en anthocyanines et acides phénoliques [Syed2007 ; Lansky2007]. Les principaux composés phytochimiques antioxydants dans le jus de grenade sont les tanins hydrolysables. La punicalagine, le plus abondant des polyphénols, est responsable de plus de la moitié de la capacité antioxydante du jus de grenade. Cette molécule de

tanin est quinze à trente fois plus efficace que les simples polyphénols concernant la neutralisation des radicaux libres. Les anthocyanes et les dérivés de l'acide ellagique contribuent également à la capacité antioxydante totale de jus de grenade. Les propriétés antioxydantes du fruit et du jus de grenade sont bien plus importantes que celles d'autres fruits et boissons antioxydantes [Gil2000 ; Seeram2006 ; Guo2008 ; Johanningsmeier2011].

Les composées phénoliques de la grenade sont bio-disponibles en assez grande proportion (29%), toutefois en raison du pH acide de l'intestin, les anthocyanes seraient dans 97% des cas transformés ou dégradés [PérezVincente2002]. Les ellagitanins sont hydrolysés en acide ellagique lui-même converti en urolithine A par la flore intestinale [Heber2008]. Seeram et collaborateurs ont montré chez l'homme consommant 180 ml de jus de grenade contenant 25 mg d'acide ellagique et 318 mg de tanins ellagiques hydrolysables que la concentration maximale plasmatique en acide ellagique était détectée une heure après ingestion du jus et disparaissait au bout de quatre heures. De plus, les urolithines apparaissent dans le sang et les urines entre 12 et 24h après consommation et persiste dans les urines 48-56h après l'ingestion [Seeram2004 et 2006]. Aucune étude rapporte de toxicité liée aux polyphénols de la grenade [Cerdá2003 ; Patel2008 ; Johanningsmeier2011].

Les composés phytochimiques de la grenade, et principalement les polyphénols, sont de puissants antioxydants qui pourraient augmenter l'efficacité du système de défense antioxydant. Les recherches chez l'animal et chez l'humain ont démontré que les composés phytochimiques de la grenade augmentent les capacités antioxydantes plasmatiques et préviennent l'oxydation des protéines, des lipides et de l'ADN [Chidambara2002 ; Faria2007 ; Guo2008]. De plus, la grenade pourrait également up-réguler l'expression de gènes codant pour les enzymes antioxydantes et ainsi accroitre la défense antioxydante endogène [DeNigris2007 ; Guo2008].

De nombreuses études démontrent les bienfaits de la grenade et de ces composés phytochimiques antioxydants sur la santé [Mena2011 ; Johanningsmeier2011]. Il est par exemple décrit une activité protectrice du jus de grenade contre les maladies cardiovasculaires via la capacité des polyphénols à inhiber l'oxydation des LDL, la formation des macrophages et l'athérosclérose [Aviram2002 et 2004 ; DeNigris2005]. La grenade est également connue pour ces effets bénéfiques dans le contrôle du diabète [Mohan2010 ; Rasenblat2006] et de l'arthrite [Shulka2008]. Une alimentation riche en polyphénols telle que la consommation de jus de grenade a un effet neuro-protecteur chez des modèles animaux d'ischémie et de maladie d'Alzheimer [Loren2005 ; Hartman2006]. Les anthocyanines contenus dans la grenade pourrait exercer les effets protecteurs contre les dommages oxydatifs impliqués dans les maladies neuro-dégénératives [Shin2006]. De plus, le jus et l'extrait de grenade possèdent des propriétés antimicrobiennes notamment dans le domaine des infections des

voies urinaires [Endo2010 ; Gm2010] et antivirales [Haidari2009], mais également une action sur la fonction érectile [Azadzoi2005], ainsi que sur la densité des cellules spermato-géniques et la qualité du sperme [Türk2008]. Pour finir, la grenade due à ses composés phytochimiques peut avoir des effets antiprolifératifs, anti-invasifs, anti-angiogéniques et pro-apoptotiques sur de multiples cancers tels que le cancer du colon, du sein et de la prostate [Syed2007 ; Heber2008].

b. Jus de grenade, cancer de la prostate et mécanismes moléculaires.

Des études *in vitro*, *in vivo* et des études précliniques se sont intéressées aux effets du jus de grenade et/ou des extraits de grenade (PFE : *pomegranate fruit extract*) sur la progression du cancer de la prostate. Certains mécanismes moléculaires impliqués ont également été suggérés. L'EGCG ainsi que trois autres composants phytochimiques contenus dans la grenade ont été montrés pour inhiber la croissance des cellules cancéreuses prostatiques LNCaP et induire l'apoptose [Gasmi2010]. De même, il est rapporté une diminution dose-dépendante de la prolifération cellulaire et une augmentation significative de l'apoptose lorsque les cellules tumorales prostatiques LNCaP et PC-3 sont traitées avec de la punicalagine, ou de l'acide ellagique, ou un extrait de grenade, ou encore avec du jus de grenade [Hong2008 ; Malik2005]. La modulation du système IGF et l'inhibition des voies de signalisation Akt et NF-ƙB induite par la grenade pourraient expliquer ces observations [Rettig2008 ; Koyama2010]. Une autre étude *in vitro* a observé une augmentation de l'adhésion et une diminution de la migration des cellules tumorales prostatiques traitées avec du jus de grenade [Wang2011].

En 2007, l'étude de Seeram et collaborateurs a permis de montrer la distribution variable des métabolites du jus de grenade au sein des tissus et l'intérêt sur la croissance tumorale prostatique d'un extrait de grenade. L'acide ellagique et l'urolithine A sont présents en forte concentration dans le sang et le tissu prostatique seulement pour une administration intra-péritonéale. Les différents métabolites de l'urolithine A sont préférentiellement détectés dans la glande prostatique. Cette étude a consisté à injecter des cellules cancéreuses prostatiques à 24 souris. La tumeur était décelable par palpation dès deux semaines. Un traitement d'extrait de grenade (0.8mg/jour) est alors administré à 12 souris. Six semaines après l'injection des cellules tumorales, une réduction de 50% de la croissance de l'adénocarcinome prostatique est observé entre le groupe grenade et placebo (1,18±0.47 cm^3 vs 0,47±0.28 cm^3 ($p<0.05$)). La croissance du cancer de la prostate peut être inhibée par l'urolithine [Seeram2007].

Un traitement avec des extraits de grenade (PFE) aboutit de façon dose-dépendante à l'apoptose des cellules de carcinome prostatique PC3. Malik et collaborateurs ont montré l'effet du PFE sur l'expression des protéines régulatrices du cycle cellulaire et de l'apoptose. L'expression de $p21^{WAF}$ et p27KIP1, régulatrices de la phase G_1-S du cycle cellulaire, est significativement augmentée de façon dose-dépendante et ce, indépendamment de p53. Ces protéines sont impliquées dans la diminution de l'expression des CDK (*cyclin dependent kinases*) et des cyclines, dont le rôle est théoriquement de faire progresser la phase G_1-S du cycle cellulaire et la prolifération cellulaire. La formation d'un hétérodimère Bax-Bcl-2 neutralise les effets pro-apoptotiques. Or un traitement de 48h avec le PFE sur les cellules PC3 entraîne une augmentation du ratio Bax/Bcl-2 incitant l'entrée en apoptose des cellules cancéreuses. Le PFE possède donc des propriétés antiprolifératives et pro-apoptotiques et il module le complexe cycline-cdk [Malik2005]. Cette étude montre également une inhibition de la croissance du carcinome prostatique humain CWR22R*v*1 chez la souris Nude lors d'une consommation exclusive de PFE. La tumeur apparaît 8 jours après l'inoculation des cellules tumorales dans le groupe témoin, et après 11-14 jours dans les groupes recevant du PFE. Les animaux étaient sacrifiés lorsque le volume de la tumeur atteignait 1200 mm^3, ce qui était le cas après 31 jours dans le groupe témoin, 39 jours et 47 jours pour les groupes recevant respectivement 0,1% et 0,2% de PFE. La survie est favorisée par la consommation de jus d'extrait de grenade ($p<0,0001$). A cela s'ajoute une diminution du taux de PSA. Au 30ème jour, il est observé une baisse de 70% et de 87% respectivement pour le groupe recevant 0,1% et 0,2% de PFE par rapport au groupe témoin consommant seulement de l'eau ($p<0,001$). Les effets d'extrait de grenade sur la sécrétion de PSA sont étroitement corrélés avec l'inhibition de la croissance tumorale chez la souris [Malik2005].

Sartippour et collaborateurs rapportent *in vitro* une inhibition significative de la prolifération des celles LNCaP sous des conditions normoxiques et hypoxiques avec dans le second cas une diminution des niveaux protéiques HIF-1α et VEGF [Sartippour2008]. Cette même équipe montre chez des souris SCID (*severe combined immunodeficient*) avec des xénogreffes de cancer de la prostate humain que la consommation d'un extrait de grenade diminue la taille des xénogreffes, la densité de la vascularisation tumorale, les niveaux de peptide VEGF et l'expression de HIF-1α après quatre semaines de traitement [Sartippour2008]. Ainsi, un extrait de grenade riche en ellagitanins pourrait inhiber l'angiogenèse associée à la tumeur et donc permettre de retarder la croissance de l'adénocarcinome prostatique.

Au sein d'un modèle de souris TRAMP (*transgenic adenocarcinoma of the mouse prostate*), 100% des souris recevant de l'eau pendant 28 semaines ont développé des tumeurs après seulement 14 semaines d'expérimentation, tandis que seuls 30% et 20% des souris recevant respectivement 0,1%

et 0,2% de jus de grenade ont développé des adénocarcinomes prostatiques à cette date [Adhami2012]. De plus, à la fin du traitement, 90% des souris recevant l'eau seule présentaient des métastases contre seulement 20% des souris recevant le jus de grenade. Par conséquent, la consommation de jus de grenade pourrait significativement augmenter l'espérance de vie *versus* les souris recevant de l'eau. Toutes ces observations sont combinées à un blocage de la voie de signalisation IGF-1/Akt/mTOR. En effet, cette équipe montre que la prise de PFE induit une inhibition du ratio IGF-1/IGFBP-1, une diminution de l'expression de PI3K et une baisse de la phosphorylation de la protéine Akt [Adhami2012].

En 2006, Pantuck et collaborateurs réalisent le premier essai clinique du jus de grenade chez des patients atteints d'un cancer de la prostate récurrent [Pantuck2006]. Cette étude de phase II a été réalisée chez 46 hommes ayant une augmentation du PSA après une chirurgie ou prostatectomie radicale. Ils ont reçu quotidiennement 180-240 ml de jus de grenade sur 33 mois. Le protocole a été écourté en raison de résultats significatifs dès 18 mois, permettant ainsi aux patients de continuer le traitement jusqu'à la découverte d'un critère de progression de la maladie [Pantuck2006]. L'étude révèle que 83% des patients a eu une amélioration du temps de doublement du PSA, induisant une stabilisation durable de la maladie. Cet essai n'a pas causé d'effets secondaires sérieux ni de développement de métastases. Pantuck et collaborateurs ont également obtenu des effets significatifs d'un tel traitement *in vitro* sur des lignées tumorales prostatiques LNCaP. En utilisant le sérum des patients consommant le jus de grenade, ils observent après 9 mois, une diminution de 12% de la croissance cellulaire et une augmentation de 17,5% de l'activité apoptotique par rapport au niveau basal. Après 9 mois de traitement, ils trouvent une réduction de 40% de l'état oxydatif basal et une corrélation significativement négative entre le niveau de PSA et celui des dommages [Pantuck2006]. Une récente étude randomisée de phase II a également rapporté que la prise d'extrait de grenade était associée à un allongement du temps de doublement des PSA sans effet secondaire [Paller2013]. La consommation de jus de grenade retarderait la progression de la tumorigenèse prostatique et prolongerait la survie ainsi que la qualité de vie des patients. Les études réalisées chez l'homme et l'animal suggèrent le potentiel bénéfice de l'association des propriétés pro-apoptotiques et antioxydantes du jus de grenade dans la chimio-prévention du cancer de la prostate. A l'heure actuelle, l'impact du jus de grenade sur le statut redox ainsi que les mécanismes moléculaires redox-dépendants n'ont jamais été identifiés au sein du tissu cancéreux prostatique. Suite à l'essai clinique de phase II, les urologues recommandent à leurs patients de consommer du jus de grenade quotidiennement et de pratiquer une activité physique régulière. L'enjeu est donc de déterminer les effets de l'association de l'exercice physique et du jus de grenade sur la progression du cancer de la prostate.

Synthèse et Objectifs

Le cancer de la prostate est un problème de santé publique majeur au même titre que l'inactivité physique, et ce, notamment dans les pays développés. En France, ce cancer est de loin le plus incident chez l'homme devant le cancer du poumon et du colon et représente la troisième cause de mortalité (Globocan20012). L'amélioration des techniques de dépistage permet actuellement de diagnostiquer des adénocarcinomes prostatiques localisés, de bas grade et ainsi d'envisager l'utilisation de stratégies thérapeutiques non médicamenteuses. L'étude des facteurs de risque du cancer de la prostate a permis de mettre en lumière le rôle majeur des facteurs comportementaux. En effet, l'hygiène de vie pourrait moduler l'initiation et la progression du cancer de la prostate [YoungMcCaughan2011 ; Thomas2014 ; Mandair2014].

Au cours de cette dernière décennie, le stress oxydant a pris une place majeure dans l'histoire naturelle du cancer de la prostate [Luo2009]. Durant l'initiation tumorale, les dommages oxydatifs produits par les ERO et ERN peuvent induire des mutations géniques et des altérations structurales qui pourront être à l'origine de l'activation d'oncogènes et de l'inactivation de gènes suppresseurs potentiellement impliqués dans l'initiation de la carcinogenèse [Toyokuni2006]. Les ERO peuvent aussi participer à la phase de promotion tumorale en modulant des voies de signalisation et des facteurs de transcription impliqués dans l'augmentation de la prolifération cellulaire et/ou la diminution de la mort cellulaire [Valko2006 ; Reuter2010 ; Ma2010]. Bien que la présence d'un stress oxydant chronique modéré puisse stimuler la division cellulaire et ainsi accroitre la progression de la croissance tumorale, un niveau excessif d'ERO est cytotoxique et interrompt la prolifération en incitant l'apoptose ou la nécrose [LópezLázaro2007 ; Gupta2012 ; Gorrini2013]. C'est le principe du traitement par radiothérapie qui consiste à augmenter les ERO pour accroitre les dommages oxydatifs à l'ADN et ainsi induire la mort cellulaire [Holley2014]. Toutefois, les cellules tumorales ont la capacité de s'adapter à des valeurs excessives d'ERO en augmentant leurs défenses antioxydantes, ce qui induit une résistante à la mort cellulaire radio-induite [Trachootham2009 ; Tomasetti2014]. La régulation du stress oxydant représente donc un facteur crucial dans le contrôle de la carcinogenèse prostatique. **L'enjeu majeur de mon travail est de définir quelles stratégies pourraient constituer une barrière à la tumorigenèse prostatique via une modulation du stress oxydant.**

Est-ce que l'exercice physique régulier connu pour moduler le stress oxydant pourrait influencer l'évolution du cancer de la prostate ? Bien que les résultats soient controversés, plus de la moitié des études épidémiologiques ont montré que l'exercice physique régulier diminue le risque de développer un adénocarcinome prostatique [Friedenreich2001 ; McCaughan2011]. Quelques rares études ont également démontré que l'exercice physique pourrait retarder ou inhiber la progression du cancer de la prostate [Barnard2007 ; Esser2009 ; Richman2011]. Toutefois, les mécanismes

moléculaires impliqués n'ont pas encore été clairement élucidés [Thompson2009 ; Thomas2014]. Une seule étude a suggéré que l'exercice physique régulier pourrait retarder ou inhiber la tumorigenèse prostatique via une modulation du stress oxydant [Soliman2011]. La répétition régulière d'une activité physique répond à la loi de l'hormesis et engendre des adaptations physiologiques bénéfiques, permettant de prévenir les dommages oxydatifs chroniques en réponse à une activité physique mais également au repos [GomezCabrera2008 ; Ji2008]**. Par son activité hormétique, l'exercice physique régulier pourrait-il moduler le stress oxydant chronique au sein de l'épithélium tumoral prostatique et ainsi bloquer la progression tumorale ?**

Au-delà de l'exercice physique régulier, il est également montré qu'une alimentation riche en fruits et légumes contenant de nombreux composants phytochimiques antioxydants pouvait moduler la tumorigenèse prostatique [Surch2003 ; Li2014]. La grenade, grandement pourvue en polyphénols antioxydants, est connue pour ses propriétés antiprolifératives, pro-apoptotiques, anti-invasives et anti-angiogéniques. La progression du cancer de la prostate est retardée voire inhibée avec la consommation d'extrait ou de jus de grenade [Malik2005 ; Pantuck2006 ; Sartippour2008 ; Adhami2012]. Bien que quelques pistes moléculaires aient été décrites, aucune étude ne s'est focalisée sur les effets de la grenade sur le statut redox du tissu épithélial prostatique tumoral. **Le jus de grenade connu pour ces propriétés antioxydantes pourrait-il moduler le stress oxydant chronique de l'épithélium tumoral prostatique et ainsi bloquer la progression tumorale ?**

Actuellement, les urologues suggèrent à certains de leurs patients diagnostiqués pour un adénocarcinome prostatique de bas grade de pratiquer une activité physique régulière et de consommer 250 ml de jus de grenade quotidiennement. Cependant, aucun travail n'a étudié les effets combinés de ces deux stratégies préventives non médicamenteuses sur la progression du cancer de la prostate. **Existe-t-il une potentialisation de leur action anticancéreuse ? Les mécanismes moléculaires impliqués sont-ils synergiques ? La prise d'antioxydant bloque-t-elle l'action hormétique de l'exercice ?**

En raison de données controversées, il est aujourd'hui fortement déconseillé aux patients sous traitement d'avoir recours à une supplémentation en antioxydants [Borek2004 ; Moss2007]. En effet, même si l'administration d'antioxydants pourrait prévenir des effets secondaires liés aux traitements conventionnels en protégeant les cellules saines du stress oxydant induit ; la supplémentation en antioxydants pourrait protéger les cellules tumorales comme les cellules saines des dommages oxydatifs générés par la radiothérapie [Lawenda2008]. **L'exercice physique connu également pour ses propriétés antioxydantes ne bloquerait-il pas les effets de la radiothérapie en prévenant les dommages oxydatifs ?**

Dans ce contexte, l'objectif général de cette thèse est donc de déterminer, *in vitro* et *in vivo*, les effets de l'exercice physique régulier sur la progression du cancer de la prostate et d'identifier des voies de signalisation redox-dépendantes impliquées dans la tumorigenèse prostatique pouvant être modulées par l'exercice physique régulier.

Les objectifs spécifiques de cette thèse sont les suivants :

- **Déterminer *in vivo* si la pratique d'une activité physique régulière seule ou combinée à une supplémentation en antioxydants module l'évolution du cancer de la prostate et identifier l'implication du stress oxydant (Etude n°1).**
- **Déterminer *in vivo* si l'exercice physique régulier peut moduler le profil d'expression des miARNs dans le tissu tumoral prostatique (Etude n°2).**
- **Etudier *in vitro* l'impact du sérum d'hommes inactifs *versus* actifs sur la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques LNCaP et identifier des mécanismes moléculaires redox-dépendants impliqués (Etude n°3).**
- **Déterminer *in vivo* les effets de l'exercice physique régulier seul ou combiné à la radiothérapie sur la progression de tumeurs prostatiques humaines et identifier les voies de signalisation redox-sensibles impliquées dans ces effets (Etude n°4).**
- **Améliorer les connaissances sur les mécanismes moléculaires notamment redox-sensibles qui pourraient expliquer les propriétés anti-tumorales de l'exercice physique régulier (Revue).**

Contribution personnelle

Chapitre I. Travaux expérimentaux et revue.

Etude expérimentale n°1 : L'exercice physique régulier combiné avec le jus de grenade prévient l'activité antiproliférative des traitements seuls dans le cancer de la prostate via l'inhibition des adaptations redox.

Contexte scientifique de l'étude

L'activité physique pourrait être un facteur clé dans la prise en charge des patients atteints d'une tumeur prostatique. Un exercice physique régulier diminuerait la mortalité et contribuerait au bien-être et à la qualité de vie des patients après un diagnostic de cancer de la prostate [Courneya2011 ; Thomas2014]. Il est montré que l'exercice physique ralentit la progression du cancer *in vitro* [Tymchuck2001 ; Leung2004 ; Barnard2007], au sein d'un modèle de souris transgéniques [Esser2009] et chez l'homme [Richman2011]. Les aliments antioxydants semblent également réduire le risque de cancer de la prostate chez des sujets opérés ou irradiés. Le jus de grenade consommé une fois par jour prolonge significativement le temps de doublement du PSA [Pantuck2006]. De même, des études expérimentales chez l'animal ont rapporté une inhibition de la progression du cancer de la prostate avec la prise de jus ou d'extrait de grenade [Malik2005 ; Seeram2007 ; Adhami2012]. Ainsi, une hygiène de vie saine, associant une activité physique régulière et une alimentation équilibrée, pourrait réduire la progression du cancer de la prostate. Toutefois, les mécanismes moléculaires responsables de ces effets restent encore peu connus.

Le stress oxydant pourrait précisément en faire partie. En 2009, Luo et collaborateurs intègrent les phénotypes de stress parmi les marqueurs classiques de la tumorigenèse [Luo2009]. L'épithélium tumoral prostatique, *versus* un épithélium sain, est caractérisé par la présence d'un stress oxydant inhérent et permanent [Kumar2008 ; Khandrika2009 ; Gupta2012]. Un exercice physique régulier et modéré permet de générer des radicaux libres capables d'activer des voies de signalisation spécifiques, induisant des réponses adaptatives à l'exercice selon la théorie de l'hormesis telles que l'augmentation des défenses antioxydantes systémiques et tissulaires [Miyazaki2001]. Bien que l'activité physique régulière puisse représenter une option thérapeutique intéressante dans la prise en charge du cancer de la prostate, des questions restent en suspens. En effet, les mécanismes moléculaires redox-dépendants pouvant être impliqués dans cette prévention ne sont pas élucidés. De plus, aucune étude ne montre l'effet de la combinaison des deux stratégies antioxydantes que sont l'exercice physique et la consommation de jus de grenade sur l'évolution du cancer de la prostate.

Dans ce contexte, les objectifs de cette étude menée en collaboration avec Mr Guillou, un industriel et Dr Sébastien Vincendeau, un urologue ont été (a) de développer un modèle *in vivo* de rat porteurs d'une tumeur prostatique, dans lequel nous voulions déterminer (b) si le jus de grenade et/ou l'activité physique diminue(nt) le stress oxydant, (c) si le jus de grenade et/ou l'activité physique diminue(nt) la croissance tumorale. L'objectif final est (d) d'identifier les mécanismes moléculaires impliqués dans la prévention du cancer de la prostate par le jus de grenade et l'activité physique, afin de cibler les tumeurs prostatiques qui seront sensibles à ces deux stratégies.

Matériels et méthodes

Pour atteindre ces objectifs, nous avons injecté en sous-cutanée $2x10^6$ cellules cancéreuses prostatiques Dunning AT1 chez 3 rats Copenhagen. Deux semaines après l'injection, les tumeurs ont été réséquées puis coupées en fragments de 20 mg. Chaque fragment a alors été implanté par chirurgie en sous-cutanée au niveau de l'abdomen de 40 rats Copenhagen mâles. Après formation de tumeurs solides, les rats ont été répartis en quatre groupes expérimentaux homogénes : contrôles, consommation journalière de jus de grenade, course sur tapis roulant ou la combinaison des deux. La croissance des tumeurs a été évaluée hebdomadairement pendant 4 semaines. Au terme du protocole, les rats ont été euthanasiés puis les tumeurs, les muscles et le sang ont été prélevés. Une étude histologique, biochimique et moléculaire a débuté afin d'identifier les différents marqueurs du stress oxydant ainsi que les voies de prolifération et de mort.

Résumé des principaux résultats

Nous avons démontré que l'entrainement en course seul ou le jus de grenade seul ralentit significativement la croissance tumorale. Une modélisation mathématique du temps de doublement de la tumeur ainsi qu'un marquage histologique des noyaux au Ki67 confirment ces résultats. Toutefois, l'association de ces deux traitements inhibe l'effet anti-prolifératif des stratégies prises isolèment.

Nous démontrons également au sein de la tumeur que l'exercice physique seul ou le jus de grenade seul diminue l'expression de la forme phosphorylée d'ERK, une protéine au rôle majeur dans la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques. Cet effet est, cependant, inhibé lorsque les deux stratégies sont combinées. De la même manière, le jus de grenade seul augmente significativement le ratio Bax/Bcl-2 au sein de la tumeur, tandis que l'association de l'exercice physique et la prise de jus de grenade inhibe totalement cet effet pro-apoptotique.

De plus, la prise de jus de grenade améliore significativement les défenses antioxydantes non enzymatiques du sang total (GSH réduit) et du sérum (ORAC, Vitamine E et A). L'entrainement ou la grenade augmente aussi les défenses antioxydantes enzymatiques telles que l'activité de la SOD musculaire. Nous montrons également que les traitements isolés conduisent à limiter efficacement les dommages oxydatifs au sein du tissu tumoral (8-oxo-dGuo, peroxydation lipidique). Cependant, lorsqu'ils sont combinés, ils inhibent significativement les adaptations antioxydantes induites par chacune des stratégies séparées et suppriment les bénéfices obtenus sur les dommages oxydatifs au sein de la tumeur.

Conclusion

Dans cette étude, nous avons démontré que l'activité physique régulière ou le jus de grenade réduit significativement la croissance tumorale prostatique. La combinaison de ces deux stratégies non médicamenteuses empêche l'activité antiproliférative des traitements seuls, via une inhibition des adaptations redox. Les antioxydants apportés par le jus de grenade pourraient avoir la capacité de piéger les radicaux libres produits par l'exercice, empêchant ainsi l'induction d'adaptations antioxydantes en réponse à l'entrainement. Au sein de cette première étude, nous confirmons l'importance du stress oxydant dans la tumorigenèse prostatique et montrons que l'activité physique pourrait moduler la croissance tumorale prostatique via une régulation du stress oxydant.

Exercise training combined with antioxidant supplementation prevents the antiproliferative activity of single treatment in prostate cancer through inhibition of redox adaptation

Running title: prostate cancer and oxidative stress

Authors : Jordan Gueritat[1], Luz Lefeuvre-Orfila[1], Sophie Vincent[1], Armel Cretual[1], Jean-Luc Ravanat[2], Arlette Gratas-Delamarche[1], Françoise Rannou-Bekono[1] and Amélie Rebillard[1]

[1] *EA 1274, Laboratoire "Mouvement, Sport, Santé", Université de Rennes 2-ENS Cachan Antenne de Bretagne ; Bruz, 35170, France,*

[2] *Laboratoire « Lésions des Acides Nucléiques », Université Joseph Fourier – Grenoble 1 / CEA / Institut Nanoscience et Cryogénie / SCIB, UMR-E3, Grenoble France*

Author's correspondence:

Amélie Rebillard
EA 1274, Laboratoire « Mouvement, Sport, Santé »
Université Rennes 2-ENS Cachan Antenne de Bretagne
Campus de Ker Lann, Avenue Robert Schuman
35170 Bruz, France
Tel : + 33(0)290059419
E-mail: amelie.rebillard@univ-rennes2.fr

Keywords: prostate cancer, pomegranate juice, physical exercise, oxidative stress, antioxidant adaptation

Abstract

In preclinical models, exercise training ET or pomegranate juice PJ individually prevents prostate cancer progression. Here, we hypothesize that physical exercise combined with antioxidants could induce synergistic effects through oxidative stress modulation. Forty male Copenhagen rats with prostate tumors were divided into four groups: Control, PJ, ET, PJ+ET. Rats from PJ group consumed daily 750 µl of PJ, rats from ET group run on a treadmill 5 days per week and PJ+ET rats received the combined treatments. Each week, tumor growth was evaluated. After four weeks of treatment, rats were euthanized and blood, muscles and tumors were collected. Tumor Ki67, Extracellular signal-Regulated Kinase ERK activation, Bcl2 expression, enzymatic and non-enzymatic antioxidant defenses as well as oxidative stress markers (oxidized base, lipid peroxidation, protein carbonylation) were measured. PJ or ET significantly decreased prostate tumor proliferation (Ki67 staining, $p<0.05$) through the modulation of ERK phosphorylation whereas the association of treatments didn't limit cancer progression. PJ significantly reduced Bcl-2 expression in tumors ($p<0.05$) and the combination of PJ and ET prevented this effect. PJ or ET increased enzymatic antioxidant defenses in muscle, PJ increased non-enzymatic antioxidant defenses in plasma and whole blood. In addition, PJ reduced TBARS and 8-oxodGuo levels in tumors as well as ET ($p<0.05$) whereas protein carbonyl levels were not affected by these two strategies. Paradoxically, association of PJ+ET didn't increase antioxidant defenses and no reduction of oxidative stress markers was induced. Loading cancer cells with antioxidants blunts the positive effects of ET and interferes with important ROS-mediated physiological processes such as antioxidant adaptations.

Introduction

Over the past two decades, prostate cancer (PC) incidence has significantly increased in France. With more than 71,000 new cases in 2011, it represents a major health concern and the first most frequent cancer in French men (Globocan, 2012). In recent years, it is becoming increasingly evident that the best way to treat cancer is to delay its progression by an enhancement of secondary chemoprevention as a rational and appealing strategy [1]. Whereas many studies demonstrated a preventive effect of physical activity or antioxidant-enriched diet – for example, pomegranate juice (PJ) in primary prevention of PC - little is known regarding the effects of these factors during PC evolution especially when these two strategies are combined.

Pomegranate due to its phytochemical composition (antioxidant compounds such as polyphenols and isoflavones, vitamins or minerals) possesses potential benefits on multiple cancers such as PC [2–4]. These effects have been investigated in cell culture system, in animal models, and also in a phase II clinical trial in humans [2,5–8]. Pantuck and collaborators have demonstrated that PJ consumed once a day increases significantly Prostate Specific Antigen (PSA) doubling time in men with prostate cancer [9].

In the same way, physical activity is a pleiotropic intervention that could have some benefits on PC progression since it regulates various signaling pathways involved in prostate tumors. Some *in vitro* studies have established a preventive effect of exercise through an inhibition of prostate cancer cells proliferation induced by serum of patients which have followed specific dietary and exercise recommendations [10–12]. In addition, a model of transgenic mouse confirms the previous data, proving that running reduces prostate carcinogenesis in a dose-dependent manner [13]. Among men undergoing prostate biopsy, the low-grade disease is correlated to physical activity level [14] and men who play more vigorous activity have the lowest risk of dying from the disease [15].

On the basis of these results, urologists strongly recommend to patients in active monitoring the combination of PJ and exercise training (ET) considering, without any evidence-based data, that these two preventive strategies should act synergistically and lead to additive effects. Both PJ and ET share some common mechanisms like an antioxidant effect but recent literature obviously indicate that the association of antioxidant supplementation and ET could have detrimental effects [16]. The present study further explores the effect of PJ and ET combination on PC evolution in a rat model and determines for the first time the molecular mechanisms involved in this process.

Materials and methods

Cell culture

R3327 Dunning prostatic adenocarcinoma subline AT1 were obtained from Cell Lines Service (CLS, Eppelheim, Germany). The cells were grown in 75-cm² flasks in RPMI 1640 medium with phenol red supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS), 2 mM L-glutamine (Gibco, Invitrogen) in standard cell culture conditions. Cells were collected using 0.25% trypsin-EDTA (Gibco, Invitrogen).

Animals and tumor model

The use and care of animals followed the guidelines of the French Agriculture and Fishing Ministry under the authorization to experiment on living animals n° R-2012-AR-01 and the site agreement n° A3523840, and was conducted in accordance with the ethical standards of the European Community (directive 86/609/EEC). 10-12 weeks old male Copenhagen rats were obtained from Charles River laboratories. An abdominal subcutaneous injection of $2x10^6$ R3327 Dunning AT1 cells was realized in three rats. After 15 days, a solid tumor was obtained, excised and fragmented into 20 mg pieces. 40 rats were anesthetized to implant a subcutaneous tumor fragment into the abdomen. The various treatments started 15 days after surgery. The rats were maintained under standard laboratory conditions.

Treatments

Copenhagen rats with subcutaneous prostate tumor were divided into four groups: Control: 10 subcutaneous prostate tumor-bearing rats which served as control. PJ: 10 subcutaneous prostate tumor-bearing rats which orally consumed 750 µl of PJ five days per week in the morning [7]. Oral dosing was administered in a single serving. We employed 100% pure pasteurized pomegranate juice (Couleur Quebec). ET: 10 subcutaneous prostate tumor-bearing rats which run on a treadmill 5 days a week in the afternoon. One week of acclimatization on the treadmill is needed, consisting of 15 min at 20 m/min. The following 2 weeks consisted of 40 min at 22 m/min. For the remaining 2 weeks of protocol, the duration was increased to 60 min at intensity of 25 m/min. PJ+ET: 10 subcutaneous prostate tumor-bearing rats which consumed 750 µl of PJ in the morning and ran on a treadmill in the afternoon 5 days per week as previously described. Each week, the tumor volume was measured using a sliding caliper. The formula used to calculate tumor volume was length x width x height x 0.5236 (expressed in cm^3).

Tissue preparation

At the end of four weeks of treatments, rats were anesthetized with intraperitoneal injection of ketamine (50 mg/kg) and xylazine (4 mg/kg) then euthanized 24h after the last treatment. Whole

blood was collected by cardiac puncture in EDTA tubes, blood GSH level was measured and blood samples were immediately centrifuged to obtain plasma. The tumor and skeletal muscle (*soleus*) were excised, washed in physiological saline buffer, frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C. Tissue samples were homogenized in respective ice cold lysis buffer (1:10 w/v) according to the measure, ground and sonicated in ice. The resulting mixture was centrifuged at 10,000g for 10 min at 4°C. The supernatant which represents homogeneous tissue was aliquoted and stored at -80°C until analysis. Protein concentration of each homogeneous was measured using Lowry protein assay.

Tumor doubling time

Tumor growth speed is assessed by computing the tumor doubling time. For each tumor evolution we compute the best least square approximation of an exponential increase model:

Weight(t) = InitialWeight * 2^(t / DoublingTime)

where InitialWeight is the tumor's weight at Day 0, t is time (in days) and DoublingTime represents the mean duration (in days) needed for tumor doubling.

Ki67 staining for proliferation

Frozen prostate tumor tissues were sectioned at 8 µm (Cryostat) and fixed in 4% ultrapure formaldehyde (Biosciences) for 10 min. Slides were washed in PBS-5%Tween and incubated in PBS-2%BSA with 3% goat serum for 30 min, then incubated with primary antibodies against Ki67 (Santa Cruz, 1:50) for 1h at 37°C in a humidified chamber. Slides were washed in PBS-5%Tween and incubated with Alexa Fluor 555-conjugated goat anti-rabbit secondary antibody (Invitrogen, 1:750) for 1h at room temperature. Slides were washed and incubated with Dapi solution 1/10000. After washing, slides were mounted with glass cover slips for microscopic examination.

Western Blot analysis

Tumor tissues were lysed in ChiP buffer (50 mM Tris-HCl, 10 mM EDTA, 1% SDS). Protein concentration was determined using Lowry protein assay. Proteins (100 µg) were separated by SDS-PAGE and transferred onto nitrocellulose membranes (BioRad). After blocking, membranes were incubated overnight at 4°C with the different specific primary antibodies (Hsc70, 1:5000, Santa Cruz; ERK, 1:200, Santa Cruz; p-ERK, 1:200, Santa Cruz; anti-Bcl2, 1:200, abcam; Bax, 1:1000, abcam; MnSOD, Assay Bio; 1:5000; CuZnSOD, Novus Bio, 1:5000). Following washes, secondary IgG anti-mouse goat IRDye 800 or IgG anti-rabbit goat IRDye 680 antibody (Sciencetec) was added for 1h in the dark at room temperature. Immunoreactive bands were visualized with Odyssey Infrared Imaging System (LI-COR, Biosciences).

Superoxide dismutase activity

SOD enzyme activity was determined using RANSOD kit (Randox Labs, UK). Homogeneous samples were lysed in Phosphate-EDTA buffer (1X PBS, 0.5 mM EDTA). 5 µl tumor homogeneous or muscle homogeneous or standard was dispensed in triplicate into a 96-well plate with 25 µl xanthine oxidase solution, and 170 µl mixed substrate. The kinetics of SOD activity was measured at 505 nm by the degree of inhibition of the reaction, using microwell plate reader Synergy HT (BioTeck). The SOD activity was expressed in USOD/mg protein.

Oxygen Radical Absorbance Capacity assay

Total antioxidant capacity was measured by spectrofluorometry [17]. 0.5 M perchloric acid (Prolabo), 100 mM PBS and 100 µL serum sample were centrifuged then supernatant was adjusted with 5 M NaOH to reach pH 7. 14 µM final/well of fluorescein (Fluka) and 17.2 mg/ml of 2,2'-azobis(2-aminopropane)dihydrochloride (AAPH) were dispensed on serum extract. Fluorescence was recorded for 60 min at excitation and emission wavelengths of 485 and 530 nm, respectively, using a microwell plate reader Synergy HT (BioTeck). Calibration solutions of Trolox were also tested to establish a standard curve.

GSH determination

Measurement of GSH level was performed using Bioxytech GSH/GSSG-412 (OxiResearsh) [18]. 50 µl and 100 µl of whole blood were respectively collected for total GSH assay and for GSSG assay. The samples for analysis of GSSG alone were incubated with the GSH scavenger. 5% metaphosphoric acid (Sigma) was added to samples. After centrifugation, 50 µl supernatant was removed and added to Assay Buffer kit GSH/GSSG. 50 µl samples were added to 96 well plates with 50 µl DTNB and 50 µl glutathione reductase. After 5 min, 50 µl of NADPH was dispensed. Total GSH and GSSG level were measured at 412 nm over 3 min in triplicate, using microwell plate reader Synergy HT (BioTeck). GSH level was obtained by subtraction of total GSH less GSSG and expressed as µM.

Vitamin E and vitamin A assay

Vitamin E and vitamin A were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) [19]. 500 µl plasma sample, 50 ng/µl tocol, absolute EtOH and Heptane (Sigma-Aldrich) were vortexed and centrifuged. The supernatant was recovered and evaporated (Speed Vac) then mobile phase MeOH/H2O 95/5 5mM Lithium perchlorate was added. The extract was injected within pump HPLC (Spectro System P1000 XR). Tocol and α-tocopherol were measured by an electrochemical detector ESA Coulochem model 5100A while vitamin A was detected by UV-Visible LCD Spectromonitor III 1204A at 326 nm.

TBARS assay

The concentration of TBARS reflected lipid peroxidation products [20]. 1 ml of homogenous sample (lysis buffer KCl 0.15 M with 0.1 mM BHT) or standards (100 µM tetramethoxypropane solution stock) were mixed with 2ml thiobarbituric. The reaction mixture was vortexed and incubated at 100 °C for 45 min in a water bath. Tubes were put under water then incubated on ice for 5 min to stop reaction. 2ml butanol was added in each sample and standard. After 1 min vortexed and 10 min centrifuged at 3000 rpm/min, 1ml butanolic supernatant was recovered. Reading was realized at 535 nm using a microwell plate reader Synergy HT (BioTeck).

Protein carbonyl

Analysis of protein carbonyl level was performed using an OxyBlot kit (Millipore). Tumor or muscle tissues were lysed in 0.05M Kpi-0.1mM EDTA buffer. Protein concentration was defined by Lowry protein assay. Protein extracts (10 µg) were derivatized with 1% DNPH. After 15 min incubation, the reaction was stopped with the addition of the supplied neutralization solution and mercaptoethanol. Molecular weight protein standards containing attached DNP residues and tumoral protein extracts were separated on SDS-PAGE and transferred onto nitrocellulose membrane (BioRad). Membranes were blocked and then incubated overnight at 4°C with anti-DNP primary antibody (1:100) supplied with OxyBlot kit. After washes, secondary IgG anti-rabbit goat IRDye 680 antibody (Sciencetec) was added for 1h in the dark at room temperature. Membrane was washed and blots were scanned using Odyssey Infrared Imaging System (LI-COR, Biosciences).

4-HNE analysis

Detection of 4-hydroxy-2-nonenal (4HNE) adducts, a marker for lipid peroxidation was performed by Western blotting. 30 µg protein of each sample was loaded in all wells for analysis and separated on SDS-PAGE. After transferring protein onto nitrocellulose membranes (BioRad), the membrane was incubated in a solution of 250 mM sodium borohydride in 100 mM MOPS, pH 8.0 for 15 min. Membrane was blocked for 30 min 5% milk in 1X PBS, then incubated overnight at 4°C with primary antiboby 4HNE which was a gift from Pr. Bertrand Friguet (Pierre and Marie Curie University, Paris, FRANCE). Following washes, secondary IgG anti-rabbit goat IRDye 680 antibody (Sciencetec) was added for 1h in the dark at room temperature. Immunoreactive bands were visualized with Odyssey Infrared Imaging System (LI-COR, Biosciences).

8-oxodGuo measurement

The level of 8-oxodGuo was determined following DNA extraction and digestion by HPLC coupled to tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) following an optimized protocol described in details previously [21]. Accurate quantitation was performed using isotopically labeled 8-oxodGuo $^{15}N_5$ as an

internal standard. Levels of 8-oxodGuo are expressed as the number of lesions per million normal nucleosides quantified by external calibration using an UV detector set at 260 nm.

Statistics

Data are expressed as mean ± SEM and were compared performed by a 2-way ANOVA for repeated measured, followed by Student-Newman-Keuls post-ANOVA tests. All analyzes were performed on SigmaStat. A level of $p<0.05$ was selected to indicate statistical significance.

Results

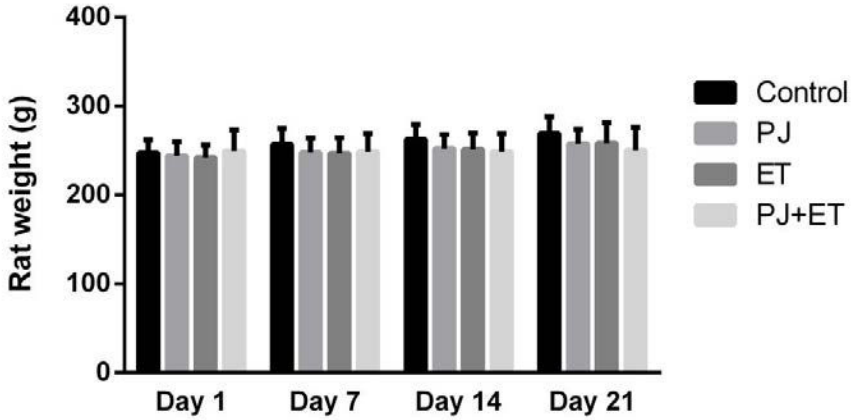

Fig.1. Effect of PJ and/or ET on body and muscles weight during 4 weeks. Following treatments, weight of rats was measured each week. Data were expressed as mean ± S.E.M of ten rats from each group. Data were expressed as mean ± S.E.M of ten rats from each group. *p≤ 0.05

Association of the two strategies has no effect on prostate cancer progression

To investigate the effects of exercise training ET and/or pomegranate juice PJ on prostate cancer PC growth in Copenhagen rat, AT1 tumor fragments were implanted into abdomen of rats. No significant effect was observed on body weight between the different groups (Fig. 1). However, weight of rats belonging to PJ+ET group stagnated throughout the whole experimental protocol (Fig. 1). Two weeks after cancer cells implantation, the distribution of tumor volume between groups was homogeneous since there was no difference in tumor size on the first day of treatment (Fig. 2A). After one week of treatment, tumor growth (1.25 ± 0.63 cm^3) was slowed down by PJ (1.11 ± 0.32 cm^3), ET (0.80 ± 0.34 cm^3) and PJ+ET (0.91 ± 0.41 cm^3). We observed a significant difference between ET group and Control group on the fourteenth day (1.71 ± 0.89 cm^3 *vs* 2.79 ± 1.12 cm^3, $p<0.05$) and on the twenty-first day (3.61 ± 2.28 cm^3 *vs* 6.05 ± 2.04 cm^3, $p<0.05$). Consequently, throughout the

entire treatment period, ET on a treadmill decreased prostate tumor growth. Although PJ had a preventive effect on prostate growth during all the experimental protocol, the difference of volume tumor was only significant after twenty-one days of treatment (PJ 4.03 ± 1.99 cm^3 *vs* Control 6.05 ± 2.04 cm^3, $p<0.05$). PJ associated to ET decreased tumor volume after the first week of treatment but the reduction of tumor size only seemed to be related to ET. Indeed, tumor growth drastically increased from three weeks of treatment in the same way as Control group. Therefore, the results shown in Fig. 2A indicate that the combination of the two approaches was not efficient compared to treatments conducted separately.

To confirm these results, we defined tumor doubling time via a mathematical modeling. As shown in Fig. 2B, tumor doubling time was about 6 days for both Control and PJ+ET groups and it was of 8 days for both other groups. Tumor doubling time was significantly different between PJ and Control (respectively, 8.29 ± 1.63 *vs* 6.19 ± 0.46 days; $p<0.05$) and between ET and Control (respectively, 8.81 ± 1.39 *vs* 6.19 ± 0.46 days; $p<0.05$). Surprisingly, PJ associated to physical activity give the same result as Control group (6.43 ± 0.73 *vs* 6.19 ± 0.46 days). This outcome confirms the potentially adverse effect of the two combined therapeutic strategies. At the end of the protocol, PJ alone or ET alone significantly decreased prostate tumor growth in Copenhagen rat ($p<0.05$) but the association of the two strategies was not effective (Fig. 2).

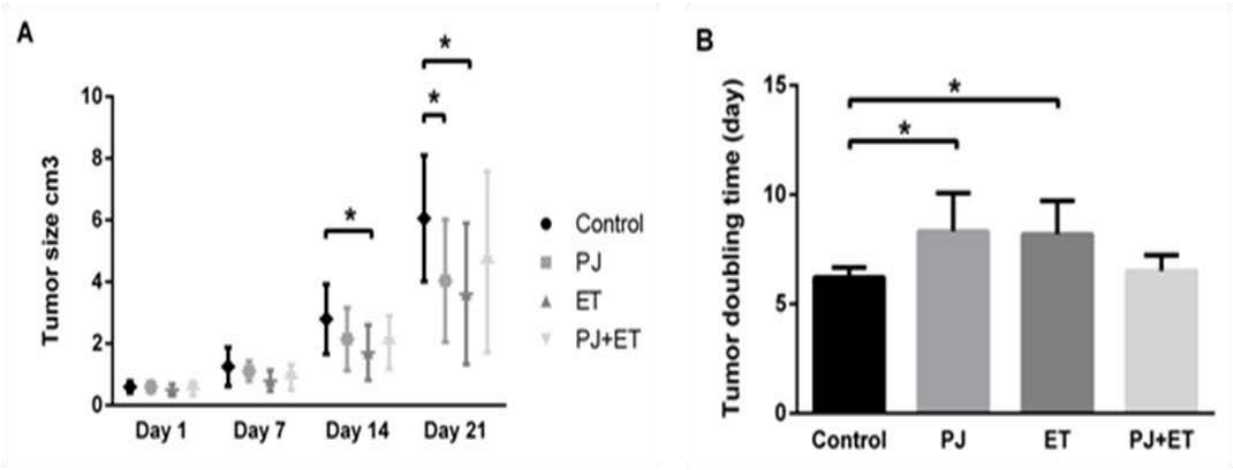

Fig.2. Effect of PJ consumption and/or ET on prostate cancer progression. (**A**) 40 Copenhagen rats were anesthetized to implant a subcutaneous R3327 Dunning AT1 tumor fragment into the abdomen. 750 µl of PJ and/or exercise training were initiated 15 days after surgery as described in Materials and methods. Each week, the tumor volume was measured using a sliding caliper. (**B**) Mathematical modeling of tumor doubling time following treatments. *p≤ 0.05

Association of the two strategies does not reduce prostate cancer proliferation markers

Ki-67, a specific nuclear marker of tumor proliferation, is expressed at low level in quiescent cells but is overexpressed in proliferating cells, especially in G2-M phase. As shown in Fig. 3A and B, we observed a significant inhibition of Ki-67 expression in both PJ and ET groups (respectively, 41 ± 23% and 23 ± 17%; $p<0.05$) after four weeks of treatment. However, Ki-67 expression was higher in PJ+ET group (145 ± 30%) and Control group (100 ± 25%). This overexpression was in accordance with the previous measurement of tumor volume. Therefore, the results shown in Fig. 3A and B indicate that ET alone or PJ alone significantly decreased prostate tumor cell proliferation but the association of the two strategies induced an increase in cancer cell proliferation.

Inhibition of prostate cancer progression by treatment is ERK dependent

To further investigate the mechanisms involved in prostate tumorigenesis in our model, we studied signaling pathways involved in cell proliferation and apoptosis. One of the most common redox-dependent signaling pathways studied in carcinogenesis is Extracellular-signal regulated kinase (ERK). As shown in Fig. 3C and D, ERK protein, which plays a role in proliferation and progression, was phosphorylated in Control group (Quantification Ratio p-ERK/ERK, QR= 1). Interestingly, this phosphorylation was clearly blocked by PJ or ET (respectively, QR= 0.10 ± 0.09 and QR= 0.33 ± 0.12; $p<0.05$). Although the expression of p-ERK was decreased in PJ+ET group compared to Control group, we observed a higher expression (QR= 0.54 ± 0.18) than in PJ or ET groups. Then, we studied the anti-apoptotic protein Bcl2 and the proapoptotic protein Bax which play an important role in cell death regulation by controlling the mitochondrial membrane permeability. Bcl2 expression was inhibited in prostate tumors from PJ group but association of PJ and ET totally suppressed this effect (Fig. 3C and E). In contrast, the immunoblot analysis shows a significant increase in the protein expression of Bax in prostate tumors treated with PJ (Fig. 3C and F). In Fig. 3G, we found a significant modulation in the ratio of Bax to Bcl2 after four weeks of PJ treatment *versus* the others groups, indicating the induction of an apoptotic process induced by PJ consumption. Therefore, the results shown in Fig. 3C and D indicate that PJ or ET alone significantly inhibited the expression of p-ERK protein. Since the phosphorylation of ERK protein is redox dependent, the effect of treatments on redox status is observed.

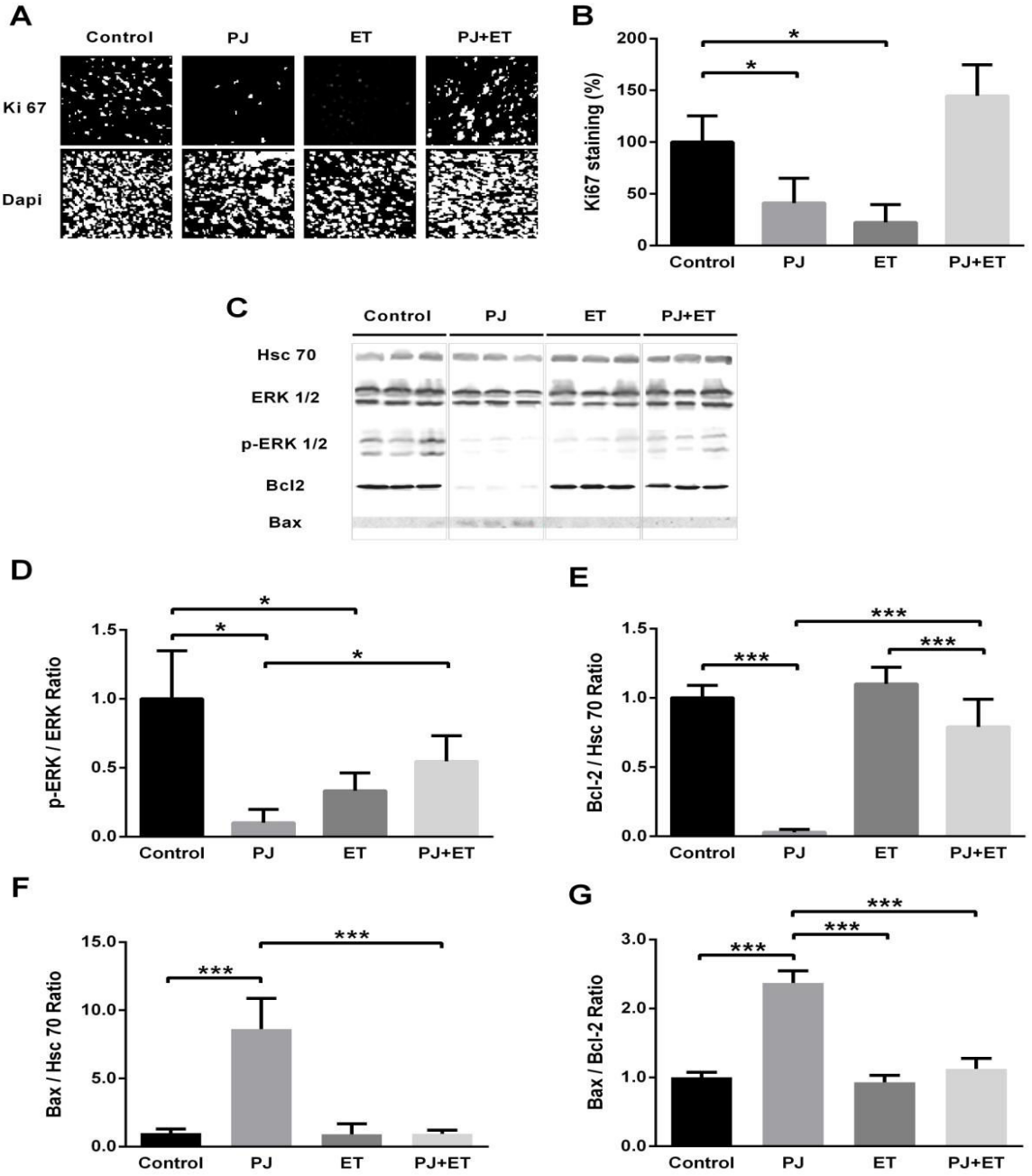

Fig.3. Effect of treatments alone or associated on AT1 prostate cancers cells proliferation and on protein expression of ERK, Bcl2, Bax and Bax/Bcl2 ratio. (**A**), (**B**) Tumor samples from each group were analyzed by Ki67 staining as described in Materials and methods. One representative of five independent experiments was shown. Staining quantification (mean ± SE) was realized using ImageJ software. (**C**) Prostate tumor extracts were prepared and analyzed with rabbit polyclonal anti-ERK, mouse monoclonal anti-phospho-ERK antibodies, rabbit polyclonal anti-Bcl2 and anti-Bax as indicated. Hsc70 expression was examined as a loading control. (**D**), (**E**), (**F**), (**G**) Histograms represent respectively p-ERK/ERK ratio, Bcl2/Hsc70 ratio, Bax/Hsc70 ratio and Bax/Bcl2 ratio (mean ± SE) between four groups. Quantification was realized using Image Gauge V4.0 software. *p≤ 0.05; ***p≤ 0.001

Association of the two strategies does not improve enzymatic antioxidant defense in muscle

Because PJ or ET is known to improve enzymatic antioxidant defenses, we measured SOD activity and expression in tumor and *soleus* muscle. Firstly, no significant difference in tumor SOD activity was observed regardless of treatments (Fig. 4A). The same result was obtained for MnSOD and CuZnSOD protein expression in tumor and in *soleus* muscle (Fig. 4C and D). Interestingly in Fig. 4B, *soleus* SOD activity (Control group 3.76 ± 1.13 USOD/mg protein) was significantly increased by PJ (5.47 ± 1.46 USOD/mg protein; $p<0.05$) or ET (4.89 ± 1.19 USOD/mg protein; $p<0.05$). Moreover, we observed a significant difference between PJ or ET group *vs* PJ+ET group (2.90 ± 0.87 USOD/mg protein; $p<0.05$). Indeed, the association of the two strategies inhibited the improvement of *soleus* SOD activity obtained with single treatment. Therefore, ET as well as PJ increased enzymatic antioxidant defenses in muscle. However, PJ treatment combined to exercise inhibits enzymatic antioxidant adaptations induced by each treatment alone. Results shown in Fig. 4 reinforce the interest of realizing two strategies separately.

PJ consumption with ET prevents the increase in non-enzymatic antioxidant defenses induced by PJ alone.

Subsequently, we investigated the effect of PJ alone, ET alone and the association of two strategies on non-enzymatic antioxidant defenses. Firstly, we defined the global antioxidant capacity by a measurement of Oxygen Radical Absorbance Capacity (Fig. 4E). No significant differences were found between treatments alone and Control group. However, the association of the two strategies significantly reduced total antioxidant capacity (respectively, 2621 ± 387 µmol eq trolox/ml *vs* Control group 2986 ± 280 µmol eq trolox/ml; $p<0.05$). Then, we observed that PJ significantly increased GSH level (respectively, 878 ± 84 µM *vs* Control group 784 ± 87 µM; $p<0.05$) in whole blood after four weeks of treatment (Fig. 4F). The association of the two strategies prevents this effect (782 ± 154 µM *vs* Control group 784 ± 87 µM; $p<0.05$). To further investigate the effect of treatment on redox status, non-enzymatic antioxidant defenses were analyzed in rat plasma. In Fig. 4G, we observed a significant increase of vitamin A level by PJ (1.012 ± 0.163 µg/ml *vs* Control group 0.494 ± 0.122 µg/ml; $p<0.001$). There were no ET-related effects on vitamin A level (0.444 ± 0.141 µg/ml) and the association of two strategies has the same effect as Control group. Indeed, we observed a significant difference of vitamin A level in PJ group *vs* PJ+ET group (0.403 ± 0.118 µg/ml; $p<0.001$). Thus, the association of the two strategies decreased the positive effect of PJ on antioxidant defenses in plasma rat. We observed similar effects with vitamin E level (Fig. 4H). PJ increases vitamin E level in plasma (9.83 ± 1.00 µg/ml *vs* Control group 8.76 ± 0.82 µg/ml; $p<0.05$). A statistical difference was observed between PJ group *vs* PJ+ET group (7.85 ± 1.26 µg/ml; $p<0.05$) and a non significant decrease of vitamin E level was obtained *vs* Control group. Conversely, exercise alone

decreased vitamin E concentration after four weeks of treatment (7.25 ± 1.57 µg/ml *vs* Control group 8.76 ± 0.82 µg/ml; $p<0.05$). Therefore, PJ increased antioxidant defenses in plasma and whole blood. However, these effects were not observed when PJ treatment was associated to ET. Thus, association of the two strategies inhibited the positive effects observed with PJ treatment alone. We could suggest that ET has consumed antioxidant brought by PJ, thus limiting the effect of PJ and preventing antioxidant adaptation induced by ET.

Association of two strategies prevents the positive effects on oxidative damage observed with individual treatments.

Finally, given the established effect of treatments on antioxidant defenses, we determined oxidative damage in prostate cancer tissue (Fig. 5). No significant difference in protein carbonyl was observed in tumor (Fig. 5A), plasma and *soleus* muscle (data not shown) after four weeks of treatment regardless of the group. Concerning TBARS measurement which reflected lipid peroxidation level (Fig. 5B), PJ consumption alone significantly decreased lipid peroxidation in tumor (6.07 ± 2.37 µM/ mg tissue *vs* Control group 7.88 ± 1.85 µM/mg tissue; $p<0.05$). Moreover, this decrease was prevented by PJ+ET (7.21 ± 1.43 µM/ mg tissue). Interestingly, variations of oxidative DNA damage in tumor were observed between the four groups (Fig. 5C). 8-oxodGuo level was statistically decreased by PJ (4.04 ± 1.12 per 10^6 bases *vs* Control group 9.56 ± 5.06 per 10^6 bases; $p<0.001$). The same result was observed in ET group (4.78 ± 1.61 per 10^6 bases *vs* Control group 9.56 ± 5.06 per 10^6 bases; $p<0.001$) but not with the association of the two strategies (5.74 ± 2.19 per 10^6 bases). Therefore, PJ reduced lipid peroxidation and oxidative DNA damage as well as ET in prostate cancer tissue. These two strategies alone prevented oxidative damage in tumor. However, association of the two preventive approaches inhibited the positive effects observed with treatment alone.

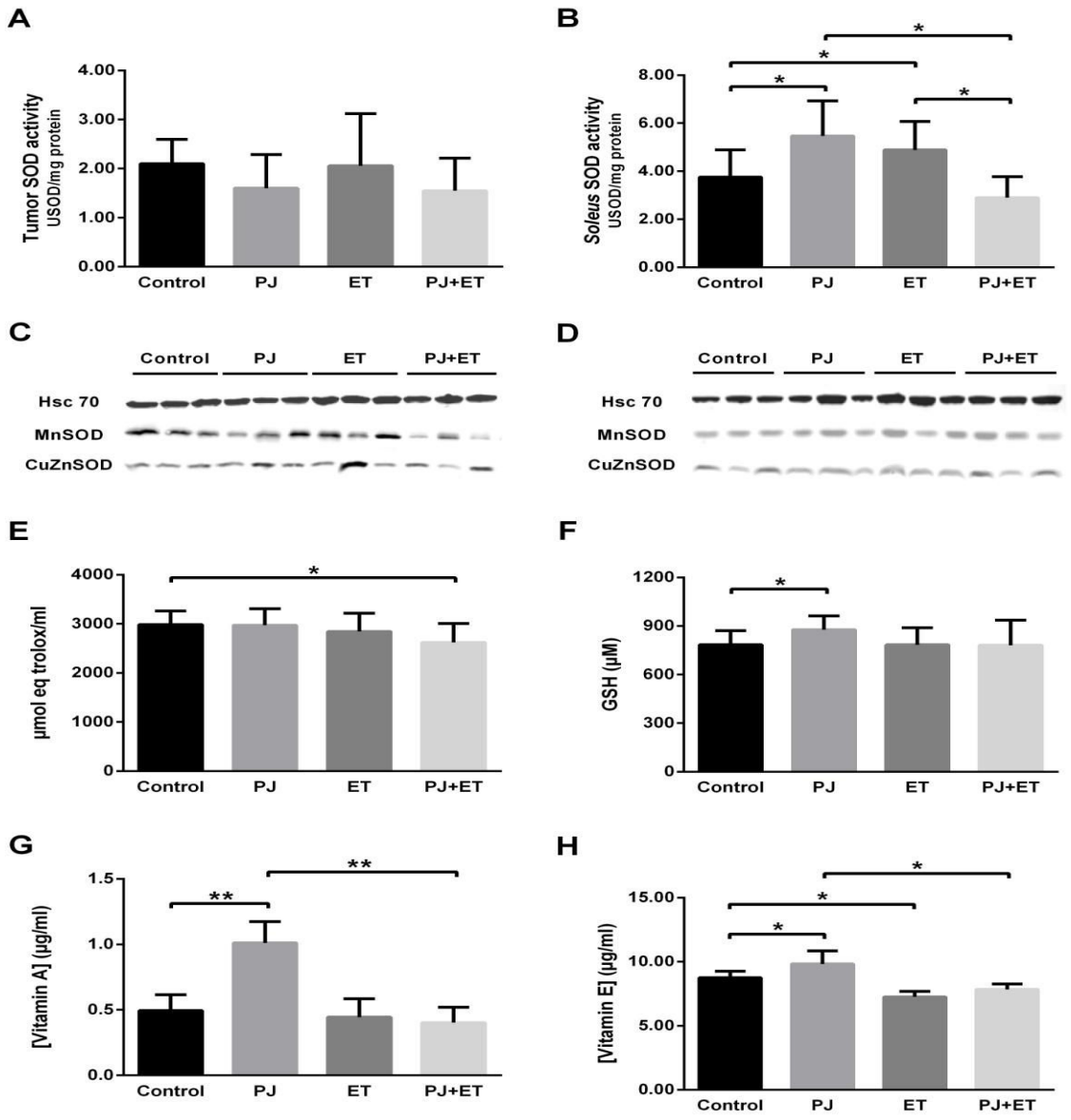

Fig.4. Effect of PJ and/or ET on redox status. (**A**), (**B**) SOD activity was performed using RANSOD kit in prostate tumors and *soleus* muscle, as described in Materials and methods. Data were expressed as mean ± S.E.M of ten rats from each group. (**C**), (**D**) Prostate tumor and *soleus* muscle extracts were prepared and analyzed with rabbit polyclonal anti-MnSOD and rabbit polyclonal anti-CuZnSOD antibodies as indicated. Hsc70 expression was examined as a loading control. (**E**) Global antioxidant capacity of plasma was defined by the measurement of Oxygen Radical Absorbance Capacity, as described in Material and methods. Data were expressed as mean ± S.E.M of ten rats from each group (**F**) GSH was performed in whole blood using Bioxytech GSH/GSSG-412 kit. PJ consumption significantly increased the non-enzymatic antioxidant defenses such as vitamin A (**G**) and vitamin E (**H**) in plasma after 4 weeks of treatment. Vitamins were determined by HPLC. Vitamin E was measured by an electrochemical detector and vitamin A was detected by UV-Visible at 326 nm. *p≤ 0.05; **p≤ 0.01

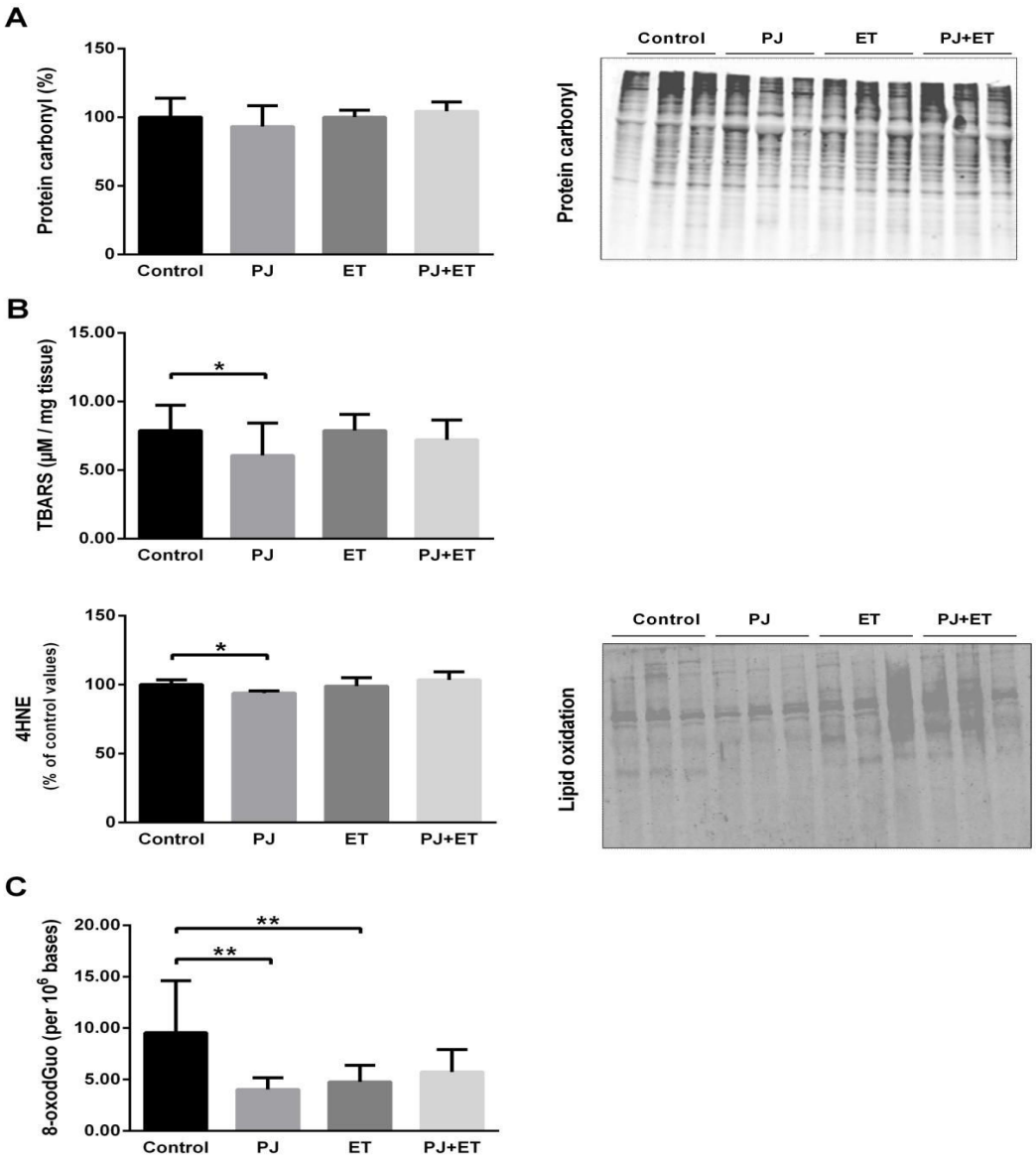

Fig.5. Effect of treatment alone or associated on oxidative damage in prostate cancer tissue. (**A**) Carbonyl protein expression was analyzed using OxyBlot kit. Tumor samples from each group were analyzed by immunoblotting under identical conditions, as described in Materials and methods. (**B**) Lipid peroxidation level was obtained by TBARS measurement and 4-HNE analysis in tumors, as described in Material and methods. (**C**) Levels of 8-oxodGuo were determined by HPLC-MS/MS and expressed as the number of modification per million normal bases. *p≤ 0.05; **p≤ 0.01

Discussion

In the present study, we demonstrate for the first time that association of PJ and ET does not limit PC evolution in Copenhagen rats whereas single treatment significantly delays prostate tumor progression. Indeed, we show that PJ alone or ET alone is associated with a significant inhibition of ERK phosphorylation and statistically effects on redox status. Enzymatic antioxidant defenses such as SOD activity are improved by a single preventive strategy. PJ consumption increases non-enzymatic antioxidant defenses such as vitamin A and E in plasma, reduced glutathione in whole blood. Moreover, PJ or ET significantly reduced oxidative damage by preventing lipid peroxidation and oxidative DNA damage to occur in tumor. On the contrary, the association of both strategies is not able to potentiate the effects of single treatments. It totally prevents the antioxidant and anti-proliferative roles of PJ or ET and inhibits the positive effects on oxidative damage observed with individual treatments. These effects are independent of cachexia since no significant difference on body weight and muscles weight (data not shown) is observed throughout the whole experimental protocol. In addition, glucose metabolism in prostate tumor is similar between the various groups (data not shown). The competitive effect between PJ consumption and exercise does not seem to be due to a deregulation of PJ absorption. In our experimental protocol, rats received PJ in the morning and were trained in the afternoon in order to allow PJ absorption. Indeed, consumption of PJ concentrate is associated with maximum plasma concentrations of ellagic acid (PJ metabolite marker) of 0.06 mmol/L after 1 h [22].

One of the few animal models of prostate adenocarcinoma is the Dunning R-3327 AT1 tumor transplanted into Copenhagen rats. AT1-Dunning Copenhagen model is widely used for nutritional studies and it mimics some aspects of human slow-growing androgen-independent prostate tumors [23]. Using this model, we confirm that PJ significantly increases prostate tumor doubling time and inhibits cancer cells' proliferation after four weeks of treatment. These results are in accordance with the literature since pomegranate is known to inhibit growth of human prostate LNCaP, PC-3, and DU145 cancer cells, whereas normal prostate epithelial cells are significantly less affected [2,3,5–8]. As previously described in cell culture systems, in animal models and also in a clinical trial, pomegranate possesses anti-inflammatory, anti-tumorigenic and anti-angiogenic properties [24,25]. Recently, Adhami and collaborators have suggested that pomegranate fruit extract supplementation delays the development of PC in transgenic adenocarcinoma of the mouse prostate (TRAMP) model through a significant inhibition of IGF-I/Akt/mTOR pathways [8]. In our model, AT1 prostate cancer cells grow independently of hormones, suggesting that other molecular mechanisms are involved.

Here we show an increase of tumor doubling time and an inhibition of PC proliferation after four weeks of ET on a treadmill. Some epidemiological data, *in vitro* and animal studies indicate that exercise slows prostate tumorigenesis, metastasis and angiogenesis in a dose-dependent manner [10,11,13–15]. Recently, Soliman and collaborators have found similar results and suggest a potential role of oxidative stress (OS) in PC cell proliferation [12]. Moreover, our recent review strongly suggests that regular exercise can modulate PC progression through an adaptive response to OS [26].

Reactive Oxygen Species (ROS) are involved in some cancers [27], including PC. Tumor prostate epithelium expresses a persistent OS due to an increase in ROS production and/or a decrease in enzymatic antioxidant defenses [26,28,29]. Origins of ROS in PC are multiple: superoxide anion is produced by the mitochondrial respiratory chain and dismutated to H_2O_2. Androgens could also up-regulate the expression of p66shc, which in turn stimulates mitochondrial H_2O_2 production through cytochrome c oxidation [30]. Finally, NADPH oxidases in PC cells represent the main extra-mitochondrial source of superoxide anion [28,29]. All these ROS could induce lipid peroxidation and DNA damage, promoting genomic instability. Moreover, ROS activate redox-sensitive transcription factors and signaling pathways, which play a role in cell proliferation, cell survival, cell adhesion and metastasis [31]. Consequently, therapeutical strategies that potentially decrease OS could modulate PC progression in AT1 Dunning Copenhagen model.

PJ is proposed as an interesting antioxidant beverage which is usually recommended as a secondary chemopreventive effects strategy. In this study, PJ consumption improves both enzymatic antioxidant defenses such as SOD activity in *soleus* muscle and non-enzymatic antioxidant defenses such as vitamin A, E in plasma and GSH in whole blood. Concomitant with the increase in antioxidant defenses, we also note a decrease in oxidative damage such as lipid peroxidation and oxidative DNA damage. Other i*n vitro* and *in vivo* studies have demonstrated that pomegranate phytochemicals improve antioxidant defenses and reduce OS markers [3,32,33]. A clinical trial establishes a correlation between PSA doubling time, PJ consumption and OS decrease. Moreover, daily PJ consumption by elderly subjects during one month decreases oxidative damage to protein, lipid and DNA but also significantly increases antioxidant enzyme activity [34].

In the same way, we observe a significant increase in SOD activity and a significant reduction of oxidative DNA damage in tumor after 4 weeks of ET. Regular exercise has a hormetic effect since chronic exposure to low doses of ROS leads to improve tolerance to higher levels of OS [35]. Repetition of moderate exercises (chronic exercise or aerobic training) induces an adaptive response of the body with a reduction of oxidative damage [35–37] and an increase in antioxidant defenses [37–39]. Chronic ROS up-regulate the expression of antioxidant enzymes such as MnSOD and GPx

and cytoprotective proteins, through activation of signaling pathways such as NF-kB and MAPKs. These redox adaptations - especially SOD activity - appear to be associated with significant protection against subsequent cellular damages and help to maintain homeostasis [40,41]. Consequently, in the present study, repetition of moderate exercise could increase ROS production which may induce an improvement of antioxidant defenses such as SOD activity. Thus, PJ or ET could delay PC progression in Copenhagen rat by increasing antioxidant defenses and reducing oxidative damage but the molecular mechanisms involved in this process remain unclear.

ERK, also known as Mitogen Activated Protein Kinases (MAPK) p42/44, is deregulated during carcinogenesis. Here, we observe a significant inhibition of ERK phosphorylation in tumors of PJ or ET group. These results are in accordance with the literature since pomegranate or exercise are known to modulate MAPK signaling cascades through their antioxidant properties [12,25]. Therefore, PC progression appears to be related to an increase in ERK signaling pathways induced by ROS. H_2O_2 induces ERK signaling cascade activation but also JNK and p38 pathways, two MAPK known to be activated in PC [42]. Moreover, NADPH oxidase and H_2O_2 play important roles in the modulation of signaling pathways through the regulation of MAPK, especially phosphorylated forms of ERK and p38. Activation of ERK pathway regulates numerous genes and/or transcription factors which are involved in cell cycle progression and mitosis, cell growth and proliferation, differentiation or apoptosis [43,44]. Consistent with the literature, our study showed that PJ consumption alone may play a crucial role in cell death regulation through the up-modulation of ratio Bax to Bcl2 [45]. In this model, no difference in the expression of JNK and p38 was observed and their phosphorylated forms were not expressed (data not shown). We suggest that redox adaptations induced by PJ alone or ET alone may be responsible for the delay of PC progression through ERK modulation.

We extend these findings by showing that association of PJ and ET does not decrease PC progression. Our results are thereby in contrast with previous findings suggesting that modifications in diet (both increased fruit and reduced saturated fat intakes) and physical activity could contribute to delay progression of PC, especially through a modulation of PSA levels in patients [46]. In this present study, we show no effect with the association of two secondary preventive strategies after four weeks. Unlike our expectations, association of PJ consumption and ET does not induce synergic effects and prevents positive action of single treatments. We prove that PJ combined with ET significantly decreases global antioxidant defenses (enzymatic and non-enzymatic) and inhibits the positive effects on oxidative damage observed with individual treatments. Concomitantly, we observe a phosphorylation of ERK with the two associated preventive strategies, confirming that OS plays a crucial role in prostate tumorigenesis as well as MAPK signaling cascade regulation. Our

findings are in accordance with Soliman's work, showing a modulation of MAPKs signaling pathway but also a potential role of OS in PC cell proliferation [12].

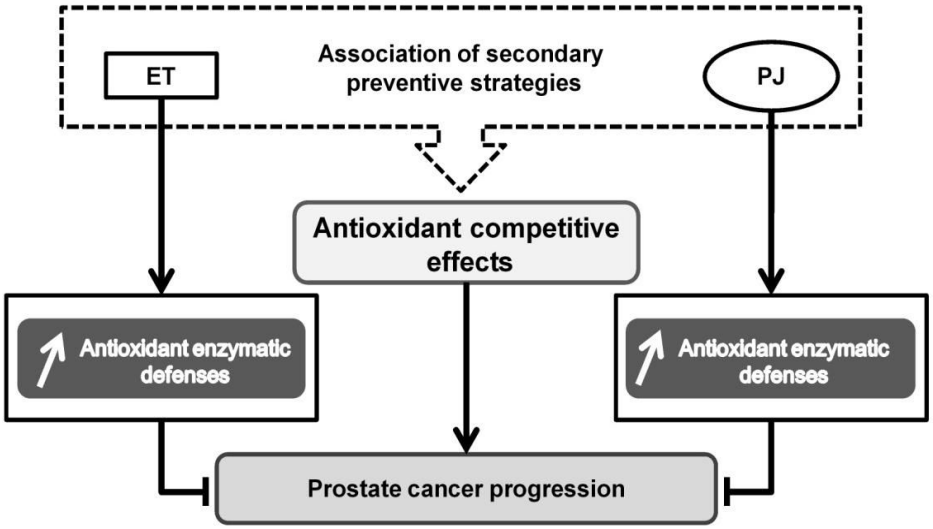

Fig.6. Hypothetical scheme showing the competitive effect of PJ and ET in prostate cancer. Repetition of moderate exercise could increase ROS production, which in turn induces an improvement of antioxidant defenses and thus limits prostate cancer progression. Likewise, PJ may act by up-regulating the expression of genes encoding antioxidant enzyme. Increase of endogenous enzymatic and non-enzymatic antioxidant defenses induced by PJ could inhibit the progression of prostate cancer. However, association of two antioxidant strategies is not able to potentiate the effects of single treatments. Antioxidant adaptations induced by PJ scavenge ROS production and thus inhibit exercise-enhanced antioxidant defenses. Consequently, the combined strategies totally blunt the anti-proliferative role of PJ or training and don't limit prostate cancer progression.

Here, we demonstrate that the association of two secondary preventive antioxidant approaches induces paradoxical effects. PJ combined with ET blunts the antiproliferative activity of single treatment in prostate cancer through inhibition of redox adaptation. Adaptive responses induced by exercise are reduced with antioxidant intake supporting that these adaptations could be regulated by ROS. We suggest that antioxidant defenses induced by PJ treatment may act as scavengers of exercise induced-ROS. This might lead to inhibit redox-dependent signaling pathways induced by ET and the improvement of antioxidant enzymes. Indeed, it would seem that ET induced the consumption of antioxidant brought by PJ, thus limiting the effect of PJ and preventing antioxidant adaptation induced by ET. Consequently, association of two antioxidant preventive strategies prevents redox adaptations, limiting positive effects on prostate tumorigenesis obtained with single treatments (fig. 6). Inherent oxidative stress present in prostate tumor may be a decisive factor in

prostate cancer phenotypic behavior. Increased ROS generation may have fundamental role in the progression and aggressive phenotype of prostate cancer. While acute exposure to high levels of ROS promotes cell death and irreversible damage, chronic exposure of elevated ROS is essential for the maintenance of oncogenic phenotype through the control of various signaling pathways. Therefore, ROS neutralization through antioxidant prevention might offer promise in the progression of prostate cancer [28,29,47].

Recent reports indicate that antioxidant supplementation with vitamin A, E and C prevents the induction of molecular regulators of endogenous antioxidant defenses induced by ET [48,49]. Therefore, this increase in enzymatic and non-enzymatic antioxidants in muscular tissue may be sufficient to protect against excessive exercise-induced oxidative damage and thus antioxidant supplementation is not necessary [50–52]. Complementary data indicates that antioxidant supplementation before ET interferes with ROS production and therefore inhibits exercise-induced changes in gene expression such as SOD [53]. The same author concludes in a letter to the editor in 2011: “antioxidant supplements are, at the least, useless”. Despite the fact that scavenging radicals through exogenous antioxidants can protect skeletal muscles against oxidative damage and also delay fatigue during prolonged submaximal exercise, exercise-induced oxidative stress is a transient phenomenon which plays an essential role in the regulation of muscle force production and in the preservation of muscle homeostasis [41,51,54]. Likewise a meta-analysis concludes that antioxidant supplementation does not improve health but may instead increase mortality [55]. Some studies have demonstrated the same controversy between chemotherapy and antioxidant supplementation [56] since antioxidant intake could decrease chemotherapy efficacy by limiting ROS-dependent cancer cell death. In the present study, association of two preventive strategies is not able to potentiate the effects of single treatments but inhibits the prevention.

In conclusion, PJ or ET alone represents an inexpensive, useful and readily applicable approach to control low-grade PC progression, in which mitochondrial redox metabolism plays a key role. However, the relevance of antioxidant intake associated with exercise in both health and disease remains unsolved. In this context, association of two preventive strategies such as antioxidant supplementation and exercise on human PC evolution is unclear and requires further study especially a clinical trial before a recommendation can be rendered.

Funding

Region Bretagne; University Rennes 2.

Acknowledgements

The authors thank Brice Martin, Dany Saligaut, Danièle Vassaux, Christelle Jaffré and Camille Cuier for expert technical assistance. They also thank Josiane Cillard, Dr Sébastien Vincendeau for helpful discussion and CRITT Santé Bretagne, Valorial l'Aliment de demain, ADUCCO (Thorigné Fouillard). Finally, thank to H^2P^2 histopathology platform (Biosit, Rennes).

Conflict of Interest Statement: None declared.

References

1. Tsao, A.S. *et al.* (2004) Chemoprevention of cancer. *CA. Cancer J. Clin.*, **54**, 150–180.
2. Khan, N. *et al.* (2008) Cancer chemoprevention through dietary antioxidants: progress and promise. *Antioxid. Redox Signal.*, **10**, 475–510.
3. Mena, P. *et al.* 18-Apr-(2011) , Pomegranate Fruit for health Promotion: Myths and Realities. , *Global Science Books*, 33–42.
4. Klempner, S.J. *et al.* (2012) Complementary and alternative medicines in prostate cancer: from bench to bedside? *The oncologist*, **17**, 830–837.
5. Albrecht, M. *et al.* (2004) Pomegranate extracts potently suppress proliferation, xenograft growth, and invasion of human prostate cancer cells. *J. Med. Food*, **7**, 274–283.
6. Malik, A. *et al.* (2006) Prostate cancer prevention through pomegranate fruit. *Cell Cycle Georget. Tex*, **5**, 371–373.
7. Seeram, N.P. *et al.* (2007) Pomegranate ellagitannin-derived metabolites inhibit prostate cancer growth and localize to the mouse prostate gland. *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 7732–7737.
8. Adhami, V.M. *et al.* (2012) Oral infusion of pomegranate fruit extract inhibits prostate carcinogenesis in the TRAMP model. *Carcinogenesis*, **33**, 644–651.
9. Pantuck, A.J. *et al.* (2006) Phase II study of pomegranate juice for men with rising prostate-specific antigen following surgery or radiation for prostate cancer. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.*, **12**, 4018–4026.
10. Tymchuk, C.N. *et al.* (2001) Evidence of an inhibitory effect of diet and exercise on prostate cancer cell growth. *J. Urol.*, **166**, 1185–1189.
11. Barnard, R.J. *et al.* (2007) A mechanism to explain how regular exercise might reduce the risk for clinical prostate cancer. *Eur. J. Cancer Prev. Off. J. Eur. Cancer Prev. Organ. ECP*, **16**, 415–421.
12. Soliman, S. *et al.* (2011) Analyzing serum-stimulated prostate cancer cell lines after low-fat, high-fiber diet and exercise intervention. *Evid.-Based Complement. Altern. Med. ECAM*, **2011**, 529053.

13. Esser, K.A. *et al.* (2009) Physical activity reduces prostate carcinogenesis in a transgenic model. *The Prostate*, **69**, 1372–1377.

14. Antonelli, J.A. *et al.* (2009) Exercise and prostate cancer risk in a cohort of veterans undergoing prostate needle biopsy. *J. Urol.*, **182**, 2226–2231.

15. Kenfield, S.A. *et al.* (2011) Physical activity and survival after prostate cancer diagnosis in the health professionals follow-up study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, **29**, 726–732.

16. Gomez-Cabrera, M.-C. *et al.* (2008) Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance. *Am. J. Clin. Nutr.*, **87**, 142–149.

17. Prior, R.L. *et al.* (2003) Assays for Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of Plasma and Other Biological and Food Samples. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 3273–3279.

18. Richie, J.P., Jr *et al.* (1996) Blood glutathione concentrations in a large-scale human study. *Clin. Chem.*, **42**, 64–70.

19. Arnaud, J. *et al.* (1991) Simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatographyination of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*, **572**, 103–116.

20. Armstrong, D. *et al.* (1994) The analysis of free radicals, lipid peroxides, antioxidant enzymes and compounds related to oxidative stress as applied to the clinical chemistry laboratory. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **366**, 43–58.

21. Ravanat, J.-L. *et al.* (2002) Cellular background level of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine: an isotope based method to evaluate artefactual oxidation of DNA during its extraction and subsequent work-up. *Carcinogenesis*, **23**, 1911–1918.

22. Seeram, N.P. *et al.* (2006) Pomegranate juice ellagitannin metabolites are present in human plasma and some persist in urine for up to 48 hours. *J. Nutr.*, **136**, 2481–2485.

23. Lamb, D.J. *et al.* (2005) Challenges in prostate cancer research: animal models for nutritional studies of chemoprevention and disease progression. *J. Nutr.*, **135**, 3009S–3015S.

24. Aviram, M. *et al.* (2001) Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. *Atherosclerosis*, **158**, 195–198.

25. Afaq, F. *et al.* (2005) Anthocyanin- and hydrolyzable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF-kappaB pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice. *Int. J. Cancer J. Int. Cancer*, **113**, 423–433.

26. Rebillard, A. *et al.* (2013) Prostate cancer and physical activity: adaptive response to oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.*, **60**, 115–124.

27. Luo, J. *et al.* (2009) Principles of cancer therapy: oncogene and non-oncogene addiction. *Cell*, **136**, 823–837.

28. Kumar, B. *et al.* (2008) Oxidative stress is inherent in prostate cancer cells and is required for aggressive phenotype. *Cancer Res.*, **68**, 1777–1785.

29. Khandrika, L. *et al.* (2009) Oxidative stress in prostate cancer. *Cancer Lett.*, **282**, 125–136.

30. Veeramani, S. *et al.* (2008) Mitochondrial redox signaling by p66Shc is involved in regulating androgenic growth stimulation of human prostate cancer cells. *Oncogene*, **27**, 5057–5068.

31. Valko, M. *et al.* (2006) Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.*, **160**, 1–40.

32. Türk, G. *et al.* (2008) Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clin. Nutr. Edinb. Scotl.*, **27**, 289–296.

33. Rosenblat, M. *et al.* (2010) Consumption of polyphenolic-rich beverages (mostly pomegranate and black currant juices) by healthy subjects for a short term increased serum antioxidant status, and the serum's ability to attenuate macrophage cholesterol accumulation. *Food Funct.*, **1**, 99–109.

34. Guo, C. *et al.* (2008) Pomegranate juice is potentially better than apple juice in improving antioxidant function in elderly subjects. *Nutr. Res. N. Y. N*, **28**, 72–77.

35. Radak, Z. *et al.* (2008) Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res. Rev.*, **7**, 34–42.

36. Campbell, P.T. *et al.* (2010) Effect of exercise on oxidative stress: a 12-month randomized, controlled trial. *Med. Sci. Sports Exerc.*, **42**, 1448–1453.

37. Na, H.-K. *et al.* (2011) Effects of physical activity on cancer prevention. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1229**, 176–183.

38. Powers, S.K. *et al.* (1993) Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *Am. J. Physiol.*, **265**, H2094–2098.

39. Daussin, F.N. *et al.* (2012) Different timing of changes in mitochondrial functions following endurance training. *Med. Sci. Sports Exerc.*, **44**, 217–224.

40. Ji, L.L. (2008) Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: Role of redox signaling. *Free Radic. Biol. Med.*, **44**, 142–152.

41. Powers, S.K. *et al.* (2008) Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol. Rev.*, **88**, 1243–1276.

42. McCubrey, J.A. *et al.* (2007) Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance. *Biochim. Biophys. Acta*, **1773**, 1263–1284.

43. Cowan, K.J. *et al.* (2003) Mitogen-activated protein kinases: new signaling pathways functioning in cellular responses to environmental stress. *J. Exp. Biol.*, **206**, 1107–1115.

44. González-Sarrías, A. *et al.* (2009) Gene expression, cell cycle arrest and MAPK signalling regulation in Caco-2 cells exposed to ellagic acid and its metabolites, urolithins. *Mol. Nutr. Food Res.*, **53**, 686–698.

45. Malik, A. *et al.* (2005) Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **102**, 14813–14818.

46. Ornish, D. *et al.* (2005) Intensive lifestyle changes may affect the progression of prostate cancer. *J. Urol.*, **174**, 1065–1069; discussion 1069–1070.

47. Chaiswing, L. *et al.* (2014) Increasing discordant antioxidant protein levels and enzymatic activities contribute to increasing redox imbalance observed during human prostate cancer progression. *Free Radic. Biol. Med.*, **67**, 342–352.

48. Khassaf, M. *et al.* (2003) Effect of vitamin C supplements on antioxidant defence and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle. *J. Physiol.*, **549**, 645–652.

49. Jackson, M.J. *et al.* (2004) Vitamin E and the oxidative stress of exercise. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1031**, 158–168.

50. McClung, J.M. *et al.* (2010) Overexpression of antioxidant enzymes in diaphragm muscle does not alter contraction-induced fatigue or recovery. *Exp. Physiol.*, **95**, 222–231.

51. Powers, S. *et al.* (2011) Antioxidant and Vitamin D supplements for athletes: sense or nonsense? *J. Sports Sci.*, **29 Suppl 1**, S47–55.

52. Peternelj, T.-T. *et al.* (2011) Antioxidant Supplementation during Exercise Training. *Sports Med.*, **41**, 1043–1069.

53. Gomez-Cabrera, M.-C. *et al.* (2008) Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic. Biol. Med.*, **44**, 126–131.

54. Reid, M.B. (2008) Free radicals and muscle fatigue: Of ROS, canaries, and the IOC. *Free Radic. Biol. Med.*, **44**, 169–179.

55. Bjelakovic, G. *et al.* (2007) Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA J. Am. Med. Assoc.*, **297**, 842–857.

56. Fuchs-Tarlovsky, V. (2013) Role of antioxidants in cancer therapy. *Nutr. Burbank Los Angel. Cty. Calif*, **29**, 15–21.

Etude expérimentale n°2 : L'exercice physique régulier prévient l'évolution du cancer de la prostate et pourrait moduler l'expression du miR-27a* et de son gène cible prohibitine au sein du tissu cancéreux prostatique.

Contexte scientifique de l'étude

Les microARNs (miARNs) sont des ARNs non-codants de courte taille qui agissent comme des « interrupteurs » moléculaires capable de réguler l'expression des gènes en s'appariant à des ARNs messagers portant une séquence homologue. Leur appariement conduit alors à la répression traductionnelle ou à la dégradation de l'ARNm du gène cible. Etant donné leur capacité à éteindre les ARNs messagers, les miARNs jouent un rôle majeur dans de nombreux processus biologiques tels que la prolifération cellulaire [Bartel2004 ; Khraiwesh2010].

De récentes études ont démontré que la dérégulation de l'expression et de la fonction des miARNs tissulaires pourrait altérer les processus cellulaires à l'origine de nombreuses pathologies dont le cancer [Kim2013 ; Walter2013 ; Lo2013]. La modification du profil d'expression des miARNs pourrait notamment induire un environnement propice à la tumorigenèse et à la progression du cancer de la prostate [Ozen2008 ; Coppola2010]. Un aspect intéressant de la biologie des miARNs récemment découvert, est leur stabilité au sein du sérum et du plasma, ce qui suggère que les miARNs ont la capacité d'agir non seulement sur leur cellule d'origine mais également au sein d'autres cellules [Lawrie2008 ; Mitchell2008 ; Kelly2013 ; Lin2014]. Actuellement, les miARNs constituent de potentiels bio-marqueurs, voire de nouvelles cibles thérapeutiques qui peuvent être modulées par des facteurs exogènes [Jeanteur2010 ; Saini2010 ; Ross2011 ; Karius2012]. Quelques rares études ont récemment montré que l'exercice physique conduit à moduler l'expression des miARNs au niveau du muscle squelettique et également au sein de la circulation sanguine [Kangas2013 ; Mooren2014]. Les miARNs semblent jouer un rôle majeur dans les adaptations musculaires à l'exercice et dans la physiopathologie musculaire [Chen2009 ; Zacharewicz2013 ; Tonevitsky2013 ; Sharma2014]. Toutefois, aucune étude ne s'est intéressée au profil d'expression des miARNs à la suite d'un exercice chez des populations atteintes d'une maladie chronique telle que le cancer.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude menée en collaboration avec le Pr Carmen Gomez-Cabrera et le Pr José Viña de l'Université de Valence, a été d'identifier les effets de l'exercice physique sur le profil d'expression des miARNs au sein de tumeurs prostatiques dans un modèle murin.

Matériels et méthodes

L'expérience a été menée sur des tumeurs prostatiques de rats Copenhagen mâles répartis en deux groupes distincts : contrôle (n=10) et entrainement (n=10). Cette étude exploratoire fait suite aux travaux expérimentaux de l'étude n°1. Les tumeurs ont donc été réséquées après quatre semaines d'exercice physique de course sur tapis roulant. La première étape a consisté à isoler l'ARN total des tumeurs prostatiques de rat puis à réaliser un profil d'expression des miARNs en utilisant des puces à ADN spécifiques à l'espèce *Rattus norvegicus* (n=4 pour chaque groupe). A la suite du screening des miARNs, une validation de la variation d'expression de miARNs d'intérêt a été effectuée par RT-qPCR (n=10 pour chaque groupe), tout comme l'analyse de l'expression de gènes cibles qui ont été identifiés via l'utilisation de banques de données telles que miRBase et microRNA.

Résumé des principaux résultats

Nous montrons que 75 miARNs contenus dans le tissu prostatique tumoral présentent un profil d'expression significativement différent entre le groupe entrainé et le groupe contrôle. Parmi les modulations les plus importantes, une up-régulation de l'expression du miR-27a* (anti-sens du miR-27a) (fold change +2,33), miR-181a (+1,72) et miR-224 (+1,31) au sein de la tumeur et une down-régulation du miR-301 (-1,52) ont été identifiées. Ces quatre miARNs sont connus pour jouer un rôle majeur dans la tumorigenèse prostatique, soit en tant qu'oncogène (miR-301), soit en tant que suppresseurs de tumeurs (miR-27a*, miR-181a, miR-224). L'analyse auprès de banques de données a permis d'identifier des gènes cibles de ces miARNs. De façon très intéressante, l'entrainement en endurance semble up-réguler l'expression du miR-27a* sur un échantillon plus important de tumeurs, tout comme l'expression du gène de la prohibitine, un gène cible du miR-27a connu pour ralentir la progression du cancer de la prostate.

Conclusion

Dans cette étude exploratoire, nous montrons que l'exercice physique régulier et modéré de course sur tapis roulant pendant quatre semaines a la capacité de réguler l'expression de certains miARNs oncogènes ou miARNs suppresseurs de tumeurs directement dans la tumeur prostatique. L'exercice physique pourrait donc ralentir la tumorigenèse prostatique via une modulation du profil d'expressions des miARNs.

Physical exercise modulates the expression profiles of microRNA in animal prostate cancer tissue.

Running title: Physical activity, miRNAs and prostate cancer

Authors : Gueritat J[1], Gómez-Cabrera C[2], Serna E[2], Le Ferrec E[3], Viña J[2] and Rebillard A[1]

[1] *EA 1274, Laboratoire "Mouvement, Sport, Santé", Université de Rennes 2-ENS Cachan Antenne de Bretagne ; Bruz, 35170, France,*

[2] *Faculty of Medicine, Department of Physiology, University of Valencia, Fundación Investigación Hospital Clínico Universitario/INCLIVA, Valencia, Spain,*

[3] *INSERM U1085/IRSET, Université de Rennes 1, Rennes, France.*

Author's correspondence:

Jordan Guéritat

EA 1274, Laboratoire « Mouvement, Sport, Santé »

Université Rennes 2-ENS Rennes

Campus de Ker Lann, Avenue Robert Schuman

35170 Bruz, France

Tel : + 33(0)290091587

E-mail: jordan.gueritat@gmail.com

Keywords: miRNAs, prostate cancer, physical exercise

Abstract

MicroRNAs (miRNAs) are effective regulators of gene expression that have an important role in tumorigenesis. Growing evidence suggests aberrant expression of several miRNAs in prostate tumor. More recently, few studies have shown that physical activity regulates the expression of miRNAs in skeletal muscle and bloodstream. However, the impact of physical exercise on the expression of microRNAs in people with chronic diseases including prostate cancer has not yet been studied. The aim of this study was to investigate the effects of regular physical activity on miRNA expression in prostate cancer tissue, jointly with mRNA expression analysis. Using microarrays, we determined miRNA expression profiles in the prostate cancer tissue from inactive *versus* physically trained Copenhagen rats. This analysis revealed that physical exercise significantly modulates 75 miRNA expression profiles in prostate cancer tissue and prevents tumor progression. Among the most important changes, three tumor-suppressor miRNAs (rno-miR-27a*, rno-miR-181a and rno-miR-224) were up-regulated and an oncomir (rno-miR-301) was down-regulated in trained rat group compared with inactive rats. By bioinformatics studies, we also identified 1318 potential target genes for these four miRNAs. In the present study, we showed an increased expression of *Prohibibin*, a miR-27a-target gene, in prostate tumor tissue from trained rats. This *in vivo* study demonstrated for the first time that physical exercise modulates the expression of miRNA in prostate cancer tissue. These positive regulated miRNAs are potentially involved in the prevention of prostate tumorigenesis and may explain how physical exercise limits the prostate cancer progression.

Introduction

The role of physical activity in cancer prevention before and after diagnosis has been well documented, and it is widely accepted that lack of exercise can contribute to oncogenesis (1,2). In 2008, the World Health Organization estimated that 32.5% of French population was inactive. Currently, the human being in the western world does not achieve the tenth of the physical exercises which these ancestors were constrained to carry out to live and survive (3). While results are controversial, numerous epidemiological and cohort studies have shown that regular physical activity prevents prostate tumor development risk and progression, and contributes to enhance the well-being of patients and their quality of life (4–8). However, the molecular mechanisms involved in these phenomena are poorly understood. Our laboratory has recently reported that running training may delay prostate tumor growth in animal model, through a modulation of redox state and redox signaling pathways. Some studies reported that oxidative stress could also modulate biogenesis and expression of microRNAs (9–11).

MicroRNAs (miRNAs) are small (~22 nucleotides) endogenously expressed non-coding RNAs that regulate the expression of protein-encoding genes at the translational level, either by triggering degradation or by preventing translation of the target mRNAs. MiRNAs are known to play crucial roles in the regulation of various critical biological processes such as cell cycle, proliferation, apoptosis, differentiation, development and metabolism (12–14). The deregulated expression of miRNAs leads to various pathologies including prostate cancer (15–18) and miRNAs respond to various therapeutic interventions such as pharmacotherapy and radiotherapy (19,20) or non-therapeutic such as dietary components (21,22). Some studies have recently shown that physical exercise also regulates the miRNA expression profiles in skeletal muscle and bloodstream, modulating the performance (23,24). In particular, these non-coding RNAs seem to play an important role in the muscular adaptations and in the pathogenesis of muscles (25–28). However, there is no information on the effect of physical activity on miRNA profiles in animals and humans with chronic diseases. The objective of the present study was to determine whether miRNAs were regulated in response to regular physical activity in a rat model of prostate cancer. This study is the first to suggest that physical exercise modulation of miRNA expression may contribute to anticancer effects of regular physical activity.

Materials and methods

Animal model and treatment

As previously described in our laboratory (29), 10-12 weeks old male Copenhagen rats were obtained from Charles River laboratories. An abdominal subcutaneous injection of $2x10^6$ R3327 Dunning AT1 cells was realized in three rats. After 15 days, a solid tumor was obtained, excised and fragmented into 20 mg pieces. 20 rats were anesthetized to implant a subcutaneous tumor fragment into the abdomen. The rats were maintained under standard laboratory conditions. Copenhagen rats with subcutaneous prostate tumor were divided into two groups: Inactive: 10 subcutaneous prostate tumor-bearing rats which were inactive and served as control, and Trained: 10 subcutaneous prostate tumor-bearing rats which run on a treadmill 5 days a week. After four weeks of treatments, rats were anesthetized and euthanized 24h after the last training. The tumor were excised, washed in physiological saline buffer, frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C until analysis.

Isolation of total RNA from prostate tumor rats

Total RNA was isolated using the Trizol method (1 ml). The purity and concentration of RNA were determined from OD260/ 280 readings using a Genequant Pro Classic spectrophotometer (GE Healthcare). RNA integrity was determined by capillary electrophoresis using the RNA 6000 Nano Lab-on-a-Chip kit and the Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Only RNA extracts with RNA integrity number values ≥ 7 underwent in further analysis.

Expression profiling of small non-coding RNAs

Small non-coding RNA expression profiling was performed by using GeneChip miRNA 3.0 Array (Affymetrix). The array compromised of 680 miRNAs and 486 pre-miRNAs specifically of Rattus norvegicus. Microarray experiments were conducted according to the manufacturer's instructions. Briefly, 500 ng total RNA was labeled with FlashTag Biotin HSR RNA Labeling Kit from Affymetrix. The labeling reaction was hybridized on the miRNA Array in Affymetrix Hybridization Oven 640 (Affymetrix) at 48°C for 17 h. The arrays were stained with Fluidics Station 450 using fluidics script FS450_0002 (Affymetrix), and then scanned on GeneChip Scanner 3000 7G (Affymetrix). GeneChip Command Console Software supplied by Affymetrix was used to perform gene expression analysis. miRNA probe outliers were defined as per the manufacturer's instructions (Affymetrix) and further analyzed for data summarization, normalization and quality control by using the web-based miRNA QC Tool software (www.affymetrix.com).

Data analysis of microarrays

Data (.CEL files) were analyzed and statistically filtered using software Partek Genomic Suite 6.6 (Partek Inc.). Input files were normalized with the RMA algorithm. A one-way ANOVA was performed with the Partek Genomics Suite across all samples. Statistically significant miRNAs between different groups studied were identified using a model analysis of variance of P value ≤ 0.05. The imported data were analyzed by Principal Components Analysis to determine the significant sources of variability in the data. PCA reduces the complexity of high-dimensional data and simplifies the task of identifying patterns and sources of variability in a large data set. The samples (8 biological replicates, each hybridized to a separate Genechip) are represented by the spheres in the three-dimensional plot (Fig. 1). The distance between any pair of points is related to the similarity between the two samples in high-dimensional space (in this case, each variable correspond a one dimensional space). Samples that are near each other in the plot are similar in a large number of variables. Conversely, samples that are far apart in the plot are different in a large number of variables. Finally, the selected mi RNAs were imported into Pathway Studio v8 (Ariadne software) to classify the molecular function and biological processes represented by the miRNAs differentially expressed between the two groups. Computational target prediction of miRNAs was conducted by miRDB online searching program (http://mirdb.org/miRDB/).

MicroRNA and mRNA quantification by quantitative real- time PCR

The prostate cancer tissue was homogenized in 400 µl of Trizol reagent (Invitrogen). RNA quantity and quality were measured with a NanoDrop ND-1000 spectrometer and RNA integrity was assessed by standard denaturing agarose gel electrophoresis. Mature miRNA expression was quantified by quantitative real-time PCR using the miScript Primer assay for rn-miR27a* (Qiagen) and PCR Starter kit (Qiagen) according to the manufacturer's protocol. 1 µg of total RNA was reverse transcribed per reaction. PCR was performing using 2 µl of the obtained cDNA in a final volume of 20 µl in Applied Biosystems 7300. Cycling conditions were: 95°C for 15 min, 40 cycles at 94°C for 15 s, 55°C for 30 s and 70°C for 34 s. For detection of genes, PCR reaction contains 6 µl of RT product, 10 µl SYBR Green Mix (Applied Biosystems) and 10 µM forward and reverse primers (PrimerKicqstart, Sigma) in a final volume of 20 µl. The PCR conditions were: 40 cycles of 95°C for 15 s and 60°C for 1 min. Results were normalized according to RNU6-2 (housekeeping control for miRNAs, Qiagen) and RPLP1 (housekeeping control for gene, PrimerKicqstart, Sigma). Results were normalized according to RNU6-2 (housekeeping control for miRNAs, Qiagen). The threshold cycle (Ct) was determined, and then the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method was used to analyze the RT-PCR data where:

ΔCt = Ct target – Ct housekeeping control and ΔΔCt = ΔCt – ΔCt baseline

Inactive group was chosen as the baseline

Statistical analysis

Data were represented as the mean ± SD. Comparison between groups was evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison procedure. A level of $p<0.05$ was selected to indicate statistical significance.

Results

Principal component analysis of small non-coding RNAs in rat prostate cancer tissue

The principal component analysis (PCA) of all small non-coding RNAs for rat microarray obtained in the GeneChip miRNA 3.0 Array shows that their expression in prostate cancer tissue from trained rat is very different to inactive rat (Fig. 1).

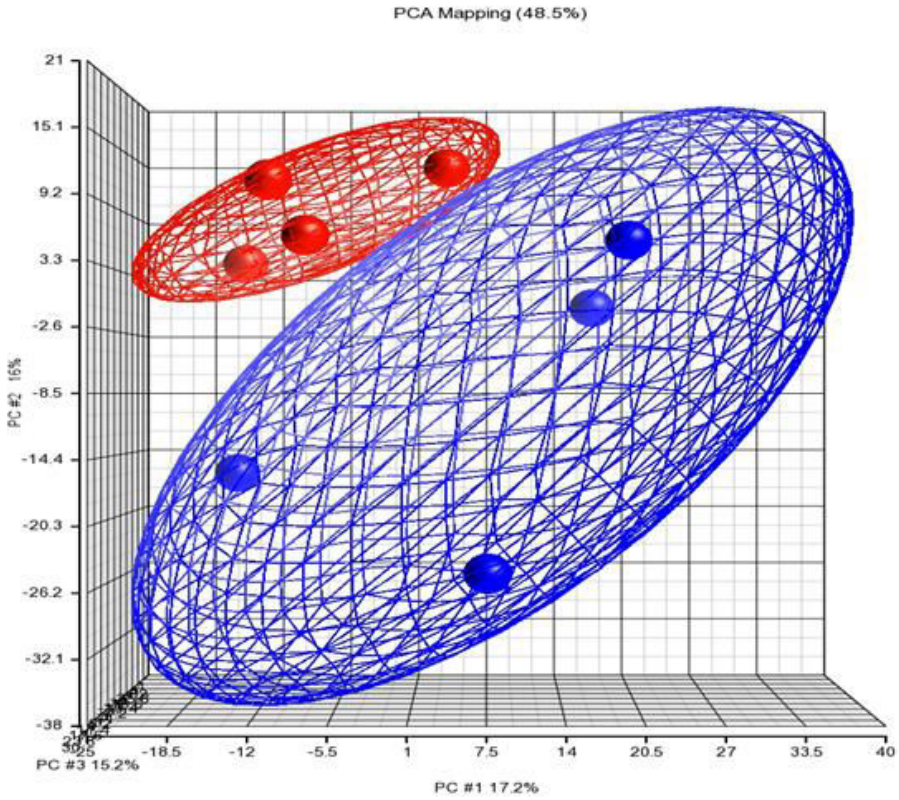

Fig.1. Principal component analysis (PCA) of the small non-coding RNA profiles in prostate cancer from inactive and trained rats. The small non-coding RNA expression profiles of eight samples have been analyzed by PCA. Each of the samples have been assayed using an array (Genechip miRNA 3.0 Array) that is defined by 680 miRNAs and 486 pre-miRNAs specifically from Rattus norvegicus. The ellipsoids (in red, inactive; in blue trained) show a distinct directionality in the different groups. The axes correspond to principal component 1 (PC1, x-axis), PC2 (y-axis), and PC3 (z-axis).

miRNAs profiling response to regular physical activity in prostate cancer tissue

To reveal miRNAs profiling response to physical exercise in prostate tumor in Copenhagen, microarrays containing 680 miRNAs and 486 pre-miRNAs specific to rat were used to examine the expression of miRNAs in prostate cancer tissue from rat after four weeks of treadmill exercise or not. The analyses were performed using total RNA collected from four rat tumors in each group. We identified that 75 miRNA expression profiles were significantly modulated in prostate cancer tissue by physical exercise. More precisely, 49 miRNAs were statistically up-regulate in trained *versus* inactive rats, while the others were down-regulate (Fig. 2). Among the most important modulations, miR-27a* (miR-27a anti-sense) (fold change +2.33), miR-181a (+1.72) and miR-224 (+1.31) were over-expressed in prostate tumor after four weeks of physical exercise, and miR-301 (-1.52) was down-regulated by regular physical activity. These first three are tumor-suppressor miRNAs known to be down-regulated in prostate cancer, whereas the last is an oncomir up-regulated in cancer.

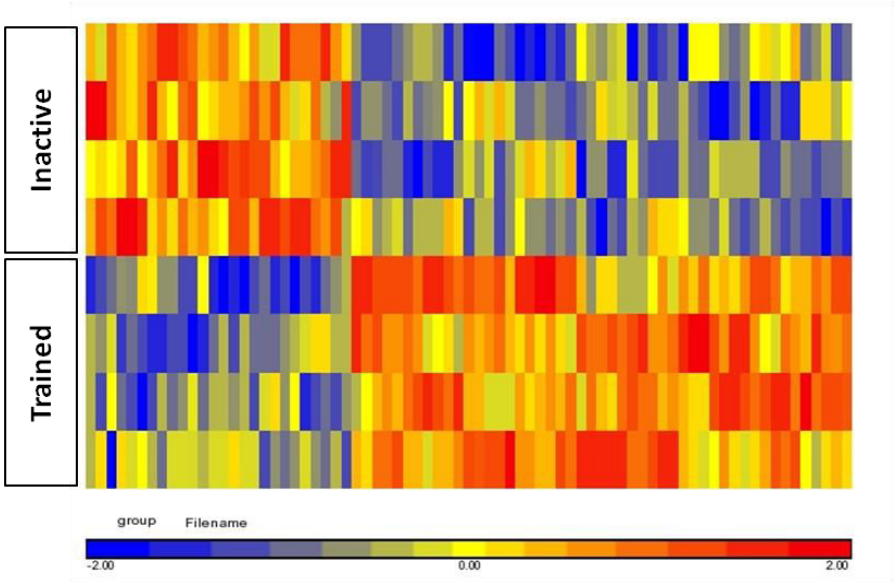

Fig.2. Heat map of 75 significant miRNA microarray expression data from prostate tumor samples of inactive rats (n=4) and trained rats on treadmill (n=4). The expression of miRNA is hierarchically clustered on the *x* axis, and inactive rat tumor samples or trained rat tumor samples are hierarchically clustered on the *y* axis. Each row corresponds to miRNA. The relative miRNA expression is depicted according to the color scale shown on the bottom. Red indicates up-regulation; blue, down-regulation. There are clear differences between the trained and inactive groups.

Validation of microarray profiling data by RT-qPCR

In order to validate changes of miRNA expression observed using microarrays, a measure of miR-27a* expression was performed by RT-qPCR in ten tumor samples. We observed a tendency to increase but it was not statistically different (Fig. 3).

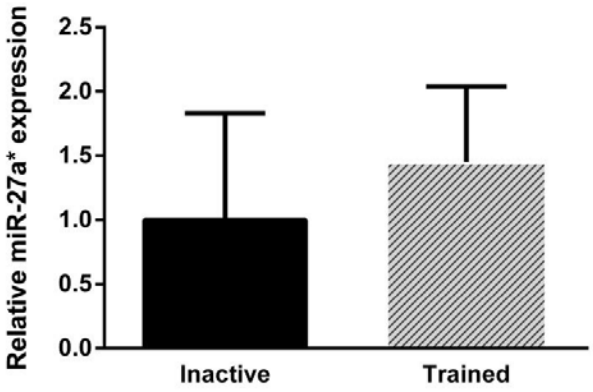

Fig.3. Confirmation of miR-27a* expression change in the prostate cancer tissue from trained rats. The expression level was detected by RT-qPCR. The relative expression of this miRNA was calculated in relation to levels of U6 RNA using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. The result was repeated in duplicate independent experiments.

Possible targets of physical exercise-regulated miRNAs by Bioinformatics analysis

From the miRDB online database (http://mirdb.org/miRDB/), we explored possible targets involved in response to physical exercise for the four miRNAs that show the most important changes (miR-27a*, miR-181a, miR-224 and miR-301). We identified 1318 potential target genes which may be regulate by these miRNAs. A target gene of miR-27a recently described is *prohibitin* (*PHB*) that is known to be down-regulated in prostate cancer and thus promote both androgen-dependent and androgen-independent tumor growth (30). Here, we showed that *PHB* expression was significantly increased with physical exercise in prostate cancer tissue (p=0.012) (Fig. 4). The expression profile of others genes such as *CDK2NA*, *TRIB1*, *MAPK1* and *FGFR1* was not different between our two groups.

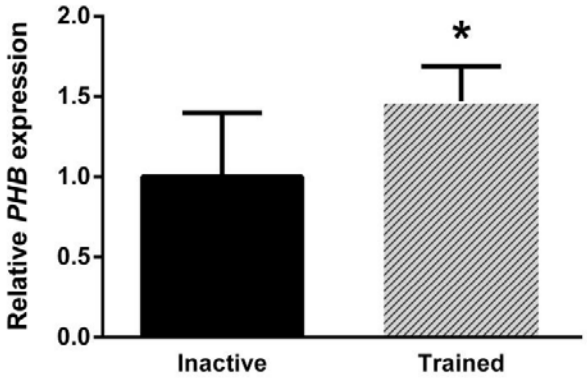

Fig.4. Impact of physical exercise on PHB expression in prostate tumor. The expression level was detected by qRT-PCR. The relative expression of this miRNA was calculated in relation to levels of U6 RNA using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. The result was repeated in duplicate independent experiments. *p≤ 0.05

Discussion

In the present study, we report that the principal component analysis of miRNAs in trained rats and in inactive rats are completely different. This may suggest that regular treadmill exercise has the capability of regulating genetic expression in prostate tumor. Interestingly, we demonstrate for the first time that physical exercise modulates miRNA expression profiles in prostate cancer tissue. Some studies have recently shown that physical activity leads to regulation of miRNA expression profiles in bloodstream, in skeletal muscle and in immune cells (23,24,31,32). However, the effects of physical exercise on the expression of microRNAs in humans or animal models with chronic diseases such as prostate cancer have not yet been studied. Here, we prove that 75 miRNAs significantly responded to regular physical activity in tumor from Copenhagen rats.

At their discovery, miRNAs were shown to control fundamental cellular processes, such as cell cycle, proliferation, apoptosis, differentiation, development and metabolism (12–14), suggesting that miRNAs disruptions may have a significant role in a variety of pathological events such as cancer (17). It has been proposed that miRNAs may regulate tumorigenesis through different oncogenic mechanisms. Indeed, miRNAs can act as oncomiRs or suppressor-miRs in cancer (33,34). Over the past decade, numerous reviews have reported that miRNAs play a crucial role in prostate carcinogenesis. An aberrant expression of approximately 150 miRNAs in primary prostate cancer and 120 miRNAs in metastatic adenocarcinoma is revealed (16,18,35,36). Therefore, it would seem possible to distinguish the multistep progression of prostate cancer based on the differentially expressed miRNAs (15,34). miRNAs and their targets are closely involved in the development and progression of prostate cancer, thus their regulation may lead to effective anticancer therapy (37,38). One of the key issues of the next years might be the development of new strategies to limit miRNA expression disruptions and thus inhibit tumor growth, invasion, angiogenesis and metastasis for the management of patients diagnosed with prostate cancer.

Physical exercise is an important health behavior for the prevention and management of many acute and chronic diseases including cancer. Over the two past decades, regular physical activity occupies a prominent place in many cancer control and exercise guidelines (39–41). Research to date indicates that physical exercise may reduce the risk of developing prostate cancer (6,42), delay tumor progression (8,29,43), limit the side effects of pathology and treatments (44), and improve the quality of life of patients and the health of long-term cancer survivors (45). Moreover, physical activity may reduce the risk of recurrence and extend survival in some cancer survivor groups (7). However, molecular mechanisms involved in these beneficial effects have not been clearly elucidated. In the present study, we demonstrated that physical exercise significantly up-regulates 49

miRNAs and significantly down-regulates 26 miRNAs in prostate tumor. miR-27a*, miR-181a and miR-224 are three tumor suppressor-miR known to be down-regulated in prostate cancer, for which we showed an over-expression in prostate tumor from trained rats. Likewise, we reported that oncomiR-301, described to be up-regulated in prostate cancer, was positively dysregulated by physical exercise. Our laboratory has recently demonstrated that a four weeks-exercise training delays prostate tumor progression in Copenhagen rat models (29). Consequently we suggest that physical exercise modulation of miRNA expression may contribute to cancer-protective effects of regular physical activity.

Our bioinformatics analysis showed that miR-27a*, miR-181a, miR-224 and miR-301 might regulate 1318 target-genes. In addition, many studies have demonstrated that these miRNAs are involved in cell proliferation, apoptosis and tumor suppressor. For example, miR-27a which is the sense oligonucleotide by opposing of miR-27a*, has been shown to be up-regulated in prostate cancer and to have a central role in the expression of Prohibitin (PHB) (46). PHB is an evolutionarily conserved protein with multiple cellular functions and present in different cellular compartments (47) that negatively regulate androgen receptor activity and androgen-stimulated growth of prostate cancer (48). PHB plays an important role in both PI3K/Akt and Raf/ERK pathways, which have clearly identified as being involved in prostate cancer (47). In the present study, we show an up-regulation of *PHB* expression in tumor from trained rat. We assume that physical activity over-expresses miR-27a*, which, in turn, increases expression of *PHB*. This hypothesis may explain how training on treadmill limits tumor evolution in our animal prostate cancer model. Moreover, some studies reported that an inhibition of miR-27a induces an increase in FOXO3a expression and activity (49). Animal experiments confirmed that high expression of FOXO3a protein inhibited tumor formation (50). In our animal model, an expression and activity analysis of this transcription factor will soon be carried out.

One limit of this exploratory study is the lack of confirmation of microarray profiling data by RT-qPCR. The microarray data should be validated by RT-qPCR using Taqman. This chemistry detection provides more specificity, sensitivity and reproducibility than SYBR Green for miRNA expression analysis by RT-qPCR. It is difficult to identify one single signaling pathway explaining the beneficial effects of physical activity in prostate cancer, because every miRNA can potentially regulate many different genes due to partial complementarity between miRNA and its binding sequence. Moreover, it is important to remain cautious on the conclusions and their transfer to humans.

Conclusion

In summary, our microarray study identified 75 significantly expressed miRNAs in prostate tumor of trained Copenhagen rats *versus* sedentary rats. Among these miRNAs, some tumor suppressor miRNAs, known to be down-regulated in prostate cancer, were over-expressed after four weeks of physical exercise. Inversely, some oncomiR were down-regulated after aerobic training in tumors. The major findings reported in this paper are that expression profile of miRNAs and their target genes may be regulated by regular physical exercise, which may partly explain the effects of physical exercise on prostate cancer progression. In the way of the development of miRNA-based therapeutics, physical exercise may be an efficient strategy to prevent tumor evolution through a regulation of miRNA expression.

Funding: University Rennes 2

Conflict of Interest Statement: None declared.

References

1. Davies NJ, Batehup L, Thomas R. The role of diet and physical activity in breast, colorectal, and prostate cancer survivorship: a review of the literature. Br J Cancer. 2011 Nov 8;105:S52–73.
2. Rock CL, Doyle C, Demark-Wahnefried W, Meyerhardt J, Courneya KS, Schwartz AL, et al. Nutrition and physical activity guidelines for cancer survivors. CA Cancer J Clin. 2012 Jul 1;62(4):242–74.
3. O'Keefe JH, Vogel R, Lavie CJ, Cordain L. Exercise like a hunter-gatherer: a prescription for organic physical fitness. Prog Cardiovasc Dis. 2011 Jun;53(6):471–9.
4. Friedenreich CM, Thune I. A review of physical activity and prostate cancer risk. Cancer Causes Control. 2001 Jun 1;12(5):461–75.
5. Courneya KS, Friedenreich CM. Physical Activity and Cancer [Internet]. Courneya KS, Friedenreich CM, editors. Springer Berlin Heidelberg; 2011 [cited 2014 Nov 9]. Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-04231-7_1
6. Liu Y, Hu F, Li D, Wang F, Zhu L, Chen W, et al. Does Physical Activity Reduce the Risk of Prostate Cancer? A Systematic Review and Meta-analysis. Eur Urol. 2011 Nov;60(5):1029–44.
7. Kenfield SA, Stampfer MJ, Giovannucci E, Chan JM. Physical Activity and Survival After Prostate Cancer Diagnosis in the Health Professionals Follow-Up Study. J Clin Oncol. 2011 Feb 20;29(6):726–32.

8. Richman EL, Kenfield SA, Stampfer MJ, Paciorek A, Carroll PR, Chan JM. Physical activity after diagnosis and risk of prostate cancer progression: data from the Cancer of the Prostate Strategic Urologic Research Endeavor. Cancer Res. 2011 Jun 1;71(11):3889–95.

9. Simone NL, Soule BP, Ly D, Saleh AD, Savage JE, DeGraff W, et al. Ionizing Radiation-Induced Oxidative Stress Alters miRNA Expression. PLoS ONE. 2009 Jul 27;4(7):e6377.

10. Paroo Z, Ye X, Chen S, Liu Q. Phosphorylation of the human micro-RNA generating complex mediates MAPK/Erk signaling. Cell. 2009 Oct 2;139(1):112–22.

11. Dickey JS, Zemp FJ, Martin OA, Kovalchuk O. The role of miRNA in the direct and indirect effects of ionizing radiation. Radiat Environ Biophys. 2011 Nov;50(4):491–9.

12. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell. 2004 Jan 23;116(2):281–97.

13. Fabian MR, Sonenberg N, Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs. Annu Rev Biochem. 2010;79:351–79.

14. Hussain MU. Micro-RNAs (miRNAs): genomic organisation, biogenesis and mode of action. Cell Tissue Res. 2012 Aug;349(2):405–13.

15. Porkka KP, Pfeiffer MJ, Waltering KK, Vessella RL, Tammela TLJ, Visakorpi T. MicroRNA expression profiling in prostate cancer. Cancer Res. 2007 Jul 1;67(13):6130–5.

16. Ozen M, Creighton CJ, Ozdemir M, Ittmann M. Widespread deregulation of microRNA expression in human prostate cancer. Oncogene. 2008 Mar 13;27(12):1788–93.

17. Coppola V, De Maria R, Bonci D. MicroRNAs and prostate cancer. Endocr Relat Cancer. 2010 Mar;17(1):F1–17.

18. Gordanpour A, Nam RK, Sugar L, Seth A. MicroRNAs in prostate cancer: from biomarkers to molecularly-based therapeutics. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2012 Dec;15(4):314–9.

19. Bovell LC, Putcha BDK, Samuel T, Manne U. Clinical Implications of MicroRNAs in Cancer. Biotech Histochem Off Publ Biol Stain Comm. 2013 Oct;88(7):388–96.

20. Chaudhry MA. Radiation-induced microRNA: discovery, functional analysis, and cancer radiotherapy. J Cell Biochem. 2014 Mar;115(3):436–49.

21. Ross SA, Davis CD. MicroRNA, Nutrition, and Cancer Prevention. Adv Nutr Int Rev J. 2011 Jan 11;2(6):472–85.

22. Karius T, Schnekenburger M, Dicato M, Diederich M. MicroRNAs in cancer management and their modulation by dietary agents. Biochem Pharmacol. 2012 Jun 15;83(12):1591–601.

23. Kangas R, Pöllänen E. Physical activity responsive miRNAs – Potential mediators of training responses in human skeletal muscle? J Sport Health Sci. 2013 Jun;2(2):101–3.

24. Mooren FC, Viereck J, Krüger K, Thum T. Circulating microRNAs as potential biomarkers of aerobic exercise capacity. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2014 Feb 15;306(4):H557–63.

25. Chen J-F, Callis TE, Wang D-Z. microRNAs and muscle disorders. J Cell Sci. 2009 Jan 1;122(1):13–20.

26. Zacharewicz E, Lamon S, Russell AP. MicroRNAs in skeletal muscle and their regulation with exercise, ageing, and disease. Front Physiol. 2013;4:266.

27. Tonevitsky AG, Maltseva DV, Abbasi A, Samatov TR, Sakharov DA, Shkurnikov MU, et al. Dynamically regulated miRNA-mRNA networks revealed by exercise. BMC Physiol. 2013;13:9.

28. Sharma M, Juvvuna PK, Kukreti H, McFarlane C. Mega roles of microRNAs in regulation of skeletal muscle health and disease. Front Physiol [Internet]. 2014 Jun 26 [cited 2014 Nov 24];5. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4072100/

29. Gueritat J, Lefeuvre-Orfila L, Vincent S, Cretual A, Ravanat J-L, Gratas-Delamarche A, et al. Exercise training combined with antioxidant supplementation prevents the antiproliferative activity of their single treatment in prostate cancer through inhibition of redox adaptation. Free Radic Biol Med. 2014 Dec;77:95–105.

30. Dart DA, Spencer-Dene B, Gamble SC, Waxman J, Bevan CL. Manipulating prohibitin levels provides evidence for an in vivo role in androgen regulation of prostate tumours. Endocr Relat Cancer. 2009 Dec;16(4):1157–69.

31. Baggish AL, Hale A, Weiner RB, Lewis GD, Systrom D, Wang F, et al. Dynamic regulation of circulating microRNA during acute exhaustive exercise and sustained aerobic exercise training. J Physiol. 2011 Aug 15;589(Pt 16):3983–94.

32. Chilton WL, Marques FZ, West J, Kannourakis G, Berzins SP, O'Brien BJ, et al. Acute exercise leads to regulation of telomere-associated genes and microRNA expression in immune cells. PloS One. 2014;9(4):e92088.

33. Ventura A, Jacks T. MicroRNAs and Cancer: Short RNAs Go a Long Way. Cell. 2009 Feb;136(4):586–91.

34. Lo U-G, Yang D, Hsieh J-T. The role of microRNAs in prostate cancer progression. Transl Androl Urol. 2013 Aug 21;2(3):228–41.

35. Catto JWF, Alcaraz A, Bjartell AS, De Vere White R, Evans CP, Fussel S, et al. MicroRNA in prostate, bladder, and kidney cancer: a systematic review. Eur Urol. 2011 May;59(5):671–81.

36. Kim WT, Kim W-J. MicroRNAs in prostate cancer. Prostate Int. 2013;1(1):3–9.

37. deVere White RW, Vinall RL, Tepper CG, Shi X-B. MicroRNAs and their Potential for Translation in Prostate Cancer. Urol Oncol. 2009;27(3):307–11.

38. Cellini F, Morganti AG, Genovesi D, Silvestris N, Valentini V. Role of MicroRNA in Response to Ionizing Radiations: Evidences and Potential Impact on Clinical Practice for Radiotherapy. Molecules. 2014 Apr 24;19(4):5379–401.

39. Kushi LH, Doyle C, McCullough M, Rock CL, Demark-Wahnefried W, Bandera EV, et al. American Cancer Society Guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. CA Cancer J Clin. 2012 Feb;62(1):30–67.

40. Doyle C, Kushi LH, Byers T, Courneya KS, Demark-Wahnefried W, Grant B, et al. Nutrition and physical activity during and after cancer treatment: an American Cancer Society guide for informed choices. CA Cancer J Clin. 2006 Dec;56(6):323–53.

41. 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 Jul;42(7):1409–26.

42. Antonelli JA, Jones LW, Bañez LL, Thomas J-A, Anderson K, Taylor LA, et al. Exercise and prostate cancer risk in a cohort of veterans undergoing prostate needle biopsy. J Urol. 2009 Nov;182(5):2226–31.

43. Esser KA, Harpole CE, Prins GS, Diamond AM. Physical activity reduces prostate carcinogenesis in a transgenic model. The Prostate. 2009 Sep 15;69(13):1372–7.

44. Hvid T, Winding K, Rinnov A, Dejgaard T, Thomsen C, Iversen P, et al. Endurance training improves insulin sensitivity and body composition in prostate cancer patients treated with androgen deprivation therapy. Endocr Relat Cancer. 2013 Oct;20(5):621–32.

45. Segal RJ, Reid RD, Courneya KS, Sigal RJ, Kenny GP, Prud'Homme DG, et al. Randomized controlled trial of resistance or aerobic exercise in men receiving radiation therapy for prostate cancer. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2009 Jan 20;27(3):344–51.

46. Fletcher CE, Dart DA, Sita-Lumsden A, Cheng H, Rennie PS, Bevan CL. Androgen-regulated processing of the oncomir miR-27a, which targets Prohibitin in prostate cancer. Hum Mol Genet. 2012 Jul 15;21(14):3112–27.

47. Mishra S, Ande SR, Nyomba BLG. The role of prohibitin in cell signaling. FEBS J. 2010;277(19):3937–46.

48. Gamble SC, Odontiadis M, Waxman J, Westbrook JA, Dunn MJ, Wait R, et al. Androgens target prohibitin to regulate proliferation of prostate cancer cells. Oncogene. 2004;23(17):2996–3004.

49. Ge Y-F, Sun J, Jin C-J, Cao B-Q, Jiang Z-F, Shao J-F. AntagomiR-27a targets FOXO3a in glioblastoma and suppresses U87 cell growth in vitro and in vivo. Asian Pac J Cancer Prev APJCP. 2013;14(2):963–8.

50. Hu MC-T, Lee D-F, Xia W, Golfman LS, Ou-Yang F, Yang J-Y, et al. IkappaB kinase promotes tumorigenesis through inhibition of forkhead FOXO3a. Cell. 2004 Apr 16;117(2):225–37.

Etude expérimentale n°3 : L'exercice physique régulier régule la teneur de cholestérol total circulant *in vivo* et inhibe la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques LNCaP *in vitro* en bloquant la voie de signalisation Akt-FOXO.

Contexte scientifique de l'étude

Une activité physique régulière et modérée peut être proposée à des patients atteints de cancer de la prostate mais une des difficultés reste le choix des paramètres de l'activité physique. Un exercice régulier de marche chez des sédentaires séniors conduit à de multiples effets positifs sur leur aptitude physique et leur santé, diminuant les risques de maladies coronariennes, d'hypertension artérielle, de diabète et de cancer du colon [Parkkari2000]. De plus, la marche régulière tend à augmenter l'espérance de vie. La pratique du golf est une forme sociale et agréable d'activité physique en pleine nature qui s'apparente principalement à un exercice de marche. Elle peut être pratiquée par toutes les tranches d'âge et par les deux sexes.

Un parcours 18 trous correspond à environ 5-6 km de marche pendant 4 h. L'intensité de marche varie selon le niveau de jeu, l'inclinaison du parcours et le poids des clubs que le golfeur porte ou tire. Broman et collaborateurs ont montré qu'un parcours 18 trous correspond à un exercice d'intensité modéré pour 70% des personnes âgées et 6% des jeunes golfeurs. Pendant 18% du temps total de marche, la fréquence cardiaque (FC) des golfeurs âgés est supérieure à 50% de leur FC max individuelle [Broman1990]. Selon une récente étude réalisée en Suède, l'espérance de vie de golfeurs suédois est augmentée d'environ 5 années. La mortalité de 300 818 golfeurs licenciés auprès de la fédération suédoise de golf a été comparée à celle de la population générale en fonction de l'âge, du sexe et du niveau socio-économique. Il a été dénombré 1 053 décès au sein des golfeurs en 15 mois, ce qui représente un ratio standard de mortalité (RSM) de 0,60, après ajustement des valeurs avec le statut social. De plus, il est observé que les golfeurs ayant un handicap inférieur ou égal à 10 ont un taux de mortalité plus faible (RSM=0,53) comparé à ceux dont l'index est supérieur à 30 (RSM=0,68) [Farahmand2009]. L'étude de Kobriger et collaborateurs révèle que chaque golfeur fait en moyenne 11 948 ± 1781 pas lors de la pratique d'un parcours de golf 18 trous. Ce résultat est indépendant du parcours, du sexe et du handicap du joueur [Kobriger2006]. Ceci est en adéquation avec les recommandations nationales mentionnant un nombre de 10 000 pas quotidien pour obtenir des bénéfices sur la santé. Enfin, les résultats d'une étude sur les modifications métaboliques lors de la pratique régulière de parcours 18 trous (2 à 3 fois par semaine) montrent des changements

cohérents et favorables de la composition corporelle des golfeurs après 20 semaines d'entrainement. Au niveau plasmatique, il est noté une augmentation statistique des taux de HDL-cholestérol et du ratio HDL/Cholestérol au sein du groupe de golfeurs versus le groupe contrôle [Parkkari2000].

L'ensemble de ces données permet de recommander la pratique du golf à des populations pathologiques masculines âgées, souvent moins sensibilisées aux activités physiques adaptées proposées dans les centres de lutte contre le cancer (gym douce, natation …). De plus, il est rapporté que la marche durant un parcours de golf est caractérisée par une haute adhésion des pratiquants et un faible risque de blessures [Sesso2000].

Avec le soutien de la FFGolf et l'Université de Rennes 2, nous avons développé un projet de recherche visant à étudier l'effet d'un exercice régulier de marche sur la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques humaines *in vitro*. Les objectifs de cette étude ont été (a) d'étudier *in vitro* l'impact du sérum de sédentaires *versus* celui de golfeurs sur la prolifération des cellules prostatiques tumorales LNCaP et PC3, (b) d'établir le statut pro-/antioxydant des sera issus de sédentaires ou de golfeurs, et (c) d'identifier les mécanismes moléculaires impliqués dans ce processus.

Matériels et méthodes

L'étude a été menée chez des hommes sains, âgés de 50 ans et plus, non-fumeurs et ayant aucune pathologie connue. Deux groupes de 5 personnes ont été formés : un groupe de sujets inactifs, composé d'hommes ne pratiquant aucune activité physique et un groupe de sujets golfeurs, constitué d'hommes réalisant au moins 3 parcours 18 trous par semaine, utilisant un chariot manuel ou électrique et pratiquant le golf depuis plus de 1 an. Un questionnaire de pratique physique [Voorrips1991] et un questionnaire d'hygiène de vie (adapté du questionnaire de Probiox) ont été remplis. Une unique prise de sang a été effectuée. L'évaluation du statut oxydant du sérum a été effectuée via le dosage de la 8-isoprostane F2α par chromatographie liquide couplée à de la spectrométrie de masse (LC-MS) et via une semi-quantification des protéines oxydées (OxyBlot). La détermination du pouvoir antioxydant global a été réalisée par la méthode des ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) en spectrofluorométrie. Le contenu en vitamine E, rétinol et β-carotène du sérum a été déterminé par HPLC. Un examen de la testostérone et du profil lipidique a été effectué. Les cellules cancéreuses prostatiques androgéno-dépendantes humaines LNCaP et androgéno-indépendantes PC3 ont été traitées avec du 10% de sérum de veau fœtal ou 10% de sérum issus de volontaires inactifs ou golfeurs. La prolifération cellulaire, la nécrose et l'apoptose ont ensuite été évaluées, tout comme certaines voies de signalisation.

Résumé des principaux résultats

Nous avons ainsi déterminé que le traitement des cellules cancéreuses prostatiques androgéno-dépendantes LNCaP avec du sérum de golfeurs induit une diminution de la croissance cellulaire sans induction de mort cellulaire (apoptose, nécrose). Aucune modification de prolifération n'est observée pour les cellules androgéno-indépendantes incubées avec ces sérums. L'inhibition de la croissance des cellules LNCaP semble être indépendante d'une modulation du statut redox du sérum des volontaires car l'analyse des dommages oxydatifs (peroxydation lipidique et protéines carbonylées) ou encore des défenses antioxydantes (capacité antioxydante globale et défenses antioxydantes non-enzymatiques) ne révéle aucune différence entre le groupe inactif et le groupe actif. De même, le sérum de golfeurs ne montre aucune modification de la concentration en insuline, testostérone et SHBG, protéine régulant le transport des hormones libres. Cependant, nous montrons que les golfeurs avaient un taux de cholestérol total plus faible que les hommes inactifs (1,77 vs 2,40 g/L, p=0,055). Les mécanismes moléculaires activés par les sera de golfeurs sont ensuite étudiés afin d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques. Les cellules LNCaP, en réponse aux sérums de golfeurs, montrent une diminution de l'expression de la forme phosphorylée d'Akt, protéine connue pour son rôle dans la survie cellulaire, mais aussi de la phosphorylation de FOXO3a.

Conclusion

Nous montrons que l'activité de marche associée à la pratique du golf induit une inhibition de la prolifération cellulaire sans augmentation de la mort cellulaire seulement au sein des cellules androgéno-dépendantes traitées avec le sérum des golfeurs. Ces effets sembleraient être indépendants d'une modulation du statut redox du sérum des hommes actifs *versus* inactifs. Au sein de cette étude préliminaire, la diminution de la cholestérolémie induite par l'exercice régulier de marche pourrait être un facteur clé dans la modulation de la prolifération et pourrait être étroitement liée à l'inactivation de la voie Akt/FOXO3a observée dans notre modèle.

Au vu de ces données, nous suggérons que la diminution *in vivo* du cholestérol circulant dépendant de l'exercice pourrait induire une désorganisation des radeaux lipidiques des cellules cancéreuses prostatiques LNCaP *in vitro*, ce qui de fait inactiverait la signalisation cellulaire Akt et previendrait la séquestration de FOXO3a dans le cytoplasme. Par conséquent, un exercice régulier de marche pourrait inhiber la cascade de signalisation pro-carcinogène Akt et ainsi permettre au facteur de transcription FOXO3a, un suppresseur de tumeur, de transcrire des gènes impliqués dans la régulation de l'évolution tumorale.

Physical exercise prevents human prostate cancer cells proliferation: molecular mechanisms involved.

Running title: Physical activity and prostate cancer

Authors : Gueritat J[1], Martin B[1], Lefeuvre-Orfila L[1], Saligaut D[1], Rannou-Bekono F[1] and Rebillard A[1]

[1] *EA 1274, Laboratoire "Mouvement, Sport, Santé", Université de Rennes 2-ENS Rennes ; Bruz, 35170, France,*

Author's correspondence:

Jordan Guéritat
EA 1274, Laboratoire « Mouvement, Sport, Santé »
Université Rennes 2-ENS Rennes
Campus de Ker Lann, Avenue Robert Schuman
35170 Bruz, France
Tel : + 33(0)290091587
E-mail: jordan.gueritat@gmail.com

Keywords: prostate cancer, physical exercise, oxidative stress, cholesterol, signaling pathways

Abstract

Prostate cancer (PC) represents a major health concern in France. Recently, physical inactivity has emerged as an important risk factor and a decrease of PC prevalence is associated with regular exercise. Studies concerning its effects on PC progression are limited and the molecular mechanisms involved in this process remain unknown. Here, we hypothesize that physical exercise prevents PC cells proliferation *in vitro* due to systemic redox adaptations *in vivo*. In order to determine the impact of regular physical activity on human PC cells proliferation, serum from inactive and active men was incubated with LNCaP and PC3 cells. Proliferation and cell death were assessed. Expression of Akt, Foxo3a and Bcl-2 proteins were measured in cell lysate. Serum samples were used to analyze redox state and complete blood test was performed. Serum from active men significantly inhibited LNCaP cells proliferation without inducing cell death and independently of redox state modulation in serum. Exercise reduced total cholesterol level in serum from active volunteers, a factor involved in PC progression. This serum modification could result in inhibition of Akt/Foxo3a signaling pathway observed *in vitro*, leading to prevent LNCaP cell proliferation. These preliminary results require further investigations.

Introduction

Prostate cancer (PC) is the most common form of cancer affecting men in France and it represents the third cause of mortality. Concomitantly to changes in nutrition, western lifestyles are frequently associated with a decrease in physical activity. The *World Health Organization* reported that 32.5% of French population was physically inactive. Between 9% and 19% of cancer could be attributed to lack of physical activity in Europe (1). Numerous epidemiologic studies have demonstrated that physical exercise, a modifiable risk factor, act as a key regulator of prostate tumorigenesis (2–4). In a population of men diagnosed with PC, men who exercised for 9 METs-h/week or more had a lower risk of death from any cause and a lower risk of PC-specific death (5). Likewise, brisk walking for three or more hours per week after diagnosis may inhibit or delay PC progression (6). However, the molecular mechanisms involved in these phenomena are poorly understood.

Public health recommendations for physical exercise and cancer generally suggest at least 150 min of moderate activity per week or equivalent of 9 METs-h/week including resistance exercise. One of the issues appears to be the choice of physical exercise for men. A recent study has suggested that golf enhances the life expectancy about five years adjusted by age, sex and socioeconomic state of subjects (7). This physical activity mainly corresponds to a walking sport. Golfers exceeded 10,000 steps during an 18-hole round of golf, regardless of course or demographics (8). Walking during 18-hole golf course corresponds to moderate intensity exercise for the elderly men and is characterized by high adherence and low risk of injury, but also to induce some beneficial effects on body composition and serum lipid profile (9,10). Golf may be an appropriate physical exercise for patient in active surveillance.

It is imperative to establish the molecular mechanisms involved in the cancer prevention through physical exercise. Recent data suggest that oxidative stress plays an important role in prostate carcinogenesis (11,12). As previously shown in our laboratory, regular exercise could decrease PC progression through a redox signaling modulation and an enhanced antioxidant defense (13,14). Regular physical activity has been shown to attenuate oxidative stress though hormetic adaptive responses including an increase of antioxidant defenses and oxidative damage repair systems efficiency (15,16). In this context, we hypothesize that the modulation of serum redox state induced by regular physical exercise *in vivo* could be a key regulator of PC cell proliferation *in vitro*. The purpose of the present study is to examine the effects of regular walking on human PC cell proliferation and to identify the molecular mechanisms involved in these effects.

Materials and methods

Study participants

Following Voorips physical activity questionnaire completed by information about healthy eating and living, ten men older than 50 years who had no symptoms or history of PC were recruited and divided into two groups: inactive (n=5) and active (n=5) volunteer men. The inactive group consisted of healthy men with a physically inactive lifestyle. Volunteers in active group were members of the French Golf Federation, who have been played an 18-hole golf course at least third a week for over one year without golf cart. All volunteers had prostate specific-antigen values in the normal range (PSA< 4.0 ng/dl). The body mass index was similar in the two groups. Each participant signed an informed consent before the study enrolment. Fasting blood samples were obtained from the participants in the morning. A blood part was tested by a medical analysis laboratory, and other part was allowed to clot and then centrifuged to obtain serum. The serum was frozen and stored at -80°C until needed. Serum was used to stimulate cells and was analyzed for oxidative damages (F2-isoprostane, protein carbonyl) and antioxidant defenses (global antioxidant capacities, vitamin E, retinol and β-carotene).

Cell culture

Human androgen-dependent LNCaP and androgen-independent PC3 prostate cancer cells (ATCC, Manassas, Virginia, USA) were grown in 75-cm² flasks in RPMI 1640 medium with phenol red, supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS), 1 mM sodium pyruvate and 4 mM L-glutamine (Gibco, Invitrogen) in humidified incubator maintained at 37°C in 5% CO_2. Cells were collected using 0.25% trypsin-EDTA (Gibco, Invitrogen).

Proliferation assay

Methylene Blue assays were performed in 96-well culture plates: LNCaP and PC3 cells ($3x10^3$) were plated in each well containing 100 µl of 10% FBS medium. After 48h, medium was replaced with serum-free medium with 10% FBS or 10% volunteers' serum for 48h. After removing culture medium and fixing cells with 70% ethanol, cell number was determined by staining cells with the addition of 100 µl per well of Methylene Blue. The plates were rinsed by immersion three times with water. The plates were air-dried overnight and then stain was released from cells by the addition of 100µl/well of eluting solution (0.1 N HCl). After 15 min incubation at room temperature and 10 min low shaking, the absorbance at 620 nm was determined using a microwell plate reader Synergy HT (BioTeck).

Apoptosis and Necrosis assays

LNCaP cells were plated in 96-well culture plates. After 48h of treatment, culture medium and cells were collected using 0.25% trypsin-EDTA, and then incubated with Hoechst 33342 solution and propidium iodide solution (dilution 1/1000, Sigma Aldrich) at 37°C for 45 min. After incubation and centrifugation at 3000 g for 5 min, the cell pellet was dissolved with 50 µl of complete culture medium then examined under fluorescent microscope (ZEISS Scope A.1).

Isoprostanes assay

Lipid peroxidation, a marker of oxidative damage, was measured by 8-isoprostane F2α using LC-MS. A volume of 1 ml of serum, 10 µl of deuterated 8-isoprostane as an internal standard (80 ng/ml), 10 µl of 20 mM deferiprone, 10 µl of 20 mM Desferal and 1 ml of 15% KOH were added, and the sample was incubated for 60 minutes at 37°C. The alkali was neutralized by the addition of 3.5 ml of 1 M KH2PO4 and 2 mL of 0.1 M phosphate buffer (pH 7) to adjust the pH to a value between 7.2 and 7.4. The samples were loaded into isoprostane affinity columns (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, USA). The column was washed twice with 2 ml of phosphate buffer 0.1 M (pH 7) and twice with 2 ml of ultrapure water. Isoprostanes were eluted with 2 ml of 95% ethanol. Eluate was evaporated to dryness under vacuum in a SpeedVac (Sc110A-UVS400A Savant). The sample was re-dissolved in 20 µl of mixture solution and injected into the LC-MS.

Protein carbonyl

Analysis of protein carbonyl level in serum was performed using an OxyBlot kit (Millipore). Protein concentration was defined by Lowry protein assay. Serum proteins (10 µg) were derivatized with 1% DNPH. After 15 min incubation, the reaction was stopped with the addition of the supplied neutralization solution and mercaptoethanol. Molecular weight protein standards containing attached DNP residues and serum proteins were separated on SDS-PAGE and transferred onto nitrocellulose membrane (BioRad). Membranes were blocked and then incubated overnight at 4°C with anti-DNP primary antibody (1:100) supplied with OxyBlot kit. After washes, secondary IgG anti-rabbit goat IRDye 680 antibody (Sciencetec) was added for 1h in the dark at room temperature. Membranes were scanned using Odyssey Infrared Imaging System (LI-COR, Biosciences).

Oxygen Radical Absorbance Capacity assay

Total antioxidant capacity was measured by spectrofluorometry. 0.5 M perchloric acid (Prolabo), 100 mM PBS and 100 µL serum sample were centrifuged then supernatant was adjusted with 5 M NaOH to reach pH 7. 14 µM final/well of fluorescein (Fluka) and 17.2 mg/ml of 2,2'-azobis(2-aminopropane)dihydrochloride (AAPH) were dispensed on serum extract. Fluorescence was recorded

for 60 min at excitation and emission wavelengths of 485 and 530 nm, using a microwell plate reader Synergy HT (BioTeck). Calibration solutions of Trolox were also tested to establish a standard curve.

Vitamin E, retinol and β-carotene assay

Vitamin E, retinol and β-carotene of the serum were determined by HPLC. 500µl of serum, 50 ng/µl tocol, absolute EtOH and Heptane (Sigma-Aldrich) were vortexed and centrifuged. The supernatant was recovered and evaporated (Speed Vac) then mobile phase MeOH/H2O 95/5 5mM Lithium perchlorate was added. The extract was injected within pump HPLC (Spectro System P1000 XR). Tocol, α-tocopherol and β-carotene were measured by an electrochemical detector ESA Coulochem model 5100A while retinol was detected by UV-Visible LCD Spectromonitor III 1204A at 326 nm.

Western Blot analysis

LNCaP cells ($2x10^5$) were plated in each well of a 6-well culture plates containing 2.5 ml of 10% FBS medium and allowed to attach and stabilize for 48h. After the stabilization, medium was replaced with serum-free medium with 10% FBS or 10% volunteers' serum to constitute a total of 2 ml in each well. Cells were incubated for 4h. After incubation period, medium was removed and cells were gently scraped in 100 mM PBS pH 7.4 and then centrifuged at 1300 rpm for 5 min. The tumor cells pellet were lysed in 150 µl of ChiP buffer (50 mM Tris-HCl, 10 mM EDTA, 1% SDS). Protein concentration was determined using Lowry protein assay. Proteins (40 µg) were separated by SDS-PAGE and transferred onto nitrocellulose membranes (BioRad). After blocking, membranes were incubated overnight at 4°C with specific primary antibodies (Hsc70, 1:5000, Santa Cruz; Akt, 1:1000, Cell Signaling; p-Akt, 1:1000, Cell Signaling; p-Foxo3a, 1:1000, Cell Signaling; ERK, 1:200, Santa Cruz; p-ERK, 1:200, Santa Cruz; Bcl2, 1:1000, Cell Signaling). Following washes, secondary IgG anti-mouse goat IRDye 800 or IgG anti-rabbit goat IRDye 680 antibody (Cell Signaling) was added for 1h in the dark at room temperature. Immunoreactive bands were visualized with Odyssey Infrared Imaging System (LI-COR, Biosciences).

Statistical analysis

Statistical analysis was performed by a Student's t-test. All analyzes were performed on SigmaStat. A level of $p<0.05$ was selected to indicate statistical significance. Data are expressed as means ± SE.

Results

Serum from active men inhibits human PC cells proliferation.

As shown in Figure 1A, human androgen-dependent LNCaP cells proliferation was significantly reduced after 48h of incubation with serum from active volunteers *versus* inactive group (with respectively, 72 ± 6% *vs* 93 ± 8%, p<0.001). After volunteers' serum-stimulation of androgen-independent PC3 cells, no proliferation difference was appeared between the inactive and active groups (102 ± 5% *vs* 97 ± 2%). Although the serum from active men inhibited LNCAP cells proliferation, apoptosis and necrosis were not significantly different after 48h of active serum-stimulation *versus* inactive serum (Fig. 1B and C). There was no increase of cell death when LNCaP cells were treated with volunteers' serum.

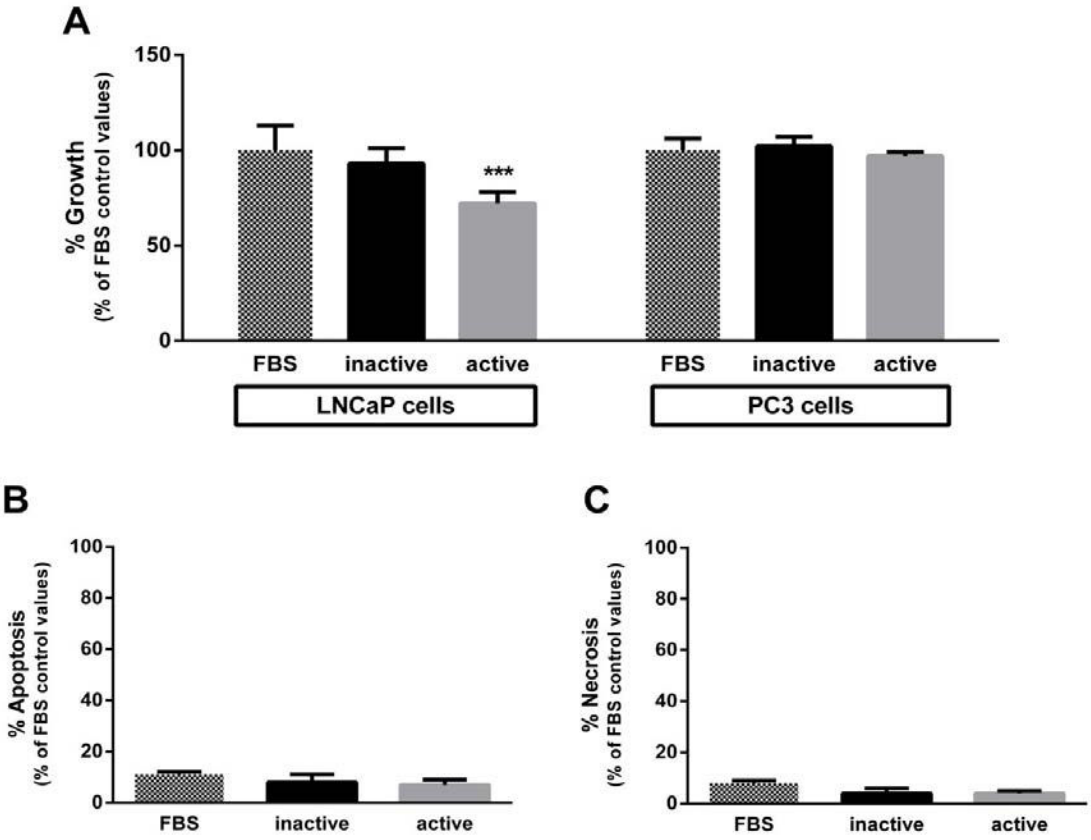

Fig.1. Effect of physical inactivity or regular walking exercise on the proliferation and cell death of serum-stimulated prostate cancer cells. (**A**) Androgen-dependent LNCaP and androgen-independent PC3 cell proliferation following 48h of stimulation with serum from inactive or active volunteers were determined by Methylene Blue assay. LNCaP cell (**B**) apoptosis and (**C**) necrosis after 48h of serum incubation were respectively performed by Hoechst 33342 and propidium iodide staining. Proliferation and cell death were analyzed for each volunteer's serum separately. Data are expressed as means ± SE and as a percentage of the FBS control values. ***p≤ 0.001

Regular walking during golf does not induced redox modulation in serum from active men.

Exercise training is shown to limit systemic oxidative damage and to increase antioxidant defense (15, 16). In this part, we observed the effects of regular walking on serum redox state (Fig. 2). Lipid peroxidation assessed by F2α-isoprostane serum content, a marker of oxidative stress, was not significantly different between the two groups (Fig. 2A). The same was true for the protein carbonyl, another oxidative damages marker (Fig. 2B). Concerning antioxidant defenses, no significant increase of global antioxidant power measured by oxygen radical absorbance capacity was detected in serum from active *versus* inactive men (Fig. 2C). Likewise, there was no difference in vitamin E, β-carotene and retinol serum concentrations between serum from volunteers (Fig. 2D, E and F). Consequently, the inhibition in cancer cell proliferation induced by active serum did not seem to be due to modulation of oxidative stress markers.

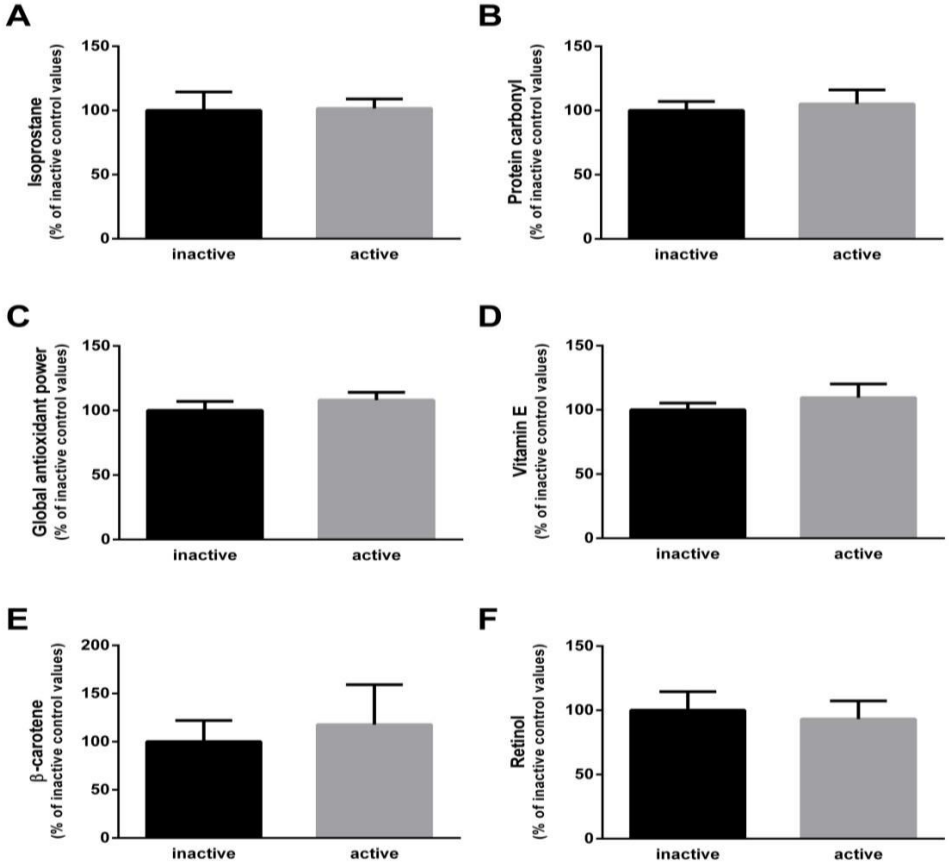

Fig.2. Effect of physical inactivity or regular walking exercise on the redox state of volunteers' serum. (**A**) Lipid peroxidation, a marker of oxidative damages, was measured by 8-isoprostane F2α using LC-MS and (**B**) Carbonyl protein expression was analyzed using OxyBlot kit. (**C**) Global antioxidant capacity of serum was defined by the measurement of Oxygen Radical Absorbance Capacity, as described in Material and methods. Non-enzymatic antioxidant defenses were determined by HPLC. (**D**) Vitamin E and (**E**) β-carotene were measured by an electrochemical detector and (**F**) retinol was detected by UV-Visible at 326 nm.

Regular walking reduces total cholesterol level in serum from active.

On the basis of previous results, we analyzed others systemic parameters involved in PC progression that can be modulate by regular physical activity. In Table 1, results reported no difference in insulin, testosterone and sex hormone binding globulin (SHBG) plasmatic level between the two groups. However, active group tended to reduce the total cholesterol level compared to physically inactive group (respectively, 1.77 ± 0.41 g/L *vs* 2.32 ± 0.36 g/L, p=0.055) while HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and triglyceride levels were not altered between the two groups. Recent data suggested that cholesterol plays a crucial role in PC progression by stimulating various signaling pathways (34, 42).

Parameters	Inactive men	Active men	*p*
Total cholesterol (g/L)	2.32 ± 0.36	1.77 ± 0.41	0.055
Triglyceride (g/L)	1.36 ± 0.50	1.32 ± 0.39	0.875
HDL (g/L)	0.55 ± 0.15	0.46 ± 0.08	0.252
LDL (g/L)	1.49 ± 0.40	1.05 ± 0.38	0.107
Total cholesterol/HDL	4.68 ± 2.27	3.91 ± 0.73	0.490
LDL/HDL	3.11 ± 1.86	2.30 ± 0.65	0.388
Testosterone (ug/l)	5.74 ± 2.32	4.93 ± 0.95	0.249
SHBG (nmol/l)	41.71 ± 11.53	44.29 ± 5.53	0.845
Insulin (mUI/l)	8.60 ± 2.88	9.80 ± 3.56	0.664
Serum iron (mcg/100ml)	111.40 ± 19.18	103.60 ± 33.32	0.824
Ferritin (ng/l)	134.40 ± 99.89	123.80 ± 73.51	0.729
Transferritin (g/l)	3.06 ± 0.53	2.63 ± 0.53	0.262
CPK (U/l)	103.40 ± 37.53	83.80 ± 24.16	0.574

Fig.3. Effect of physical inactivity or exercise training on blood test.

Regular walking inhibits Akt/Foxo3a signaling pathways in LNCaP cell.

To further investigate the potential molecular mechanisms underlying the LNCaP cells inhibition, we studied signaling pathways involved in cell proliferation and survival (Fig. 4A). Serum from active men induced a significant reduction in Akt phosphorylation expression in LNCaP cell lysate ($p<0.001$). No difference was observed concerning ERK phosphorylation expression (data not shown). Interestingly, the phosphorylation expression of forkhead transcription factor Foxo3a, a key target of the PI3K/Akt in PC, was significantly blocked in LNCaP lysate stimulated with serum from active volunteers *versus* inactive men ($p<0.01$). Moreover, we noted no alteration of Bcl-2 expression between the two groups. These results were coherent with proliferation and apoptosis measures described in Fig. 1.

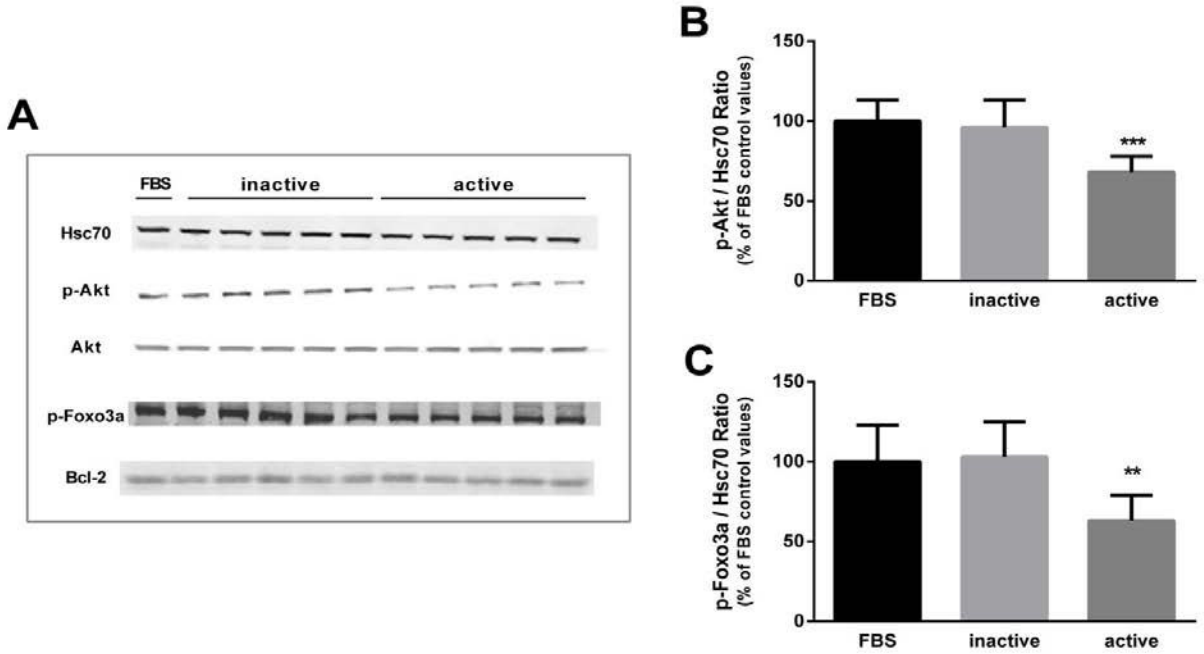

Fig.4. Effect of exercise training or physical inactivity on p-Akt, p-Foxo3a and Bcl-2 protein content in LNCaP cell lysate incubating 4h with serum from inactive or active volunteers. (**A**) Prostate tumor cell lysate were prepared and analyzed with rabbit polyclonal anti-Akt, mouse monoclonal anti-phospho-Akt antibodies, rabbit monoclonal anti-phospho-Foxo3a antibodies and rabbit polyclonal anti-Bcl2 as indicated. Hsc70 expression was examined as a loading control. (**B**) and (**C**) Histograms represent respectively p-Akt/Hsc70 ratio and p-Foxo3a/Hsc70 ratio (mean ± SE). Quantification was realized using Image Gauge V4.0 software. **p≤ 0.01; ***p≤ 0.001

Discussion

These results confirm previous data obtained in PC animal model, in which we showed that physical exercise on treadmill prevents PC progression (14). Indeed, we demonstrate in the present study that serum from active men significantly inhibits LNCaP cells proliferation without inducing cell death and independently of serum redox state modulation. Regular walking exercise reduces cholesterol in serum from active volunteers and significantly blocks Akt and Foxo3a phosphorylation in LNCaP lysate incubated with serum from active *versus* inactive men. We suggest for the first time that regular walking changes serum total cholesterol content *in vivo* and inhibits Akt/Foxo3a signaling pathway *in vitro*, leading to reduce LNCaP cell proliferation.

Epidemiological data demonstrate that healthy lifestyle with a balanced diet and regular physical exercise may reduce prostate cancer risk, mortality and recurrence (3,4,6,17). However, the molecular mechanisms remain poorly understood. Few *in vitro* studies reported that serum from obese men who have followed a physical exercise program combined or not with adequate nutrition reduced proliferation and increased apoptosis in serum-stimulated human androgen-dependent PC cells (18–20). In the present study, we obtained the same results concerning cell proliferation; however, serum from active men did not increase LNCaP cells apoptosis. Unlike referred studies, volunteers who participated in this study were healthy non-obese men and no change of insulin level was noted between our two groups. Our results with the androgen-independent PC3 cell are coherent with literature. Exercise combined or not with balanced diet did not affect androgen-independent PC3 cell proliferation or apoptosis (21,22). In view of these results, the molecular mechanism inducing the anti-proliferative effects may be related to androgens. However, in the present study, regular walking exercise did not regulate testosterone or SHBG level in serum from active volunteers compared to inactive. Interestingly, Soliman et *al.* suggested the potential role of oxidative stress in the inhibition of cell proliferation (22).

To further understand how exercise intervention reduces LNCaP cell proliferation, we hypothesize that exercise program may modulate the redox state of serum from active men. It is now recognized that oxidative stress has a crucial role in prostate carcinogenesis (12–14,23,24). Khandrika et *al.* demonstrated that oxidative stress is higher in PC cells than normal prostatic epithelium (11). Oxidative stress is defined as “an imbalance between oxidants and antioxidants in favor of the oxidants, leading to a disruption of redox signaling and control and/or molecular damage” (25).
There is ample evidence to suggest that isolated exhaustive exercise increases the generation of reactive oxygen species (ROS) and oxidative damage of lipids, proteins and DNA (26,27), while repetition of moderate exercise may improve the redox balance, especially by increasing antioxidant defense capacities and repair-degradation enzymes, in muscle but also in non-muscular tissues (15,16,28). Therefore, regular exercise program induces moderate ROS production that may serve as messenger molecules to activate hormetic adaptive responses through the redox-sensitive signaling pathways to maintain cellular oxidant-antioxidant homeostasis during exercise but also at rest. In the present study, we show in volunteer’s serum neither significant difference of oxidative damage (lipid peroxidation and protein carbonyl) nor change of antioxidant defense (ORAC, vitamin E, β-carotene and retinol). Regular walking exercise practiced by healthy active men did not alter serum redox state compared to healthy inactive men. Consequently, the inhibition of LNCaP cell proliferation would not seem to be dependent on oxidative stress.

Another phenomenon that may explain the results obtained in the present study might be due to the difference of circulating total cholesterol between the two groups. Physical exercise is known to modulate serum lipid profile (29–31). Kellay et *al.* established that walking reduced total cholesterol, Low-Density-Lipoprotein Cholesterol and ratio of total cholesterol on High-Density-Lipoprotein Cholesterol in men (32).

Recent epidemiological studies suggested that cholesterol plays a crucial role in the risk of developing a PC and the risk of overall aggressive prostatic adenocarcinoma (33,34). Cholesterol metabolism is involved in the etiology of prostate cancer, since men with low serum cholesterol (less than 200 mg/dl) have a lower risk of high-grade PC (Gleason 8 to 10) (35). Cholesterol is abundant component of the plasma membranes of eukaryotic cells and plays an essential role in maintaining membrane integrity and fluidity (36). Lipid rafts are microdomains of plasma membrane that are enriched in cholesterol and glycosphingolipids. Lipid rafts are known to be membrane platforms which contain abundant signaling molecules including cell surface receptors and intracellular signaling molecules, enabling these microdomains to modulate many signaling pathways involved in the regulation of cell proliferation, survival and apoptosis (37,38). Elevation of serum cholesterol may increase the cholesterol accumulation within the lipid raft component of prostate tumor cell membrane, and thus stimulate signaling pathways involved in prostate tumor progression (39). As the result of the disruption of prostate tumor rafts, cholesterol accelerates prostate adenocarcinoma progression, particularly though an up-regulation of Akt and ERK signaling pathways (40,41). Inversely, raft deregulation by cholesterol depletion in these microdomains may inhibit some intracellular signaling pathways such as Akt cascade, and thus, to reduce cancer cell proliferation and survival (40). Recently, Sun et *al.* affirmed that prostate tumor cells proliferation induced by cholesterol was depending on Akt and ERK phosphorylation (42).

In PC, Akt signaling pathway plays a critical role in prostate tumor cell survival, growth, proliferation, migration and angiogenesis (43). This cascade can also impede a down-regulation of NF-ƙB and Forkhead box class O (Foxo) transcription factors, known for increasing transcription of anti-apoptotic and pro-survival genes (44,45). The protein kinase Akt directly phosphorylates Foxo3a, thereby sequestering it in the cytoplasm and inhibiting Foxo3a-dependent transcription (46). This transcription factor is an important regulator of cellular function, including cell cycle arrest, stress resistance, cell differentiation and cell death. PC progression from androgen-dependence to androgen-independence appears to be associated with decreased Foxo3a expression (47). Recent studies reported *in vitro* and *in vivo* that Akt suractivation blocks Foxo3a activity, resulting in accelerated PC progression (48).

In the present study, regular walking exercise may change total cholesterol content in serum from active volunteers *in vivo* and inhibits Akt and Foxo3a phosphorylation in LNCaP lysate stimulated with serum from active men *in vitro*, leading to reduced LNCaP cell proliferation. We suggest that exercise may modulate cholesterol level in lipid rafts and thus limit cell proliferation through a down-regulation of Akt/Foxo3a signaling pathway. These preliminary results require further investigations on a large number of volunteers, preferentially concerning exercise-induced serum lipid profile changes and exercise-induced lipid rafts disruption in prostate tumor cells. Indeed, in our knowledge, no study has observed the role of regular physical exercise on lipid rafts dynamism.

Conclusion

In conclusion, regular walking exercise decreased LNCaP cell proliferation *in vitro* without inducing cell death. This inhibition is not dependent of oxidative stress modulation in serum from active volunteers. However, exercise program induced serum modulation of lipid profile *in vivo*, which may lead to the disruption of lipid rafts and thus regulate signal transduction cascades *in vitro* such as Akt/Foxo3a, resulting in inhibition of androgen-dependent PC cell proliferation. Further investigations will be necessary to establish a relationship between physical exercise and lipid rafts, especially since the role of statin, a cholesterol inhibitor drug, in PC prevention and adjunctive treatment is overwhelmed by controversy. In the near future, regular and moderate aerobic exercise may be a complementary strategy in clinical management of PC patients and therefore may substitute statin treatments in PC chemoprevention.

Funding

French Golf Federation; University Rennes 2

Conflict of Interest Statement: None declared.

References

1. Friedenreich CM, Neilson HK, Lynch BM. State of the epidemiological evidence on physical activity and cancer prevention. Eur J Cancer. 2010;46:2593–604.

2. Antonelli JA, Jones LW, Bañez LL, Thomas J-A, Anderson K, Taylor LA, et al. Exercise and prostate cancer risk in a cohort of veterans undergoing prostate needle biopsy. J Urol. 2009;182:2226–31.

3. Courneya KS, Friedenreich CM. Physical Activity and Cancer [Internet]. Courneya KS, Friedenreich CM, editors. Springer Berlin Heidelberg; 2011 [cited 2014 Nov 9]. Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-04231-7_1

4. Thomas RJ, Holm M, Al-Adhami A. Physical activity after cancer: An evidence review of the international literature. Br J Med Pract. 2014;Volume 7:7(1):a708.

5. Kenfield SA, Stampfer MJ, Giovannucci E, Chan JM. Physical Activity and Survival After Prostate Cancer Diagnosis in the Health Professionals Follow-Up Study. J Clin Oncol. 2011;29:726–32.

6. Richman EL, Kenfield SA, Stampfer MJ, Paciorek A, Carroll PR, Chan JM. Physical activity after diagnosis and risk of prostate cancer progression: data from the Cancer of the Prostate Strategic Urologic Research Endeavor. Cancer Res. 2011;71:3889–95.

7. Farahmand B, Broman G, de Faire U, Vågerö D, Ahlbom A. Golf: a game of life and death--reduced mortality in Swedish golf players. Scand J Med Sci Sports. 2009;19:419–24.

8. Kobriger SL, Smith J, Hollman JH, Smith AM. The contribution of golf to daily physical activity recommendations: how many steps does it take to complete a round of golf? Mayo Clin Proc. 2006;81:1041–3.

9. Parkkari J, Natri A, Kannus P, Mänttäri A, Laukkanen R, Haapasalo H, et al. A controlled trial of the health benefits of regular walking on a golf course ∗. Am J Med. 2000;109:102–8.

10. Broman G, Johnsson L, Kaijser L. Golf: a high intensity interval activity for elderly men. Aging Clin Exp Res. 2004;16:375–81.

11. Khandrika L, Kumar B, Koul S, Maroni P, Koul HK. Oxidative stress in prostate cancer. Cancer Lett. 2009;282:125–36.

12. Gupta-Elera G, Garrett AR, Robison RA, O'Neill KL. The role of oxidative stress in prostate cancer. Eur J Cancer Prev Off J Eur Cancer Prev Organ ECP. 2012;21:155–62.

13. Rebillard A, Lefeuvre-Orfila L, Gueritat J, Cillard J. Prostate cancer and physical activity: adaptive response to oxidative stress. Free Radic Biol Med. 2013;60:115–24.

14. Gueritat J, Lefeuvre-Orfila L, Vincent S, Cretual A, Ravanat J-L, Gratas-Delamarche A, et al. Exercise training combined with antioxidant supplementation prevents the antiproliferative activity

of their single treatment in prostate cancer through inhibition of redox adaptation. Free Radic Biol Med. 2014;77:95–105.

15. Ji LL. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: Role of redox signaling. Free Radic Biol Med. 2008;44:142–52.

16. Gomez-Cabrera M-C, Domenech E, Viña J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. Free Radic Biol Med. 2008;44:126–31.

17. Mandair D, Rossi R, Pericleous M, Whyand T, Caplin M. Prostate cancer and the influence of dietary factors and supplements: a systematic review. Nutr Metab. 2014;11:30.

18. Tymchuk CN, Barnard RJ, Ngo TH, Aronson WJ. Role of testosterone, estradiol, and insulin in diet- and exercise-induced reductions in serum-stimulated prostate cancer cell growth in vitro. Nutr Cancer. 2002;42:112–6.

19. Leung P-S, Aronson WJ, Ngo TH, Golding LA, Barnard RJ. Exercise alters the IGF axis in vivo and increases p53 protein in prostate tumor cells in vitro. J Appl Physiol Bethesda Md 1985. 2004;96:450–4.

20. Barnard RJ, Leung PS, Aronson WJ, Cohen P, Golding LA. A mechanism to explain how regular exercise might reduce the risk for clinical prostate cancer. Eur J Cancer Prev Off J Eur Cancer Prev Organ ECP. 2007;16:415–21.

21. Tymchuk CN, Barnard RJ, Heber D, Aronson WJ. Evidence of an inhibitory effect of diet and exercise on prostate cancer cell growth. J Urol. 2001;166:1185–9.

22. Soliman S, Aronson WJ, Barnard RJ. Analyzing serum-stimulated prostate cancer cell lines after low-fat, high-fiber diet and exercise intervention. Evid-Based Complement Altern Med ECAM. 2011;2011:529053.

23. Kumar B, Koul S, Khandrika L, Meacham RB, Koul HK. Oxidative stress is inherent in prostate cancer cells and is required for aggressive phenotype. Cancer Res. 2008;68:1777–85.

24. Gorrini C, Harris IS, Mak TW. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. Nat Rev Drug Discov. 2013;12:931–47.

25. Sies H. Biological redox systems and oxidative stress. Cell Mol Life Sci CMLS. 2007;64:2181–8.

26. Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. Biochem Biophys Res Commun. 1982;107:1198–205.

27. Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. Dyn Med. 2009;8:1.

28. Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. Free Radic Biol Med. 2008;44:153–9.

29. Halbert JA, Silagy CA, Finucane P, Withers RT, Hamdorf PA. Exercise training and blood lipids in hyperlipidemic and normolipidemic adults: a meta-analysis of randomized, controlled trials. Eur J Clin Nutr. 1999;53:514–22.

30. Kodama S, Tanaka S, Saito K, Shu M, Sone Y, Onitake F, et al. Effect of aerobic exercise training on serum levels of high-density lipoprotein cholesterol: a meta-analysis. Arch Intern Med. 2007;167:999–1008.

31. Kelly RB. Diet and exercise in the management of hyperlipidemia. Am Fam Physician. 2010;81:1097–102.

32. Kelley GA, Kelley KS, Tran ZV. Walking and Non-HDL-C in adults: a meta-analysis of randomized controlled trials. Prev Cardiol. 2005;8:102–7.

33. Kitahara CM, Berrington de González A, Freedman ND, Huxley R, Mok Y, Jee SH, et al. Total cholesterol and cancer risk in a large prospective study in Korea. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2011;29:1592–8.

34. Pelton K, Freeman MR, Solomon KR. Cholesterol and Prostate Cancer. Curr Opin Pharmacol. 2012;12:751–9.

35. Platz EA, Till C, Goodman PJ, Parnes HL, Figg WD, Albanes D, et al. Men with low serum cholesterol have a lower risk of high-grade prostate cancer in the placebo arm of the prostate cancer prevention trial. Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol. 2009;18:2807–13.

36. Silvius JR. Role of cholesterol in lipid raft formation: lessons from lipid model systems. Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr. 2003;1610:174–83.

37. Simons K, Toomre D. Lipid rafts and signal transduction. Nat Rev Mol Cell Biol. 2000;1:31–9.

38. Jin S, Zhou F, Katirai F, Li P-L. Lipid Raft Redox Signaling: Molecular Mechanisms in Health and Disease. Antioxid Redox Signal. 2011;15:1043–83.

39. Freeman MR, Solomon KR. Cholesterol and prostate cancer. J Cell Biochem. 2004;91:54–69.

40. Zhuang L, Kim J, Adam RM, Solomon KR, Freeman MR. Cholesterol targeting alters lipid raft composition and cell survival in prostate cancer cells and xenografts. J Clin Invest. 2005;115:959–68.

41. Solomon KR, Freeman MR. The Complex Interplay Between Cholesterol and Prostate Malignancy. Urol Clin North Am. 2011;38:243–59.

42. Sun Y, Sukumaran P, Varma A, Derry S, Sahmoun AE, Singh BB. Cholesterol-induced activation of TRPM7 regulates cell proliferation, migration, and viability of human prostate cells. Biochim Biophys Acta BBA - Mol Cell Res. 2014;1843:1839–50.

43. Courtney KD, Corcoran RB, Engelman JA. The PI3K Pathway As Drug Target in Human Cancer. J Clin Oncol. 2010;28:1075–83.

44. Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. Science. 2002;296:1655–7.

45. Engelman JA, Luo J, Cantley LC. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. Nat Rev Genet. 2006;7:606–19.

46. Tzivion G, Dobson M, Ramakrishnan G. FoxO transcription factors; Regulation by AKT and 14-3-3 proteins. Biochim Biophys Acta BBA - Mol Cell Res. 2011;1813:1938–45.

47. Lynch BM. Sedentary Behavior and Cancer: A Systematic Review of the Literature and Proposed Biological Mechanisms. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2010;19:2691–709.

48. Shukla S, Bhaskaran N, Maclennan GT, Gupta S. Deregulation of FoxO3a accelerates prostate cancer progression in TRAMP mice. The Prostate. 2013;73:1507–17.

Etude expérimentale n°4 : L'exercice physique régulier potentialise les effets de la radiothérapie via la régulation des voies de signalisation Akt et ERK et de la voie apoptotique dans un modèle animal de tumeur prostatique humaine

Contexte scientifique de l'étude

L'exercice physique modéré et régulier fait désormais partie des moyens bien décrits pour réduire la sensation de fatigue et améliorer la qualité de vie des patients atteints de cancer dont le cancer de la prostate. Sa pratique est alors recommandée pendant et après le traitement, à raison de 30 minutes minimum par jour. Toutefois, les recommandations proposées aux patients, en terme de fréquence, intensité, durée, restent générales et ne prennent pas en compte le type de cancer, les traitements conventionnels, leur durée et le statut oxydant des patients. Aucune étude ne s'est interessée aux interactions potentielles entre l'exercice physique et la radiothérapie et leurs mécanismes associés.

Dans ce contexte, nous faisons l'hypothèse qu'une activité physique régulière peut moduler l'efficacité de la radiothérapie via la modulation de voies de signalisation notamment redox. Les objectifs de cette étude menée en collaboration avec l'équipe « Radiobiologie et ciblage de l'endothélium », CRCNA, INSERM U892 de Nantes sont : (a) de développer un modèle de souris Nude porteuses de tumeurs prostatiques humaines, (b) de déterminer les effets d'un exercice physique régulier de course combiné ou non à la radiothérapie sur l'évolution tumorale, et (c) d'identifier des voies de signalisation impliqués dans ces effets.

Matériels et méthodes

Pour atteindre ces objectifs, nous avons injecté en sous-cutanée $8x10^6$ cellules cancéreuses prostatiques humaines PPC1 à 50 souris Nude. Après formation de tumeurs solides, les souris ont été réparties en quatre groupes expérimentaux homogènes : contrôles, exercice de course sur tapis roulant, radiothérapie ou la combinaison des deux options. La croissance des tumeurs a été évaluée à l'aide d'un pied à coulisse et par scanner. Au terme du protocole, les souris ont été euthanasiées et sacrifiées puis les tumeurs, les muscles gastrocnémiens et le sang ont été prélevées. Une étude histologique, biochimique et moléculaire a débuté afin d'identifier les différents marqueurs du stress oxydant ainsi que les voies de prolifération et de mort.

Résumé des principaux résultats

Nous avons démontré que l'entrainement en course seul retarde la progression tumorale tout au long du protocole expérimental. La radiothérapie induit, quant à elle, un arrêt de la croissance tumorale suivi d'une régression des tumeurs. De plus, contrairement à notre hypothèse de départ, nous montrons que l'exercice physique régulier en endurance potentialise les effets des radiations ionisantes au sein du tissu cancéreux.

Nous rapportons au sein des tumeurs que l'exercice physique seul diminue l'expression de la forme phosphorylée d'ERK, une protéine au rôle majeur dans la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques. Cet effet est, cependant, inhibé lorsque les deux stratégies préventives sont combinées. Une inactivation de la cascade de signalisation Akt est également rapportée dans l'ensemble des groupes traités. D'autre part, il est observé une augmentation des effets pro-apoptotiques dans les groupes radiothérapies. Toutefois, cet effet est significatif seulement lorsque les radiations ionisantes sont combinées à l'exercice physique.

Conclusion

Dans cette étude, nous avons démontré que l'activité physique régulière réduit significativement la croissance tumorale prostatique, et ce, notamment via une inactivation des voies de signalisation ERK et Akt. La radiothérapie a induit un arrêt de la progression tumorale puis une régression de la taille des tumeurs via une down-régulation de la cascade Akt et une up-régulation de l'apoptose. De plus, l'exercice physique pourrait potentialiser les effets des radiations ionisantes. Au sein de cette étude, nous montrons pour la première fois l'importance de l'exercice physique comme stratégie complémentaire à la radiothérapie dans le traitement du cancer de la prostate, en plus des effets bénéfiques connus sur la qualité de vie des patients.

L'article suivant, écrit en français, regroupe les premières données obtenues. Le protocole expérimental venant de se terminer, l'analyse des mécanismes moléculaires impliquée dans les effets bénéfiques et préventifs observés sont actuellement en cours de réalisation et pourront moduler l'axe principal de la publication finale.

Exercise training prevents human prostate tumor progression and enhances the efficacy of ionizing radiation in animal prostate cancer model.

Running title: Physical activity, radiotherapy and prostate cancer.

Authors : Gueritat J[1], Chiavassa S[2], Noblet C[2], Assi M[1], Lefeuvre-Orfila L[1], Paris F[2] and Rebillard A[1]

[1] *EA 1274, Laboratoire "Mouvement, Sport, Santé", Université de Rennes 2-ENS Rennes ; Bruz, France*

[2] *Inserm UMR892, Centre de Recherche en Cancérologie Nantes-Angers, Nantes, France*

Author's correspondence:

Jordan Guéritat

EA 1274, Laboratoire « Mouvement, Sport, Santé »

Université Rennes 2-ENS Rennes

Campus de Ker Lann, Avenue Robert Schuman

35170 Bruz, France

Tel : + 33(0)290091587

E-mail: jordan.gueritat@gmail.com

Keywords: prostate cancer, physical exercise, radiotherapy, signaling pathways

Introduction

L'activité physique modérée et régulière fait désormais partie des moyens bien décrits pour réduire les symptômes liés à la pathologie et aux traitements, et ce, afin d'améliorer la qualité de vie des patients atteints de cancer incluant le cancer de la prostate [1–4]. Son efficacité est établie et sa pratique recommandée pendant et après le traitement, *The American Cancer Activity* préconise au minimum 150 min d'exercice physique aérobie régulier d'intensité modérée par semaine en incluant au moins deux jours par semaine des exercices de renforcement musculaire [5]. Il a récemment été montré qu'un homme atteint d'une tumeur prostatique (Gleason < 7) marchant 7h/semaine ou plus réduit de 67% le risque de progression de son adénocarcinome comparé à un patient marchant moins de 30 min par semaine [6]. Un étude de cohorte américaine rapporte également chez des hommes atteints de cancer de la prostate qu'une pratique d'activité physique régulière après le diagnostic est associée à une diminution du risque de mortalité spécifique au cancer mais aussi globale [7].

Aujourd'hui, les guides de recommandations en activité physique pour les patients atteints d'un cancer de la prostate indiquent qu'une interaction entre les traitements anticancéreux et les programmes d'exercice semble « peu probable ». Bien que des études se soient intéressées aux effets de l'exercice physique sur l'aspect symptomatique, aucune étude ne montre encore l'impact d'un tel programme d'activité physique sur la progression tumorale notamment prostatique.

Monga et collaborateurs montrent qu'un exercice de marche de 30 minutes sur tapis roulant améliore significativement le bien-être physique, moral, social et fonctionnel des patients sous radiothérapie *versus* ceux n'ayant pas adhéré au programme d'activité [8]. Chez des patients atteints d'un adénocarcinome prostatique localisé sous radiothérapie, un exercice de 30 min de marche au moins trois jours/semaine à 60-70% de la FC-max durant le traitement permet de prévenir l'augmentation de la fatigue liée au traitement *versus* le groupe contrôle. De plus, après quatre semaines de radiothérapie et d'exercice de marche, les patients ont amélioré significativement leur fonction physiologique de 13,2% [9]. A court terme, les exercices de résistance et d'endurance préviennent la fatigue chez des hommes atteints d'un cancer de la prostate sous radiothérapie. Toutefois, seul l'entrainement en renforcement musculaire permet de maintenir ces bénéfices sur le long terme. Au-delà de la fatigue, les exercices de résistance ont permis l'amélioration de la qualité de vie, de la force musculaire, des triglycérides et du pourcentage de masse grasse chez ces patients [10].

Outre le fait de limiter les effets indésirables liés à la pathologie et aux traitements, il semble

important d'identifier les effets de l'exercice physique régulier combiné à la radiothérapie sur la progression tumorale prostatique.

En effet, le principal effet de l'irradiation est la radiolyse de l'eau, conduisant à la production d'ERO (telles que $O_2^{\cdot-}$ et $^{\cdot}OH$) et à la génération d'un stress oxydant [11,12] qui peut induire la mort des cellules cancéreuses par apoptose. Le stress oxydant est défini comme étant « un déséquilibre de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers, conduisant à une perturbation du contrôle et de la signalisation redox des cellules et/ou à des dommages moléculaires » [13]. En conditions physiologiques « normales », les espèces pro-oxydantes constituées principalement par les ERO sont maintenues à un faible taux par le système de défense antioxydant qui est chargé de les neutraliser. Celui-ci est constitué d'enzymes et de composés non-enzymatiques, majoritairement apportés par notre alimentation. Une activité physique régulière et modérée permet de générer des ERO [14] capables d'engendrer des réponses adaptatives selon la théorie de l'hormesis et ainsi augmenter les défenses antioxydantes de l'organisme, principalement systémiques mais aussi tissulaires [15–19]. Il est donc possible de définir l'exercice physique comme étant une activité biologique régulatrice de l'homéostasie redox cellulaire, tissulaire, organique, exigeant une adaptation à long terme pour faire face à un potentiel stress. Ainsi, la combinaison d'un traitement à fort potentiel oxydant comme la radiothérapie et de l'activité physique aux propriétés antioxydantes soulève de fait une question : **l'activité physique module t'elle l'efficacité de la radiothérapie ?**

Notre problématique est de déterminer l'impact d'une activité physique régulière sur l'efficacité de la radiothérapie dans un modèle animal de cancer de la prostate humain. Ainsi, les objectifs de notre projet sont (a) la mise en place d'un modèle de rats porteurs de tumeurs prostatiques (b) l'étude des effets d'un exercice physique combiné ou non à la radiothérapie sur l'évolution tumorale (c) l'identification des voies de signalisation dans ces effets.

Matériels et méthodes

Pour atteindre ces objectifs, nous avons injecté en sous-cutanée $8x10^6$ cellules cancéreuses prostatiques humaines PPC1 sur le flanc gauche de 40 souris mâles Nude âgées de 5 à 7 semaines. Un groupe contrôle avec 10 souris mâles Nude ayant reçu une injection de sérum physiologique en sous-cutanée sur le flanc gauche. Les souris porteuses d'une tumeur prostatique humaine sont réparties en quatre groupes homogènes à la suite d'un scanner (XRAD 225CX, CRCNA, Nantes) réalisé 5 jours après inoculation (Figure25) :

- Groupe « cancer » : les 10 souris sont porteuses de tumeurs cancéreuses prostatiques,
- Groupe « Cancer entrainé » : les 10 souris sont porteuses de tumeurs cancéreuses prostatiques sous-cutanées et courent sur un tapis roulant à environ 70% VMA (Vitesse Maximale Aérobie) 5 jours par semaine pendant 3 semaines (18 m/min pendant 1h à la fin du protocole). Une semaine d'acclimatation au tapis précède cet entrainement (5 m/min pendant 15 min/jour).
- Groupe « Cancer radiothérapie » : les 10 souris sont porteuses de tumeurs cancéreuses prostatiques sous-cutanées et reçoivent une radiothérapie fractionnée de 20 gray [Cheng2013], à raison 4 séances de 5 grays (XRAD 225CX, CRCNA, Nantes). Avant l'irradiation, les souris sont anesthésiées avec 3% halothane dans 100% oxygène. L'irradiation multifaisceaux par rotation autour de l'animal couplée à un ciblage précis des faisceaux ionisants (collimateurs) permet une meilleure répartition de la dose de radiations ionisantes tout en minimisant la toxicité sur les tissus sains. Le XRAD 225CX possède un système d'imagerie embarquée et un logiciel de calcul de dose qui favorisent le ciblage de la tumeur ainsi que la reproductibilité de l'irradiation.
- Groupe « Cancer entrainé radiothérapie » : les 10 souris, porteuses de tumeurs cancéreuses prostatiques sous-cutanées, courent sur tapis roulant et reçoivent une radiothérapie fractionnée comme décrit ci-dessus.

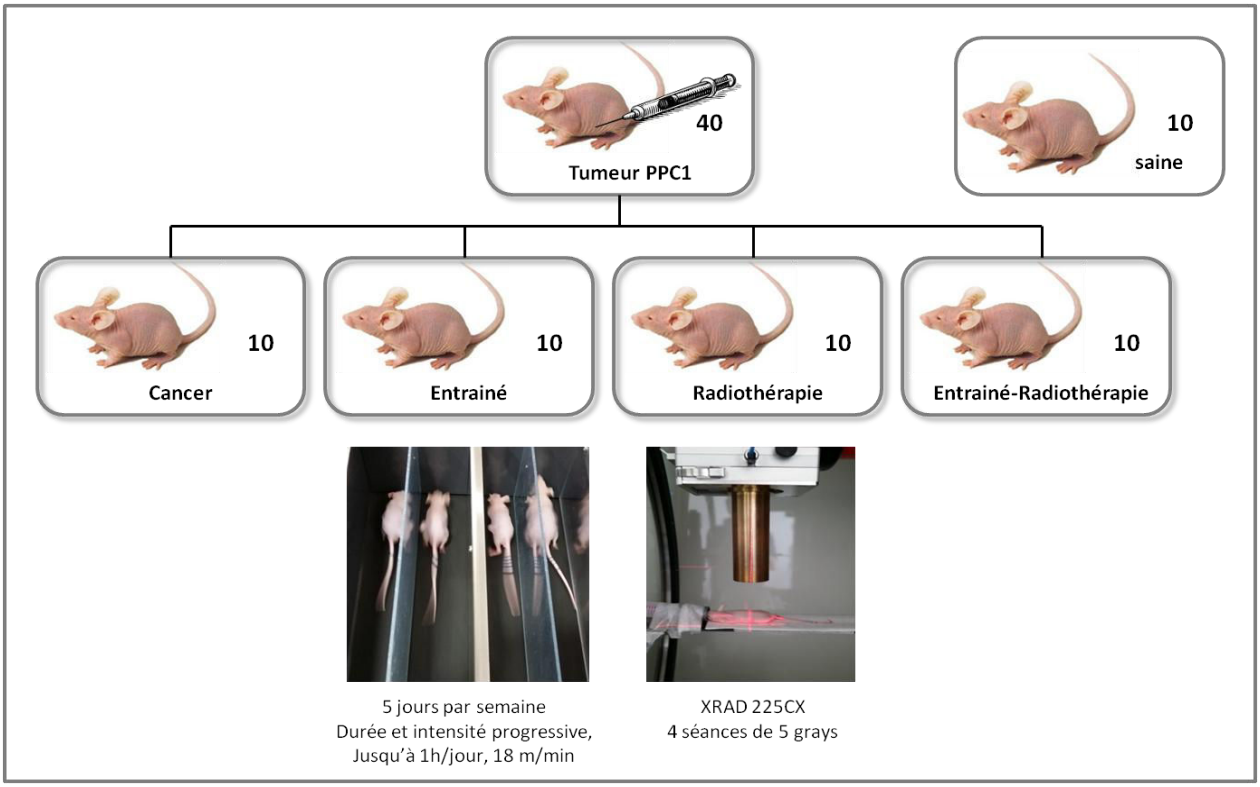

Figure 25. Répartition des animaux dans les différents groupes.

La croissance tumorale est évaluée au début et à la fin du protocole soit respectivement à J5 et J24 à l'aide du scanner fourni avec l'irradiateur. Les tailles des tumeurs sont mesurées quotidiennement à l'aide d'un pied à coulisse numérique. A la fin des différents traitements, les souris sont anesthésiées puis sacrifiées. Nous avons procédé à un prélèvement sanguin d'environ 1 ml au niveau de la veine cave inférieure. Le sang est recueilli afin d'obtenir du plasma. La tumeur de chaque animal est réséquée puis congelée. Enfin, les poumons (cible des métastases), les muscles gastrocnémiens sont prélevés, pesés puis congelés dans l'attente des analyses.

Résultats

Le protocole expérimental vient de se terminer et nous avons obtenu les premières données de cette étude. Les 40 souris Nude porteuses de tumeurs PPC1 sont caractérisées par une perte de leur poids total *versus* les souris contrôles. Les trois traitements proposés (l'entrainement, la radiothérapie et les deux combinés) semblent réduire le poids des souris à J13, reflétant probablement un stress associé au début des irradiations et de l'entrainement. Toutefois, cet effet disparait au fur et à mesure du temps. Toutefois, les souris porteuses d'une tumeur et traitées ont un poids comparable aux poids des souris cancer à la fin du protocole, signe que des adaptations ont pu se mettre en place.

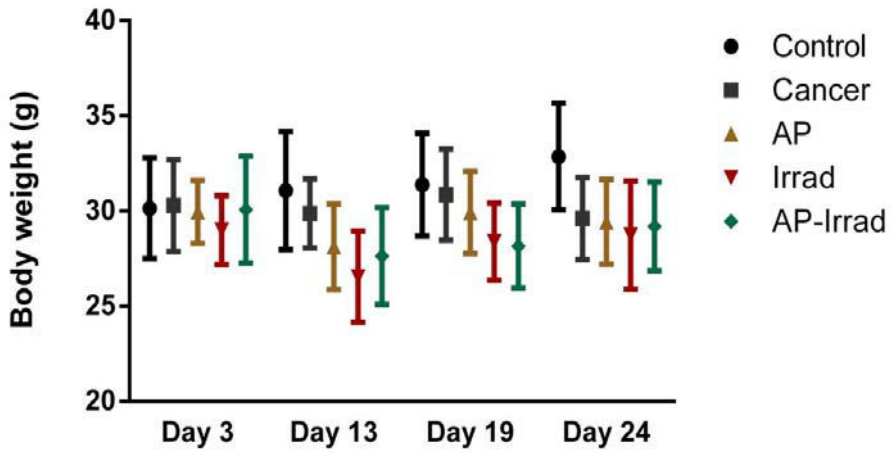

Figure 26. Mesure du poids corporel des souris issues des différents groupes.

Comme montré dans la figure 27, l'exercice physique seul retarde la progression tumorale tout au long du protocole expérimental, toutefois, ce traitement *versus* le groupe cancer présente un effet significatif seulement à partir de J24 (173,57 ± 82,60 mm^3 *vs* 275,84 ± 96,34 mm^3, p=0,026). Concernant la radiothérapie, nous notons un arrêt de la croissance tumorale dès la troisième séance de radiation. A partir de J14, la taille de la tumeur a commencé à régresser et une différence significative a été observé entre le groupe radiation et cancer dès J19 (125,54 ± 38,63 mm^3 *vs* 227,47 ± 93,39 mm^3, p=0,010) et n'a cessé de s'accroitre jusqu'à la fin du protocole J24 (94,15 ± 39,21 mm^3, p<0,001). La combinaison de l'exercice physique et de la radiothérapie inhibe significativement la progression tumorale dès J17 *versus* le groupe cancer (126,13 ± 43.99 mm^3 *vs* 199,14 ± 73,50 mm^3, p=0,013). Pendant toute la poursuite du protocole, nous démontrons un effet potentialisé des deux stratégies conduisant à une régression significative de la croissance tumorale *versus* les groupes cancer et AP (à J24, p<0.001). La différence entre le groupe radiothérapie et AP-radiothérapie est significatif seulement à partir de J21 (108,49 ± 34,72 mm^3 *vs* 72,12 ± 27,84 mm^3, p=0,029). Par cette mesure des tumeurs, au décours du protocole, nous rapportons que l'exercice physique régulier de course ralentit la progression tumorale prostatique humaine et que la radiothérapie permet une inhibition et une régression de la tumeur à partir de la quatrième séance de radiation soit J17. Pour finir, nous montrons que ces effets bénéfiques sur l'évolution tumorale sont observés dès la troisième séance de radiation pour le groupe AP-radiothérapie J14. L'exercice physique de course sur tapis roulant semble donc potentialiser les effets de la radiothérapie.

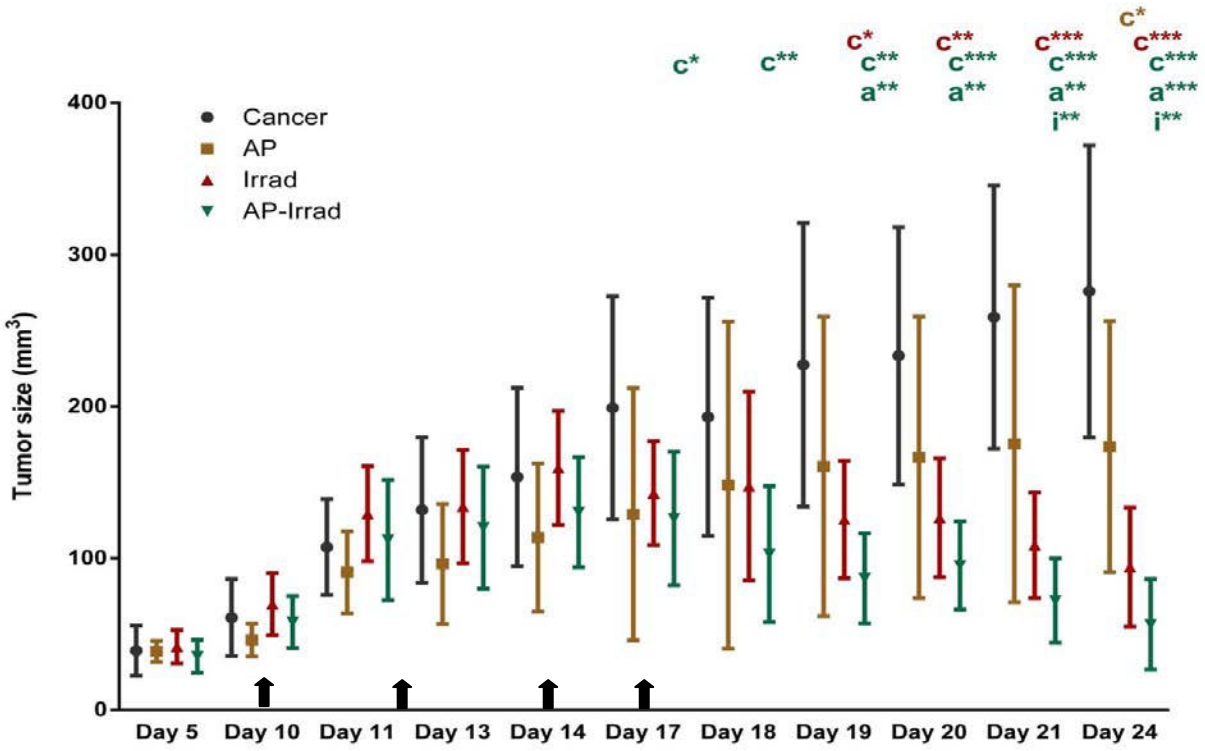

Figure 27. Evolution de la taille tumorale en réponse aux différents traitements.
(c *vs* cancer, a *vs* entrainé et i *vs* radiothérapie avec *, p<0.05 ; **, p<0.01 et ***, p<0.001)

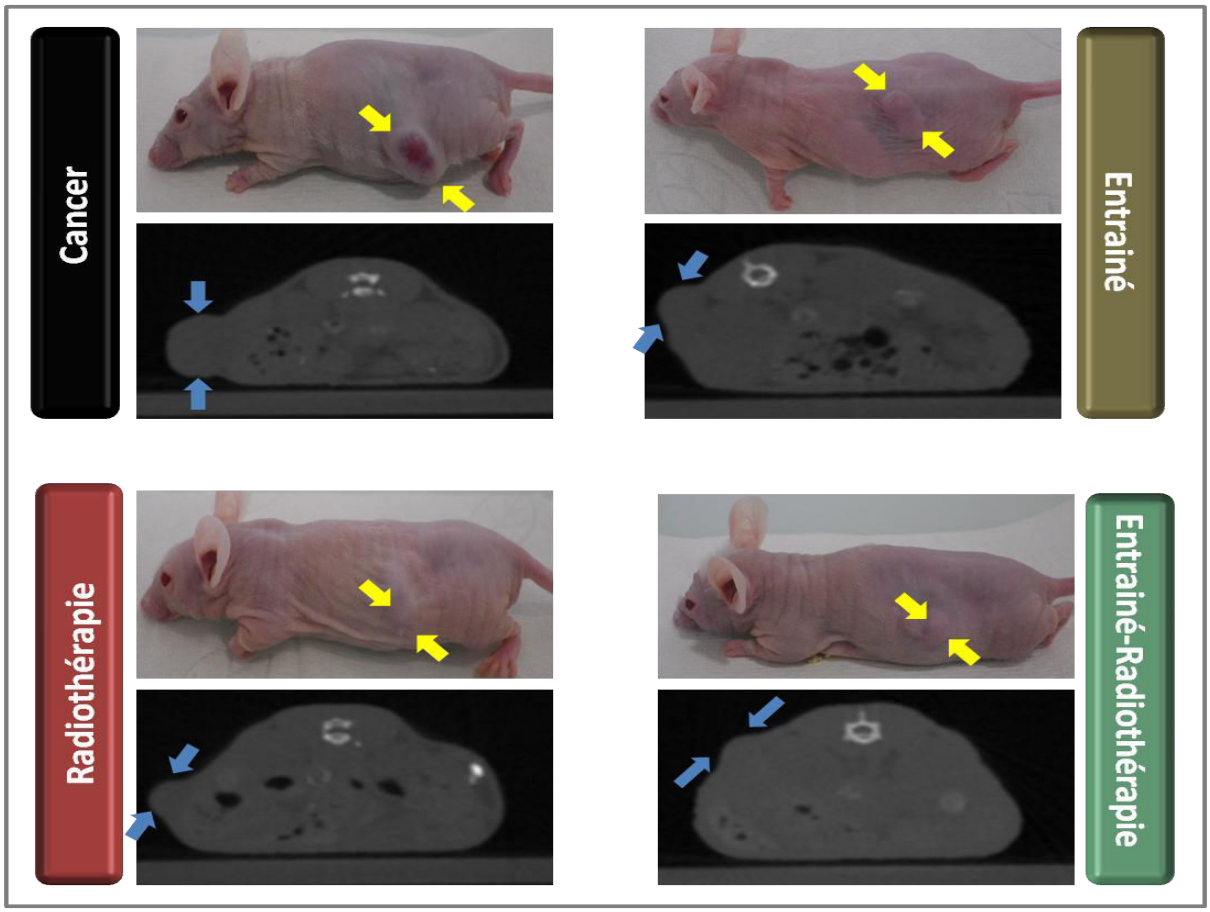

Figure 28. Photos et scanners des souris Nude le jour du sacrifice.

La taille des tumeurs obtenues via l'analyse des scanners à J24 conforte les précédentes données (Figure 28). Au sein de notre modèle animal, l'exercice physique seul ou l'irradiation seule diminue la taille de la tumeur *versus* le groupe cancer. L'association des deux stratégies augmente cet effet bénéfique sur la tumeur puisque la taille est plus petite que lorsque les traitements sont isolés. Ceci nous a d'ailleurs conduits à arrêter plus précocement le protocole car les tumeurs prostatiques réduisaient à une vitesse qui aurait pu empêcher la réalisation d'expériences de biologie moléculaire.

Une dernière donnée concernant l'évolution des tumeurs a été obtenue par le biais de la pesée des tumeurs réséquées (Figure 29). Comme précédemment, nous montrons que le poids des tumeurs prostatiques humaines PPC1 est significativement plus faible dans les groupes entrainés ($p<0,05$) et radiothérapie ($p<0.001$) *versus* le groupe cancer (0,24 ± 0.07 g et 0,14 ± 0,07 g *vs* 0,36 ± 0,13 g). L'association de l'exercice physique avec les radiations augmente significativement les bénéfices puisque le poids des tumeurs est plus petit que lorsque les traitements sont isolés (0,09 ± 0,05 g, $p<0.001$). Nous montrons également que la radiothérapie couplée ou non à l'entrainement en course induit un effet bénéfique significativement majoré *versus* l'exercice physique seul.

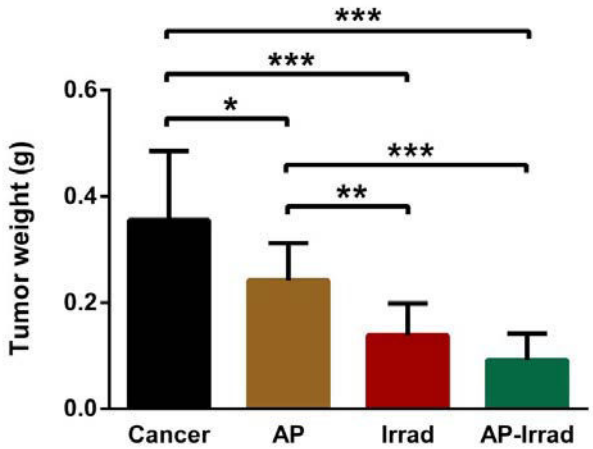

Figure 29. Mesure du poids des tumeurs prostatiques en fonction des traitements.

Au vu de ces précédents résultats, nous nous sommes intéressés aux mécanismes moléculaires pouvant expliquer les effets bénéfiques de l'activité physique combiné ou non à la radiothérapie sur le cancer de la prostate. Dans un premier temps, une étude des voies de signalisation redox-dépendantes a été réalisée. Elle devra être complétée par une analyse du statut redox au sein des tumeurs prostatiques. Nous montrons que l'exercice physique inhibe la phosphorylation de ERK, une protéine largement décrite pour son implication dans la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques, comparé au groupe cancer (respectivement, 51 ± 17% *vs* 100 ± 34%, $p<0.01$). La combinaison de l'activité physique régulière et la radiothérapie prévient cet effet (99 ± 45%). Nous

notons également que l'ensemble des traitements mis en place tend à bloquer la phosphorylation d'Akt, une protéine impliquée dans la croissance et la survie des cellules tumorales prostatiques. Seuls les traitements comprenant l'exercice physique inhibent significativement l'activation de Akt *versus* le groupe cancer (AP : 51 ± 13%, $p<0.01$ et AP-Irrad : 55 ± 10%, $p<0.05$ *vs* cancer : 100 ± 48%). D'autre part, nous nous sommes également intéressés à des protéines impliquées dans le déroulement de l'apoptose. Une augmentation de l'expression de la caspase 3 active, une protéine pro-apoptotique, est observée dans les groupes radiothérapie et AP-radiothérapie. Cet effet est, cependant, significatif seulement lorsque les deux stratégies sont combinées. L'exercice physique seul ne module pas l'expression de la caspase 3 active. Nous montrons également une modulation de l'expression de certaines protéines appartenant à la famille Bcl-2 dans les groupes radiothérapie avec une down-régulation significative de Bcl-2 *versus* le groupe cancer et une tendance à l'augmentation de Bax.

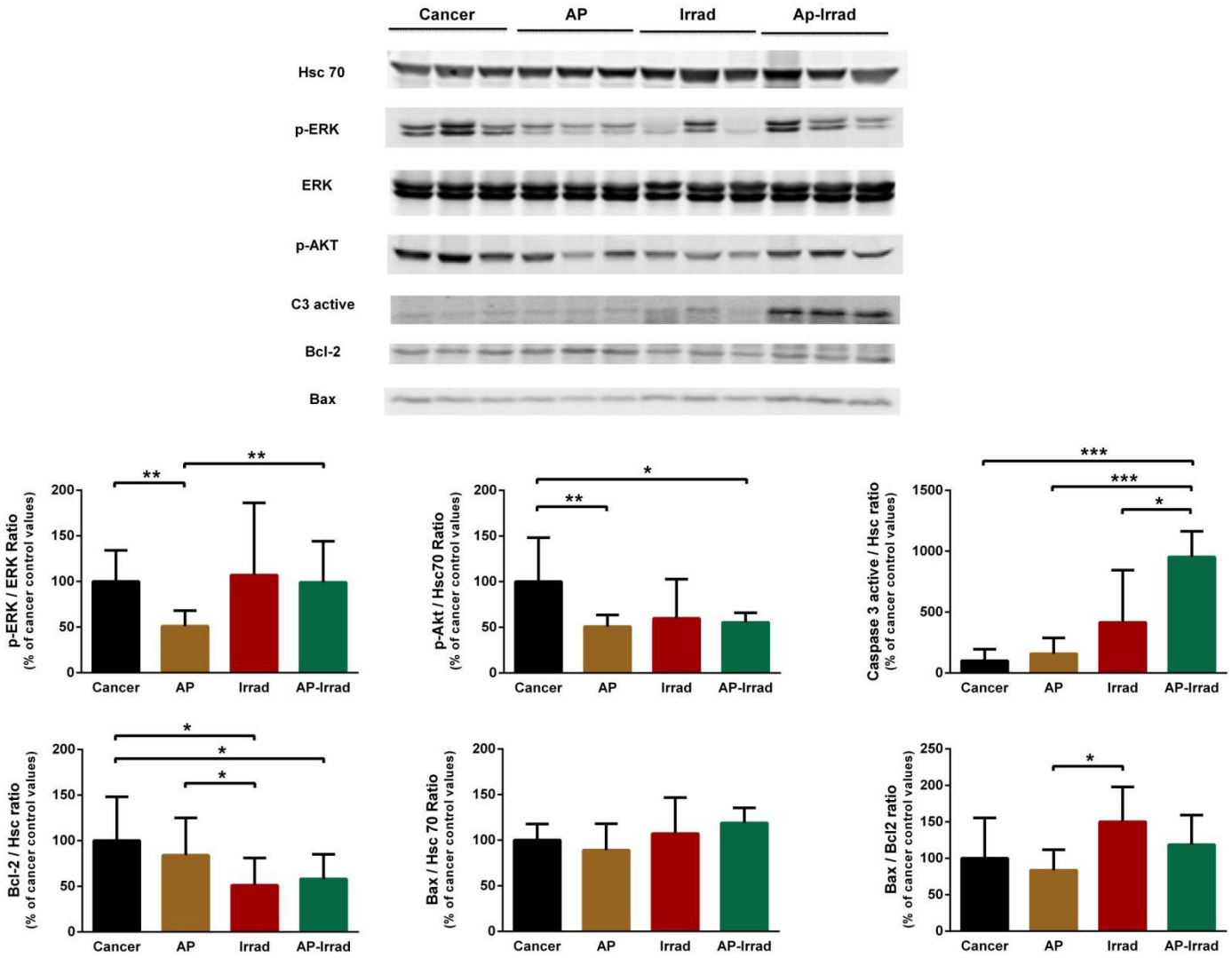

Figure 30. Effets de l'exercice et de la radiothérapie combinés ou non sur la régulation de certaines voies de signalisation au sein du tissu tumoral prostatique.

Discussion

Les premiers résultats de cette étude, fort encourageants pour la suite, démontrent que l'exercice physique régulier de course retarde la croissance tumorale des cellules cancéreuses prostatiques humaine PPC1 dans notre modèle, et ce, notamment via l'inhibition de la phosphorylation des protéines ERK et Akt induite par l'exercice physique seul. La radiothérapie a la capacité d'une part de bloquer la progression tumorale et d'autre part d'induire une régression de la tumeur après une irradiation fractionnée et localisée de 20 Gry. Les effets bénéfiques induits par ce traitement thérapeutique curatif sont notamment associés à une inactivation de la voie Akt et une régulation positive de l'expression de protéines apoptotiques au sein du tissu tumoral. Notre équipe est la première à montrer que l'exercice physique potentialise les effets de la radiothérapie au niveau des cellules cancéreuses prostatiques.

Le modèle animal de xénogreffes de cancer de la prostate humain développé pour cette étude permet de conforter des précédents résultats obtenus *in vitro* et au sein d'un modèle de cancer murin [20]. La présente étude confirme que la pratique régulière d'une activité physique modérée prévient l'évolution du cancer de la prostate. Des études épidémiologiques, *in vitro* et *in vivo* rapportent que l'exercice physique ralentit la carcinogenèse prostatique, les métastases et l'angiogenèse en fonction de l'intensité, de la fréquence et de la durée de l'exercice physique [7,21–24]. De plus, nous montrons de nouveau que l'entrainement en endurance inhibe significativement les voies de signalisation ERK et Akt. Ces dernières sont largement connues pour être suractivée dans le cancer de la prostate et être associée à une prolifération cellulaire incontrôlée, ainsi qu'à une diminution de l'apoptose [25–31]. Les voies de signalisation ERK et Akt sont donc impliquées dans la progression du cancer de la prostate, en favorisant notamment le passage d'une forme androgéno-dépendante vers une forme androgéno-indépendante du cancer [29,32,33]. De nombreuses études suggèrent que l'activité physique régulière pourrait moduler l'évolution de la tumorigenèse prostatique via la régulation des deux cascades de signalisation MAPK et PI3K/Akt [22,34,35]. Soliman et collaborateurs retrouvent ces résultats et évoquent également la probable implication du stress oxydant dans la prolifération cellulaire [36], tout comme la revue de question publiée par notre équipe [24].

L'exercice physique régulier pourrait moduler la progression du cancer de la prostate via une réponse adaptative au stress oxydant. Une activité physique régulière et modérée permet de générer des ERO [14,37] capables d'engendrer des adaptations [15] et ainsi augmenter les défenses antioxydantes et les enzymes de réparation des dommages oxydatifs de l'organisme, principalement systémiques mais aussi tissulaires [16,24]. Notre équipe a récemment montré qu'un entrainement en course module

l'évolution tumorale prostatique en augmentant les enzymes antioxydantes au sein de la tumeur prostatique [20].

A l'heure actuelle, plusieurs études traitant du lien entre antioxydants exogènes et radiothérapie pointent une controverse. L'utilisation d'une supplémentation en antioxydants isolés au-delà du seuil recommandé pour la santé est déconseillée pendant et après traitement aux patients atteints d'un cancer [5,38,39]. Une supplémentation en antioxydant peut avoir un double effet : soit limiter les effets secondaires associés aux traitements conventionnels en protégeant les cellules saines du stress oxydant induit, soit protéger les cellules tumorales comme les cellules saines des dommages oxydatifs générés par la radiothérapie [40,41]. Bien que des études montrent le rôle bénéfique de l'exercice physique sur les effets indésirables liés à la pathologie et aux traitements [8–10], il semble important d'identifier les effets de l'exercice physique régulier, aux propriétés antioxydantes, combiné à la radiothérapie, un traitement à fort potentiel oxydant, sur la progression tumorale prostatique. Contrairement à notre hypothèse de départ, nous montrons que l'exercice physique potentialise les effets de la radiothérapie, en augmentant l'inactivation de la voie de signalisation Akt et en up-régulant les processus apoptotiques. Une analyse du statut antioxydant au sein des tumeurs prostatiques et du sang est actuellement en cours de réalisation afin d'identifier des mécanismes moléculaires redox-sensibles à l'origine de la radio-sensibilisation des cellules tumorales induites par l'exercice physique.

D'autre part, nous suggérons qu'une activité physique régulière combinée à la radiothérapie puisse conduire à une modulation des radeaux lipidiques enrichis en céramide, impliqués dans la promotion de l'apoptose. De récentes études rapportent que la résistance des cellules cancéreuses prostatiques aux radiations est associée à l'activation de l'acide céramidase, une hydrolase impliquée dans la dégradation des céramides, et de l'inactivation des sphingomyélinases acide, une hydrolase conduisant à la biosynthèse des céramides, engendrant notamment une diminution des niveaux de la caspase 3 active [42–45]. De plus, quelques rares études montrent que l'exercice physique aérobie pourrait augmenter le contenu en céramide via une up-régulation des sphingomyélinases acide et une inhibition de l'activité des acides céramidases [46,47]. Dans cette étude, nous faisons l'hypothèse que l'exercice physique combiné à la radiothérapie pourrait moduler positivement les radeaux lipidiques enrichie en céramides, ce qui induirait l'augmentation de l'apoptose radio-induite observée au sein des tumeurs. Ceci pourrait donc expliquer pourquoi la régression tumorale prostatique est majorée lorsque les deux stratégies sont associées.

En conclusion, nous montrons dès lors que l'exercice physique représente une option thérapeutique très intéressante et peu coûteuse en complément des traitements conventionnels par radiothérapie. L'originalité de ce projet est de montrer que l'activité physique régulière, en plein essor dans la prise en charge des patients, permet de potentialiser les effets de la radiothérapie. L'exercice physique induit donc des bénéfices sur la qualité de vie des personnes atteintes d'un cancer de la prostate et permettrait également de limiter les phénomènes de résistance induits par les radiations ionisantes. Il semble donc intéressant de favoriser la pratique d'un exercice physique adapté au décours des séances de radiothérapie. Toutefois, il apparait légitime de devoir cartographier le statut pro/antioxydant des patients avant et pendant le traitement, afin d'optimiser la période pendant laquelle l'activité physique peut être envisagée.

Références

[1] Lee CE, Kilgour A, Lau YKJ. Efficacy of walking exercise in promoting cognitive-psychosocial functions in men with prostate cancer receiving androgen deprivation therapy. BMC Cancer 2012;12:324. doi:10.1186/1471-2407-12-324.

[2] Mishra SI, Scherer RW, Snyder C, Geigle PM, Berlanstein DR, Topaloglu O. Exercise interventions on health-related quality of life for people with cancer during active treatment. Cochrane Database Syst Rev 2012;8:CD008465. doi:10.1002/14651858.CD008465.pub2.

[3] Hvid T, Winding K, Rinnov A, Dejgaard T, Thomsen C, Iversen P, et al. Endurance training improves insulin sensitivity and body composition in prostate cancer patients treated with androgen deprivation therapy. Endocr Relat Cancer 2013;20:621–32. doi:10.1530/ERC-12-0393.

[4] Gardner JR, Livingston PM, Fraser SF. Effects of exercise on treatment-related adverse effects for patients with prostate cancer receiving androgen-deprivation therapy: a systematic review. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol 2014;32:335–46. doi:10.1200/JCO.2013.49.5523.

[5] Rock CL, Doyle C, Demark-Wahnefried W, Meyerhardt J, Courneya KS, Schwartz AL, et al. Nutrition and physical activity guidelines for cancer survivors. CA Cancer J Clin 2012;62:242–74. doi:10.3322/caac.21142.

[6] Richman EL, Kenfield SA, Stampfer MJ, Paciorek A, Carroll PR, Chan JM. Physical activity after diagnosis and risk of prostate cancer progression: data from the Cancer of the Prostate Strategic Urologic Research Endeavor. Cancer Res 2011;71:3889–95. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-3932.

[7] Kenfield SA, Stampfer MJ, Giovannucci E, Chan JM. Physical Activity and Survival After Prostate Cancer Diagnosis in the Health Professionals Follow-Up Study. J Clin Oncol 2011;29:726–32. doi:10.1200/JCO.2010.31.5226.

[8] Monga U, Garber SL, Thornby J, Vallbona C, Kerrigan AJ, Monga TN, et al. Exercise prevents fatigue and improves quality of life in prostate cancer patients undergoing radiotherapy. Arch Phys Med Rehabil 2007;88:1416–22. doi:10.1016/j.apmr.2007.08.110.

[9] Windsor PM, Nicol KF, Potter J. A randomized, controlled trial of aerobic exercise for treatment-related fatigue in men receiving radical external beam radiotherapy for localized prostate carcinoma. Cancer 2004;101:550–7. doi:10.1002/cncr.20378.

[10] Segal RJ, Reid RD, Courneya KS, Sigal RJ, Kenny GP, Prud'Homme DG, et al. Randomized controlled trial of resistance or aerobic exercise in men receiving radiation therapy for prostate cancer. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol 2009;27:344–51. doi:10.1200/JCO.2007.15.4963.

[11] Leach JK, Van Tuyle G, Lin PS, Schmidt-Ullrich R, Mikkelsen RB. Ionizing radiation-induced, mitochondria-dependent generation of reactive oxygen/nitrogen. Cancer Res 2001;61:3894–901.

[12] Mikkelsen RB, Wardman P. Biological chemistry of reactive oxygen and nitrogen and radiation-induced signal transduction mechanisms. Oncogene 2003;22:5734–54. doi:10.1038/sj.onc.1206663.

[13] Sies H. Biological redox systems and oxidative stress. Cell Mol Life Sci CMLS 2007;64:2181–8. doi:10.1007/s00018-007-7230-8.

[14] Ashton T, Rowlands CC, Jones E, Young IS, Jackson SK, Davies B, et al. Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. Eur J Appl Physiol 1998;77:498–502.

[15] Venditti P, Masullo P, Di Meo S. Effect of Training on H2O2 Release by Mitochondria from Rat Skeletal Muscle. Arch Biochem Biophys 1999;372:315–20. doi:10.1006/abbi.1999.1494.

[16] Miyazaki H, Oh-ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S, et al. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. Eur J Appl Physiol 2001;84:1–6. doi:10.1007/s004210000342.

[17] Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S. Exercise, oxidative stress and hormesis. Ageing Res Rev 2008;7:34–42. doi:10.1016/j.arr.2007.04.004.

[18] Gomez-Cabrera M-C, Domenech E, Viña J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. Free Radic Biol Med 2008;44:126–31. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.001.

[19] Ji LL. Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: Role of redox signaling. Free Radic Biol Med 2008;44:142–52. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.031.

[20] Gueritat J, Lefeuvre-Orfila L, Vincent S, Cretual A, Ravanat J-L, Gratas-Delamarche A, et al. Exercise training combined with antioxidant supplementation prevents the antiproliferative activity

of their single treatment in prostate cancer through inhibition of redox adaptation. Free Radic Biol Med 2014;77:95–105. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2014.09.009.

[21] Tymchuk CN, Barnard RJ, Heber D, Aronson WJ. Evidence of an inhibitory effect of diet and exercise on prostate cancer cell growth. J Urol 2001;166:1185–9.

[22] Barnard RJ, Leung PS, Aronson WJ, Cohen P, Golding LA. A mechanism to explain how regular exercise might reduce the risk for clinical prostate cancer. Eur J Cancer Prev Off J Eur Cancer Prev Organ ECP 2007;16:415–21. doi:10.1097/01.cej.0000243851.66985.e4.

[23] Esser KA, Harpole CE, Prins GS, Diamond AM. Physical activity reduces prostate carcinogenesis in a transgenic model. The Prostate 2009;69:1372–7. doi:10.1002/pros.20987.

[24] Rebillard A, Lefeuvre-Orfila L, Gueritat J, Cillard J. Prostate cancer and physical activity: adaptive response to oxidative stress. Free Radic Biol Med 2013;60:115–24. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.009.

[25] Gioeli D, Mandell JW, Petroni GR, Frierson HF Jr, Weber MJ. Activation of mitogen-activated protein kinase associated with prostate cancer progression. Cancer Res 1999;59:279–84.

[26] Royuela M, Arenas MI, Bethencourt FR, Sánchez-Chapado M, Fraile B, Paniagua R. Regulation of proliferation/apoptosis equilibrium by mitogen-activated protein kinases in normal, hyperplastic, and carcinomatous human prostate. Hum Pathol 2002;33:299–306.

[27] Malik SN, Brattain M, Ghosh PM, Troyer DA, Prihoda T, Bedolla R, et al. Immunohistochemical Demonstration of Phospho-Akt in High Gleason Grade Prostate Cancer. Clin Cancer Res 2002;8:1168–71.

[28] Li L, Ittmann MM, Ayala G, Tsai M-J, Amato RJ, Wheeler TM, et al. The emerging role of the PI3-K-Akt pathway in prostate cancer progression. Prostate Cancer Prostatic Dis 2005;8:108–18. doi:10.1038/sj.pcan.4500776.

[29] Kinkade CW, Castillo-Martin M, Puzio-Kuter A, Yan J, Foster TH, Gao H, et al. Targeting AKT/mTOR and ERK MAPK signaling inhibits hormone-refractory prostate cancer in a preclinical mouse model. J Clin Invest 2008. doi:10.1172/JCI34764.

[30] Shen MM, Abate-Shen C. Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. Genes Dev 2010;24:1967–2000. doi:10.1101/gad.1965810.

[31] Edlind MP, Hsieh AC. PI3K-AKT-mTOR signaling in prostate cancer progression and androgen deprivation therapy resistance. Asian J Androl 2014;16:378–86. doi:10.4103/1008-682X.122876.

[32] Gao H, Ouyang X, Banach-Petrosky WA, Gerald WL, Shen MM, Abate-Shen C. Combinatorial activities of Akt and B-Raf/Erk signaling in a mouse model of androgen-independent prostate cancer. Proc Natl Acad Sci U S A 2006;103:14477–82. doi:10.1073/pnas.0606836103.

[33] Mulholland DJ, Kobayashi N, Ruscetti M, Zhi A, Tran LM, Huang J, et al. Pten loss and RAS/MAPK activation cooperate to promote EMT and metastasis initiated from prostate cancer stem/progenitor cells. Cancer Res 2012;72:1878–89. doi:10.1158/0008-5472.CAN-11-3132.

[34] Leung P-S, Aronson WJ, Ngo TH, Golding LA, Barnard RJ. Exercise alters the IGF axis in vivo and increases p53 protein in prostate tumor cells in vitro. J Appl Physiol Bethesda Md 1985 2004;96:450–4. doi:10.1152/japplphysiol.00871.2003.

[35] Yin D, Tamaki N, Parent AD, Zhang JH. Insulin-like growth factor-I decreased etoposide-induced apoptosis in glioma cells by increasing bcl-2 expression and decreasing CPP32 activity. Neurol Res 2005;27:27–35. doi:10.1179/016164105X18151.

[36] Soliman S, Aronson WJ, Barnard RJ. Analyzing serum-stimulated prostate cancer cell lines after low-fat, high-fiber diet and exercise intervention. Evid-Based Complement Altern Med ECAM 2011;2011:529053. doi:10.1093/ecam/nep031.

[37] Groussard C, Rannou-Bekono F, Machefer G, Chevanne M, Vincent S, Sergent O, et al. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. Eur J Appl Physiol 2003;89:14–20. doi:10.1007/s00421-002-0767-1.

[38] Borek C. Antioxidants and Radiation Therapy. J Nutr 2004;134:3207S – 3209S.

[39] Moss RW. Do Antioxidants Interfere With Radiation Therapy for Cancer? Integr Cancer Ther 2007;6:281–92. doi:10.1177/1534735407305655.

[40] Bairati I, Meyer F, Jobin E, Gélinas M, Fortin A, Nabid A, et al. Antioxidant vitamins supplementation and mortality: a randomized trial in head and neck cancer patients. Int J Cancer J Int Cancer 2006;119:2221–4. doi:10.1002/ijc.22042.

[41] Lawenda BD, Kelly KM, Ladas EJ, Sagar SM, Vickers A, Blumberg JB. Should supplemental antioxidant administration be avoided during chemotherapy and radiation therapy? J Natl Cancer Inst 2008;100:773–83. doi:10.1093/jnci/djn148.

[42] Bionda C, Hadchity E, Alphonse G, Chapet O, Rousson R, Rodriguez-Lafrasse C, et al. Radioresistance of human carcinoma cells is correlated to a defect in raft membrane clustering. Free Radic Biol Med 2007;43:681–94. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.04.031.

[43] Mahdy AE, Cheng JC, Li J, Elojeimy S, Meacham WD, Turner LS, et al. Acid Ceramidase Upregulation in Prostate Cancer Cells Confers Resistance to Radiation: AC Inhibition, a Potential Radiosensitizer. Mol Ther J Am Soc Gene Ther 2009;17:430–8. doi:10.1038/mt.2008.281.

[44] Jin S, Zhou F, Katirai F, Li P-L. Lipid Raft Redox Signaling: Molecular Mechanisms in Health and Disease. Antioxid Redox Signal 2011;15:1043–83. doi:10.1089/ars.2010.3619.

[45] Cheng JC, Bai A, Beckham TH, Marrison ST, Yount CL, Young K, et al. Radiation-induced acid ceramidase confers prostate cancer resistance and tumor relapse. J Clin Invest 2013;123:4344–58. doi:10.1172/JCI64791.

[46] Baranowski M, Zabielski P, Blachnio A, Gorski J. Effect of exercise duration on ceramide metabolism in the rat heart. Acta Physiol Oxf Engl 2008;192:519–29. doi:10.1111/j.1748-1716.2007.01755.x.

[47] Błachnio-Zabielska A, Zabielski P, Baranowski M, Gorski J. Aerobic Training in Rats Increases Skeletal Muscle Sphingomyelinase and Serine Palmitoyltransferase Activity, While Decreasing Ceramidase Activity. Lipids 2011;46:229–38. doi:10.1007/s11745-010-3515-z.

Prostate cancer and physical activity: adaptive response to oxidative stress.

Authors : Amélie Rebillard[1], Luz Lefeuvre-Orfila[1], Jordan Gueritat[1] and Josiane Cillard[1, 2]

[1]EA 1274, Laboratoire "Mouvement, Sport, Santé", University of Rennes 2-ENS Cachan Antenne de Bretagne ; Bruz, 35170,

[2]Faculty of Pharmacy, University of Rennes 1, Rennes 35043, France

Author's correspondence:

Amélie Rebillard

EA 1274, Laboratoire « Mouvement, Sport, Santé »

Université Rennes 2-ENS Cachan Antenne de Bretagne

Campus de Ker Lann, Avenue Robert Schuman

35170 Bruz, France

Tel : + 33(0)290059419

E-mail: amelie.rebillard@univ-rennes2.fr

Key words: physical activity, prostate cancer, oxidative stress, active surveillance

Abbreviation list

AP1 : Activator Protein 1

APAO : acetyl polyamine oxidase

AR : Androgen Receptor

ARE : Antioxidant Responsive Element

CAT : Catalase

ER : Estrogen Receptor

ERK : Extracellular signal-Regulated Kinase

GPx : Glutathion Peroxidase

GSH : Glutathione

GST : Glutathion-S Transferase

GSTP1 : Gluthathione-S-Transferase Pi

HIF1a : Hypoxia-inducible factor 1

HO-1 : Heme Oxygenase-1

IGF1 : Insulin Growth Factor1

IL-1 : Interleukine

JNK : c-Jun N-terminal Kinase

LAPC4 : Los Angeles Prostate Cancer-4

LNCaP : Lymph Node Carcinoma of Prostate

MAPK : Mitogen Activated Protein Kinase

MDA : Malondialdehyde

MET : Metabolic Equivalent Task

MMR : Mismatch Repair

MT1-MMP : Membrane Type 1 Metalloprotease

MtDNA : Mitochondrial DNA

NAC : N-Acetyl Cysteine

NF-kB : Nuclear Factor Kappa B

NOS : Nitric Oxide Synthase

Nrf2 : Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2

OS : Oxidative Stress

PC : Prostate Cancer

PGC1a : Peroxisome Proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha

PI3K : PhosphoInositol-3 Kinase

PIN : Prostatic Intraepithelial Neoplasia

PSA : Prostate Specific Antigen

PTEN : Phosphatase and tensin homolog

PTP : Protein Tyrosine Phosphatase

ROS : Reactive Oxygen Species

RR : Relative Risk

SCID : Severe Combined ImmunoDeficiency

SMO : Spermine Oxidase

SOD : Superoxide Dismutase

TRAMP : Transgenic Adenocarcinoma of the Mouse Prostate cancer

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

XO : Xanthine Oxidase

Zip1 : Zinc transporter

Contents

Introduction

Prevention of prostate cancer by physical exercise

- Importance of lifestyle in prostate cancer
- Involvement of physical activity in primary prevention
- Involvement of physical activity in secondary prevention
- Experiments in animal models
- Experiments in cell cultures

Oxidative stress-dependent molecular mechanisms

- Oxidative stress basis
- Role of oxidative stress in prostate cancer
  - *Origin of ROS in prostate cancer*
  - *ROS, MAPK and modulation of transcription factors*
  - *ROS and cellular damages*
- Exercise and adaptive response to oxidative stress
  - *Effects of exhaustive exercise*
  - *Training and adaptive response*

Conclusion and future directions

Abstract

Prostate cancer (PC) is the most common form of cancer affecting men in the Western world. Its relative incidence increases exponentially with age and a steady augmentation is observed due to lifespan extend. Sedentarity represents an important risk factor and a decrease of prostate cancer prevalence is associated with exercise. However, the molecular mechanisms involved in this process remain unknown. We hypothesize that reactive oxygen species (ROS) generated by physical exercise are a key regulator factor in prostate cancer prevention. Aging is correlated with an increased oxidative stress (OS), which in turn provides favourable environment to tumorigenesis. Running training is known to enhance the antioxidant defense system, reducing oxidative stress. In this context, the decrease of OS induced by exercise may delay the development of prostate cancer. The present review focuses on oxidative stress-based mechanisms leading to prostate cancer sensitization to exercise which could have some impacts on the development of novel cancer therapeutic strategies.

Introduction

Among the diseases that progress in western societies, PC constitutes a growing health concern. PC is the most common form of cancer affecting men in the Western world. In 2007, the American Cancer Society projects 218890 new cases of prostate cancer in US and 27050 deaths. In France, 71500 new cases have been numbered in 2010 and PC represents the second cause of mortality. The reasons of this rapid increase in prostate cancer incidence associate the progressive population aging, especially in the western countries as well as the widespread use of PSA (Prostate Specific-Antigen). A number of aspects of the disease have to be considered in depth: the natural history of the disease in patients with early diagnosis, the potential costs of screening programs in financial, social and psychological terms, the effectiveness of different treatments and the follow-up of patients [1]. Rare studies have estimated the medico-economic aspects of prostate cancer. In 2002, a Swedish work demonstrated that the cost of prostate cancer care management increases from 20 million Euros in 1991 to 65 millions in 2002 and continues to augment with cancer progression. 30 percent of local prostate cancers will progress 5 to 10 years after treatment, generating supplementary costs. Extending the period of active surveillance without treatment could be a good solution [2], [3]. To answer this question, molecular mechanisms have to be elucidated. The development and progression of PC involve various and complex factors among which OS appears to play an important role (reviewed by [4]). Available data indicate a potential role for the

OS, which is caused by an imbalance of pro- and anti-oxidant species in favor of pro-oxidant, in the initiation and/or evolution of tumorigenesis, particularly in prostate [5-8]. This process refers to an overproduction of ROS, which can then trigger pro-carcinogenic pathways. This point is particularly important since the modulation of OS may influence the evolution of prostate cancer. We and others have demonstrated that regular endurance training enhances antioxidant defense system, protecting organism from cellular damages [9-12]. Then physical activity may be promoted for patient developing an early stage prostate cancer. There is inconsistent evidence regarding the association between physical activity and prostate cancer, with about forty percent of the conducted studies indicating a protective effect of exercise on prostate cancer risk [13-24]. None describes a negative effect and a dose-response curve is seen in ten studies [20, 25-28]. Training could be an efficient way to fight oxidative stress in prostate tumors but the experimental studies are today conflicting and conclusions are difficult to reach since there remains a lack of clarity on activity parameters (in terms of type, intensity, frequency and time). Then, it is imperative to determine the involved molecular mechanisms in order to develop an adapted prevention. Patients with an oxidative stress-dependent prostate cancer may be sensitive to physical activity and a screening of specific markers of oxidative stress could allow an individualized and specific anticancer therapy. Physical activity recommendations may be expected to improve the quality of life for these specific patients, without the undesirable side effects that may accompany the use of chemotherapeutic drugs. This review describes the current knowledge about the effect of physical activity on prostate cancer evolution and the putative role of oxidative stress.

Prevention of prostate cancer by physical activity

Importance of lifestyle in prostate cancer

The origins of prostate cancer remain unknown and are probably multifactorials. Among them, genetic causes are well identified [29-32] and descriptive epidemiologic data suggest that androgens and environmental exposures play an important role in prostate carcinogenesis [33-35]. Besides, it is shown that the incidence of prostate cancer could be modulated with geographical zones and with populations: the incidence is high in the American black population (100.2 for 100 000 inhabitants) and low in Caucasian and Asian populations (1.8 for 100 000 inhabitants) [36]. In addition, frequency of prostate cancer increases when Asian populations migrate to western countries, adopting a new lifestyle [37]. These data underline the importance of environment in the development of prostate cancer, paving the way for primary and secondary prevention. Concomitantly to changes in nutrition, western lifestyles are frequently associated with a decrease in physical activity. This idea is reinforced by a recent study showing that a 15 min daily exercise could reduce the mortality of patient with

prostate cancer [13]. Healthy nutrition and moderate chronic exercise could initiate prostate cancer prevention, particularly in patients on active surveillance.

Involvement of physical activity in primary prevention

Concerning the benefits of physical activity, Antonelli and co-workers report that specific moderate exercise (≥ 3 MET-h/week) could be associated with a lower risk of prostate cancer (p=0.07). However, this reduction is especially significant for men who spent more than 9 METs-h/week during physical activity [15]. In the same way, a systemic review and meta-analysis suggest that total physical activity is significantly related with a decrease risk of prostate cancer (pooled Relative Risk: RR=0.90). Occupational exercise is associated with significant reduction of prostate cancer risk (RR=0.81) while regular recreational physical activity (RR=0.95) may also play a role in the primary prevention of prostate cancer [38]. Previously, other studies show a lower risk of prostate cancer for people practicing leisure [17, 18, 20], or professional physical activities [21-24]. The risk of aggressive prostate cancer in men who engage in recreational physical activity (35 MET-h/week) is reduced (RR=0.65) *versus* men who report no recreational exercise [19]. Men who sit only half of the time experienced have 20% lower risk for prostate cancer compared with men who mostly sit during work [28]. Although these interesting results demonstrate a link between exercise and prostate cancer, the questions of what type, parameters and time period are most beneficial for prostate cancer reduction remains unknown. However, the risk seems to be correlated with exercise intensity. Three reviews summarize these results, showing a significant protective effect of physical activity [39-41]. All these studies tend to conclude that men should be encouraged to increase their physical activity in both occupational and recreational exercise to improve their overall health and thus potentially decrease the risk of prostate cancer.

Involvement of physical activity in secondary prevention

Among men undergoing prostate biopsy, the low grade disease is correlated to physical activity [15]. These results concur with those of Giovannucci, showing that chronic exercise performed more than 3 hours per week could decrease the development of metastasis [16]. A 8-week cardiovascular exercise program in patients with localized prostate cancer undergoing radiotherapy improves quality of life (cardiovascular fitness and muscle strength) and prevents fatigue [42]. Moreover, a study proves that physical activity is associated with a lower risk of overall mortality and death due to prostate cancer. Men who play more vigorous activity have the lowest risk of dying from the disease [13].

In 2005, Ornish and collaborators demonstrate that intensive lifestyle changes may affect the progression of prostate cancer in men with early biopsy proven prostate cancer after 1 year. The

intensive lifestyle program includes both diet and exercise recommendations such as decrease in fat, supplementation in vitamins and selenium, moderate aerobic exercise [43]. These data are important findings but since changes in both diet and exercise are made simultaneously, it is difficult to conclude on the implication of inactivity or diet alone. Additional research is warranted to determine the unique role of physical activity.

Experiments in animal models

A model of transgenic mouse confirms the epidemiological data, proving that running reduces prostate carcinogenesis [44]. The transgenic adenocarcinoma of the mouse prostate (TRAMP) model is very interesting because it closely mirrors the pathogenesis of human prostate cancer. Male TRAMP mice uniformly and spontaneously develop orthotopic prostate tumors following the onset of puberty. For mice who run >5 km/day, 83% of the dorsolateral prostates are classified as normal phenotype *vs* 43% for the group who run <5 km/day. In addition, there is a relationship between average distance run and pathologic progression to high-grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia (PIN) and local invasion, considered to be an early event in the formation of prostate adenocarcinoma. Moreover, recent studies suggest that voluntary running wheel exercise for 63 days, starting one week before the subcutaneous injection of androgen independent PC-3 tumor cells into Severe Combined ImmunoDeficiency (SCID) mice xenograft model suppress the formation and growth of these tumors [45]. The same group has demonstrated that wheel running alone has a similar effect on LNCaP androgen-independent cell growth [46].

Experiments in cell cultures

None study on humans demonstrate the impact of physical activity on prostate cancer progression. Only few *in vitro* studies investigate the impact of patient serum on androgen-dependent prostate cancer cell proliferation [47-52]. Adequate nutrition combined with physical activity induces the regulation of different metabolites contained in serum such as cytokines or Insulin Growth Factor-1 (IGF-1). These physiological adaptations lead to a significantly decrease of proliferation and an increase of apoptosis [47, 48, 51]. Indeed, the major reduction in serum lipid and the balancing of IGF-1/insulin could limit NF-κB activation [49]. Soliman and collaborators find the similar results and observe a modulation of NF-κB and MAPK signaling pathways, two molecular cascades involved in inflammation, proliferation and anti-apoptosis [50]. Recent studies investigate the signaling pathways involved in the inhibition of proliferation and/or apoptosis of prostate cancer cell lines induced by patient serum which have followed specific dietary or sports recommendations. Barnard and co-workers indicate that serum from these patients could reduce the proliferation of various cancer cell lines such as LNCAP or LAPC4 through IGF-1. The decrease of IGF-1 could inactivate

PI3K/Akt cascade leading to p53 surexpression which induce a p21-dependent inhibition of cell proliferation and activation of intrinsic mitochondrial apoptotic pathway [51]. The potential role of OS in the inhibition of cell proliferation is also suggested [50] as well as IGF-1 [52].

To conclude, these data demonstrate that a healthy lifestyle with moderate chronic exercise could reduce prostate cancer risk and recurrence. However, the molecular mechanisms involved remain poorly understood.

Oxidative stress-dependent molecular mechanisms

Oxidative stress basis

Today, the signalling pathways involved in the reduction of prostate cancer risk induced by physical activity remain to be clarified. Complementary studies are needed to identify new markers of prostate cancer early diagnosis. Oxidative stress could be one of them since it is closely related to aging, nutrition and chronic physical exercise. OS is caused by an imbalance of oxidants and antioxidants in favour of oxidants [53]. It is characterized by oxidative damage on cellular constituents such as lipids, proteins and DNA. In physiological conditions, oxidant species (mainly represented by oxygen-derived free radical, called reactive oxygen species [ROS]), are maintained at a low level by an efficient anti-oxidant system which neutralizes them. The anti-oxidant system is mainly constituted by enzymes and by non-enzymatic compounds either synthetized by cells (GSH, uric acid...) or contained in our diet (vitamins E, C, β-carotene, polyphenols...). Unfortunately, this system tends to be less and less effective with aging, leading to an increase in oxidative damage. The accumulation of these lesions remains one of the theories of aging [54] and could explain some aging-associated diseases. Indeed, increased production of ROS leading to cellular oxidative stress is linked to numerous cancers, reviewed by [55], including prostate cancer reviewed by [4].

Role of oxidative stress in prostate cancer

Origin of ROS in prostate cancer

It is well admitted that cancer cells are characterized by enhanced oxidative stress and androgens could be a potential source of ROS. Indeed, androgens increase the production of superoxide anion in prostate cancer cells but the molecular mechanisms remain unclear. A mitochondrial source has been proposed. It implies p66Shc, an oxidase, which increases H_2O_2 production by oxidizing cytochrome c in mitochondria in androgen-sensitive cells (Figure 1). Its expression is elevated in various types of cancers such as prostate cancer and it is demonstrated that androgen-dependent cell proliferation is mediated by p66shc, since this protein, by enhancing H_2O_2 levels, inhibits PTP and activates the tyrosine kinase receptor ErbB-2 [56, 57].

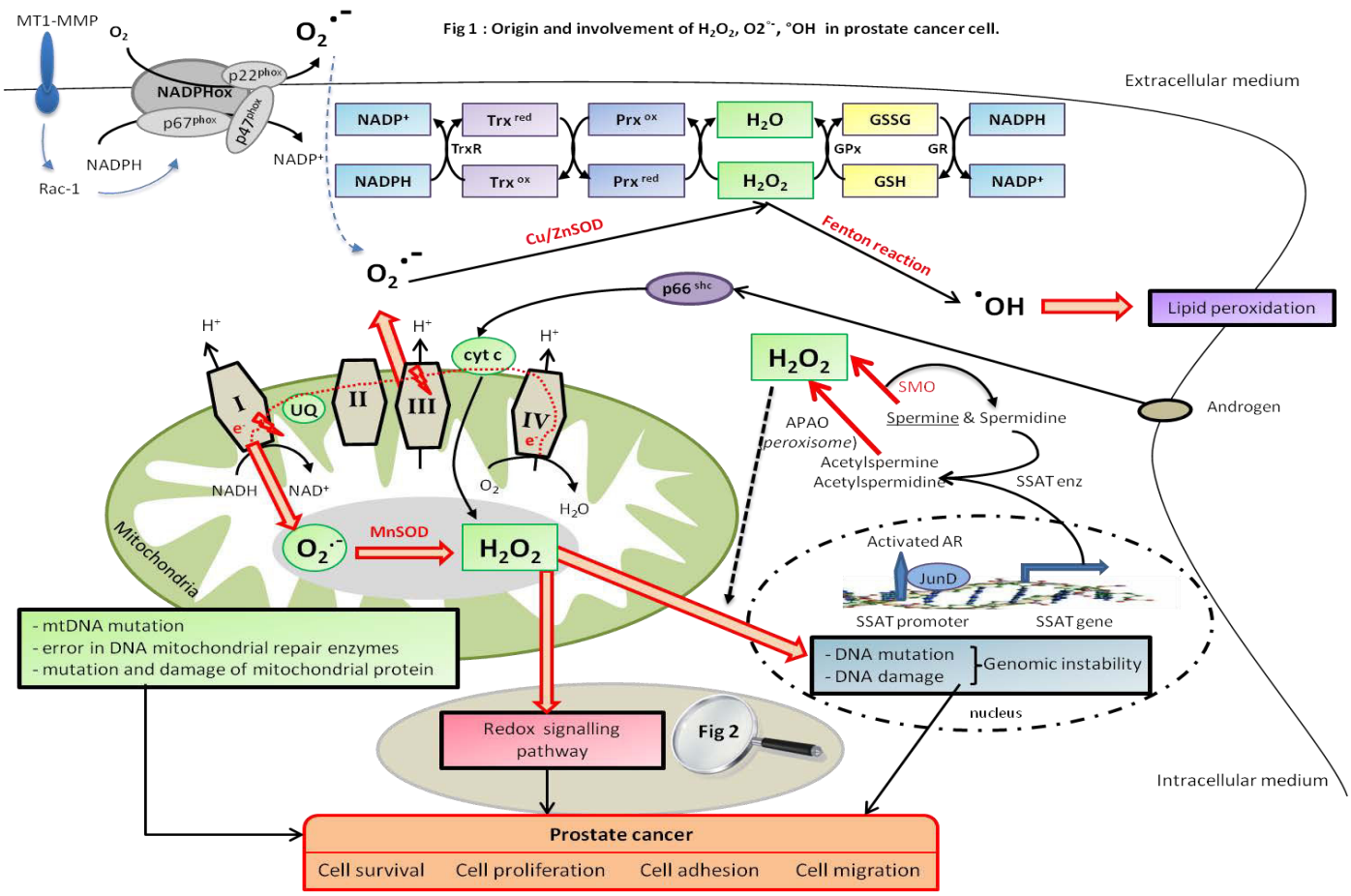

Figure 1 Origin and involvement of H_2O_2, $O_2^{\circ-}$, °OH in prostate cancer cells. Mitochondrial origin: Superoxide ($O_2^{\circ-}$) is generated by the mitochondrial respiratory chain mainly from complex I and complex III. Then, it is dismutated to hydrogen peroxide (H_2O_2) by Superoxide Dismutases. Androgens upregulate the expression of p66^{shc} which in turn stimulates mitochondrial H_2O_2 production through cytochrome c oxidation. **Extramitochondrial origin :** NADPH oxidases present in prostate cancer cells are the main source of superoxide anion which is dismutated to H_2O_2 by Cu/Zn Superoxide Dismutase. The increase of SSAT enzyme expression through a Jun D-AR complexe produces H_2O_2 during polyamine catabolism by APAO. H_2O_2 decomposition by ferrous ions (Fenton reaction) leads to hydroxyl radical production. HO$^{\circ}$ induces lipid peroxidation and DNA damage which promote genomic instability. H_2O_2 activates redox-sensitive transcription factors and signaling pathways. Cancer progression occurs through the regulation of redox-dependent expression of genes that play roles in cell proliferation, cell survival, cell adhesion and metastasis. APAO, Acetyl PolyAmine Oxidase; AR, Androgen Receptor; GPx, Glutathione Peroxidase; GR, Glutathione Reductase; GSH, reduced glutathione; GSSG, oxidized glutathione; NADP, Nicotinamide-Adenine Dinucleotide Phosphate; NADPHox, NADPH Oxidase; Prx, Peroxiredoxin; Trx, Thioredoxin; TrxR, Thioredoxin Reductase; SMO, SperMine Oxidase; SOD, SuperOxide Dismutase; SSAT, Spermidine/Spermine N1-AcetylTransferase; UQ, UbiQuinone.

In addition, it is demonstrated that androgens increase the uptake of medium- and long-chain fatty acids into prostate cancer cells and a significant level of cellular superoxide anion production is coupled to mitochondrial fatty acid oxidation [58]. Oxidative stress seems to contribute to tumorigenesis and progression of prostate cancer through activation of androgen receptor (AR) signaling [59] (Figure 1).

Whereas testosterone is the predominant androgen hormone regulating prostate gland growth, recent studies report the importance of estrogen receptors in the prostate cancer progression [60]. The two estrogen receptors, ER-alpha and ER-beta, play a dual role in the prostate, leading to a regulation of oxidative stress through uncoupling proteins and antioxidant enzymes. The amount of ER-beta levels and the high ER-alpha/ER-beta ratio seems to determine the fate of the cell towards tumorigenesis [61]. Abnormal ER-alpha signaling combined with elevated testosterone levels could induce prostate hyperplasia and prostate cancer in mice [62]. Chronic administration of estrogen induces the expression of pro-inflammatory cytokines in prostate [63], generating hydrogen peroxide which could be responsible for oxidative damage and transformation of normal cells into cancer cells [64]. Indeed, inflammation is correlated with oxidative-stress and prostate cancer, as reviewed by [65] and [7]. Chronic inflammation predisposes cells for transformation due to induction of recurrent DNA damage by inflammatory cells, hence higher frequency of mutation [66]. In addition, chronic inflammation induces increase of growth factor production and growth-supporting stimuli.

In addition, extra-mitochondrial sources have been recently identified. It involves NADPH oxidases which are potential sources of superoxide anion production and could promote tumor cell survival and growth (Figure 1). Kumar and collaborators demonstrate *in vitro* the inherent role of OS in the progression of prostate cancer in different cancer cell lines. Indeed, these authors suggest that the increase in superoxide anion in prostate cancer cells depends on NADPH oxidases and is related to the aggressive phenotype [4], [6]. NADPH oxidase and H_2O_2 play an important role in the modulation of signaling pathways through the regulation of MAPK, especially the phosphorylated forms of ERK1/2 and p38. Moreover, superoxide anion produced by NADPH oxidase contributes to cancer development since it facilitates cell resistance to programmed cell death [67]. Furthermore, it has been observed that aberrant AR signaling plays a critical role in androgen-dependent prostate cancer. Castration induces an elevated pro-oxidant state in the epithelium of prostate and androgen replacement to animals reduces the oxidative stress level by down-regulating NADPH oxidase expression, thereby bringing the antioxidant level to normalcy [68].

Expression of membrane-type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) is associated with advanced prostate cancer. This metalloproteinase is implied in cancer invasion and metastasis through Rac1

signalling which is a key regulator of NADPH oxidase. Interestingly, MT1-MMP enhances ROS production and plays a key role in eliciting oxidative stress in prostate cancer cells. These recent results highlight a novel mechanism of malignant progression associated with ROS production in prostate cancer cells [69].

Finally, it has also been demonstrated that androgen could mediate oxidative stress through the spermidine/spermine N1-acetyltransferase SSAT, a process depending on a Jun D-AR complex (Figure 1). This enzyme produce copious amounts of metabolic H_2O_2 during polyamine catabolic pathway by the N'-acetylpolyamine oxidase (PAO) [70]. In addition in prostate cancer, spermine is present in high concentrations and spermine oxidase (SMO) expression is an early event in the development of this tumor form [71]. SMO is considered the primary source of cytotoxic H_2O_2 during the polyamine catabolism.

Since prostate cancer cells show an AR-mediated growth, the suggested therapy consists in the inhibition of androgen pathway but prostate cancer usually escapes to hormonal response and becomes resistant to apoptosis. BAD, a protein of Bcl-2 family which may be regulated by oxidative stress is surexpressed in prostate cancer and the dephosphorylation of this protein reverses the process, leading to a sensitization of cells to cell death [72].

ROS, MAPK and modulation of transcription factors

MAPK family modulates gene expression through phosphorylation of numerous transcription factors (Figure 2). The activation of ERK, JNK and p38 is observed in response to an imbalance of pro/anti-oxidant. By example, the activation of MAPK by H_2O_2 leads to an increase in the expression of AP-1 (Activator protein-1), a transcription factor composed of c-Jun and c-Fos, known to be involved in proliferation, differentiation and cell transformation [7-8] (Figure 2). c-Jun stimulates cell cycle progression through the induction of cyclin D1 and the inhibition of p21waf expression which blocks G1-S and G2-M transition [73-75]. Finally, PTEN loss is suggested to play a role in *in vitro* and *in vivo* prostate tumorigenesis, leading to the activation of Akt and the increase in JNK activity. Akt is known to stimulate cell growth through the regulation of the cyclin-cdk complex and the inhibition of the pro-apoptotic molecule caspase-9 [5-7], [76-78].

Once enhanced ROS is generated, subsequent activation of signaling pathways and redox-sensitive transcription factors like Nrf2, NF-ƙB, AP-1 and HIF-1α (Figure 2) could play a major role in initiation, progression and metastasis of the cancer cells. The transcription factor Nuclear Factor Erythroid 2p45 (NF-E2)-related factor 2 (Nrf2) and several of its target genes are significantly downregulated in human prostate cancer [79]. Nrf2 is a basic-region leucine zipper transcription factor that mediates

the expression of key protective enzymes through the ARE (Antioxidant Response Element). Nrf2 and members of the glutathione-S-transferase mu (GST) family are extensively decreased in human prostate cancer. The loss of Nrf2 initiates a detrimental cascade of reduced GST expression and antioxidant enzymes, elevated ROS levels and DNA damage associated with the initiation of cellular transformation in the prostate gland [79].

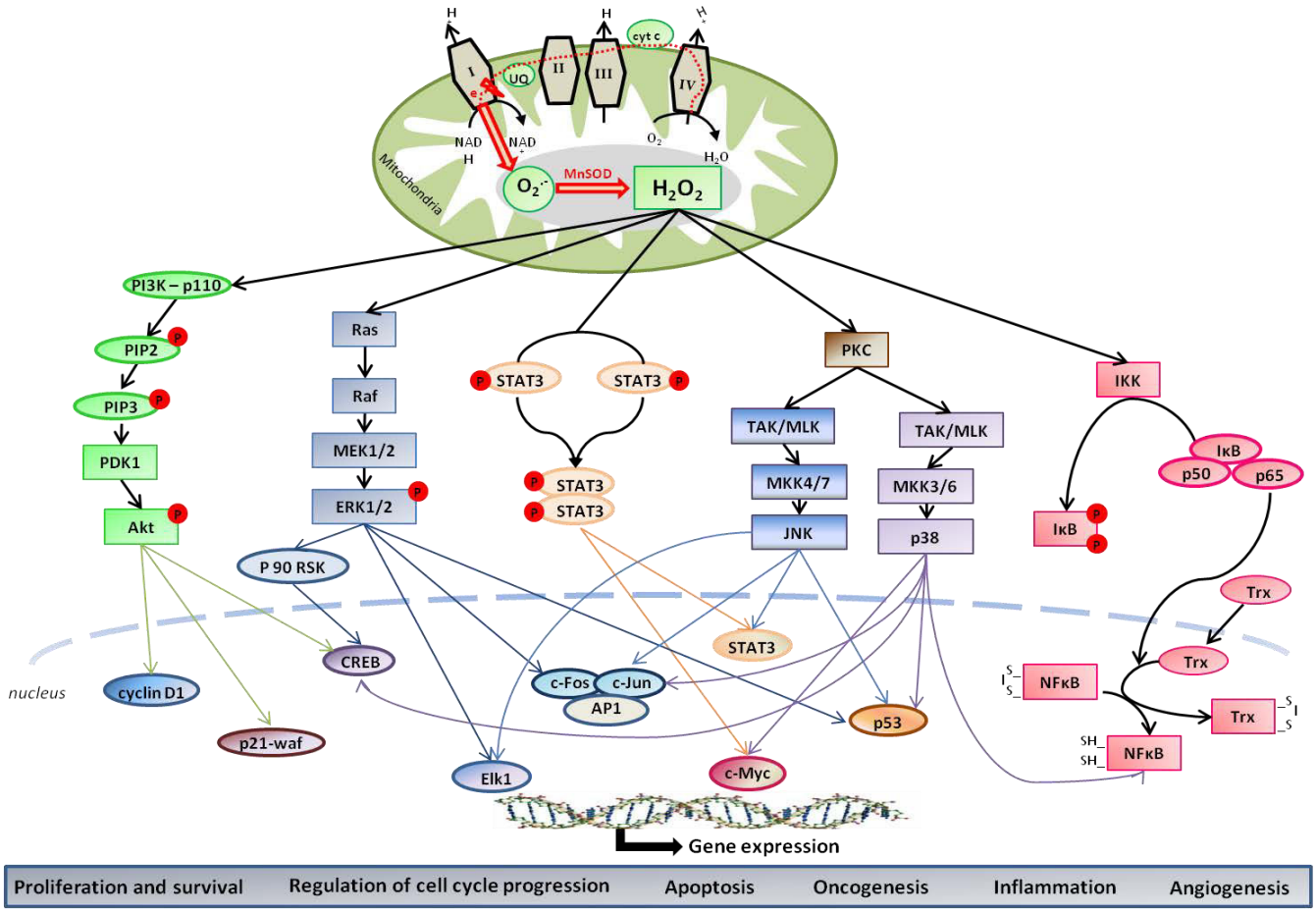

Figure 2 Redox signaling pathways involved in prostate cancer development. Many factors (environment, growth factors, cytokines, androgens, inflammation) can lead to the activation of various signaling pathways involving MAPK (ERK1/2, p38, JNK), Akt and transcription factors (STAT3, NF-kB). The transcription of targeted genes contributes to prostate cancer development. All these signaling pathways are regulated by H_2O_2 production. Akt, AKT8 virus oncogene cellular homolog; AP1, Activator Protein 1; CREB, cAMP Response Element-Binding protein; Elk1, E-26 like protein 1; ERK, Extracellular signal-Regulated Kinase; IKK, IκB Kinase; IP3, Inositol-1,4,5-trisPhosphate; JNK, c-Jun N-terminal Kinase; MEK1/2, MAPK/Erk kinase 1/2; MKK, MAP Kinase Kinase; MLK, Mixed Lineage Kinase; NF-κB, Nuclear Factor-κB; PDK1, Phosphoinositide-Dependent Protein Kinase 1; PKC, Protein Kinase C; PIP2, Phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate; PIP3, Phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate; PI3K, Phosphoinositide 3 Kinase; p90 RSK, p90 Ribosomal S6 Kinase; STAT3, Signal Transducer and Activator of Transcription 3; TAK, TGF β-activated Kinase; Trx, Thioredoxine.

ROS can act as specific second messengers thus changing the redox state of glutathione (GSH). This event causes the translocation of thioredoxin 1 into the nucleus, which in turn allows the DNA binding of NF-kB. and the transactivation of target genes involved in proliferation and angiogenesis, such as Bcl-2, a promoter of cell survival [74], [80]. Recently, few studies have investigated the involvement of thioredoxin in prostate cancer progression [81].

p53 is known to decrease ROS accumulation via the regulation of genes involved in ROS metabolism such as sestrins [82]. $p53^{-/-}$ mice have elevated oxidative stress and the mechanisms leading to a decrease of ROS or an enhancement of p53 activity converge in providing protection against cancer. The importance of this oxidative stress is emphasized by the fact that the lifespan and carcinogenesis in $p53^{-/-}$ mice can be rescued by pharmacological doses of the antioxidant N-acetylcysteine (NAC) [83]. However, concerning prostate cancer, studies have generally shown a low rate of p53 mutation and an association with advanced disease [84-87].

In addition, ROS are important stimuli of angiogenic signaling [88]. H_2O_2 stabilizes HIF-1α protein and induces production of angiogenic factors by tumor cells [89]. Overexpression of Ras oncogene is linked to tumor vascularization [90]. Indeed, cell transformation by Ras stabilizes HIF-1α and up-regulates the transcription of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). Moreover, antioxidants inhibit the mitogenic activity of Ras, indicating that H_2O_2 participates directly in malignant transformation. The antioxidant enzymes Heme-Oxygenase 1 HO-1 counteracts oxidative imbalance, thus reducing ROS levels in prostate cancer cells and it is suggested that HO-1 could regulate angiogenesis since a set of pro-angiogenic genes are down-regulated in response to HO-1 overexpression, in particular VEGFA, VEGFC and HIF-1α [91].

To conclude, ROS could activate some specific signaling pathways which contribute to tumor development by regulating cell proliferation, angiogenesis and metastatic processes but it can also induce genetic instability.

ROS and cellular damages

DNA damage

Tumor prostate epithelium expresses a persistent oxidative stress due to an increase in intrinsic ROS production and/or a decrease in enzymatic antioxidant defense [4, 6, 7]. With aging, an imbalance between pro- and anti-oxidant could activate tumorigenesis [4]. ROS levels define the fate of the cells since high levels of ROS generate cell death whereas low levels of ROS preferentially stimulate proliferation and growth [5], [7], [8], [76], [80], [92]. During cancer initiation, ROS-induced DNA damage lead to genetic mutations and DNA structural alterations [7]. ROS could create some

alterations in tumor suppressor genes and increase the expression of proto-oncogenes. By example, G-T transversions in p53 gene can occur, resulting in G1 arrest of the cell cycle [5], [76], [92].

Recently, defects in DNA mismatch repair (MMR), the pathway that removes errors arising during DNA replication, have been reported in prostate cancer [93, 94] and ROS are known to decrease the expression of MMR enzymes. DNA methylation is an epigenetic modification which plays an important role in the regulation of gene expression and chromatin architecture, leading to different diseases such as cancer [95]. Absence of GSTP1 expression associated with its promoter hypermethylation is evident in prostate cancer. Hypermethylation of the GSTP1 promoter is detected in precursor high-grade intraepithelial neoplasia [96]. Inactivation of GSTP1 expression induces cell sensitivity to oxidative damage and tolerance to accumulation of oxidized DNA base adducts.

ROS can also induce mutations in mitochondrial DNA (mtDNA), resulting in a decrease of citrate production which could impair electron transport chain and increase ROS production and thus, participate to the promotion of prostate tumorigenesis [4]. Complete citrate oxidation could also increase mitochondrial ROS production. The increase in ROS could cause some changes in regulatory pathways, leading to downregulation of nuclear genes such as Zip1 (Zinc uptake transporter). Indeed, prostate cancer cells show a lack of ability to accumulate zinc, which is reported to be an early event in malignant transformation [97].

DNA oxidative damage in prostate cancer patients are associated with higher lipid peroxidation and lower antioxidant levels.

Lipid alterations

In prostate cancer patients, PSA is correlated with malondialdehyde MDA concentrations, a lipid peroxidation by-product, [98] and acrolein, another lipid peroxidation product, is reported as a predictive biomarker of prostate carcinoma relapse after radical surgery [99]. Patients with advanced prostate cancer showed an increase susceptibility of their serum lipids to peroxidation, however this association is not observed for patients with localized cancer [100]. A relation between high levels of urinary F2-isoprostane, a lipid peroxidation marker, and high grade prostatic intraepithelial neoplasia has been reported [101].

Since prostate carcinogenesis is closely related to ROS levels, it would be interesting to modulate prostate cancer progression through the regulation of these species.

Exercise and adaptive response to oxidative stress

As previously described, regular and moderate exercise has some benefits on health, preventing some chronic diseases like prostate cancers whereas exhaustive exercise doesn't show the same effectiveness. Then, it is preponderant to understand the molecular mechanisms in response to these two-types of physical activity.

Effects of exhaustive exercise

Davies and collaborators are the first demonstrating that submaximal exercise leads to a 2-3 fold increase of ROS production in skeletal muscle and liver of rats. This observation is concomitant with an increase in lipid peroxidation [102]. Moderate exercise enhances the content of MDA in muscle [103] as eccentric exercise causes an increase in both MDA and isoprostanes [104]. It has been reported that the extended free radical production and lipid peroxidation increase with exercise intensity [105]. During exercise, there are many potential tissue sources from which ROS may be produced (reviewed by [106]). In addition to mitochondria generally cited as predominant source of ROS in muscle cells, the enhanced production of ROS is also related to the activity of xanthine oxidases (XO), NADPH oxidases (Sarcoplasmic Reticulum, transverse tubule and plasma membrane) and Phospholipase A2. It is suggested that ischemia/reperfusion induced by exercise converts xanthine dehydrogenase to XO. This process catalyzes a reaction which generates superoxide anion and hydrogen peroxide. Moreover, high intensity exercise also causes tissue damage, leading to initiation of phagocytosis. Various enzymes could be then activated such as NADPH oxidases, resulting in ROS production.

Skeletal muscle normally expresses the neuronal (type I or nNOS) and the endothelial (type III or eNOS) isoforms of NOS. NO is generated continuously by skeletal muscle, a production that is increased by contractions [106]. The elevated NO levels could quickly react with superoxide to form highly deleterious peroxynitrite [11, 107, 108]. In addition, it is shown that a supra-maximal exercise such as anaerobic Wingate test leads to a 2.7-fold increase in lipid peroxidation and respectively a decrease of 13.6% of GSH and 11.7 % of SOD activity [109]. Moreover, Nikolaidis and colleagues report in a very recent review that acute exercise could alter redox homeostasis in practically every fluid, blood cell, tissue and organ with probably a qualitatively and quantitatively different response [110].

Physical activity could be a potential strategy to reduce prostate cancer evolution since exercise could regulate OS. Although isolated exhaustive exercise increases ROS generation [109, 111], the repetition of moderate exercise (chronic exercise or aerobic training) induces an adaptive response

of the organism with a reduction of ROS production [112] and an increase in antioxidant defense [103], [112], [113] (Figure 3).

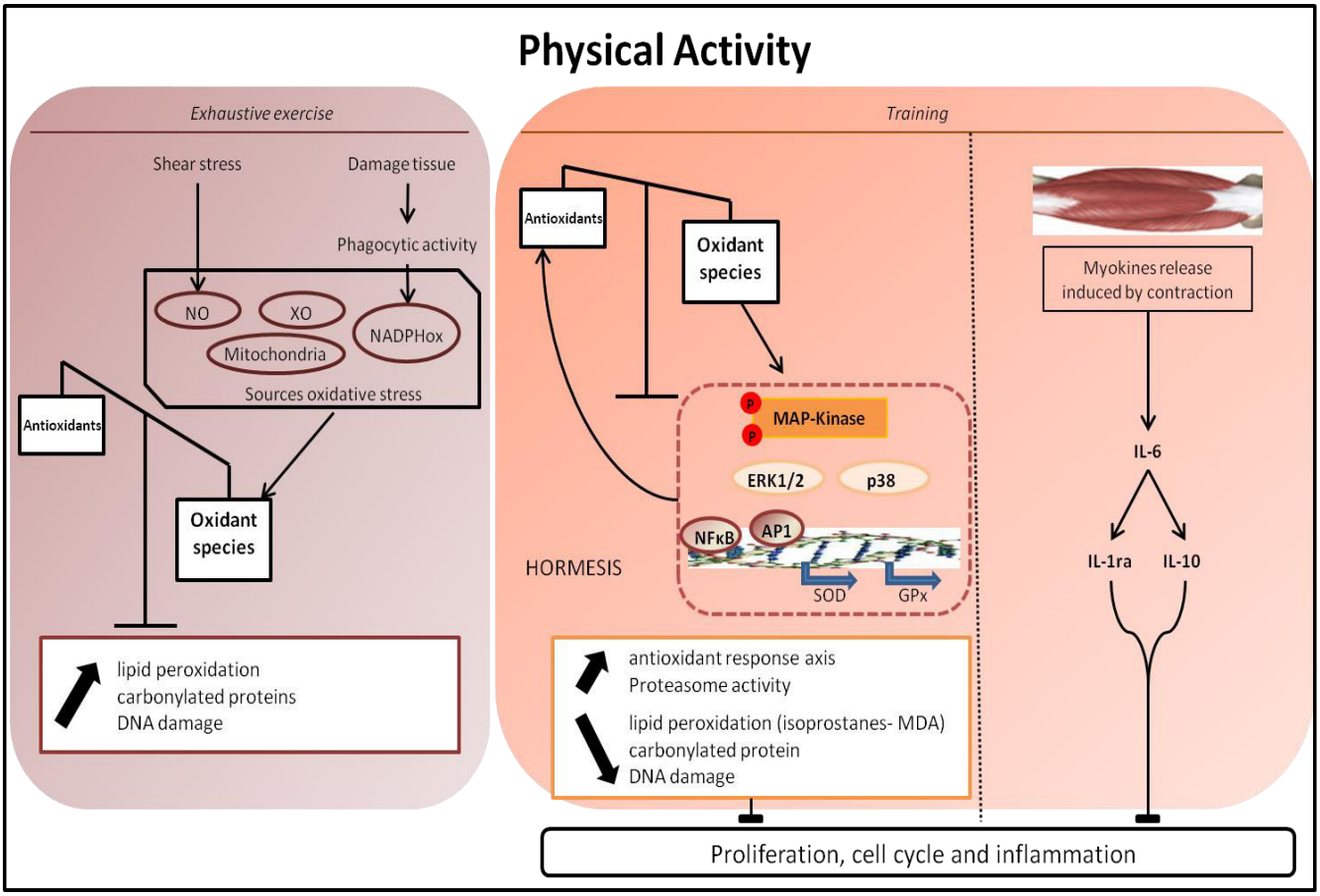

Figure 3 Adaptive response to oxidative stress during physical exercise: effects on prostate cancer. Exhaustive exercise increases oxidant species, generating an oxidative stress with lipid peroxidation, protein carbonylation and DNA damage. On the contrary, training induces an adaptation of the organism with an increase of antioxidant defense (e.g. MnSOD, GPx) through the activation of transcription factors (NF-ƙB, AP1..). Concomitantly, the contraction of muscles induces the release of the myokine IL-6 which in turn stimulates the production of the classical anti-inflammatory cytokines IL-1ra and IL-10. All these events contribute to regulate proliferation, cell cycle and inflammation.

AP1, Activator Protein 1; ERK, Extracellular signal-Regulated Kinase; GPx, Glutathione Peroxidase; IL, Interleukin; MAPK, Mitogen Activated Protein Kinase; NADPHox, NADPH oxidase; NF-κB, Nuclear Factor-κB; NO, Nitric Oxide; SOD, SuperOxide Dismutase; XO, Xanthine Oxidase.

Training and Adaptive response

Most of the studies show a reduction of oxidative damage after training [114]. In 2006, Finaud and colleagues suggest a link between the reduction of OS and the reduction of age-dependent diseases such as cancer in active patients [115].

In particular, regular swimming exercise decreases the concentration of carbonylated proteins in the brain and skeletal muscle of rats and also improves proteasome activity. Rats which receive a regular treadmill training show less DNA damage, such as the 8-OHdG, because of an increase in repair enzymes activity [10, 11, 107, 108, 116]. This process could lead to a decrease of genetic instability. More recently, Campbell and collaborators demonstrate that a 12-month aerobic exercise induce a 6%-reduction in plasma isoprostane level compared to control group which shows a 3.3%-increase in isoprostane concentration [117]. Concomitantly with a decrease in oxidative damage, training could enhance the antioxidant defense system. The level and the activity of SOD are increased after endurance training in rats and humans. MnSOD is primarily responsible for the increased SOD activity with training even if activity of Cu-ZnSOD is slightly enhanced by regular exercise [11]. Indeed, a 12-weeks running training reduces oxidative damage and increases the activity of SOD and also GPx, respectively of 17.1% and 11.5% [118]. It has also been noticed an increased activity of GPx in both cytosolic and mitochondrial compartments for a wide range of physical activity (running, swimming, cycling) [118, 119] while the effects on catalase are still controversial. Other results report that trained runners have a higher erythrocyte antioxidant enzyme level (SOD, CAT and GPx) than untrained subjects [9]. In addition, the content of GSH is shown to be significantly increased after training [11]. Therefore, the generation of moderate ROS level by regular exercise initiates mitochondrial adaptive processes. Indeed, moderate exercise could increase MnSOD level and activity through different mechanisms involving PGC1-α, NF-kB and AP1 [11]. ROS production during exercise could activate the transcription factor NF-kB which can bind to the promoter region of the *MnSOD* gene. An increase in mitochondrial MnSOD has also been observed, involving Peroxisome proliferator-activated receptor Gamma Coactivator-1 alpha (PGC-1α) and NF-kB signaling [118-120]. Moderate exercise may generate the production of ROS, leading to the activation of ERK1/2 and p38 which in turn activate NF-kB, resulting in increased expression of antioxidant enzymes such as MnSOD and GPx [12]. Indeed, allopurinol treatment, a XO inhibitor, abolishes the increase in ROS formation and consequently the activation of ERK 1/2 and p38, leading to a lack of amplification of MnSOD and GPx [12]. mRNA coding for the MnSOD is increased during physical activity, while the significant increase of MnSOD protein levels is only observed at 48 h post-exercise [121]. Since mitochondria is a major source of ROS in prostate cancer (Figure 1), an increase in mitochondrial antioxidant defense by training could be beneficial to decrease oxidative damage and delay cancer progression. Thus, regular exercise has a hormetic effect since chronic exposure to low doses of ROS may lead to improve tolerance to higher levels of OS. It is therefore possible to define physical exercise as a regulator of cellular redox homeostasis which requires a long-term adaptation to overcome potential stress. In addition, exercise training could modulate serum factors *in vivo* [48].

These factors from human serum are related to reduced growth and apoptosis in prostate cancer cells *in vitro* through an increase in cellular p53 protein content [48]. Interestingly, serum from exercised-mice inhibits mammary cancer cell proliferation and induces apoptosis, suggesting that myokines secreted from working muscles could mediate this effect [122]. These results emphasize the important role of physical activity in cancer treatment, demonstrating a direct link between exercise-induced humoral factors and decreased tumor cell growth. Indeed, Pedersen and colleagues report that exercise has some anti-inflammatory effects. During exercise, IL-6 is produced by muscles and stimulates the appearance of other systemic anti-inflammatory cytokines such as IL-1ra and IL-10 and inhibits the production of the pro-inflammatory cytokine TNF-α [123] (Figure 3). This mechanism may explain how exercise decreases ROS-dependent cancer cell proliferation since prostate tumorigenesis is associated with low grade inflammation as previously described.

To conclude, regular exercise induces an adaptive response. All these adaptations are shown both in muscles and others tissues and it is primordial to consider that exercise is able to modulate redox homeostasis in every tissue of the body.

Conclusion and future directions

To conclude, this review increases knowledge of how physical activity may affect prostate cancer, a very important but hitherto poorly investigated subject. We attempt to designate the molecular basis of the anti-tumor properties of physical activity. By modulating redox signaling and enhancing antioxidant defense, regular exercise could decrease prostate cancer initiation and progression. Rather, understanding the involved signaling pathways could permit the elaboration of new criteria that should be taken into account during the care management of patients with prostate cancer. It will allow the development of physical activity recommendations that are expected to improve the quality of life. Finally, whereas there is a widespread consumption of antioxidants in *our society,* we would like to highlight that antioxidants supplementation can limit training adaptation.

Acknowledgements

This work was supported by grants from Région Bretagne and University of Rennes 2.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

References

[1] Kanso, C.; Etner, J.; Debré, B.; Zerbib, M. Prostate cancer: medicoeconomic aspects. Prog Urol. 20: 85-90; 2010.

[2] Sennfält, K.; Sandblom, G.; Carlsson, P.; Varenhorst, E. Costs and effects of prostate cancer screening in Sweden--a 15-year follow-up of a randomized trial. Scand. J. Urol. Nephrol. 38: 291-298; 2004.

[3] Amling, C. L. Prostate-specific antigen and detection of prostate cancer: What have we learned and what should we recommend for screening? Curr. Treat. Options Oncol. 7: 337-345; 2006.

[4] Khandrika, L.; Kumar, B.; Koul, S.; Maroni, P.; Koul, H. K. Oxidative stress in prostate cancer. Cancer Lett. 282: 125-136; 2009.

[5] Valko, M.; Leibfritz, D.; Moncol, J.; Cronin, M. T. D.; Mazur, M.; Telser, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell. Biol. 39: 44-84; 2007.

[6] Kumar, B.; Koul, S.; Khandrika, L.; Meacham, R. B.; Koul, H. K. Oxidative stress is inherent in prostate cancer cells and is required for aggressive phenotype. Cancer Res. 68: 1777-1785; 2008.

[7] Reuter, S.; Gupta S. C.; Chaturvedi, M. M.; Aggarwal, B. B. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? Free Radic. Biol. Med. 49:1603-1616; 2010.

[8] Ma, Q. Transcriptional responses to oxidative stress: Pathological and toxicological implications. Pharmacol. Ther. 125: 376-393; 2010.

[9] Clarkson, P. M.; Thompson, H. S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? Am. J. Clin. Nutr. 72: 637-646; 2000.

[10] Radak, Z.; Chung, H. Y.; Koltai, E.; Goto, S. Exercise, oxidative stress and hormesis. Ageing Res. Rev. 7: 34-42; 2007.

[11] Ji, L. L.; Radàk, Z.; Goto, S. Hormesis and Exercise: How the Cell Copes with Oxidative Stress. Am. J. Pharmacol. Toxicol. 3: 44-58; 2008.

[12] Gomez-Cabrera, M. C.; Domenech, E.; Viña, J. Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. Free Radic. Biol. Med. 44:126-131; 2008.

[13] Kenfield, S.; Stampfer, M.; Giovannucci, E.; Chan, J. M. Physical Activity and Survival After Prostate Cancer Diagnosis in the Health Professionals Follow-Up Study. J. Clin. Oncol. 29: 726-732; 2011.

[14] Parent, M. E.; Rousseau, M. C.; El-Zein, M.; Latreille, B.; Désy, M.; Siemiatycki, J. Occupational and recreational physical activity during adult life and the risk of cancer among men. Cancer Epidemiol. 35: 151-159; 2011.

[15] Antonelli, J. A.; Jones, L. W.; Bañez, L. L.; Thomas, J. A.; Anderson, K.; Taylor, L. A.; Gerber, L.; Anderson, T.; Hoyo, C. Grant, D.; Freedland, S. J. Exercise and prostate cancer risk in a cohort of veterans undergoing prostate needle biopsy. J. Urol. 182: 2226-2231; 2009.

[16] Giovannucci, E. L.; Liu, Y.; Leitzmann, M. F.; Stampfer, M. J.; Willett, W. C. A prospective study of physical activity and incident and fatal prostate cancer. Arch. Intern. Med. 165: 1005-1010; 2005.

[17] Clarke, G.; Whittemore, A. S. Prostate cancer risk in relation to anthropometry and physical activity: the National Health and Nutrition Examination Survey I Epidemiological Follow-Up Study. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 9: 875-881; 2000.

[18] Littman, A. J.; Kristal, A. R.; White, E. Recreational physical activity and prostate cancer risk (United States). Cancer Causes Control. 17: 831-841; 2006.

[19] Patel, A. V.; Rodriguez, C.; Jacobs, E. J.; Solomon, L.; Thun, M. J.; Calle, E. E. Recreational physical activity and risk of prostate cancer in a large cohort of U.S. men. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 14: 275-279; 2005.

[20] Wannamethee, S. G.; Shaper, A. G. Walker M. Physical activity and risk of cancer in middle-aged men. Br. J. Cancer. 85: 1311-1316; 2001.

[21] Krishnadasan, A.; Kennedy, N.; Zhao, Y.; Morgenstern, H.; Ritz, B. Nested case-control study of occupational physical activity and prostate cancer among workers using a job exposure matrix. Cancer Causes Control. 19: 107-114; 2008.

[22] Norman, A.; Moradi, T.; Gridley, G.; Dosemeci, M.; Rydh, B.; Nyrén, O.; Wolk, A. Occupational physical activity and risk for prostate cancer in a nationwide cohort study in Sweden. Br. J. Cancer. 86:70-75; 2002.

[23] Johnsen, N. F.; Tjønneland, A.; Thomsen, B. L.; Christensen, J.; Loft, S.; Friedenreich, C.; Key, T. J.; Allen, N. E.; Lahmann, P. H.; Mejlvig, L.; Overvad, K.; Kaaks, R.; Rohrmann, S.; Boing, H.; Misirli, G.; Trichopoulou, A.; Zylis, D.; Tumino, R.; Pala, V.; Bueno-de-Mesquita, H. B.; Kiemeney, L. A.; Suárez, L. R.; Gonzalez, C. A.; Sánchez, M. J.; Huerta, J. M.; Gurrea, A. B.; Manjer, J.; Wirfält, E.; Khaw, K. T.; Wareham, N.; Boffetta, P.; Egevad, L.; Rinaldi, S.; Riboli, E. Physical activity and risk of prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort. Int. J. Cancer. 125: 902-908; 2009.

[24] Thune, I.; Furberg, A. S. Physical activity and cancer risk: dose-response and cancer, all sites and site-specific. Med. Sci. Sports Exerc. 33: 530-550; 2001.

[25] Thune, I.; Lund, E. Physical activity and the risk of prostate and testicular cancer: a cohort study of 53,000 Norwegian men. Cancer Causes Control. 5: 549-556; 1994.

[26] Giovannucci, E.; Leitzmann, M. ; Spiegelman, D.; Rimm, E. B.; Colditz, G. A.; Stampfer, M. J.; Willett, W. C.; A prospective study of physical activity and prostate cancer in male health professionals. Cancer Res. 58: 5117-5122; 1998.

[27] Liu, S.; Lee, I. M.; Linson, P.; Ajani, U.; Buring, J. E.; Hennekens, C. H. A prospective study of physical activity and risk of prostate cancer in US physicians. Int. J. Epidemiol. 29: 29-35; 2000.

[28] Orsini, N.; Bellocco, R.; Bottai, M.; Pagano, M.; Andersson, S. O.; Johansson J. E.; Giovannucci, E.; Wolk, A. A prospective study of lifetime physical activity and prostate cancer incidence and mortality. Br. J. Cancer. 101: 1932-1938; 2009.

[29] Cussenot, O.; Valeri, A. Heterogeneity in genetic susceptibility to prostate cancer. Eur. J. Intern. Med. 12: 11-16; 2001.

[30] Berthon, P.; Valeri, A.; Cohen-Akenine, A.; Drelon, E.; Paiss, T.; Wöhr, G.; Latil, A.; Millasseau, P. Mellah, I.; Cohen, N.; Blanché, H.; Bellané-Chantelot, C.; Demenais, F.; Teillac, P.; Le Duc, A.; de Petriconi, R.; Hautmann, R.; Chumakov, I.: Bachner, L.; Maitland, N. J.; Lidereau, R.; Vogel, W.; Fournier, G.; Mangin, P.; Cussenot, O. Predisposing gene for early-onset prostate cancer, localized on chromosome 1q42.2-43. Am. J. Hum. Genet. 62: 1416-1424; 1998.

[31] Cancel-Tassin, G.; Latil, A.; Valéri, A.; Mangin, P.; Fournier, G.; Berthon, P.; Cussenot, O. PCAP is the major known prostate cancer predisposing locus in families from south and west Europe. Eur. J. Hum. Genet. 9:135-142; 2001.

[32] Karayi, M. K.; Neal, D. E.; Markham, A. F. Current status of linkage studies in hereditary prostate cancer. BJU Int. 86: 659-669; 2000.

[33] Hovenanian, M. S.; Deming, C. L. The heterologous growth of cancer of the human prostate. Surg. Gynecol. Obstet. 86: 29-35; 1948.

[34] Wynder, E. L.; Laakso, K.; Sotarauta, M.; Rose, D. P. Metabolic epidemiology of prostatic cancer. Prostate. 5: 47-53; 1984.

[35] McTiernan, A. Mechanisms linking physical activity with cancer. Nat. Rev. Cancer. 8: 205-211; 2008.

[36] Whittemore, A. S.; Kolonel, L. N.; Wu, A. H.; John, E. M.; Gallagher, R. P.; Howe, G. R.; Burch, J. D.; Hankin, J.; Dreon, D. M.; West, D. W. Chong-Ze, T.; Paffenbarger, R. Jr.
Prostate cancer in relation to diet, physical activity, and body size in blacks, whites, and Asians in the United States and Canada. J. Natl. Cancer Inst. 87: 652-661; 1995.

[37] Brawley, O. W.; Knopf K, T. I. The epidemiology of prostate cancer part II: the risk factors. Semin. Urol. Oncol. 16: 193-201; 1998.

[38] Liu, Y.; Hu, F.; Li, D.; Wang, F.; Zhu, L.; Chen, W.; Ge, J.; An, R.; Zhao, Y. Does physical activity reduce the risk of prostate cancer? A systematic review and meta-analysis. Eur. Urol. 60: 1029-1044; 2011.

[39] Lee, I. M.; Sesso, H. D.; Chen, J. J.; Paffenbarger, R. S. Jr. Does physical activity play a role in the prevention of prostate cancer? Epidemiol. Rev. 23: 132-137; 2001.

[40] Friedenreich, C. M.; Thune, I. A review of physical activity and prostate cancer risk.
Cancer Causes Control. 12: 461-475; 2001.

[41] Young-McCaughan, S. Potential for prostate cancer prevention through physical activity. World J. Urol. 30: 167-169; 2012.

[42] Monga, U.; Garber, S. L.; Thornby, J.; Vallbona, C.; Kerrigan, A. J.; Monga, T. N.; Zimmermann, K. P. Exercise prevents fatigue and improves quality of life in prostate cancer patients undergoing radiotherapy. Arch. Phys. Med. Rehabil. 88:1416-1422; 2007.

[43] Ornish, D.; Weidner, G.; Fair, W. R.; Marlin, R.; Pettengill, E. B.; Raisin, C. J.; Dunn-Emke, S.; Crutchfield, L.; Jacobs, F. N.; Barnard, R. J.; Aronson, W. J.; McCormac, P.; McKnight, D. J.; Fein, J. D.; Dnistrian, A. M.; Weinstein, J.; Ngo, T. H.; Mendell, N. R.; Carroll, P. R. Intensive lifestyle changes may affect the progression of prostate cancer. J. Urol. 174: 1065-1070; 2005.

[44] Esser, K. A.; Harpole, C. E.; Prins, G. S.; Diamond, A. M. Physical activity reduces prostate carcinogenesis in a transgenic model. Prostate. 69: 1372-1377; 2009.

[45] Zheng, X.; Cui, X. X.; Huang, M. T.; Liu, Y.; Shih, W. J.; Lin, Y.; Lu, Y. P.; Wagner, G. C.; Conney, A. H. Inhibitory effect of voluntary running wheel exercise on the growth of human pancreatic Panc-1 and prostate PC-3 xenograft tumors in immunodeficient mice. Oncol. Rep. 19: 1583-1588; 2008.

[46] Zheng, X.; Cui, X. X.; Gao, Z.; Zhao, Y.; Shi, Y.; Huang, M. T.; Liu, Y.; Wagner, G. C.; Lin, Y.; Shih, W. J.; Rao, C. V.; Yang, C. S.; Conney, A. H. Inhibitory effect of dietary atorvastatin and celecoxib together with voluntary running wheel exercise on the progression of androgen-dependent LNCaP prostate tumors to androgen independence. Exp. Ther. Med. 2: 221-228; 2011.

[47] Tymchuk, C. N.; Barnard, R. J.; Heber, D.; Aranson, W. J. Evidence of an inhibitory effect of diet and exercise on prostate cancer cell growth. J. Urol. 16: 1185-1189; 2001.

[48] Leung, P. S.; Aronson, W. J.; Ngo, T. H.; Golding, L. A.; Barnard, R. J. Exercise alters the IGF axis in vivo and increases p53 protein in prostate tumor cells in vitro. J. Appl. Physiol. 96: 450-454; 2004.

[49] Barnard, R. J.; Ngo, T. H.; Leung, P. S.; Aronson, W. J.; Golding, L. A. A low-fat diet and/or strenuous exercise alters the IGF axis in vivo and reduces prostate tumor cell growth in vitro. Prostate. 56: 201-206; 2003.

[50] Soliman, S.; Aronson, W. J.; Barnard, R. J. Analyzing serum-stimulated prostate cancer cell lines after low-fat, high-fiber diet and exercise intervention. Evid. Based Complement. Alternat. Med. 2011: 529053.

[51] Barnard, R. J.; Leung, P. S.; Aronson, W. J.; Cohen, P.; Golding, L. A. A mechanism to explain how regular exercise might reduce the risk for clinical prostate cancer. Eur. J. Cancer Prev. 16: 415-421; 2007.

[52] Aronson, W. J.; Barnard, R. J.; Freedland, S. J.; Henning, S.; Elashoff, D.; Jardack, P. M.; Cohen, P.; Heber, D.; Kobayas, N. Growth inhibitory effect of low fat diet on prostate cancer cells: results of a prospective, randomized dietary intervention, trial in men with prostate cancer. J. Urol. 183: 345-350; 2010.

[53] Sies, H.; Cadenas, E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 311: 617-631; 1985.

[54] Harman, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. J Gerontol. 11: 298-300; 1956.

[55] Luo, J.; Solimini, N. L.; Elledge, S. J. Principles of cancer therapy: oncogene and non-oncogene addiction. Cell. 136: 823–837; 2009.

[56] Veeramani, S.; Yuan, T-C.; Lin, F-F.; Lin, M-F.; Mitochondrial redox signaling by p66Shc is involved in regulating androgenic growth stimulation of human prostate cancer cells. Oncogene. 27: 5057–5068; 2008.

[57] Veeramani, S.; Chou, Y. W.; Lin, F. C.; Muniyan, S.; Lin, F. F.; Kumar, S.; Xie, Y.; Lele, S. M.; Tu, Y.; Lin, M. F. Reactive oxygen species induced by p66Shc longevity protein mediate nongenomic androgen action via tyrosine phosphorylation signaling to enhance tumorigenicity of prostate cancer cells. Free Radic. Biol. Med. 53: 95-108; 2012.

[58] Lin, Y. H.; Chen, C. L.; Hou, C. P.; Chang, P. L.; Tsui, K. H. A comparison of androgen deprivation therapy versus surgical castration for patients with advanced prostatic carcinoma. Acta Pharmacol. Sin. 32: 537-542; 2011.

[59] Shiota, M.; Yokomizo, A.; Naito, S. Oxidative stress and androgen receptor signaling in the development and progression of castration-resistant prostate cancer. Free Radic. Biol. Med. 51: 1320-1328; 2011.

[60] Linja, M. J.; Savinainen, K. J. ; Tammela, T. L. ; Isola, J. J. ; Visakorpi, T. Expression of ERalpha and ERbeta in prostate cancer. Prostate. 55: 180-186; 2003.

[61] Miró, A. M.; Sastre-Serra, J.; Pons, D. G.; Valle, A.; Roca, P.; Oliver, J. 17β-Estradiol regulates oxidative stress in prostate cancer cell lines according to ERalpha/ERbeta ratio. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 123: 133-139 ; 2011.

[62] Ricke, W. A.; McPherson, S. J.; Bianco, J. J.; Cunha, G. R.; Wang, Y.; Risbridger, G. P. Prostatic hormonal carcinogenesis is mediated by in situ estrogen production and estrogen receptor alpha signaling. FASEB J. 22: 1512-1520; 2008.

[63] Harris, M. T.; Feldberg, R. S.; Lau, K. M.; Lazarus, N. H.; Cochrane, D. E. Expression of proinflammatory genes during estrogen-induced inflammation of the rat prostate. Prostate. 44: 19-25; 2000.

[64] Ho, E.; Boileaun, T. W.; Bray, T. M. Dietary influences on endocrine-inflammatory interactions in prostate cancer development. Arch. Biochem. Biophys. 428: 109-117; 2004.

[65] Khansari, N.; Shakiba, Y.; Mahmoudi, M. Chronic inflammation and oxidative stress as a major cause of age-related diseases and cancer. Recent Pat. Inflamm. Allergy Drug Discov. 3:73-80; 2009.

[66] Azad, N.; Rojanasakul, Y.; Vallyathan, V. Inflammation and lung cancer: roles of reactive oxygen/nitrogen species. J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev. 11: 1-15; 2008.

[67] Brar S. S.; Corbin, Z.; Kennedy, T. P.; Hemendinger, R.; Thornton, L.; Bommarius, B.; Arnold, R. S.; Whorton, A. R.; Sturrock, A. B.; Huecksteadt, T. P.; Quinn, M. T.; Krenitsky, K.; Ardie, K. G.; Lambeth. J. D.; Hoidal, J. R. NOX5 NAD(P)H oxidase regulates growth and apoptosis in DU 145 prostate cancer cells. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 285: 353-369; 2003.

[68] Tam, N. N.; Gao, Y.; Leung, Y. K.; Ho, S. M. Androgenic regulation of oxidative stress in the rat prostate: involvement of NAD(P)H oxidases and antioxidant defense machinery during prostatic involution and regrowth. Am. J. Pathol. 163: 2513-2522; 2003.

[69] Nguyen, H. L.; Zucker, S.; Zarrabi, K.; Kadam, P.; Schmidt, C.; Cao, J. Oxidative stress and prostate cancer progression are elicited by membrane-type 1 matrix metalloproteinase. Mol. Cancer Res. 9: 1305-1318; 2011.

[70] Mehraein-Ghomi, F.; Basu, H. S.; Church, D. R.; Hoffmann, F. M.; Wilding, G. Androgen receptor requires JunD as a coactivator to switch on an oxidative stress generation pathway in prostate cancer cells. Cancer Res. 70: 4560-4568; 2010.

[71] Goodwin, A.; Jadallah, S.; Toubaji, A.; Lecksell, K.; Hicks, J.; Kowalski, J.; Bova, G.; De Marzo, A.; Netto, G.; Casero, R. A. Jr. Increased spermine oxidase expression in human prostate cancer and prostatic intraepithelial neoplasia tissues. Prostate 68:766–772; 2008.

[72] Smith, A.; Karpova, Y.; D`Agostino, R.; Willingham, M.; Kulik, G. Expression of the Bcl-2 protein BAD promotes prostate cancer growth. PLoS One. 4: 1-6; 2009.

[73] Klaunig, J. E.; Xu, Y.; Isenberg, J. S.; Bachowski, S.; Kolaja, K. L.; Jiang, J.; Stevenson, D. E.; Walborg, Jr. E. F. The role of oxidative stress in chemical carcinogenesis. Environ. Health Perspect. 106: 289-295; 1998.

[74] Chung, Y. W.; Jeong, D.; Won, J. Y.; Choi, E. J.; Choi, Y. H.; Kim, I. Y. H2O2-induced AP-1 activation and its effect on p21WAF1/CIP1-mediated G2/M arrest in a p53-deficient human lung cancer cell. Biochem. Biophys. Res. Commun. 293: 1248-1253; 2002.

[75] Waris, G.; Ahsan, H. Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. J. Carcinog. 5: 14-22; 2006.

[76] Valko, M.; Rhodes, C. J.; Moncol, J.; Izakovic, M.; Mazur, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem. Biol. Interact. 160: 1-40; 2006.

[77] Vivanco, I.; Palaskas, N.; Tran, C.; Finn, S. P.; Getz, G.; Kennedy, N. J.; Jiao, J.; Rose, J.; Xie, W.; Loda, M.; Golub, T.; Mellinghoff, I. K.; Davis, R. J.; Wu, H.; Sawyers, C. L. Identification of the JNK signaling pathway as a functional target of the tumor suppressor PTEN. Cancer Cell. 11: 555-569; 2007.

[78] Ouyang, X.; Jessen, W. J.; Al-Ahmadie, H.; Serio, A. M.; Lin, Y.; Shih, W. J.; Reuter, V. E.; Scardino, P. T.; Shen, M. M.; Aronow, B. J.; Vickers, A. J.; Gerald, W. L.; Abate-Shen, C. Activator protein-1 transcription factors are associated with progression and recurrence of prostate cancer. Cancer Res. 68: 2132-2144; 2008.

[79] Frohlich, D. A.; McCabe, M. T.; Arnold, R. S.; Day, M. L. The role of Nrf2 in increased reactive oxygen species and DNA damage in prostate tumorigenesis. Oncogene. 27: 4353-4362 ; 2008.

[80] Pincemail, J. ; Meurisse, M. ; Limet, R. ; Defraigne, J.O. Espèces oxygénées activées, antioxidants et cancer. Vaisseaux, Cœur, Poumons. vol 4 n°4 ; 1999.

[81] Shan, W.; Zhong, W.; Zhao, R.; Oberley, T. D. Thioredoxin 1 as a subcellular biomarker of redox imbalance in human prostate cancer progression. Free Radic. Biol. Med. 49: 2078-2087; 2010.

[82] Budanov, A. V. Stress-responsive sestrins link p53 with redox regulation and mammalian target of rapamycin signaling. Antioxid. Redox Signal. 15:1679-1690; 2011.

[83] Sablina, A. A.; Budanov, A. V.; Ilyinskaya, G. V.; Agapova, L. S.; Kravchenko, J. E.; Chumakov, P. M. The antioxidant function of the p53 tumor suppressor. Nat. Med. 11:1306-1313 ; 2005.

[84] Visakorpi, T.; Kallioniemi, O. P.; Heikkinen, A.; Koivula, T.; Isola, J. Small subgroup of aggressive, highly proliferative prostatic carcinomas defined by p53 accumulation. J. Natl. Cancer Inst. 84:883-887; 1992.

[85] Navone, N. M.; Troncoso, P.; Pisters, L. L.; Goodrow, T. L.; Palmer, J. L.; Nichols, W. W.; von Eschenbach, A. C.; Conti, C. J. p53 protein accumulation and gene mutation in the progression of human prostate carcinoma. J. Natl. Cancer Inst. 85:1657-1669; 1993.

[86] Chi, S. G.; Ralph, W.; deVere, W.; Meyers, F. J.; Siders, D. B.; Lee, F.; Gumerlock, P. H. p53 in prostate cancer: frequent expressed transition mutations. J. Natl. Cancer Inst. 86: 926-933; 1994.

[87] Grignon, D. J.; Caplan, R.; Sarkar, F. H.; Lawton, C. A.; Hammond, E. H.; Pilepich, M. V.; Forman, J. D.; Mesic, J.; Fu, K. K.; Abrams, R. A.; Pajak, T. F.; Shipley, W. U.; Cox, J. D. p53 status and prognosis of locally advanced prostatic adenocarcinoma: a study based on RTOG 8610. J Natl Cancer Inst. 89: 158-165; 1997.

[88] North, S.; Moenner, M.; Bikfalvi, A. Recent developments in the regulation of the angiogenic switch by cellular stress factors in tumors. Cancer Lett. 218: 1-14; 2005.

[89] Mazure, N. M.; Chen, E. Y.; Yeh, P.; Laderoute, K. R.; Giaccia, A. J. Oncogenic transformation and hypoxia synergistically act to modulate vascular endothelial growth factor expression. Cancer Res. 56: 3436-3440; 1996.

[90] Bergers, G.; Benjamin, L. E. Tumorigenesis and the angiogenic switch. Nat. Rev. Cancer. 3: 401-410; 2003.

[91] Ferrando, M.; Gueron, G.; Elguero, B.; Giudice, J.; Salles, A.; Leskow, F. C.; Jares-Erijman, E. A.; Colombo, L.; Meiss, R.; Navone, N.; De Siervi, A.; Vazquez, E. Heme oxygenase 1 (HO-1) challenges the angiogenic switch in prostate cancer. Angiogenesis. 14: 467-479; 2011.

[92] Dreher, D.; Junod, A. F. Role of oxygen free radicals in cancer development. Eur. J. Cancer. 1:30-38; 1996.

[93] Yeh, C. C.; Lee, C.; Dahiya, R. DNA mismatch repair enzyme activity and gene expression in prostate cancer. Biochem. Biophys. Res. Commun. 285: 409-413; 2001.

[94] Chen, Y.; Wang J.; Fraig, M. M.; Metcalf, J.; Turner, W. R.; Bissada, N. K.; Watson, D. K.; Schweinfest, C. W. Defects of DNA mismatch repair in human prostate cancer. Cancer Res. 61: 4112-4121; 2001.

[95] Donkena, K. V.; Young, C. Y.; Tindall, D. J. Oxidative stress and DNA methylation in prostate cancer. Obstet. Gynecol. Int. 2010: 302051.

[96] Oberley, T. D.; Zhong, W.; Szweda, L. I.; Oberley, L. W. Localization of antioxidant enzymes and oxidative damage products in normal and malignant prostate epithelium. Prostate. 44: 144-155; 2000.

[97] Dakubo, G. D.; Parr, R. L.; Costello, L. C.; Franklin, R. B.; Thayer, R. E. Altered metabolism and mitochondrial genome in prostate cancer. J. Clin. Pathol. 59: 10-6; 2006.

[98] Almushatat, A.; Talwar, D.; McArdle, P. A.; Williamson, C.; Sattar, N.; O'Reilly, D. S.; Underwood, M. A.; McMillan, D. C. Vitamin antioxidants, lipid peroxidation and the systemic inflammatory response in patients with prostate cancer. Int. J. Cancer. 118: 1051-1053; 2006.

[99] Custovic, Z.; Zarkovic, K.; Cindric, M.; Cipak, A.; Jurkovic, I.; Sonicki, Z.; Uchida, K.; Zarkovic, N. Lipid peroxidation product acrolein as a predictive biomarker of prostate carcinoma relapse after radical surgery. Free Radic. Res. 44: 497-504; 2010.

[100] Yossepowitch, O.; Pinchuk, I.; Gur, U.; Neumann, A.; Lichtenberg, D.; Baniel, J. Advanced but not localized prostate cancer is associated with increased oxidative stress. J. Urol. 178: 1238-1244; 2007.

[101] Barocas, D. A.; Motley, S.; Cookson, M. S.; Chang, S. S.; Penson, D. F.; Dai, Q.; Milne, G.; Roberts, L. J.2nd, Morrow, J.; Concepcion, R. S.; Smith, J. A. Jr.; Fowke, J. H. Oxidative stress measured by urine F2-isoprostane level is associated with prostate cancer. J Urol. 185: 2102-2107; 2011.

[102] Davies, K. J.; Quintanilha, A. T.; Brooks, G. A.; Packer, L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. Biochem. Biophys. Res. Commun.107: 1198-1205; 1982.

[103] Alessio H.M., Goldfarb A.H., Cutler R.G.: MDA content increases in fast- and slow twitch skeletal muscle with intensity of exercise in a rat. Am. J. Physiol. 255: 874-877; 1988.

[104] Leeuwenburgh, C.; Heinecke, J. W. Oxidative stress and antioxidants in exercise. Curr. Medi. Chem. 8: 829-838; 2001.

[105] Fogarty, M. C.; Hughes, C. M.; Burke, G.; Brown, J. C.; Trinick, T. R.; Duly, E.; Bailey, D. M.; Davison, G. W. Exercise-induced lipid peroxidation: Implications for deoxyribonucleic acid damage and systemic free radical generation. Environ. Mol. Mutagen. 52: 35-42; 2011.

[106] Powers, S. K.; Jackson, M. J. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. Physiol. Rev. 88: 1243-1276; 2008.

[107] Ogonovszky, H.; Sasvári, M.; Dosek, A.; Berkes, I.; Kaneko, T.; Tahara, S.; Nakamoto, H.; Goto, S.; Radak, Z. The Effects of Moderate, Strenuous, and Overtraining on Oxidative Stress Markers and DNA Repair in Rat Liver. Can. J. Appl. Physiol. 30: 186-195; 2005.

[108] Goto, S.; Radak, Z. Hormetic effects of reactive oxygen species by exercise: a view from animal studies for successful aging in human. Dose Response. 8: 68–72; 2010.

[109] Groussard, C.; Rannou-Bekeno, F.; Machefer, G.; Chevanne, M.; Vincent, S.; Sergent, O.; Cillard J.; Gratas-Delamarche, A. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. Eur. J. Appl. Physiol. 89: 14-20; 2003.

[110] Nikolaidis, M. G.; Kyparos, A.; Spanou, C.; Paschalis, V.; Theodorou, A. A.; Vrabas, I. S. Redox biology of exercise: an integrative and comparative consideration of some overlooked issues. J. Exp. Biol. 215: 1615-1625; 2012.

[111] Ashton, T.; Young, I. S.; Peters, J. R.; Jones, E.; Jackson, S. K.; Davies, B.; Rowlands, C. C. Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. J. Appl. Physiol. 87: 2032-2036; 1999.

[112] Venditti, P.; Masullo, P.; Di Meo, S. Effect of training on H2O2 release by mitochondria from rat skeletal muscle. Arch. Biochem. Biophys. 372: 315-320; 1999.

[113] Powers, S. K.; Criswell, D.; Lawler, J.; Martin, D.; Lieu, F. K.; Ji, L. L.; Herb, R. A. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. Am. J. Physiol. 265: 2094-2098; 1993.

[114] Miyazaki, H.; Oh-ishi, S.; Ookawara, T.; Kizaki, T.; Toshinai, K.; Ha, S.; Haga, S.; Ji, L. L.; Ohno, H. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. Eur. J. Appl. Physiol. 84: 1-6; 2001.

[115] Finaud, J. ; Lac, G.; Filaire, E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. Sports Med. 36: 327-358; 2006.

[116] Goto, S.; Radak, Z. Regular exercise attenuates oxidative stress in aging rat tissues: a possible mechanism toward anti-aging medicine. J. Exerc. Sci. Fit. 5(1): 1-6 ; 2007.

[117] Campbell, P. T.; Gross, M. D.; Potter, J. D.; Schmitz, K. H.; Duggan, C.; Mc Tiernan, A.; Ulrich, C. M. Effect of exercise on oxidative stress: a 12-month randomized, controlled trial. Med. Sci. Sports. Exerc. 42: 1448-1453; 2010.

[118] Ji, L. L.; Leeuwenburgh, C.; Leichtweis, S.; Gore, M.; Fiebig, R.; Hollander, J.; Bejma, J. Oxidative stress and aging. Role of exercise and its influences on antioxidant systems. Ann. N. Y. Acad. Sci. 854: 102-117; 1998.

[119] Daussin, F. N. ; Rasseneur, L. ; Bouitbir, J. ; Charles, A. L. ; Dufour, S. P. ; Geny, B.; Burelle, Y. ; Richard, R. Different timing of changes in mitochondrial functions following endurance training. Med. Sci. Sports Exerc. 44: 217-224; 2012.

[120] Feng, H., Kang, C., Dickman, J., Koenig, R., Awoyinka, I., Zhang, Y., Ji, L. L. Training-induced Mitochondrial Adaptation: Role of PGC-1α, NFκB and β-Blockade. Exp. Physiol. 2012: 069286.

[121] Ji, L. L.; Gomez-Cabrera, M. C.; Viña, J. Activation of cellular antioxidant signaling pathway. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1067: 425-435; 2006.

[122] Hojman, P.; Dethlefsen, C.; Brandt, C.; Hansen, J.; Pedersen, L.; Pedersen, B. K. Exercise-induced muscle-derived cytokines inhibit mammary cancer cell growth. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 301: 504-510; 2011.

[123] Petersen, A. M.; Pedersen, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. J. Appl. Physiol. 98: 1154-1162; 2005.

Contribution personnelle

Chapitre II. Discussion générale et perspectives

Au cours de cette dernière décennie, il a été démontré qu'un exercice physique régulier et bien conduit pouvait diminuer le risque de cancer, son évolution et sa rechute, tout en contrôlant les troubles associés comme la fatigue, la détresse psychologique, la prise de masse grasse, la perte de force musculaire et la qualité de vie [Courneya2011 ; Kenfield2011 ; Thomas2014]. L'exercice physique adapté et régulier apparait donc comme un soin de support indiqué tout au long des traitements et dans la phase de réhabilitation. A l'heure actuelle, même si l'exercice physique est de plus en plus recommandé par les centres anticancéreux, il existe encore de nombreuses réticences dans le milieu médical quant aux effets de l'exercice physique dans la prise en charge des cancers.

A. L'exercice physique régulier ralentit la progression du cancer de la prostate.

Quelques rares études se sont intéressées à l'impact de l'activité physique sur la progression du cancer de la prostate. Chez des hommes atteints d'un adénocarcinome prostatique localisé, la pratique régulière d'un exercice de marche rapide après diagnostic retarde significativement la progression du cancer [Richman2011]. De façon similaire, des exercices de course (roue d'activité volontaire) durant dix semaines induisent un ralentissement de l'évolution du cancer de la prostate au sein d'un modèle de souris transgéniques TRAMP [Esser2009]. Des résultats similaires sont également obtenus *in vitro* en incubant des cellules cancéreuses prostatiques humaines androgéno-dépendantes avec du sérum d'hommes ayant suivi un programme d'activité physique [Tymchuk2001 ; Leung2004 ; Barnard2007 ; Soliman2011 ; Rundqvist2013].

Dans le cadre de l'étude n°1 de cette thèse, nous avons montré au sein d'un modèle de rongeur porteur d'une tumeur prostatique murine en sous-cutanée qu'un entrainement en endurance de quatre semaines sur tapis roulant ralentit significativement la progression tumorale. Cette étude révèle une augmentation du temps de doublement de la tumeur avec l'exercice et une diminution du nombre de cellules en prolifération. Le modèle de cellules AT1 Dunning injectées en sous-cutanée aux rats Copenhagen mime parfaitement les cancers de la prostate de bas grade [Lamb2005]. Toutefois, ce modèle reste un modèle murin difficilement transposable à l'homme. Ceci nous a donc conduits à développer un projet utilisant des cellules cancéreuses prostatiques humaines telles que la lignée PPC1. Ces cellules ont été injectées en sous-cutanée à des souris Nude afin de mimer au mieux un cancer de la prostate humain. Nous montrons de nouveau au sein de l'étude n°4 qu'un exercice physique aérobie régulier prévient la progression tumorale prostatique. L'utilisation de souris Nude pourrait présenter un facteur limitant dans cette étude. La part du système immunitaire dans la réponse induite par l'exercice reste peu décrite dans la carcinogenèse. Chez des patients porteurs d'un cancer, la pratique d'une activité physique régulière pourrait être associée à une

amélioration de l'activité des cellules « natural killer », de la fonction des monocytes et de la proportion de granulocytes circulants [Peters1994 et 1995 ; Na2000 ; Fairey2005]. Toutefois, aucune étude ne s'est intéressée à déterminer si les modifications de la fonction immunitaire par l'exercice sont impliquées dans la prévention de la progression du cancer de la prostate.

De plus, nous avons conscience qu'un modèle orthotopique d'adénocarcinome prostatique aurait permis de mimer au mieux le microenvironnement tumoral. Une injection *in situ* aurait nécessité l'utilisation de techniques d'imagerie médicale, afin d'évaluer la progression du cancer au cours du protocole et ainsi engendré des coûts supplémentaires. L'injection en sous-cutanée nous a permis de suivre l'évolution tumorale visuellement et de mesurer les tumeurs en utilisant un pied à coulisse. Dans l'étude n°4, nous avons également réalisé un scanner des souris à J5 et J24. L'utilisation de modèle animal induit toujours certaines limites, nos choix se sont donc orientés en fonction des objectifs. Malgré tout, nos études ont été réalisées uniquement chez l'animal et une des difficultés aujourd'hui reste la transposition du modèle animal à l'homme. Une première réponse est apportée par l'étude n°3 confirmant que l'exercice physique retarde la carcinogenèse prostatique. En effet, nous montrons *in vitro* que l'exercice physique limite la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques humaines. Ainsi, l'ensemble des projets développés au sein de cette thèse démontre que l'exercice physique régulier d'endurance retarde la progression du cancer de la prostate.

Il est bien évidemment impossible de tirer de ces modèles animaux des recommandations précises (en terme de fréquence, durée, intensité) à proposer aux patients. Des études cliniques sont indispensables et c'est pourquoi nous avons soumis un projet de recherche clinique chez l'homme, actuellement en cours d'évaluation à l'ARC. Nos expériences chez l'animal montrent, tout de même, que les activités physiques régulières (5 jours/semaine) et intenses (70% VMA, 50 min-1h en fonction des animaux) engendrent des bénéfices sur l'évolution tumorale. Ces résultats sont en adéquation avec des publications soulignant un effet bénéfique des exercices physiques supérieures à 9 MET-h/semaine chez des patients atteints de cancer [Courneya2011 ; Kenfield2011].

Concernant le type d'activité physique à effectuer, la littérature traite davantage d'exercices d'endurance connus pour accroitre la dépense énergétique. Il est pourtant clairement admis que les exercices de renforcement musculaire conduisent à une amélioration de la qualité de vie des patients atteints d'un adénocarcinome prostatique en prévenant les effets secondaires musculaires, cognitifs et psychosociaux liés au cancer mais aussi aux traitements [Segal2003 ; Galvão2006]. Les effets bénéfiques induits par l'exercice physique régulier chez des patients atteins d'un cancer de la prostate semblent être majorés lorsque les programmes de réentrainement intègrent des exercices aérobies et de renforcement musculaire. Segal et collaborateurs montrent qu'à court terme, les

exercices de renforcement musculaire et d'endurance préviennent la fatigue chez des hommes atteints d'un cancer de la prostate sous radiothérapie. Toutefois, seuls les programmes de renforcement musculaire permettraient de maintenir ces bénéfices sur le long terme [Segal2009]. A l'heure actuelle, les recommandations préconisent de limiter l'inactivité physique, de réaliser au minimum 150 min par semaine d'exercice et d'inclure au moins deux fois par semaine des exercices de renforcement musculaire [Rock2012]. De récentes publications décrivent des protocoles de résistance chez des modèles de rats avec prise de masse musculaire [Cholewa2014], et pourtant, nous nous sommes seulement intéressés aux effets d'un exercice physique d'endurance sur la progression tumorale au sein de cette thèse. Toutefois, il pourrait être pertinent de comparer les effets d'exercices d'endurance *versus* résistance mais surtout de les combiner dans un même modèle animal afin de décrypter les mécanismes moléculaires associés.

Les études réalisées au cours de cette thèse ont permis d'identifier les effets bénéfiques de l'exercice physique sur l'évolution du cancer de la prostate, mais elles ont également permis d'identifier des voies de signalisation notamment redox-sensibles impliquées dans ces effets. La compréhension des mécanismes moléculaires induits en réponse à l'exercice pourrait permettre d'améliorer la prise en charge des patients atteints d'un adénocarcinome prostatique.

B. L'identification des mécanismes moléculaires induits par l'exercice physique et impliqués dans la prévention de la progression du cancer de la prostate.

Les mécanismes moléculaires expliquant comment l'exercice physique prévient la progression du cancer de la prostate restent encore peu élucidés. Il est largement suggéré que l'exercice physique régulier pourrait inhiber la carcinogenèse via la régulation de la cascade de signalisation IGF/PI3K/Akt et de ces facteurs de transcription incluant p53 et NF-ƙB [Barnard2007 ; Courneya2011 ; Rundqvist2013 ; Thomas2014]. Malgré tout, les données restent trop peu nombreuses et nous ne sommes toujours pas en mesure de définir des recommandations précises d'exercice.

1. L'exercice physique prévient l'évolution tumorale prostatique via une modulation du stress oxydant et des voies de signalisation associées.

Dans le cadre de cette thèse, nous avons fait l'hypothèse que l'exercice physique pourrait impacter l'évolution du cancer de la prostate via une modulation du stress oxydant et/ou des voies de signalisation redox-sensibles comme suggéré par Soliman et collaborateurs au sein d'une étude *in vitro*. Ces dernières années, le stress oxydant a pris une place majeure dans l'histoire naturelle du

cancer de la prostate [Luo2009]. L'évolution tumorale semble étroitement associée à la teneur en ERO au sein de l'épithélium prostatique [Khandrika2009 ; Gupta2012 ; Gorrini2013]. Selon nous, l'exercice physique régulier connu pour ses capacités à induire des adaptations redox pourrait moduler le stress oxydant chronique [Radak2008 ; GomezCabrera2008 ; Ji2008] présent dans le tissu cancéreux prostatique et ainsi retarder la carcinogenèse prostatique.

Dans l'étude n°1, nous avons montré que l'exercice physique améliore les défenses antioxydantes en augmentant l'activité de la SOD musculaire et prévient les dommages oxydatifs à l'ADN (8-oxodGuo) dans le tissu tumoral prostatique. L'exercice physique a également induit, au sein des tumeurs prostatiques murines, une inhibition de l'expression de la forme phosphorylée d'ERK, une protéine largement décrite pour son implication dans la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques. Par conséquent, l'exercice physique pourrait retarder la progression du cancer de la prostate en prévenant les dommages oxydatifs à l'ADN et en down-régulant la voie de signalisation ERK, une cascade redox-sensible connue pour être activée par les ERO [McCubrey2007]. Des études rapportent que la phosphorylation de ERK est corrélée avec le score de Gleason et le stade tumoral, suggérant de fait que l'activation de cette voie de signalisation est impliquée dans la progression tumorale vers des stades avancés et androgéno-indépendants de la pathologie [Gioeli1999 ; Royuela2002 ; Shen2010]. De manière très intéressante, nous avons également montré que cette voie de signalisation redox-dépendante est inhibée à la suite d'un programme d'exercice physique au sein de notre second modèle animal de cancer de la prostate humain (étude n°4).

Bien qu'aucune modulation de la phosphorylation d'ERK ne soit observée dans l'étude *in vitro* n°3, nous montrons une inhibition de la voie de signalisation Akt en réponse à l'exercice physique. Des preuves évidentes rapportent que l'augmentation de l'activation de la cascade Akt est corrélée au grade de Gleason [Malik2002]. La dérégulation de l'expression et/ou les mutations du gène suppresseur de tumeur *PTEN* surviennent très fréquemment dans le cancer de la prostate, ce qui induit une activation aberrante de la cascade Akt [McMenamin1999 ; Li2005 ; Kinkade2008 ; Edlind2014]. Dans les cellules LNCaP, les mutations de *PTEN* sont connues pour augmenter la phosphorylation d'Akt et inactiver la cascade Raf/MEK/ERK, coïncidant de fait avec les résultats obtenus dans l'étude n°3 [McCubrey2007]. Taylor et collaborateurs montrent que la voie de signalisation Akt est dérégulée dans 42% des adénocarcinomes prostatiques localisés et dans 100% des stades avancées de la pathologie [Taylor2010]. L'augmentation de la phosphorylation d'Akt conduit à la progression du cancer de la prostate notamment via une inactivation de la protéine pro-apototique Bad et une diminution de l'expression de $p27^{Kip1}$ [Graff2000].

Au sein de notre modèle animale de cancer de la prostate humain, nous avons également observé une inactivation de la voie de signalisation Akt en réponse à l'exercice physique, ce qui vient ainsi confirmer le résultat obtenu *in vitro*.

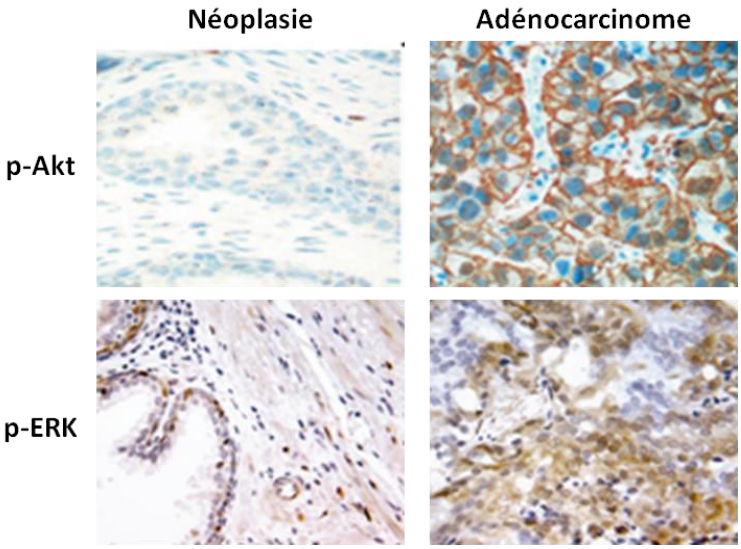

Figure 25. Marquage immuno-histochimique de tissus prostatiques humains (adapté de Gioeli et al., 1999 et Malik et al., 2002)

Dans l'étude n°4, nous avons rapporté une inhibition de la phosphorylation des protéines ERK et Akt dans le tissu tumoral prostatique à la suite d'un programme d'exercice en endurance chez des souris, auxquelles des cellules PPC1 androgéno-indépendantes ont été injectées en sous-cutanée. Ces résultats sont d'autant plus intéressants que l'activation synergique des voies de signalisation Akt et ERK est décrite pour induire la promotion de la tumorigenèse prostatique (Fig.25), tout en facilitant le passage d'une forme androgéno-dépendante vers une forme androgéno-indépendante [Gao2006 ; Kinkade2008 ; Mulholland2012]. L'amélioration des connaissances concernant ces deux voies de signalisation et leurs altérations oncogéniques ont conduit à identifier des cibles privilégiées pour le traitement des cancers et à envisager la conception de nouveaux composés susceptibles d'éteindre sélectivement telle ou telle étape de la voie PI3K/Akt et ERK [McCubrey2007 ; Kinkade2008 ; Gioeli2011]. Actuellement, la combinaison de ces inhibiteurs chimiques avec des stratégies thérapeutiques curatives fait l'objet d'expérimentations. Au sein de cette thèse, nous montrons pour la première fois que l'exercice physique pourrait induire une inhibition de la prolifération cellulaire au sein du tissu tumoral via une inactivation des cascades de signalisation ERK et Akt. Ceci nous amène donc à penser que l'exercice physique pourrait dans l'avenir être une option complémentaire aux thérapies conventionnelles pouvant substituer l'utilisation d'inhibiteurs pharmacologiques de ces deux voies de signalisation.

Afin de confirmer que l'exercice physique module l'évolution tumorale prostatique via une down-régulation de la phosphorylation d'ERK et d'Akt, il serait à présent intéressant d'inhiber l'activité de ces deux protéines au sein de nos modèles expérimentaux. Dans ce contexte, nous pourrions observer les effets de l'exercice physique combiné ou non à une inhibition de l'activation des voies de signalisation ERK et Akt par traitement pharmacologique. Pour ce faire, les cellules cancéreuses prostatiques devront être prétraitées ou non avec des inhibiteurs pharmacologiques d'intérêt avant de les injecter en sous-cutanée au rongeur dans les modèles animaux ou avant de les traiter avec les sera de volontaire inactif et actif dans le modèle *in vitro*. Une autre technique pour valider nos résultats pourrait être la méthode de transfection par siRNA. Dans ce cas, les cellules tumorales prostatiques seraient transfectées avec des siRNA dirigés contre les ARNm des protéines ERK et Akt avant d'être injectése à des rongeurs réalisant ou non de l'exercice physique ou avant de traiter les cellules avec les sera dans le modèle *in vitro*.

Ces perspectives semblent pertinentes uniquement sur le plan théorique car en pratique ni les inhibiteurs chimiques, ni les siRNA ne permettront de confirmer que l'exercice physique est impliqué dans l'inhibition de la phosphorylation d'ERK et d'Akt car l'extinction de ces dernières ne seraient que transitoire. De plus, l'inactivation de ces deux voies de signalisation conduirait à limiter considérablement la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques, montrant de fait leur importance dans la progression du cancer de la prostate.

Dans le cadre de l'étude n°3, nous montrons une inhibition de la phosphorylation de Akt mais également une inhibition du facteur de transcription FOXO3a lorsque les cellules LNCaP sont incubées avec le sérum des volontaires actifs. L'activation de Akt est largement décrite pour induire la phosphorylation de plusieurs effecteurs dont FOXO3a, connu pour réguler d'important processus cellulaires tels que le cycle cellulaire, la réparation de l'ADN, la résistance au stress oxydatif et l'apoptose en modulant des gènes cibles spécifiques [Furukawa2005 ; Manning2007 ; Greer2008 ; Zhang2011]. Concernant le cancer de la prostate, une diminution progressive de la fixation de FOXO3a à l'ADN est observée au décours de la tumorigenèse prostatique et une faible activité transcriptionnelle de FOXO3a est associée à une accélération de la progression de l'adénocarcinome prostatique [Shukla2009 et 2013]. Shukla et collaborateurs ont montré que l'apigénine, un bi-flavonoïde contenu dans certains végétaux, réduit la phosphorylation d'Akt, permettant de fait de prévenir l'évolution tumorale prostatique via la stabilisation nucléaire de FOXO3a et la transcription de gènes cibles impliqués notamment dans l'arrêt du cycle cellulaire comme $p27^{Kip1}$ [Shukla2014].

Il serait ainsi intéressant de quantifier l'expression et l'activité du facteur de transcription FOXO3a respectivement par western blot et par ELISA via un kit TransAm au sein des tumeurs de l'étude n°4, pour laquelle nous avons dès lors observé une inactivation des voies de signalisation ERK et Akt. De plus, une récente étude a démontré que l'inhibition simultanée des cascades PI3K/Akt et MAPK/ERK serait à l'origine de l'activation du facteur de transcription FOXO, conduisant à l'arrêt du cycle cellulaire et à l'apoptose dans le cancer du pancréas [Roy2010]. Bien qu'au sein de nos travaux expérimentaux, nous n'avons pas observé de modulation de l'apoptose avec l'exercice physique ; un arrêt du cycle cellulaire pourrait en partie expliquer l'inhibition de la croissance tumorale au sein de nos modèles. Afin de vérifier cette hypothèse, une mesure de l'expression des protéines $p21^{Waf1}$ et $p27^{Kip1}$, et de l'expression de la cycline D1 pourra être réalisée par western blot et couplée à une analyse par RT-qPCR du profil d'expression des gènes codant pour ces protéines.

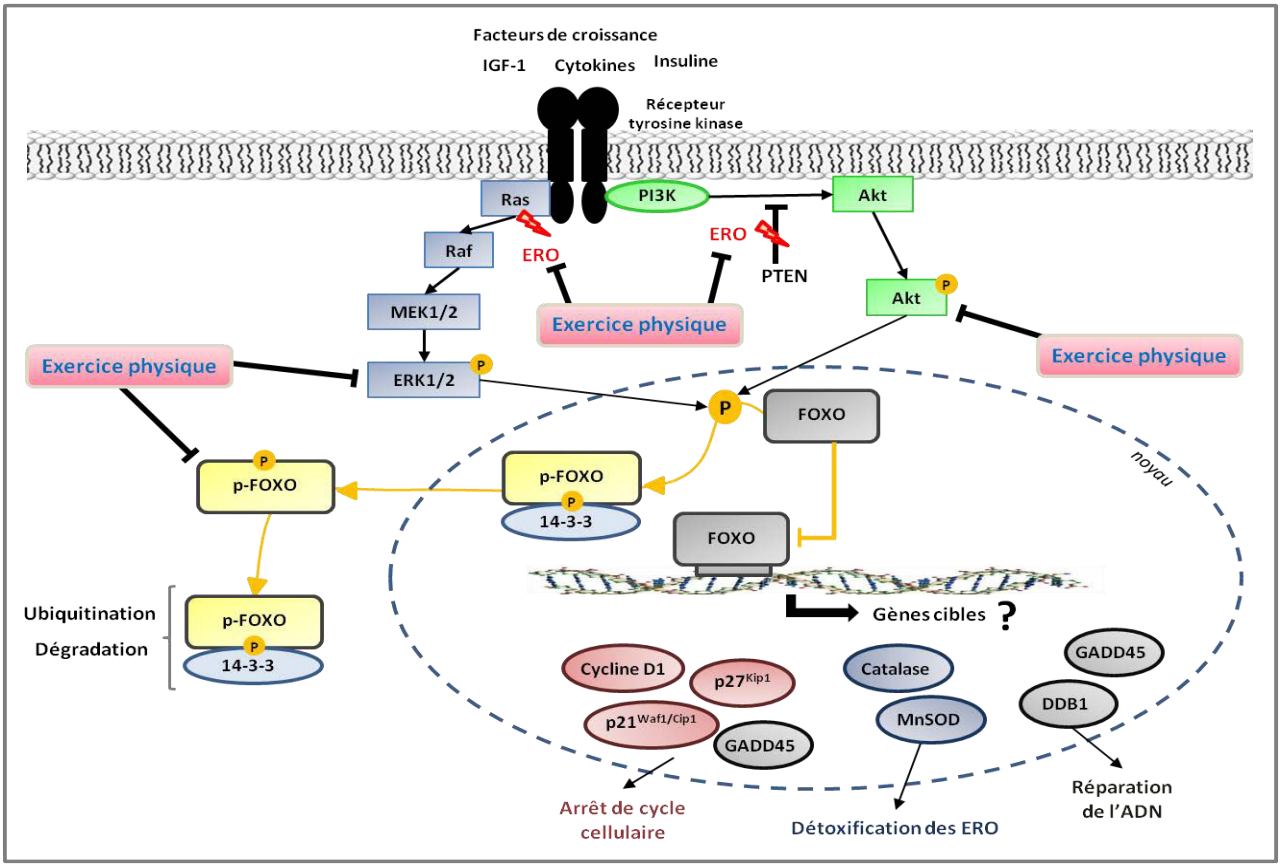

Figure 26. Schéma des mécanismes moléculaires redox sensibles par lesquels l'exercice physique prévient la progression du cancer de la prostate.

2. L'exercice physique limite la progression du cancer de la prostate via une modulation du profil d'expression des miARNs au sein de la tumeur.

Le stress oxydant et la phosphorylation de ERK sont connus pour réguler la biogenèse et l'expression des miARNs [Simone2009 ; Paroo2009; Dickey2011]. Ces courtes séquences d'ARN non codantes peuvent contrôler l'expression de plusieurs centaines de gènes [Ambs2008 ; Pang2010 ; Sayed2011]. Au cours de la dernière décennie, de nombreuses revues de littérature ont rapporté le rôle majeur des miARNs dans la carcinogenèse prostatique [Ozen2008 ; Coppola2010 ; Fang2014]. Gordanpour et collaborateurs montrent qu'environ 150 miARNs tissulaires présentent une expression aberrante dans le cancer de la prostate localisé [Gordanpour2012]. Dans le cadre de l'étude n°2, nous avons montré que l'exercice physique régulier et modéré en endurance module l'expression de miARNs oncogènes ou de miARNs suppresseurs de tumeurs directement au sein de la tumeur prostatique. En effet, le profil d'expression de 75 miARNs contenus dans le tissu tumoral présentait un profil d'expression significativement différent. Par conséquent, nous avons démontré au sein d'un modèle animal de cancer de la prostate que l'exercice physique pourrait retarder la tumorigenèse prostatique via une modulation du profil d'expressions des miARNs. Par des études complémentaires, ces observations pourraient mener à l'élaboration de nouvelles cibles thérapeutiques.

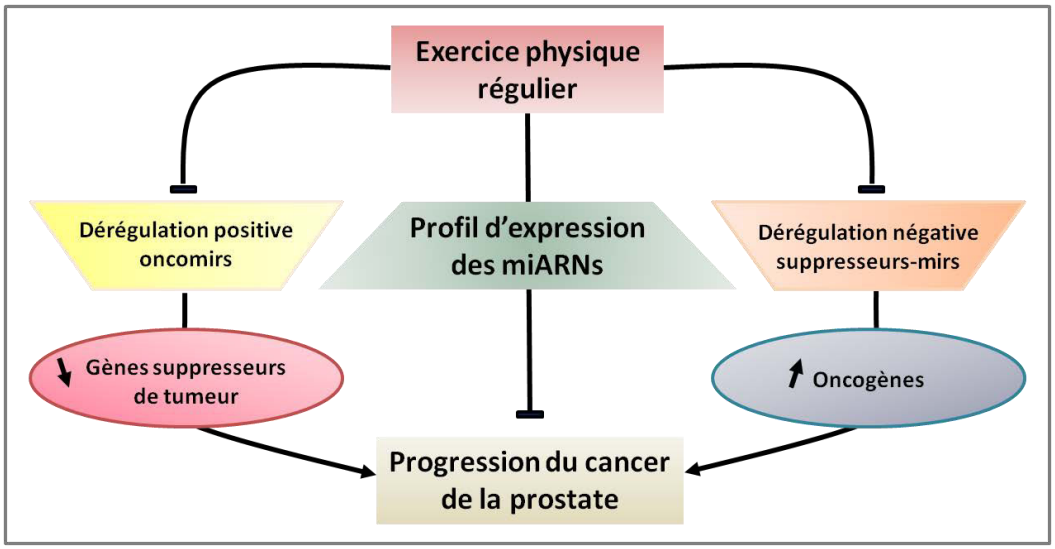

Figure 27. Schéma de la régulation du profil d'expression des miARNs de la tumeur induite par l'exercice physique dans la prévention de la carcinogenèse prostatique.

Dans ce contexte, l'utilisation de miARNs agonistes ou antagonistes pourrait respectivement restaurer la fonction des miARNs suppresseurs down-régulés dans le tissu cancéreux ou inhiber la fonction des miARNs oncogéniques up-régulés dans le cancer. Ceci pourra ainsi permettre d'individualiser et de personnaliser la prise en charge des patients atteints d'un cancer de la prostate. Une des premières étapes pour aboutir à une telle avancée thérapeutique serait de confirmer, *in vitro* puis *in vivo*, l'importance des miR-27a*, miR-181a, miR-224 et miR-301 dans la progression du cancer de la prostate en utilisant des « agamirs » ou « antagomirs » de ces miARNs. Pour ce faire les cellules tumorales prostatiques seraient transfectées avec ces miARNs d'intérêt avant d'être injectées à des rongeurs réalisant ou non de l'exercice physique et d'observer l'évolution tumorale dans le cas d'une étude *in vivo* ou tout simplement dans le but d'étudier la formation de colonies de cellules cancéreuses prostatiques *in vitro* [Ge2013]. Dans un second temps, une analyse de l'expression des gènes d'intérêt ciblés par ces miARNs pourra être conduite par RT-qPCR.

Au sein de l'étude n°2, nous avons rapporté que l'expression de *PHB* (*prohibitine)*, un gène connu pour être une cible du miR-27a, était up-régulée au sein des tissus tumoraux prostatiques des rats entrainés *versus* ceux des rats contrôles. Fletcher et collaborateurs ont démontré que l'augmentation de l'expression du miR-27a conduit à réduire les niveaux d'ARNm et protéiques de la prohibitine, à augmenter l'expression des gènes cibles du récepteurs des androgènes et ainsi à accroitre la progression du cancer de la prostate [Fletcher2012]. La prohibitine est principalement présente à la membrane interne des mitochondries, où elle semble jouer un rôle de chaperon moléculaire pour les protéines associées à la chaîne de transport des électrons. De plus, elle peut aussi se localiser dans les radeaux lipidiques et dans le noyau, où elle régule la transcription de plusieurs gènes et inhibe la prolifération cellulaire [Mishra2006]. La prohibitine est décrite pour ces phénomènes antiprolifératifs dans le cancer de la prostate [Dart2010]. Nous suggérons donc que l'exercice physique pourrait prévenir la progression du cancer de la prostate via une up-régulation de l'expression du miR-27a* (anti-sens du miR-27a) qui pourrait, à son tour, up-réguler l'expression de *PHB*. De plus, une récente étude publiée par Ge et collaborateurs montre que FOXO3a est également une cible du miR-27a. Au sein d'un modèle animal de glioblastome, les auteurs rapportent que l'injection de l'antogomiR-27a dans la tumeur a entrainé un retard de la croissance tumorale, qui pourrait s'expliquer par une up-régulation significative de l'expression du facteur de transcription FOXO3a et une diminution de la phosphorylation d'Akt [Ge2013]. Au vu de la littérature et de nos précédents résultats, nous faisons l'hypothèse que l'exercice physique pourrait moduler positivement le profil d'expression du miR-27a* induisant une inhibition de l'activation de la voie Akt et une up-régulation du facteur de transcription FOXO3a à l'origine du retard de la croissance tumorale prostatique auquel s'ajoute l'inhibition de la prohibitine.

Pour vérifier cette hypothèse, il serait intéressant de déterminer l'expression et l'activité du facteur de transcription FOXO3a au sein des tumeurs de nos différents groupes de rats ainsi que l'activation de la voie Akt (Etude 2).

La possibilité de détecter des miARNs, impliqués dans le cancer, directement dans le sang [Mitchell2008] pourrait également conduire à l'émergence de nouveaux systèmes non invasifs de dépistage précoce du cancer de la prostate ou de surveillance de cette pathologie une fois diagnostiquée, et pourrait surtout avoir une grande importance dans la promotion de la surveillance active chez des patients présentant un adénocarcinome prostatique à faible risque d'évolution. Au vu des résultats de l'étude n°2, la mise en place d'un programme d'exercice physique adapté au patient dans le cadre de sa surveillance active pourrait également permettre de prévenir l'up-régulation des oncomirs et la down-régulation des suppresseur-mirs, conduisant ainsi à limiter l'évolution du cancer. Dans un avenir proche, il semble tout à fait envisageable que la surveillance active devienne le traitement de référence des tumeurs localisées de la prostate. Les progrès concernant le dépistage précoce du cancer de la prostate avec le dosage des PSA permettent de diagnostiquer un grand nombre de cancer de bas grade à faible risque évolutif. L'association de ce dosage avec celui des miARNs pourrait conduire à une optimisation des critères de sélection et de suivi des patients désireux de différer ou éviter les traitements classiques et leurs complications en choisissant la surveillance active.

3. De la modulation du cholestérol circulant à la perturbation des radeaux lipidiques : l'impact de l'exercice dans la carcinogenèse prostatique.

Des études épidémiologiques démontent que le cholestérol joue un rôle crucial dans le risque de développer un cancer de la prostate et tout particulièrement de phénotypes agressifs, via sa capacité à réguler la prolifération et la migration des cellules tumorales prostatiques [DiVizio2008 ; Platz2009 ; Kitahara2011 ; Pelton2012]. Selon une récente étude, le risque de rechute serait majoré par des niveaux élevés de cholestérol total circulant [Allot2014]. Les statines, qui sont des inhibiteurs de la HMGcoA réductase, une enzyme impliquée dans la synthèse du cholestérol, sont supposées réduire la progression du cancer de la prostate *in vivo* [Platz2006 ; Park2013 ; Moon2014].

Le cholestérol, présent en abondance dans la membrane plasmique des cellules eucaryotes, est un lipide essentiel au maintien de l'intégrité et de la fluidité membranaire [Silvius2003]. Il existe au sein de la membrane plasmatique des micro-domaines enrichis en cholestérol et sphingolipides. Ces plateformes membranaires, connues sous le nom de radeaux lipidiques, contiennent un nombre substantiel de signaux de transduction, ce qui permet à ces micro-domaines de moduler diverses

voies de signalisation impliquées dans la régulation de la prolifération cellulaire, la survie, la migration et l'apoptose [Simons2000; Patra2008 ; Galbiati2001; Jin2011]. Une élévation du cholestérol sérique pourrait augmenter l'accumulation de cholestérol au sein des radeaux lipidiques des membranes des cellules tumorales prostatiques et ainsi stimuler des cascades de signalisation à l'origine de la progression du cancer [Freeman2004]. La perturbation des radeaux lipidiques induite par une hypercholestérolémie conduirait à accélérer l'évolution tumorale prostatique via une up-régulation des voies de signalisation Akt et ERK. [Zhuang2002 et 2005 ; Oh2007 ; DiVizio2008 ; Solomon2011]. Inversement, une hypocholestérolémie, induite par des inhibiteurs chimiques de l'absorption ou de la synthèse endogène de cholestérol dans les cellules cancéreuses prostatiques, réduit la survie ainsi que l'angiogenèse tumorale et induit l'apoptose. Ceci s'explique notamment par une down-régulation de la phosphorylation de Akt et ERK dans les radeaux lipidiques, qui de fait, pourrait lever l'inhibition des protéines pro-apoptotiques telles que la caspase-9 et Bad (*Bcl-2-associated death*) [Zhuang2002 et 2005 ; Solomon2011]. Récemment, Sun et collaborateurs ont confirmé que la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques induite par le cholestérol était dépendante de la phosphorylation des protéines Akt et ERK [Sun2014].

Dans ce contexte, nous faisons l'hypothèse que l'exercice physique connu pour moduler les niveaux de cholestérol circulant [Kelley2005 ; Kodama2007; Kelly2010] pourrait perturber la composition en cholestérol des radeaux lipidiques, et de fait, inhiber les cascades de signalisation ERK et Akt. Dans le cadre de l'étude n°3, nous montrons que l'exercice physique induit une diminution des niveaux de cholestérol total circulant *in vivo* et une inactivation de la voie Akt/FOXO3a *in vitro*, menant à une inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques humaines. Au vu de l'ensemble de ces résultats, nous pouvons supposer que la diminution de cholestérol plasmatique induite par l'exercice physique pourrait être responsable de la désorganisation des radeaux lipidiques et donc de l'inactivation de la voie Akt.

Afin d'affirmer cette hypothèse, une analyse des radeaux lipidiques devra être réalisée au sein de la lignée LNCaP traitée ou non avec le sérum des sportifs. Pour ce faire, la technique consiste en un marquage des radeaux lipidiques et des voies de signalisation d'intérêt via des sondes fluorescentes. L'analyse par imagerie confocale permet alors de distinguer la présence de colocalisation des marquages. Cette technique nous permettrait par exemple d'observer si Akt sort des radeaux lipidiques après incubation des cellules cancéreuses avec le sérum des actifs.

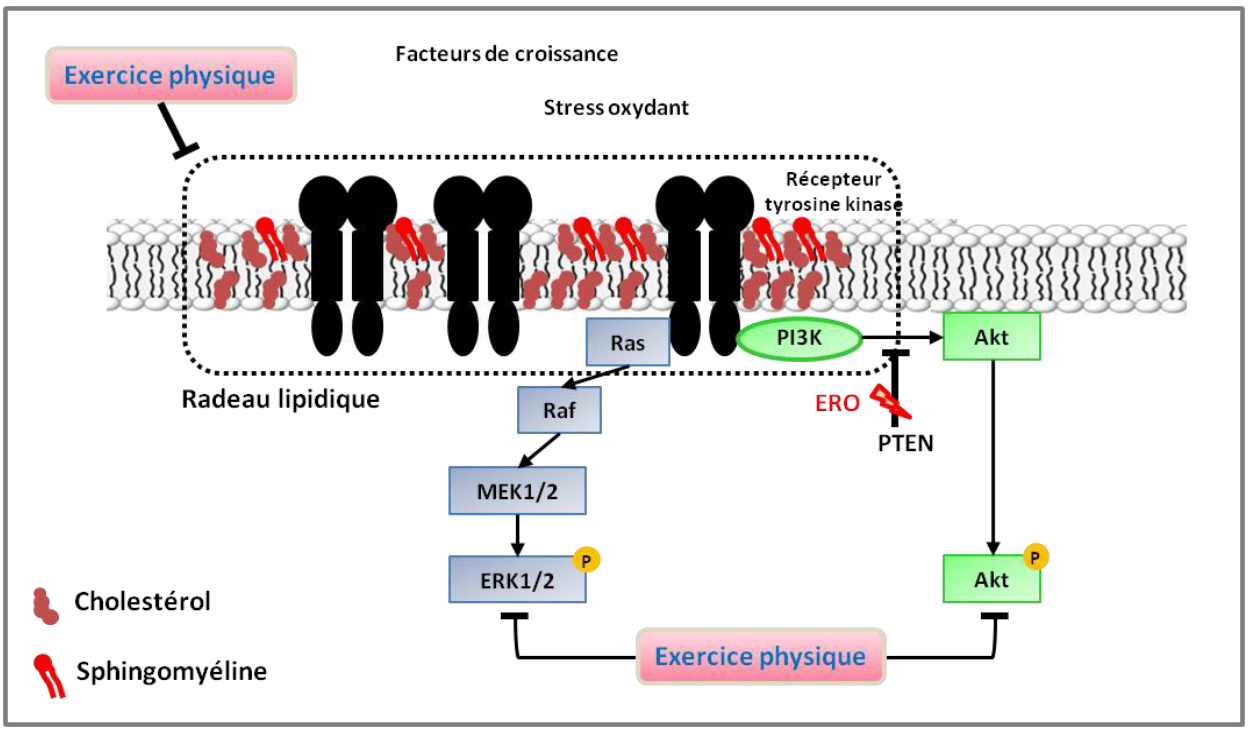

Figure 28. Schéma hypothétique de la régulation des radeaux lipidiques enrichis en cholestérol induite par l'exercice physique dans la prévention du cancer de la prostate.

De plus, il serait intéressant de confirmer cette théorie *in vivo*. Au sein de nos modèles animaux, nous avons montré que les voies de signalisation Akt et ERK sont inactivées au sein du tissu tumoral avec l'exercice, ce qui laisse supposer que l'exercice physique pourrait prévenir la progression du cancer de la prostate via une modulation des radeaux lipidiques. Dans le but de vérifier cette hypothèse, une mesure de la cholestérolémie dans le sérum des rongeurs devra être menée via le kit de quantification fourni par abcam (ab65390). L'analyse des micro-domaines pourra être réalisée soit par marquage immuno-histochimique sur des coupes de tumeur en paraffine à partir de sondes fluorescentes comme précédemment décrit pour le modèle *in vitro*, soit par la méthode de purification des radeaux lipidiques sur gradient de sucrose. Cette technique se base sur deux propriétés des micro-domaines que sont leur insolubilité dans les détergents non ioniques à 4°C et leur faible densité dans un gradient de sucrose.

Elle consiste à purifier les radeaux lipidiques des extraits tumoraux par ultracentrifugation soit 39 000 rpm pendant 22h à 4°C sur gradient de sucrose de 80%, 35% et 5%, après extraction dans 1% Triton X-100 à 4°C. Suite à la centrifugation, il est possible de percevoir les radeaux lipidiques, qui ressemblent à un petit nuage blanc, à la jonction 5%-35% du gradient de sucrose. Le contenu de chaque tube est recueilli à raison de 12 fractions de 1 ml, les fractions 4 et 5 correspondant aux radeaux lipidiques. Par suite, l'étude des fractions est réalisée par western blot. Les protéines sont alors séparées par électrophorèse SDS-PAGE puis transférées sur une membrane de nitrocellulose.

Cette dernière peut alors être sondée avec des anticorps d'intérêt. Selon notre hypothèse, nous nous attendons par exemple à une phosphorylation d'ERK et d'Akt moins importante dans les fractions 4 et 5 (correspondant aux fractions contenant les radeaux lipidiques) des extraits tumoraux des rongeurs entrainés versus les rongeurs sédentaires. D'autres protéines telles que EGFR ou encore STAT3 pourraient également être analysées par cette technique.

C. Les effets de l'exercice physique combiné à d'autres stratégies thérapeutiques.

Après s'être intéressés à l'impact de l'exercice physique sur la progression du cancer de la prostate, nous avons tout d'abord cherché à identifier l'impact de l'association d'un programme d'exercice physique avec la prise d'antioxydants naturels issus de la consommation de jus de grenade. Puis, nous nous sommes intéressés aux effets de l'exercice physique associé à la radiothérapie sur la progression du cancer de la prostate.

1. L'exercice physique combiné à la prise d'antioxydants naturels inhibe les adaptations moléculaires induites par les stratégies seules.

De nos jours, de nombreux urologues recommandent à leurs patients diagnostiqués pour un adénocarcinome prostatique de bas grade et localisé de pratiquer une activité physique régulière et de consommer un verre de jus de grenade afin de limiter la progression tumorale, et ce, notamment dans le cadre de la surveillance active. Toutefois, aucune étude ne s'est encore intéressée à l'impact de la combinaison de ces stratégies anticancéreuses.

Dans le cadre de l'étude n°1, nous nous sommes intéressés aux effets des antioxydants seuls ou couplés à l'exercice physique dans la prise en charge du cancer de la prostate. Plusieurs résultats ont émergé de cette étude : le jus de grenade, riche en composés antioxydants a la capacité de retarder l'évolution du cancer de la prostate dans un modèle murin lorsqu'il est administré seul. Nous montrons que le jus de grenade améliore les défenses antioxydantes plasmatiques, tout en limitant les dommages oxydatifs au sein du tissu cancéreux. Au delà de la modulation du statut redox induit par la prise de jus de grenade, nous démontrons une inhibition de la phosphorylation d'ERK et une augmentation de l'apoptose. De manière très intéressante, nous montrons pour la première fois que les effets bénéfiques précédemment décrits sont totalement inhibés lorsque l'activité physique est combinée à ce jus, mettant en avant des actions paradoxales.

Ces résultats sont en cohérence avec les données de la littérature puisque le jus de grenade est montré pour inhiber la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques humaines au sein de modèle *in vitro* et *in vivo* [Albrecht2004 ; Aviram2004 ; Malik2006 ; Seeram2007 ; Sartippour2008 ; Mena2011 ; Adhami2012], ainsi que dans le cadre d'un essai clinique [Pantuck2006]. D'autre part, des études ont rapporté qu'une supplémentation en vitamines prévient les réponses adaptatives induites par l'entrainement telles que la régulation positive des défenses antioxydantes endogènes [Khassaf2003 ; Jackson2004]. La prise d'antioxydants de synthèse avant un exercice pourrait interférer avec la production transitoire d'ERO associée à l'activité physique et, de fait, limiter l'activation des voies de signalisation à l'origine de l'amélioration des défenses antioxydantes [GomezCabrera2008 ; Ristow2009]. La génération d'ERO induite par l'exercice physique dans le muscle squelettique est un processus physiologique au rôle essentiel dans la préservation de l'homéostasie musculaire et dans le cadre de la performance physique en régulant notamment la force musculaire [Reid2008 ; Nikolaidis2008 ; Powers2008 et 2011 ; Merry2012].

Actuellement, les personnes en bonne santé consomment des antioxydants de synthèse pour prévenir certaines pathologies comme les maladies cardiovasculaires ou encore les cancers. Les patients atteints d'un cancer ont quant à eux recours à une supplémentation en antioxydants dans l'espoir d'accroitre leur chance de guérison et leur survie, mais également de réduire les effets secondaires liés à la pathologie et aux traitements incluant la fatigue. Des études suggèrent que 81% des personnes qui ont survécu au cancer prennent des compléments alimentaires. Cette supplémentation concerne 26 à 35% des hommes ayant développé un adénocarcinome prostatique. De plus, 14 à 32% des patients débute une supplémentation en vitamines et/ou minéraux à la suite du diagnostic [Lippert1999 ; Hall2003 ; Velicer2008]. Après deux décennies de recherche concernant l'utilisation des compléments antioxydants durant les traitements conventionnels, les résultats restent très controversés au sujet de l'efficacité et de la sécurité sanitaire de ces traitements parallèles [Rock2012 ; Kushi2012]. A l'heure actuelle, il est fortement déconseillé aux patients atteints d'un cancer de se supplémenter en antioxydant. Bien que la consommation de fruits et légumes, riches en antioxydants, pourrait réduire le risque d'adénocarcinome prostatique [Davies2011 ; Mandair2014], la prise d'antioxydants isolés sous la forme de supplémentation ne semble pas être aussi prometteuse. En effet, des essais cliniques randomisés ont démontré dans la plupart des cas que l'utilisation de compléments alimentaires contenant de hautes teneurs en antioxydants n'avait aucune influence sur l'incidence du cancer tandis que d'autres études ont rapporté une augmentation du risque de développer un cancer.

L'étude CARET (*β-carotene and retinol efficacy trial*), conduite auprès de 18 500 fumeurs, ex-fumeurs ou travailleurs exposés à l'amiante a été arrêtée prématurément en raison d'une augmentation de 28% du risque de cancer du poumon dans le groupe de fumeurs supplémenté quotidiennement avec 30 mg de β-carotène et 25 000 UI de vitamine A *versus* le groupe placebo [Omenn1996 ; Goodman2004]. Dans l'étude ATBC (*alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study*), menée auprès de 29 133 fumeurs, le risque de cancer du poumon a été majoré avec la prise quotidienne de 20 mg de β-carotène [Albanes1996]. Dix-huit ans après l'intervention ATBC, la supplémentation couplée des deux antioxydants n'a eu aucun effet sur l'incidence du cancer du poumon, du foie ou de la prostate [Virtamo2014 ; Lai2014].

L'étude SELECT (*selenium and vitamin E cancer prevention trial*), qui s'est intéressée aux effets d'une supplémentation en sélénium et en vitamine E (respectivement 200 µg et 400 UI par jour) sur l'incidence du cancer de la prostate chez 34 889 hommes sains, a révélé que la supplémentation en vitamine E augmente significativement le risque de cancer [Klein2011]. Une nouvelle étude, récemment publiée, a sélectionné 1 739 hommes porteurs de cancer de la prostate et 3 117 témoins de la cohorte initiale de 34 889 hommes. Les résultats montrent que la supplémentation en sélénium a augmenté le risque de cancer chez les personnes ayant des taux de sélénium élevés au départ et notamment en augmentant de 91% le risque d'adénocarcinome de haut grade. La complémentation en sélénium n'avait aucune influence pour les hommes qui avaient des niveaux initiaux faibles en sélénium. Toutefois, chez ces derniers, une supplémentation en vitamine E a conduit à accroitre le risque de cancer de 63% et de 111% pour les cancers de hauts grades *versus* les hommes qui recevaient à la fois du sélénium et de la vitamine E [Kristal2014]. Une autre étude nommée *Physicians' Health Study II randomized controlled trial* rapporte que ni une supplémentation en vitamine E (400 IU/jour) ni une supplémentation en vitamine C (500 mg/jour) réduit le risque de cancer de la prostate ou encore de cancer total [Gaziano2009]. Toutefois, il semblerait que les compléments à dose nutritionnelle peuvent induire quelques effets bénéfiques comme le démontre l'étude française SU.VI.MAX (*supplémentation en vitamines et minéraux antioxydants*) réalisée auprès de 13 017 adultes. La supplémentation quotidienne de 6 mg de β-carotène, 30 mg de vitamine E synthétique, 120 mg de vitamine C et 100 mg de sélénium a réduit de 31% le risque de cancers chez les hommes et a induit un recul de la mortalité de 37%, tandis qu'aucun effet n'a été observé chez les femmes [Hercberg2004]. De nos jours, le moyen le plus sûr de réduire le risque de cancer de la prostate est de consommer des antioxydants naturellement contenus dans notre alimentation plutôt que de recourir à des compléments alimentaires [Rock2012].

Les effets d'une supplémentation en antioxydants sont d'autant plus controversés durant la période de traitement. Bien que des données montrent que les compléments alimentaires (vitamines et minéraux) pourraient sélectivement protéger les cellules saines des dommages oxydatifs liées aux radiations ionisantes, et ainsi minimiser la toxicité et les effets indésirables de la radiothérapie, des études cliniques démontrent que des doses d'antioxydants excédant 100% de la valeur journalière pourraient diminuer l'efficacité de la radiothérapie en protégeant les cellules saines comme les cellules cancéreuses des dommages oxydatifs [Lawenda2008]. Bairati et collaborateurs rapportent chez 540 patients atteints d'un cancer de la tête et du cou sous radiothérapie qu'une supplémentation combinée en α-tocophérol (400 IU/jour) et en β-carotène (30 mg/jour) réduit significativement de 38% les effets secondaires. Toutefois, ce bénéfice semble être contrebalancé par une réduction des effets des radiations sur la tumeur de 29% et de 56% respectivement avec la prise de α-tocophérol et la consommation combinée de α-tocophérol et β-carotène [Bairati2006]. En absence de preuve évidente, the *American Cancer Society* et les guides du programme national nutrition santé recommandent aux patients atteints d'un cancer de ne pas se supplémenter en antioxydants pendant la radiothérapie, hormis dans le cas d'une prescription médicale délivrée par le médecin oncologue à des fins de combler une carence [Rock2012]. De même, il semblerait que seule une consommation riche et variée en fruits et légumes ait des effets sur le pronostic vital sur le long terme. En effet, une méta-analyse montre qu'une supplémentation en antioxydant pourrait avoir des effets délétères sur la survie [Bjelakovic2007]. Une autre étude menée auprès de 77 719 résidents de l'état de Washington pendant dix ans montre aucun effet bénéfique des compléments alimentaires tels que les vitamines E et C sur le taux de mortalité par cancer [Pocobelli2009]. De la même façon, il est important de rester prudent quant aux effets de la consommation de jus de grenade après traitement. En 2006, Pantuck et collaborateurs ont démontré dans une étude de phase II que la consommation quotidienne de cette boisson riche en antioxydants ralentissait significativement le temps de doublement des PSA tout en améliorant le statut oxydatif des patients. L'étude de phase IIb récemment publiée rapporte que la consommation de jus de grenade comme intervention complémentaire chez des hommes atteints d'un cancer de la prostate de haut grade n'induit pas d'effet significatif sur la cinétique du PSA [Stenner-Liewen2013]. Toutefois, il nous faudra attendre début 2017 pour connaitre les résultats de l'essai clinique de phase III (NCT00413530).

Les résultats obtenus dans l'étude n°1, même s'ils doivent être confortés, soulignent la complexité d'associer divers traitements. Ils mettent en avant un effet préventif de deux stratégies isolées, permettant ainsi une prise en charge individualisée. L'activité physique conduira à de multiples effets sur le patient puisqu'elle pourra, en plus de moduler la progression du cancer, augmenter la force musculaire du sujet ou encore améliorer ses capacités cardiorespiratoires, deux aspects sur lesquels

le jus de grenade n'a pas d'impact. A l'inverse, pour des patients ayant une contre-indication à la pratique sportive, le jus de grenade pourrait être une bonne alternative. Le choix du jus de grenade est un facteur essentiel. Le risque d'acheter un jus pauvre en substances actives, n'ayant aucun bienfait sur la santé est élevé. Il semble donc primordial de guider les patients dans le choix du jus de grenade à consommer dans le cadre d'une stratégie complémentaire non médicamenteuse. Par exemple, nous avons choisi un jus 100% pur jus bio fermenté et pasteurisé dont le contenu total phénolique était de 2 164 mg équivalent acide gallique par litre. Le processus de fermentation permet de faciliter la biodisponibilité des polyphénols de grenade et donne ainsi au jus de grenade une robe de coloration rouge brun foncée et un goût astringent renforcé. A l'heure actuelle de nombreux jus de grenade proposés sur le marché subissent un processus de frelatage réduisant considérablement la qualité polyphénolique du jus de grenade (variation de 904 à 2067 mg/l).

2. L'exercice physique potentialise les effets de la radiothérapie concernant l'évolution du cancer de la prostate.

Au vu des précédents résultats, il nous a semblé intéressant d'associer l'exercice physique à un traitement curatif délivré à des patients atteints d'un cancer de la prostate. Actuellement, il est recommandé aux patients traités par chimiothérapie ou radiothérapie de pratiquer une activité physique régulière afin de prévenir les symptômes liés à la pathologie mais également au traitement. Bien que des études aient montré des effets bénéfiques de l'exercice physique sur la qualité de vie des patients traités [Mishra2012], aucune étude ne s'est intéressée aux effets combinés de l'exercice physique et de la radiothérapie sur la progression tumorale prostatique. Nous avons fait le choix de la radiothérapie car elle est connue pour augmenter le stress oxydant, mécanisme régulé par l'exercice physique. L'abondante génération d'ERO issue de la radiolyse de l'eau induite par les radiations est cytotoxique et interrompt la prolifération des cellules tumorale au profit des processus apoptotique [Leach2001 ; Mikkelsen2003]. A l'heure actuelle, il est fortement déconseillé aux patients sous radiothérapie d'avoir recours à une supplémentation en antioxydants, au vu des données controversées sur ce sujet [Borek2004 ; Moss2007]. En effet, même si l'administration d'antioxydants pourrait prévenir les effets secondaires associés aux traitements conventionnels en protégeant les cellules saines du stress oxydant induit ; des études ont également rapporté que la supplémentation en antioxydant pourrait protéger les cellules tumorales comme les cellules saines des dommages oxydatifs générés par la radiothérapie et ainsi réduire l'efficacité des traitements [Lawenda2008 ; Fuchs-Tarlovsky2013]. Faut-il distinguer les apports en antioxydants, des stratégies régulant le statut redox telles que l'activité physique?

Dans ce contexte, l'étude n°4 a consisté à évaluer l'impact d'un exercice physique régulier sur l'efficacité de la radiothérapie dans un modèle animal de cancer de la prostate humain. Contrairement à nos hypothèses, les premiers résultats suggèrent des effets synergiques entre la radiothérapie et l'exercice physique. En effet, nous montrons une régression tumorale majorée et une augmentation de l'activité de la caspase-3 en combinant les deux stratégies. Toutefois, il nous reste à décrypter les mécanismes moléculaires impliqués parmi les pistes suivantes puis à élargir ces travaux à la combinaison activité physique-chimiothérapie telle que le docetaxel (couramment utilisé dans le traitement des cancers de la prostate).

Actuellement, de nombreuses équipes de recherche visent à sensibiliser de manière spécifique les cellules cancéreuses aux radiations tout en protégeant les cellules saines via des molécules adjuvantes à la radiothérapie [Alexeev2014]. En effet, l'une des principales limites de l'efficacité de la radiothérapie est liée à la résistance des cellules tumorales à l'apoptose radio-induite. Des études rapportent que l'up-régulation de l'acide céramidase dans les cellules et les tissus tumoraux prostatiques confère une résistance aux radiations notamment en réduisant les niveaux de caspase 3 active [Mahdy2009 ; Liu2009 ; Cheng2013]. Une signalisation aberrante des céramides a été décrite dans plusieurs modèles de tumeur, suggérant de fait, que les céramides sont d'importants facteurs dans la progression des cancers [Morad2013 ; Liu2013]. De même, la perturbation de la génération des céramides ou une rapide dégradation intracellulaire de ces derniers conduit à une résistance aux signaux de mort cellulaire [Chmura2000 ; Barth2011 ; Huang2011]. Comme nous l'avons précédemment montré, les radeaux lipidiques sont étroitement impliqués dans la progression du cancer de la prostate. Il existe deux sous-unités de ces micro-domaines dans la membrane plasmique des cellules : d'une part, les radeaux lipidiques enrichis en cholestérol qui sont impliqués dans la signalisation cellulaire normale et dont la dérégulation induit la promotion et la progression tumorale comme supposé dans l'étude n°3, d'autre part les radeaux enrichis en céramide sont quant à eux impliqués dans la promotion de l'apoptose. Une perturbation de la composition en céramide et/ou sphingomyéline de ces radeaux lipidiques altère les processus apoptotiques, ce qui entraine une progression tumorale incontrôlée [Patra2008 ; Jin2011].

Les céramides sont générés principalement par deux voies de biosynthèse. D'une part, par hydrolyse du principal sphingolipide des membranes, la sphingomyéline (SM), via l'action d'enzymes spécifiques : les sphingomyélinases acide (ASMase). D'autre part les céramides peuvent être générées par la voie dite *de novo* qui commence par la condensation d'un acide aminé sérine avec du palmitoyl-Coenzyme A [Kolesnick2003 ; Gulbins2003 ; Liu2013]. Un traitement par irradiation sur des cellules radiosensibles induit la transformation des radeaux lipidiques enrichis en cholestérol en des

radeaux enrichis en céramides notamment via l'externalisation et l'activation des ASMases, ayant pour finalité l'induction de la mort cellulaire [Patra2008 ; Jin2011]. Toutefois, ce réarrangement structural est défaillant dans les cellules radio-résistantes en raison d'une absence d'activation et de translocation des ASMases [Bionda2007 ; Galli2007]. Une étude montre que la transfection d'ASMases à des cellules gliales humaines et murines permet de sensibiliser ces cellules gliales aux traitements thérapeutiques et de multiplier par quatre la mort cellulaire via une augmentation de l'activation des ASMases, une élévation des niveaux de céramide et une majoration de la formation de micro-domaines enrichis en céramide [Grammatikos2007]. Cette équipe et une autre ont également rapporté que le fait de scavenger les ERO prévient ces divers événements, suggérant que l'activation des ASMases est dépendante des ERO et que la manipulation des radeaux via une régulation de l'équilibre redox pourrait être une opportunité pour radio-sensibiliser les cellules tumorales [Bionda2007 ; Grammatikos2007]. L'exercice physique connu pour moduler le statut redox pourrait être un potentiel candidat, ce qui pourrait expliquer les résultats obtenus dans l'étude n°4. Cela confirme également l'intérêt de proscrire la supplémentation en antioxydants.

A l'heure actuelle, les stratégies thérapeutiques ciblant les radeaux lipidiques pour moduler les voies de signalisation redox s'intéressent à moduler le cholestérol contenu dans ces micro-domaines ou encore l'activité de la ASMase [Jin2011]. Une autre stratégie consiste à inhiber les acides céramidases, une hydrolase impliquée dans la dégradation des céramides, décrits précédemment comme étant un facteur clé dans la résistance des cellules cancéreuses prostatiques aux radiations [Mahdy2009 ; Liu2009]. Cheng et collaborateurs montrent que l'utilisation d'inhibiteurs de l'acide céramidase permet, au sein d'un modèle animal de xénogreffe de cancer de la prostate sous radiothérapie, de radio-sensibiliser les cellules tumorales prostatiques et de prévenir la rechute [Cheng2013].

Dans le cadre de l'étude n°4, nous suggérons que l'exercice physique pourrait radio-sensibiliser les cellules cancéreuses prostatiques humaines PPC1, expliquant l'effet potentialisé des deux stratégies combinées. Un exercice physique aérobie unique ou répété sur cinq semaine d'au moins une heure pourrait augmenter l'activité des ASMases et la synthèse *de novo* dans les muscles squelettiques et le cœur de rat, mais aussi réduire l'activité des acides céramidases [Baranowski2008 ; Błachnio-Zabielska2011]. Une explication des résultats obtenus dans l'étude n°4 pourrait être que l'activité physique a : d'une part, augmenté la synthèse *de novo* et l'activité de la ASMase menant à une élévation du contenu en céramide au sein des cellules tumorales et donc à l'augmentation de la mort cellulaire observée, et d'autre part, amélioré l'efficacité de la radiothérapie en radio-sensibilisant les cellules tumorales PPC1 via une down-régulation de l'activité des céramidases.

Ces hypothèses pourront dans un premier temps être confirmées par un marquage immuno-histochimique ou par une semi-quantification de l'ASMase et de l'acide céramidase au sein des tumeurs prostatiques humaines de notre modèle animal. Une mesure de l'activité des ASMases pourra également être réalisée via un kit colorimétrique (BioVision) ou via le protocole décrit par Zeidan et collaborateurs [Zeidan2006]. L'activité des acides céramidases pourra être déterminée selon la méthode fluorogénique développée par Bedia et collaborateurs [Bedia2010].

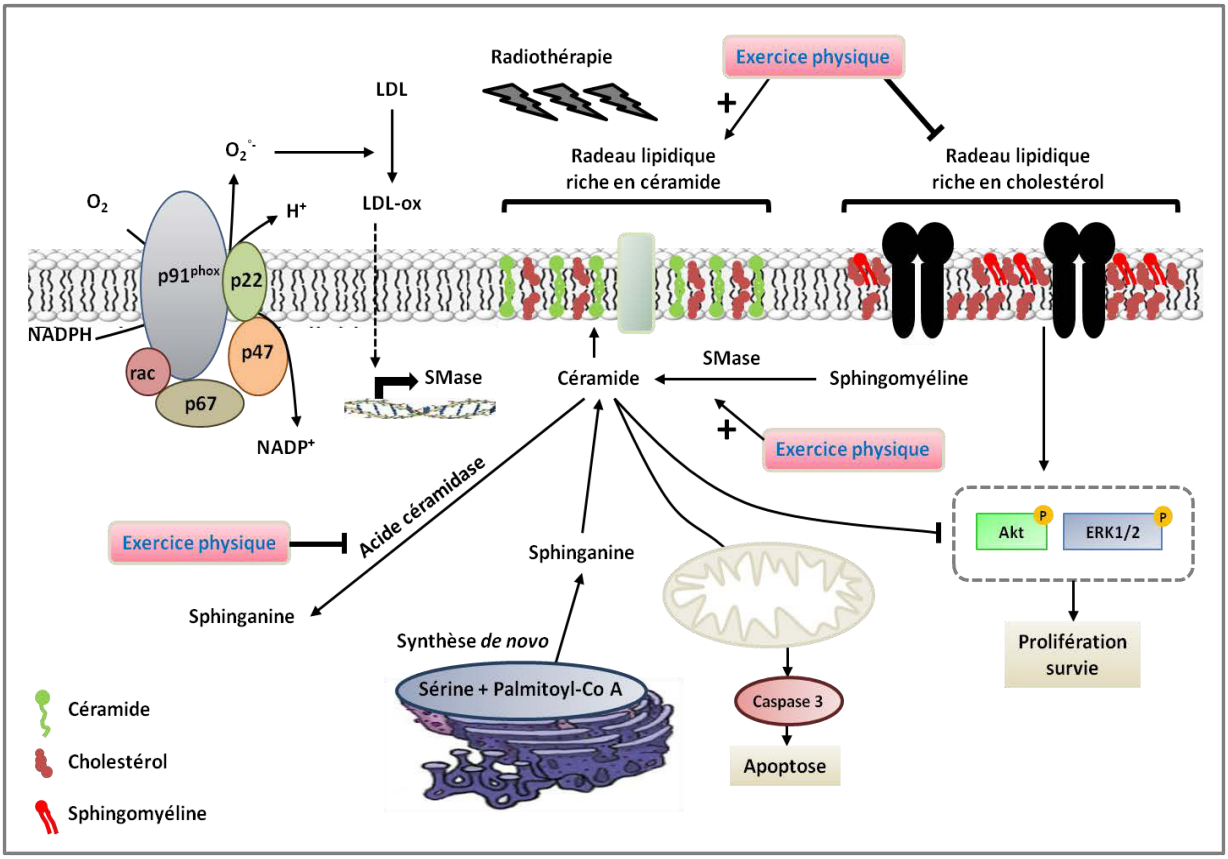

Figure 29. Schéma hypothétique de l'effet potentialisé de l'exercice physique et de la radiothérapie sur l'évolution du cancer de la prostate.

Alors que de nombreuses équipes de chercheurs élaborent des inhibiteurs et molécules adjuvantes pour accroitre la sensibilité des cellules tumorales aux radiations, nous montrons au sein de cette thèse que l'exercice physique régulier pourrait tout simplement contribuer à de tels effets. Bien moins onéreux que des molécules pharmacologiques, la pratique d'un programme d'activité physique adaptée pourrait d'une part améliorer l'efficacité de la radiothérapie et en plus prévenir les effets indésirables associés à ce traitement. Par conséquent, nous pouvons supposer que l'exercice physique est un facteur clé pour prévenir la progression du cancer de la prostate, tout en améliorant la qualité de vie des patients. La pratique régulière d'une activité physique pourrait également limiter les doses et le fractionnement de la radiothérapie et ainsi réduire les effets secondaires associés.

Conclusion

Les objectifs spécifiques de ces travaux de thèse étaient d'évaluer les effets de l'exercice physique, combinée ou non à d'autres stratégies, sur la progression du cancer de la prostate et d'identifier des mécanismes moléculaires notamment redox-sensibles impliqués dans ces effets.

En France, l'émergence de la pratique d'une activité physique dans la prise en charge des patients atteints d'un adénocarcinome prostatique, et plus généralement d'un cancer fait suite au plan cancer 2009-2013. Dans l'axe « prévention - dépistage » de ce 2ième plan cancer, la description du contexte dans lequel s'inscrit la mesure 11 « promouvoir des actions de prévention sur les liens entre l'alimentation, l'activité physique et les cancers » souligne que, « pour les patients atteints de cancer, pendant et après le traitement, une activité physique adaptée d'intensité faible à modérée améliore la qualité de vie et diminue la sensation de fatigue ». La majorité des études combinant l'exercice physique au traitement thérapeutique ont montré de nombreux effets bénéfiques sur la qualité de vie des patients atteints d'un cancer, sans même étudier l'impact de cette activité sur l'évolution tumorale ou l'efficacité des traitements.

L'originalité de ce travail de thèse est d'étudier les effets de l'exercice physique aérobie non pas sur les effets symptomatiques liés au cancer et aux traitements mais sur la progression du cancer de la prostate et d'identifier des mécanismes moléculaires associés à ces effets, et ce, dans le but de pouvoir individualiser et personnaliser la prise en charge des patients via des stratégies thérapeutiques médicamenteuses et non médicamenteuses.

Ces travaux soutiennent l'hypothèse que l'exercice physique prévient la progression du cancer de la prostate au-delà d'améliorer la qualité de vie des patients. Ces quatre études apportent également des éléments fondamentaux dans la compréhension de certains mécanismes moléculaires expliquant comment l'exercice physique combiné ou non à d'autres stratégies module la tumorigenèse prostatique. Nous confirmons l'importance du rôle joué par le stress oxydant et des miARNs dans la progression du cancer de la prostate et ouvrons des perspectives quant à l'implication des radeaux lipidiques dans les processus de tumorigenèse.

Dans une première étude, nous avons démontré que l'exercice physique ralentit l'évolution du cancer de la prostate via une régulation du statut redox et une inhibition de voies de signalisation redox-sensibles au sein de la tumeur. Ces travaux ont également permis d'identifier pour la première fois que la combinaison d'un programme d'exercice physique aérobie avec la prise de jus de grenade est délétère. Les effets bénéfiques induits par ces deux stratégies non-médicamenteuses isolées sur le statut redox et sur l'évolution tumorale sont inhibés lorsque l'exercice est associé à la prise d'antioxydants naturels. Au vu de ces données, il semble actuellement primordial de conduire une

étude clinique chez l'homme afin de déterminer si les effets sont similaires puisque de nombreux urologues recommandent à l'heure actuelle à leurs patients de pratiquer une activité physique régulière et de consommer environ 250 ml de jus de grenade quotidiennement. Un des problèmes auxquels nous devons faire face est qu'il n'est pas déontologique de conduire une étude chez l'homme alors même que les résultats chez le rongeur sont néfastes sur l'évolution tumorale.

L'originalité de la seconde étude est de montrer pour la première fois que l'exercice physique régulier permet de moduler le profil d'expression des miARNs au sein du tissu cancéreux prostatique. Cette étude a également permis d'identifier le rôle majeur du miR-27a* et de ces gènes cibles dans le retard de la croissance tumorale. Un futur projet chez des hommes atteints d'un cancer de la prostate va s'intéresser spécifiquement aux profils d'expression de ces miARNs en réponse à l'exercice physique (en cours de soumission à l'ARC). Des données complémentaires pourront venir conforter ces résultats et à terme conduire à la création de nouveaux bio-marqueurs ou inhibiteurs tumoraux.

Dans la troisième étude, nous rapportons que l'exercice physique pourrait prévenir la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques en modulant la composition des radeaux lipidiques via une down-régulation de la teneur en cholestérol circulant. Cette hypothèse qui nécessite des études complémentaires nous laisse envisager que l'exercice physique puisse dans l'avenir remplacer l'utilisation des statines pour lesquelles les effets sont de plus en plus controversés.

Enfin, la dernière étude a montré pour la première fois que l'exercice physique potentialise les effets de la radiothérapie. La combinaison de ces deux stratégies thérapeutiques a majoré la mort cellulaire et donc la régression des tumeurs cancéreuses prostatiques humaines au sein de notre modèle de souris Nude. Nous faisons l'hypothèse que l'exercice physique module positivement d'une part le statut redox dans les tumeurs et d'autre part la formation de radeaux lipidiques enrichis en céramide, conduisant ainsi à limiter la radiorésistance des cellules tumorales prostatiques humaines et à augmenter la mort cellulaire induite par les radiations ionisantes. Des travaux complémentaires vont consister en une mesure de l'acide céramidase et de l'acide sphingomyélinase au sein de notre modèle. Si ces hypothèses sont confirmées dans notre modèle de souris puis chez l'homme, il se pourrait ainsi que les séances de radiothérapie soient couplées à la pratique d'un exercice physique dans un avenir proche.

Ces travaux de thèse ont donc mis en exergue de nombreux mécanismes moléculaires permettant d'expliquer comment l'exercice physique prévient l'évolution du cancer de la prostate *in vitro* et dans des modèles murins. Il est, toutefois, important de rester prudent sur les conclusions et leur transfert

chez l'Homme. Les effets de l'exercice physique sont souvent associés à un ensemble de régulation de cascades de signalisation toutes liées les unes aux autres. Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse restent à être confirmés chez l'Homme, afin de faire de l'exercice physique une option thérapeutique à part entière dans la prise en charge des patients atteints d'un cancer de la prostate. L'exercice physique ne pourra jamais remplacer les stratégies thérapeutiques curatives mais pourrait, toutefois, être la clé pour limiter les phénomènes de radiorésistance, diminuer les doses d'irradiation, et ce, tout en prévenant les effets secondaires associés à la pathologie et aux traitements. L'éducation thérapeutique à la pratique d'un exercice physique régulier dans la prise en charge du cancer pourrait de fait diminuer les temps d'hospitalisation et conduire à une amélioration de la qualité de vie des patients, dont la résultante serait un risque moindre de rechute et une réduction des coûts de santé.

Comme annoncé dans le 3ième plan cancer 2014-2019, les séances d'exercice physique adapté pour les patients atteints d'un cancer seront dans un futur proche remboursées par les caisses d'assurances maladies et par les mutuelles.

Références bibliographiques

Adhami, V.M., Siddiqui, I.A., Syed, D.N., Lall, R.K., and Mukhtar, H. (2012). Oral infusion of pomegranate fruit extract inhibits prostate carcinogenesis in the TRAMP model. Carcinogenesis 33, 644–651.

Aggarwal, B.B., Kumar, A., and Bharti, A.C. (2003). Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. Anticancer Res. 23, 363–398.

Ainsworth, B.E., Haskell, W.L., Whitt, M.C., Irwin, M.L., Swartz, A.M., Strath, S.J., O'Brien, W.L., Bassett, D.R., Schmitz, K.H., Emplaincourt, P.O., et al. (2000). Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. Med. Sci. Sports Exerc. 32, S498–S504.

Akagi, Y., Liu, W., Zebrowski, B., Xie, K., and Ellis, L.M. (1998). Regulation of vascular endothelial growth factor expression in human colon cancer by insulin-like growth factor-I. Cancer Res. 58, 4008–4014.

Akiibinu M. O., Ogundahunsi A. O., Kareem O. I., Adesiyan A. A., Idonije B. O., and Adeniyi F. A. A. (2011). Trace metals and oxidative metabolic changes in malignant prostate cancer patients. Afr. J. Biochem. Res. 102–105.

Akinloye, O., Adaramoye, O., and Kareem, O. (2009). Changes in antioxidant status and lipid peroxidation in Nigerian patients with prostate carcinoma. Pol. Arch. Med. Wewnętrznej 119, 526–532.

Albanes, D., Heinonen, O.P., Taylor, P.R., Virtamo, J., Edwards, B.K., Rautalahti, M., Hartman, A.M., Palmgren, J., Freedman, L.S., Haapakoski, J., et al. (1996). Alpha-Tocopherol and beta-carotene supplements and lung cancer incidence in the alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study: effects of base-line characteristics and study compliance. J. Natl. Cancer Inst. 88, 1560–1570.

Albrecht, M., Jiang, W., Kumi-Diaka, J., Lansky, E.P., Gommersall, L.M., Patel, A., Mansel, R.E., Neeman, I., Geldof, A.A., and Campbell, M.J. (2004). Pomegranate extracts potently suppress proliferation, xenograft growth, and invasion of human prostate cancer cells. J. Med. Food 7, 274–283.

Alessio, H.M., Goldfarb, A.H., and Cutler, R.G. (1988). MDA content increases in fast- and slow-twitch skeletal muscle with intensity of exercise in a rat. Am. J. Physiol. 255, C874–C877.

Alexeev, V., Lash, E., Aguillard, A., Corsini, L., Bitterman, A., Ward, K., Dicker, A.P., Linnenbach, A., and Rodeck, U. (2014). Radiation protection of the gastrointestinal tract and growth inhibition of prostate cancer xenografts by a single compound. Mol. Cancer Ther. 13, 2968–2977.

Allgayer, H., Owen, R.W., Nair, J., Spiegelhalder, B., Streit, J., Reichel, C., and Bartsch, H. (2008). Short-term moderate exercise programs reduce oxidative DNA damage as determined by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry in patients with colorectal carcinoma following primary treatment. Scand. J. Gastroenterol. 43, 971–978.

Allott, E.H., Howard, L.E., Cooperberg, M.R., Kane, C.J., Aronson, W.J., Terris, M.K., Amling, C.L., and Freedland, S.J. (2014). Serum Lipid Profile and Risk of Prostate Cancer Recurrence: Results from the SEARCH Database. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 23, 2349–2356.

Almushatat, A.S.K., Talwar, D., McArdle, P.A., Williamson, C., Sattar, N., O'Reilly, D.S.J., Underwood, M.A., and McMillan, D.C. (2006). Vitamin antioxidants, lipid peroxidation and the systemic inflammatory response in patients with prostate cancer. Int. J. Cancer 118, 1051–1053.

Altomare, D.A., and Testa, J.R. (2005). Perturbations of the AKT signaling pathway in human cancer. Oncogene 24, 7455–7464.

Ambs, S., Prueitt, R.L., Yi, M., Hudson, R.S., Howe, T.M., Petrocca, F., Wallace, T.A., Liu, C.-G., Volinia, S., Calin, G.A., et al. (2008). Genomic profiling of microRNA and messenger RNA reveals deregulated microRNA expression in prostate cancer. Cancer Res. 68, 6162–6170.

Anastasiadis, A.G., Bemis, D.L., Stisser, B.C., Salomon, L., Ghafar, M.A., and Buttyan, R. (2003). Tumor cell hypoxia and the hypoxia-response signaling system as a target for prostate cancer therapy. Curr. Drug Targets 4, 191–196.

Andrew, P.J., and Mayer, B. (1999). Enzymatic function of nitric oxide synthases. Cardiovasc. Res. 43, 521–531.

Antonelli, J.A., Jones, L.W., Bañez, L.L., Thomas, J.-A., Anderson, K., Taylor, L.A., Gerber, L., Anderson, T., Hoyo, C., Grant, D., et al. (2009). Exercise and prostate cancer risk in a cohort of veterans undergoing prostate needle biopsy. J. Urol. 182, 2226–2231.

Araldi, E.M.V., Dell'aica, I., Sogno, I., Lorusso, G., Garbisa, S., and Albini, A. (2008). Natural and synthetic agents targeting inflammation and angiogenesis for chemoprevention of prostate cancer. Curr. Cancer Drug Targets 8, 146–155.

Arbiser, J.L., Petros, J., Klafter, R., Govindajaran, B., McLaughlin, E.R., Brown, L.F., Cohen, C., Moses, M., Kilroy, S., Arnold, R.S., et al. (2002). Reactive oxygen generated by Nox1 triggers the angiogenic switch. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99, 715–720.

Arcangeli, G., Saracino, B., Gomellini, S., Petrongari, M.G., Arcangeli, S., Sentinelli, S., Marzi, S., Landoni, V., Fowler, J., and Strigari, L. (2010). A prospective phase III randomized trial of hypofractionation versus conventional fractionation in patients with high-risk prostate cancer. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 78, 11–18.

Arnér, E.S.J., and Holmgren, A. (2006). The thioredoxin system in cancer. Semin. Cancer Biol. 16, 420–426.

Aronson, W.J., Barnard, R.J., Freedland, S.J., Henning, S., Elashoff, D., Jardack, P.M., Cohen, P., Heber, D., and Kobayashi, N. (2010). Growth Inhibitory Effect of Low Fat Diet on Prostate Cancer Cells: Results of a Prospective, Randomized Dietary Intervention Trial in Men With Prostate Cancer. J. Urol. 183, 345–350.

Arsova-Sarafinovska, Z., Eken, A., Matevska, N., Erdem, O., Sayal, A., Savaser, A., Banev, S., Petrovski, D., Dzikova, S., Georgiev, V., et al. (2009). Increased oxidative/nitrosative stress and decreased antioxidant enzyme activities in prostate cancer. Clin. Biochem. 42, 1228–1235.

Asada, S., Daitoku, H., Matsuzaki, H., Saito, T., Sudo, T., Mukai, H., Iwashita, S., Kako, K., Kishi, T., Kasuya, Y., et al. (2007). Mitogen-activated protein kinases, Erk and p38, phosphorylate and regulate Foxo1. Cell. Signal. 19, 519–527.

Asatiani, E., Huang, W.-X., Wang, A., Rodriguez Ortner, E., Cavalli, L.R., Haddad, B.R., and Gelmann, E.P. (2005). Deletion, methylation, and expression of the NKX3.1 suppressor gene in primary human prostate cancer. Cancer Res. 65, 1164–1173.

Ashton, T., Rowlands, C.C., Jones, E., Young, I.S., Jackson, S.K., Davies, B., and Peters, J.R. (1998). Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. Eur. J. Appl. Physiol. 77, 498–502.

Aviram, M., Dornfeld, L., Kaplan, M., Coleman, R., Gaitini, D., Nitecki, S., Hofman, A., Rosenblat, M., Volkova, N., Presser, D., et al. (2002). Pomegranate juice flavonoids inhibit low-density lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases: studies in atherosclerotic mice and in humans. Drugs Exp. Clin. Res. 28, 49–62.

Aviram, M., Rosenblat, M., Gaitini, D., Nitecki, S., Hoffman, A., Dornfeld, L., Volkova, N., Presser, D., Attias, J., Liker, H., et al. (2004). Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. Clin. Nutr. Edinb. Scotl. 23, 423–433.

Aydin, A., Arsova-Sarafinovska, Z., Sayal, A., Eken, A., Erdem, O., Erten, K., Ozgök, Y., and Dimovski, A. (2006). Oxidative stress and antioxidant status in non-metastatic prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. Clin. Biochem. 39, 176–179.

Azad, N., Rojanasakul, Y., and Vallyathan, V. (2008). Inflammation and Lung Cancer: Roles of Reactive Oxygen/Nitrogen Species. J. Toxicol. Environ. Health Part B 11, 1–15.

Azadzoi, K.M., Schulman, R.N., Aviram, M., and Siroky, M.B. (2005). Oxidative stress in arteriogenic erectile dysfunction: prophylactic role of antioxidants. J. Urol. 174, 386–393.

Bairati, I., Meyer, F., Jobin, E., Gélinas, M., Fortin, A., Nabid, A., Brochet, F., and Têtu, B. (2006). Antioxidant vitamins supplementation and mortality: a randomized trial in head and neck cancer patients. Int. J. Cancer J. Int. Cancer 119, 2221–2224.

Balmanno, K., and Cook, S.J. (2009). Tumour cell survival signalling by the ERK1/2 pathway. Cell Death Differ. 16, 368–377.

Bánfi, B., Clark, R.A., Steger, K., and Krause, K.-H. (2003). Two novel proteins activate superoxide generation by the NADPH oxidase NOX1. J. Biol. Chem. 278, 3510–3513.

Bangma, C.H., Bul, M., van der Kwast, T.H., Pickles, T., Korfage, I.J., Hoeks, C.M., Steyerberg, E.W., Jenster, G., Kattan, M.W., Bellardita, L., et al. (2013). Active surveillance for low-risk prostate cancer. Crit. Rev. Oncol. Hematol. 85, 295–302.

Baranowski, M., Zabielski, P., Blachnio, A., and Gorski, J. (2008). Effect of exercise duration on ceramide metabolism in the rat heart. Acta Physiol. Oxf. Engl. 192, 519–529.

Barnard, R.J. (2004). Prevention of Cancer Through Lifestyle Changes. Evid.-Based Complement. Altern. Med. ECAM 1, 233–239.

Barnard, R.J., and Aronson, W.J. (2005). Preclinical models relevant to diet, exercise, and cancer risk. Recent Results Cancer Res. Fortschritte Krebsforsch. Prog. Dans Rech. Sur Cancer 166, 47–61.

Barnard, R.J., Aronson, W.J., Tymchuk, C.N., and Ngo, T.H. (2002). Prostate cancer: another aspect of the insulin-resistance syndrome? Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes. 3, 303–308.

Barnard, R.J., Ngo, T.H., Leung, P.-S., Aronson, W.J., and Golding, L.A. (2003). A low-fat diet and/or strenuous exercise alters the IGF axis in vivo and reduces prostate tumor cell growth in vitro. The Prostate 56, 201–206.

Barnard, R.J., Gonzalez, J.H., Liva, M.E., and Ngo, T.H. (2006). Effects of a low-fat, high-fiber diet and exercise program on breast cancer risk factors in vivo and tumor cell growth and apoptosis in vitro. Nutr. Cancer 55, 28–34.

Barnard, R.J., Leung, P.S., Aronson, W.J., Cohen, P., and Golding, L.A. (2007). A mechanism to explain how regular exercise might reduce the risk for clinical prostate cancer. Eur. J. Cancer Prev. Off. J. Eur. Cancer Prev. Organ. ECP 16, 415–421.

Bartel, D.P. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell 116, 281–297.

Barth, B.M., Cabot, M.C., and Kester, M. (2011). Ceramide-based therapeutics for the treatment of cancer. Anticancer Agents Med. Chem. 11, 911–919.

Bartsch, H., and Nair, J. (2005). Accumulation of lipid peroxidation-derived DNA lesions: potential lead markers for chemoprevention of inflammation-driven malignancies. Mutat. Res. 591, 34–44.

Bastian, P.J., Yegnasubramanian, S., Palapattu, G.S., Rogers, C.G., Lin, X., De Marzo, A.M., and Nelson, W.G. (2004). Molecular biomarker in prostate cancer: the role of CpG island hypermethylation. Eur. Urol. 46, 698–708.

Bastian, P.J., Carter, B.H., Bjartell, A., Seitz, M., Stanislaus, P., Montorsi, F., Stief, C.G., and Schröder, F. (2009). Insignificant Prostate Cancer and Active Surveillance: From Definition to Clinical Implications. Eur. Urol. 55, 1321–1332.

Bastide, C. (2009). Techniques et complications de la prostatectomie totale. Prog. En Urol. 19, 269–273.

Basu, H.S., Thompson, T.A., Church, D.R., Clower, C.C., Mehraein-Ghomi, F., Amlong, C.A., Martin, C.T., Woster, P.M., Lindstrom, M.J., and Wilding, G. (2009). A Small Molecule Polyamine Oxidase Inhibitor Blocks Androgen-Induced Oxidative Stress and Delays Prostate Cancer Progression in the TRAMP Mouse Model. Cancer Res. 69, 7689–7695.

Battisti, V., Maders, L.D.K., Bagatini, M.D., Reetz, L.G.B., Chiesa, J., Battisti, I.E., Gonçalves, J.F., Duarte, M.M.F., Schetinger, M.R.C., and Morsch, V.M. (2011). Oxidative stress and antioxidant status in prostate cancer patients: relation to Gleason score, treatment and bone metastasis. Biomed. Pharmacother. Bioméd. Pharmacothérapie 65, 516–524.

Bedia, C., Camacho, L., Abad, J.L., Fabriàs, G., and Levade, T. (2010). A simple fluorogenic method for determination of acid ceramidase activity and diagnosis of Farber disease. J. Lipid Res. 51, 3542–3547.

Behrend, L., Mohr, A., Dick, T., and Zwacka, R.M. (2005). Manganese Superoxide Dismutase Induces p53-Dependent Senescence in Colorectal Cancer Cells. Mol. Cell. Biol. 25, 7758–7769.

Bejma, J., and Ji, L.L. (1999). Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle. J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985 87, 465–470.

Berger, N. (2004). Le diagnostic de l'adénocarcinome prostatique et de la néoplasie intra épithéliale prostatique (PIN) sur ponction biopsie prostatique. Ann. Pathol. 24, Supplement 1, 100–102.

Bergers, G., and Benjamin, L.E. (2003). Tumorigenesis and the angiogenic switch. Nat. Rev. Cancer 3, 401–410.

Biggs, W.H., Meisenhelder, J., Hunter, T., Cavenee, W.K., and Arden, K.C. (1999). Protein kinase B/Akt-mediated phosphorylation promotes nuclear exclusion of the winged helix transcription factor FKHR1. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 96, 7421–7426.

Binder-Foucard, F., Belot, A., Delafosse, P., Remontet, L., Woronoff, A.., and Bossard, N. (2013). Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012.

Bionda, C., Hadchity, E., Alphonse, G., Chapet, O., Rousson, R., Rodriguez-Lafrasse, C., and Ardail, D. (2007). Radioresistance of human carcinoma cells is correlated to a defect in raft membrane clustering. Free Radic. Biol. Med. 43, 681–694.

Bitting, R.L., and Armstrong, A.J. (2013). Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in castration-resistant prostate cancer. Endocr. Relat. Cancer 20, R83–R99.

Bjelakovic, G., Nikolova, D., Gluud, L.L., Simonetti, R.G., and Gluud, C. (2007). Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. JAMA J. Am. Med. Assoc. 297, 842–857.

Błachnio-Zabielska, A., Zabielski, P., Baranowski, M., and Gorski, J. (2011). Aerobic Training in Rats Increases Skeletal Muscle Sphingomyelinase and Serine Palmitoyltransferase Activity, While Decreasing Ceramidase Activity. Lipids 46, 229–238.

Boccon-Gibod, L. (2004). La technique et la lecture des biopsies prostatiques. Recommandations Européennes. Ann. Pathol. 24, Supplement 1, 98–100.

Bohr, V.A. (2002). Repair of oxidative DNA damage in nuclear and mitochondrial DNA, and some changes with aging in mammalian cells. Free Radic. Biol. Med. 32, 804–812.

Boissier, R., and Gross, E. (2010). [The hypofractionated radiotherapy in the treatment of the prostate cancer: radiate less to treat more]. Prog. En Urol. J. Assoc. Fr. Urol. Société Fr. Urol. 22, 326–330.

Bonci, D., Coppola, V., Musumeci, M., Addario, A., Giuffrida, R., Memeo, L., D'Urso, L., Pagliuca, A., Biffoni, M., Labbaye, C., et al. (2008). The miR-15a-miR-16-1 cluster controls prostate cancer by targeting multiple oncogenic activities. Nat. Med. 14, 1271–1277.

Bookstein, R., MacGrogan, D., Hilsenbeck, S.G., Sharkey, F., and Allred, D.C. (1993). p53 is mutated in a subset of advanced-stage prostate cancers. Cancer Res. 53, 3369–3373.

Borek, C. (2004). Antioxidants and Radiation Therapy. J. Nutr. 134, 3207S – 3209S.

Bossi, A. (2010). Quelle modalité de curiethérapie prostatique ? Cancer/Radiothérapie 14, 488–492.

Bowen, C., and Gelmann, E.P. (2010). NKX3.1 activates cellular response to DNA damage. Cancer Res. 70, 3089–3097.

Bowen, C., Bubendorf, L., Voeller, H.J., Slack, R., Willi, N., Sauter, G., Gasser, T.C., Koivisto, P., Lack, E.E., Kononen, J., et al. (2000). Loss of NKX3.1 expression in human prostate cancers correlates with tumor progression. Cancer Res. 60, 6111–6115.

Boyle, P., Severi, G., and Giles, G.G. (2003). The epidemiology of prostate cancer. Urol. Clin. North Am. 30, 209–217.

Brandon, M., Baldi, P., and Wallace, D.C. (2006). Mitochondrial mutations in cancer. Oncogene 25, 4647–4662.

Brar, S.S., Corbin, Z., Kennedy, T.P., Hemendinger, R., Thornton, L., Bommarius, B., Arnold, R.S., Whorton, A.R., Sturrock, A.B., Huecksteadt, T.P., et al. (2003). NOX5 NAD(P)H oxidase regulates growth and apoptosis in DU 145 prostate cancer cells. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 285, C353–C369.

Brass, A.L., Barnard, J., Patai, B.L., Salvi, D., and Rukstalis, D.B. (1995). Androgen up-regulates epidermal growth factor receptor expression and binding affinity in PC3 cell lines expressing the human androgen receptor. Cancer Res. 55, 3197–3203.

Bray, K., Chen, H.-Y., Karp, C.M., May, M., Ganesan, S., Karantza-Wadsworth, V., DiPaola, R.S., and White, E. (2009). Bcl-2 modulation to activate apoptosis in prostate cancer. Mol. Cancer Res. MCR 7, 1487–1496.

Brinkmann, A.O., Blok, L.J., de Ruiter, P.E., Doesburg, P., Steketee, K., Berrevoets, C.A., and Trapman, J. (1999). Mechanisms of androgen receptor activation and function. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 69, 307–313.

Broman, G., Johnsson, L., and Kaijser, L. (2004). Golf: a high intensity interval activity for elderly men. Aging Clin. Exp. Res. 16, 375–381.

Brooks, S.V., Vasilaki, A., Larkin, L.M., McArdle, A., and Jackson, M.J. (2008). Repeated bouts of aerobic exercise lead to reductions in skeletal muscle free radical generation and nuclear factor kappaB activation. J. Physiol. 586, 3979–3990.

Brown, J.C., Winters-Stone, K., Lee, A., and Schmitz, K.H. (2012). Cancer, Physical Activity, and Exercise. In Comprehensive Physiology, R. Terjung, ed. (Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.),.

Brown, J.K., Byers, T., Doyle, C., Courneya, K.S., Demark-Wahnefried, W., Kushi, L.H., McTiernan, A., Rock, C.L., Aziz, N., Bloch, A.S., et al. (2003). Nutrition and Physical Activity During and After Cancer Treatment: An American Cancer Society Guide for Informed Choices. CA. Cancer J. Clin. 53, 268–291.

Brunet, A., Bonni, A., Zigmond, M.J., Lin, M.Z., Juo, P., Hu, L.S., Anderson, M.J., Arden, K.C., Blenis, J., and Greenberg, M.E. (1999). Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor. Cell 96, 857–868.

Brunet, A., Sweeney, L.B., Sturgill, J.F., Chua, K.F., Greer, P.L., Lin, Y., Tran, H., Ross, S.E., Mostoslavsky, R., Cohen, H.Y., et al. (2004). Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. Science 303, 2011–2015.

Brys, M., Morel, A., Forma, E., Krzeslak, A., Wilkosz, J., Rozanski, W., and Olas, B. (2013). Relationship of urinary isoprostanes to prostate cancer occurrence. Mol. Cell. Biochem. 372, 149–153.

Bul, M., Zhu, X., Valdagni, R., Pickles, T., Kakehi, Y., Rannikko, A., Bjartell, A., van der Schoot, D.K., Cornel, E.B., Conti, G.N., et al. (2013). Active Surveillance for Low-Risk Prostate Cancer Worldwide: The PRIAS Study. Eur. Urol. 63, 597–603.

Cabrespine-Faugeras, A., Bayet-Robert, M., Bay, J.-O., Chollet, P., and Barthomeuf, C. (2010). Possible benefits of curcumin regimen in combination with taxane chemotherapy for hormone-refractory prostate cancer treatment. Nutr. Cancer 62, 148–153.

Cadet, J., Douki, T., Gasparutto, D., and Ravanat, J.-L. (2003). Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features. Mutat. Res. 531, 5–23.

Cahill, C.M., Tzivion, G., Nasrin, N., Ogg, S., Dore, J., Ruvkun, G., and Alexander-Bridges, M. (2001). Phosphatidylinositol 3-kinase signaling inhibits DAF-16 DNA binding and function via 14-3-3-dependent and 14-3-3-independent pathways. J. Biol. Chem. 276, 13402–13410.

Camougrand, N., and Rigoulet, M. (2001). Aging and oxidative stress: studies of some genes involved both in aging and in response to oxidative stress. Respir. Physiol. 128, 393–401.

Campbell, P.T., Gross, M.D., Potter, J.D., Schmitz, K.H., Duggan, C., McTiernan, A., and Ulrich, C.M. (2010). Effect of exercise on oxidative stress: a 12-month randomized, controlled trial. Med. Sci. Sports Exerc. 42, 1448–1453.

Cancel-Tassin, G., and Cussenot, O. (2005). Prostate cancer genetics. Minerva Urol. E Nefrol. Ital. J. Urol. Nephrol. 57, 289–300.

Cantley, L.C. (2002). The phosphoinositide 3-kinase pathway. Science 296, 1655–1657.

Capel, F., Rimbert, V., Lioger, D., Diot, A., Rousset, P., Mirand, P.P., Boirie, Y., Morio, B., and Mosoni, L. (2005). Due to reverse electron transfer, mitochondrial H2O2 release increases with age in human vastus lateralis muscle although oxidative capacity is preserved. Mech. Ageing Dev. 126, 505–511.

Capra, S., Ferguson, M., and Ried, K. (2001). Cancer: impact of nutrition intervention outcome--nutrition issues for patients. Nutr. Burbank Los Angel. Cty. Calif 17, 769–772.

Carbillet, J.-P. (1997). Classification des tumeurs de la prostate. Rev. Fr. Lab. 1997, 19–21.

Carnero, A., Blanco-Aparicio, C., Renner, O., Link, W., and Leal, J.F.M. (2008). The PTEN/PI3K/AKT signalling pathway in cancer, therapeutic implications. Curr. Cancer Drug Targets 8, 187–198.

Caspersen, C.J., Powell, K.E., and Christenson, G.M. (1985). Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. Public Health Rep. 100, 126–131.

Catto, J.W.F., Alcaraz, A., Bjartell, A.S., De Vere White, R., Evans, C.P., Fussel, S., Hamdy, F.C., Kallioniemi, O., Mengual, L., Schlomm, T., et al. (2011). MicroRNA in prostate, bladder, and kidney cancer: a systematic review. Eur. Urol. 59, 671–681.

Catz, S.D., and Johnson, J.L. (2003). BCL-2 in prostate cancer: a minireview. Apoptosis Int. J. Program. Cell Death 8, 29–37.

Cerdá, B., Cerón, J.J., Tomás-Barberán, F.A., and Espín, J.C. (2003). Repeated oral administration of high doses of the pomegranate ellagitannin punicalagin to rats for 37 days is not toxic. J. Agric. Food Chem. 51, 3493–3501.

Chaiswing, L., Bourdeau-Heller, J.M., Zhong, W., and Oberley, T.D. (2007). Characterization of redox state of two human prostate carcinoma cell lines with different degrees of aggressiveness. Free Radic. Biol. Med. 43, 202–215.

Chaiswing, L., Zhong, W., and Oberley, T.D. (2014). Increasing discordant antioxidant protein levels and enzymatic activities contribute to increasing redox imbalance observed during human prostate cancer progression. Free Radic. Biol. Med. 67, 342–352.

Chan, J.M., Stampfer, M.J., Ma, J., Gann, P.H., Gaziano, J.M., and Giovannucci, E.L. (2001). Dairy products, calcium, and prostate cancer risk in the Physicians' Health Study. Am. J. Clin. Nutr. 74, 549–554.

Chang, L., and Karin, M. (2001). Mammalian MAP kinase signalling cascades. Nature 410, 37–40.

Chanock, S.J., el Benna, J., Smith, R.M., and Babior, B.M. (1994). The respiratory burst oxidase. J. Biol. Chem. 269, 24519–24522.

Chaudhary, L.R., and Hruska, K.A. (2003). Inhibition of cell survival signal protein kinase B/Akt by curcumin in human prostate cancer cells. J. Cell. Biochem. 89, 1–5.

Chauveinc, L., Flam, T., Solignac, S., Rosenwald, J.C., Thiounn, N., Firmin, F., and Cosset, J.M. (2002). Les indications de la curiethérapie de prostate par implantation permanente. Cancer/Radiothérapie 6, 154–158.

Cheema, U., Alekseeva, T., Abou-Neel, E.A., and Brown, R.A. (2010). Switching off angiogenic signalling: creating channelled constructs for adequate oxygen delivery in tissue engineered constructs. Eur. Cell. Mater. 20, 274–280; discussion 280–281.

Chen, J.-F., Callis, T.E., and Wang, D.-Z. (2009). microRNAs and muscle disorders. J. Cell Sci. 122, 13–20.

Chen, Y., Robles, A.I., Martinez, L.A., Liu, F., Gimenez-Conti, I.B., and Conti, C.J. (1996). Expression of G1 cyclins, cyclin-dependent kinases, and cyclin-dependent kinase inhibitors in androgen-induced prostate proliferation in castrated rats. Cell Growth Differ. Mol. Biol. J. Am. Assoc. Cancer Res. 7, 1571–1578.

Chen, Y., Wang, J., Fraig, M.M., Metcalf, J., Turner, W.R., Bissada, N.K., Watson, D.K., and Schweinfest, C.W. (2001). Defects of DNA mismatch repair in human prostate cancer. Cancer Res. 61, 4112–4121.

Chen, Y.-R., Liu, M.-T., Chang, Y.-T., Wu, C.-C., Hu, C.-Y., and Chen, J.-Y. (2008). Epstein-Barr Virus Latent Membrane Protein 1 Represses DNA Repair through the PI3K/Akt/FOXO3a Pathway in Human Epithelial Cells. J. Virol. 82, 8124–8137.

Chendil, D., Ranga, R.S., Meigooni, D., Sathishkumar, S., and Ahmed, M.M. (2004). Curcumin confers radiosensitizing effect in prostate cancer cell line PC-3. Oncogene 23, 1599–1607.

Cheng, G., Cao, Z., Xu, X., van Meir, E.G., and Lambeth, J.D. (2001). Homologs of gp91phox: cloning and tissue expression of Nox3, Nox4, and Nox5. Gene 269, 131–140.

Cheng, J.C., Bai, A., Beckham, T.H., Marrison, S.T., Yount, C.L., Young, K., Lu, P., Bartlett, A.M., Wu, B.X., Keane, B.J., et al. (2013). Radiation-induced acid ceramidase confers prostate cancer resistance and tumor relapse. J. Clin. Invest. 123, 4344–4358.

Cheng, K.C., Cahill, D.S., Kasai, H., Nishimura, S., and Loeb, L.A. (1992). 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G----T and A----C substitutions. J. Biol. Chem. 267, 166–172.

Cheung, K.L., Lee, J.H., Khor, T.O., Wu, T.-Y., Li, G.X., Chan, J., Yang, C.S., and Kong, A.-N.T. (2014). Nrf2 knockout enhances intestinal tumorigenesis in Apc(min/+) mice due to attenuation of anti-oxidative stress pathway while potentiates inflammation. Mol. Carcinog. 53, 77–84.

Chhipa, R.R., Lee, K.-S., Onate, S., Wu, Y., and Ip, C. (2009). Prx1 enhances androgen receptor function in prostate cancer cells by increasing receptor affinity to dihydrotestosterone. Mol. Cancer Res. MCR 7, 1543–1552.

Chidambara Murthy, K.N., Jayaprakasha, G.K., and Singh, R.P. (2002). Studies on antioxidant activity of pomegranate (Punica granatum) peel extract using in vivo models. J. Agric. Food Chem. 50, 4791–4795.

Chiosea, S., Jelezcova, E., Chandran, U., Acquafondata, M., McHale, T., Sobol, R.W., and Dhir, R. (2006). Up-regulation of dicer, a component of the MicroRNA machinery, in prostate adenocarcinoma. Am. J. Pathol. 169, 1812–1820.

Chmura, S.J., Nodzenski, E., Kharbanda, S., Pandey, P., Quintans, J., Kufe, D.W., and Weichselbaum, R.R. (2000). Down-Regulation of Ceramide Production Abrogates Ionizing Radiation-Induced Cytochrome c Release and Apoptosis. Mol. Pharmacol. 57, 792–796.

Cholewa, J., Guimarães-Ferreira, L., da Silva Teixeira, T., Naimo, M.A., Zhi, X., de Sá, R.B.D.P., Lodetti, A., Cardozo, M.Q., and Zanchi, N.E. (2014). Basic models modeling resistance training: an update for basic scientists interested in study skeletal muscle hypertrophy. J. Cell. Physiol. 229, 1148–1156.

Chow, L.M.L., and Baker, S.J. (2006). PTEN function in normal and neoplastic growth. Cancer Lett. 241, 184–196.

Chung, Y.W., Jeong, D., Won, J.Y., Choi, E.-J., Choi, Y.H., and Kim, I.Y. (2002). H(2)O(2)-induced AP-1 activation and its effect on p21(WAF1/CIP1)-mediated G2/M arrest in a p53-deficient human lung cancer cell. Biochem. Biophys. Res. Commun. 293, 1248–1253.

Church, D.R., Lee, E., Thompson, T.A., Basu, H.S., Ripple, M.O., Ariazi, E.A., and Wilding, G. (2005). Induction of AP-1 activity by androgen activation of the androgen receptor in LNCaP human prostate carcinoma cells. The Prostate 63, 155–168.

Circu, M.L., and Aw, T.Y. (2010). REACTIVE OXYGEN SPECIES, CELLULAR REDOX SYSTEMS AND APOPTOSIS. Free Radic. Biol. Med. 48, 749–762.

Clarke, G., and Whittemore, A.S. (2000). Prostate cancer risk in relation to anthropometry and physical activity: the National Health and Nutrition Examination Survey I Epidemiological Follow-Up Study. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol. 9, 875–881.

Clarkson, P.M., and Thompson, H.S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? Am. J. Clin. Nutr. 72, 637S – 46S.

Cohen, J.H., Kristal, A.R., and Stanford, J.L. (2000). Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. J. Natl. Cancer Inst. 92, 61–68.

Collectif (2002). Cancer de la prostate non métastatique (John Libbey Eurotext).

Coppola, V., De Maria, R., and Bonci, D. (2010). MicroRNAs and prostate cancer. Endocr. Relat. Cancer 17, F1–F17.

Cormie, P., Newton, R.U., Taaffe, D.R., Spry, N., Joseph, D., Akhlil Hamid, M., and Galvão, D.A. (2013). Exercise maintains sexual activity in men undergoing androgen suppression for prostate cancer: a randomized controlled trial. Prostate Cancer Prostatic Dis. 16, 170–175.

Cosset, J.-M., Flam, T., Thiounn, N., Pontvert, D., Pierrat, N., Vallancien, G., and Chauveinc, L. (2008). La curiethérapie du cancer prostatique par implants permanents. Cancer/Radiothérapie 12, 503–511.

Cosset, J.-M., Hannoun-Lévi, J.-M., Peiffert, D., Delannes, M., Pommier, P., Pierrat, N., Nickers, P., Thomas, L., and Chauveinc, L. (2013). Curiethérapie du cancer prostatique par implants permanents : le point en 2013. Cancer/Radiothérapie 17, 111–117.

Costa, V., Quintanilha, A., and Moradas-Ferreira, P. (2007). Protein oxidation, repair mechanisms and proteolysis in Saccharomyces cerevisiae. IUBMB Life 59, 293–298.

Costello, L.C., Liu, Y., Franklin, R.B., and Kennedy, M.C. (1997). Zinc inhibition of mitochondrial aconitase and its importance in citrate metabolism of prostate epithelial cells. J. Biol. Chem. 272, 28875–28881.

Costello, L.C., Franklin, R.B., and Feng, P. (2005). Mitochondrial function, zinc, and intermediary metabolism relationships in normal prostate and prostate cancer. Mitochondrion 5, 143–153.

Courneya, K.S., and Friedenreich, C.M. (2011). Physical Activity and Cancer (Springer Berlin Heidelberg).

Courtney, K.D., Corcoran, R.B., and Engelman, J.A. (2010). The PI3K Pathway As Drug Target in Human Cancer. J. Clin. Oncol. 28, 1075–1083.

Coussens, L.M., and Werb, Z. (2002). Inflammation and cancer. Nature 420, 860–867.

Cramp, F., and Byron-Daniel, J. (2012). Exercise for the management of cancer-related fatigue in adults. Cochrane Database Syst. Rev. 11, CD006145.

Crawford, E.D. (2009). Understanding the Epidemiology, Natural History, and Key Pathways Involved in Prostate Cancer. Urology 73, S4–S10.

Culig, Z. (2004). Androgen receptor cross-talk with cell signalling pathways. Growth Factors Chur Switz. 22, 179–184.

Cunha, G.R., Ricke, W., Thomson, A., Marker, P.C., Risbridger, G., Hayward, S.W., Wang, Y.Z., Donjacour, A.A., and Kurita, T. (2004). Hormonal, cellular, and molecular regulation of normal and neoplastic prostatic development. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 92, 221–236.

Cussenot, O., and Cancel-Tassin, G. (2004). Facteurs de risque génétiques pour le cancer de la prostate. MS Médecine Sci. 20, 562–568.

Cussenot, O., and Teillac, P. (2000). Le cancer de la prostate (John Libbey Eurotext).

Van Cutsem, E., and Arends, J. (2005). The causes and consequences of cancer-associated malnutrition. Eur. J. Oncol. Nurs. Off. J. Eur. Oncol. Nurs. Soc. 9 Suppl 2, S51–S63.

Dakubo, G.D., Parr, R.L., Costello, L.C., Franklin, R.B., and Thayer, R.E. (2006). Altered metabolism and mitochondrial genome in prostate cancer. J. Clin. Pathol. 59, 10–16.

Dart, D.A., Spencer-Dene, B., Gamble, S.C., Waxman, J., and Bevan, C.L. (2009). Manipulating prohibitin levels provides evidence for an in vivo role in androgen regulation of prostate tumours. Endocr. Relat. Cancer 16, 1157–1169.

Daussin, F.N., Rasseneur, L., Bouitbir, J., Charles, A.-L., Dufour, S.P., Geny, B., Burelle, Y., and Richard, R. (2012). Different timing of changes in mitochondrial functions following endurance training. Med. Sci. Sports Exerc. 44, 217–224.

Davies, K.J., Quintanilha, A.T., Brooks, G.A., and Packer, L. (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. Biochem. Biophys. Res. Commun. 107, 1198–1205.

Davies, N.J., Batehup, L., and Thomas, R. (2011). The role of diet and physical activity in breast, colorectal, and prostate cancer survivorship: a review of the literature. Br. J. Cancer 105, S52–S73.

Deeb, D., Xu, Y.X., Jiang, H., Gao, X., Janakiraman, N., Chapman, R.A., and Gautam, S.C. (2003). Curcumin (diferuloyl-methane) enhances tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis in LNCaP prostate cancer cells. Mol. Cancer Ther. 2, 95–103.

Defraigne, J.O., and Pincemail, J. (2008). STRESS OXYDANT ET ANTIOXYDANTS : mythes et réalités. RMLG Rev. Médicale Liège 63, 10–19.

DeMarzo, A.M., Nelson, W.G., Isaacs, W.B., and Epstein, J.I. (2003). Pathological and molecular aspects of prostate cancer. The Lancet 361, 955–964.

Demoor-Goldschmidt, C., and Raynard, B. (2009). [How can we integrate nutritional support in medical oncology?]. Bull. Cancer (Paris) 96, 665–675.

Dhanasekaran, D.N., and Johnson, G.L. (2007). MAPKs: function, regulation, role in cancer and therapeutic targeting. Oncogene 26, 3097–3099.

Dhanasekaran, D.N., and Reddy, E.P. (2008). JNK Signaling in Apoptosis. Oncogene 27, 6245–6251.

Dhar, S.K., Tangpong, J., Chaiswing, L., Oberley, T.D., and St Clair, D.K. (2011). Manganese superoxide dismutase is a p53-regulated gene that switches cancers between early and advanced stages. Cancer Res. 71, 6684–6695.

Dianov, G.L., Souza-Pinto, N., Nyaga, S.G., Thybo, T., Stevnsner, T., and Bohr, V.A. (2001). Base excision repair in nuclear and mitochondrial DNA. Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol. 68, 285–297.

Dickey, J.S., Zemp, F.J., Martin, O.A., and Kovalchuk, O. (2011). The role of miRNA in the direct and indirect effects of ionizing radiation. Radiat. Environ. Biophys. 50, 491–499.

Dijkers, P.F., Medema, R.H., Pals, C., Banerji, L., Thomas, N.S.B., Lam, E.W.-F., Burgering, B.M.T., Raaijmakers, J.A.M., Lammers, J.-W.J., Koenderman, L., et al. (2000). Forkhead Transcription Factor FKHR-L1 Modulates Cytokine-Dependent Transcriptional Regulation of p27KIP1. Mol. Cell. Biol. 20, 9138–9148.

Dijkstra, S., Mulders, P.F.A., and Schalken, J.A. (2014). Clinical use of novel urine and blood based prostate cancer biomarkers: A review. Clin. Biochem. 47, 889–896.

Doyle, C., Kushi, L.H., Byers, T., Courneya, K.S., Demark-Wahnefried, W., Grant, B., McTiernan, A., Rock, C.L., Thompson, C., Gansler, T., et al. (2006). Nutrition and physical activity during and after cancer treatment: an American Cancer Society guide for informed choices. CA. Cancer J. Clin. 56, 323–353.

Dreher, D., and Junod, A.F. (1996). Role of oxygen free radicals in cancer development. Eur. J. Cancer 32, 30–38.

Dreher, T., Zentgraf, H., Abel, U., Kappeler, A., Michel, M.S., Bleyl, U., and Grobholz, R. (2004). Reduction of PTEN and p27kip1 expression correlates with tumor grade in prostate cancer. Analysis in radical prostatectomy specimens and needle biopsies. Virchows Arch. 444, 509–517.

Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol. Rev. 82, 47–95.

Drouin, S.J., Rouprêt, M., Hamdy, F., and Mottet, N. (2010). Surveillance active du cancer de prostate localisé. Prog. En Urol. 20, Supplement 3, S181–S185.

Dufourny, B., Alblas, J., van Teeffelen, H.A., van Schaik, F.M., van der Burg, B., Steenbergh, P.H., and Sussenbach, J.S. (1997). Mitogenic signaling of insulin-like growth factor I in MCF-7 human breast cancer cells requires phosphatidylinositol 3-kinase and is independent of mitogen-activated protein kinase. J. Biol. Chem. 272, 31163–31171.

Duronio, V. (2008). The life of a cell: apoptosis regulation by the PI3K/PKB pathway. Biochem. J. 415, 333–344.

Eastham, J.A., Stapleton, A.M., Gousse, A.E., Timme, T.L., Yang, G., Slawin, K.M., Wheeler, T.M., Scardino, P.T., and Thompson, T.C. (1995). Association of p53 mutations with metastatic prostate cancer. Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res. 1, 1111–1118.

Eaton, N.E., Reeves, G.K., Appleby, P.N., and Key, T.J. (1999). Endogenous sex hormones and prostate cancer: a quantitative review of prospective studies. Br. J. Cancer 80, 930–934.

Edlind, M.P., and Hsieh, A.C. (2014). PI3K-AKT-mTOR signaling in prostate cancer progression and androgen deprivation therapy resistance. Asian J. Androl. 16, 378–386.

Egan, B., Carson, B.P., Garcia-Roves, P.M., Chibalin, A.V., Sarsfield, F.M., Barron, N., McCaffrey, N., Moyna, N.M., Zierath, J.R., and O'Gorman, D.J. (2010). Exercise intensity-dependent regulation of peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1 mRNA abundance is associated with differential activation of upstream signalling kinases in human skeletal muscle. J. Physiol. 588, 1779–1790.

Eldefrawy, A., Katkoori, D., Abramowitz, M., Soloway, M.S., and Manoharan, M. (2013). Active surveillance vs. treatment for low-risk prostate cancer: A cost comparison. Urol. Oncol. Semin. Orig. Investig. 31, 576–580.

Endo, E.H., Cortez, D.A.G., Ueda-Nakamura, T., Nakamura, C.V., and Dias Filho, B.P. (2010). Potent antifungal activity of extracts and pure compound isolated from pomegranate peels and synergism with fluconazole against Candida albicans. Res. Microbiol. 161, 534–540.

Engelman, J.A., Luo, J., and Cantley, L.C. (2006). The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. Nat. Rev. Genet. 7, 606–619.

Esser, K.A., Harpole, C.E., Prins, G.S., and Diamond, A.M. (2009). Physical activity reduces prostate carcinogenesis in a transgenic model. The Prostate 69, 1372–1377.

Essers, M.A.G., Weijzen, S., de Vries-Smits, A.M.M., Saarloos, I., de Ruiter, N.D., Bos, J.L., and Burgering, B.M.T. (2004). FOXO transcription factor activation by oxidative stress mediated by the small GTPase Ral and JNK. EMBO J. 23, 4802–4812.

Etminan, M., Takkouche, B., and Caamaño-Isorna, F. (2004). The role of tomato products and lycopene in the prevention of prostate cancer: a meta-analysis of observational studies. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol. 13, 340–345.

Fabian, M.R., Sonenberg, N., and Filipowicz, W. (2010). Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs. Annu. Rev. Biochem. 79, 351–379.

Fairey, A.S., Courneya, K.S., Field, C.J., Bell, G.J., Jones, L.W., and Mackey, J.R. (2005). Randomized controlled trial of exercise and blood immune function in postmenopausal breast cancer survivors. J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985 98, 1534–1540.

Fan, M., and Chambers, T.C. (2001). Role of mitogen-activated protein kinases in the response of tumor cells to chemotherapy. Drug Resist. Updat. Rev. Comment. Antimicrob. Anticancer Chemother. 4, 253–267.

Fang, J., and Holmgren, A. (2006). Inhibition of thioredoxin and thioredoxin reductase by 4-hydroxy-2-nonenal in vitro and in vivo. J. Am. Chem. Soc. 128, 1879–1885.

Fang, Y.-X., and Gao, W.-Q. (2014). Roles of microRNAs during prostatic tumorigenesis and tumor progression. Oncogene 33, 135–147.

Fang, J., Seki, T., and Maeda, H. (2009). Therapeutic strategies by modulating oxygen stress in cancer and inflammation. Adv. Drug Deliv. Rev. 61, 290–302.

Fang, Z., Zhang, T., Dizeyi, N., Chen, S., Wang, H., Swanson, K.D., Cai, C., Balk, S.P., and Yuan, X. (2012). Androgen Receptor Enhances p27 Degradation in Prostate Cancer Cells through Rapid and Selective TORC2 Activation. J. Biol. Chem. 287, 2090–2098.

Farahmand, B., Broman, G., de Faire, U., Vågerö, D., and Ahlbom, A. (2009). Golf: a game of life and death--reduced mortality in Swedish golf players. Scand. J. Med. Sci. Sports 19, 419–424.

Faria, A., Monteiro, R., Mateus, N., Azevedo, I., and Calhau, C. (2007). Effect of pomegranate (Punica granatum) juice intake on hepatic oxidative stress. Eur. J. Nutr. 46, 271–278.

Favier, A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Actual. Chim. 108–115.

Feldman, B.J., and Feldman, D. (2001). The development of androgen-independent prostate cancer. Nat. Rev. Cancer 1, 34–45.

Feng, H., Kang, C., Dickman, J.R., Koenig, R., Awoyinka, I., Zhang, Y., and Ji, L.L. (2013). Training-induced mitochondrial adaptation: role of peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1α, nuclear factor-κB and β-blockade. Exp. Physiol. 98, 784–795.

Fernández, M., Sánchez-Franco, F., Palacios, N., Sánchez, I., Fernández, C., and Cacicedo, L. (2004). IGF-I inhibits apoptosis through the activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in pituitary cells. J. Mol. Endocrinol. 33, 155–163.

Ferrando, M., Gueron, G., Elguero, B., Giudice, J., Salles, A., Leskow, F.C., Jares-Erijman, E.A., Colombo, L., Meiss, R., Navone, N., et al. (2011). Heme oxygenase 1 (HO-1) challenges the angiogenic switch in prostate cancer. Angiogenesis 14, 467–479.

Ferrara, N., Rinaldi, B., Corbi, G., Conti, V., Stiuso, P., Boccuti, S., Rengo, G., Rossi, F., and Filippelli, A. (2008). Exercise training promotes SIRT1 activity in aged rats. Rejuvenation Res. 11, 139–150.

Fisher-Wellman, K., and Bloomer, R.J. (2009). Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. Dyn. Med. 8, 1.

Fletcher, C.E., Dart, D.A., Sita-Lumsden, A., Cheng, H., Rennie, P.S., and Bevan, C.L. (2012). Androgen-regulated processing of the oncomir miR-27a, which targets Prohibitin in prostate cancer. Hum. Mol. Genet. 21, 3112–3127.

Fournier, G., Valeri, A., Mangin, P., and Cussenot, O. (2004a). Cancer de la prostate. Diagnostic et bilan d'extension. Ann. Urol. 38, 207–224.

Fournier, G., Valeri, A., Mangin, P., and Cussenot, O. (2004b). Cancer de la prostate. Épidémiologie. Facteurs de risques. Anatomopathologie. Ann. Urol. 38, 187–206.

Fournier, G., Valeri, A., Mangin, P., and Cussenot, O. (2004c). Cancer de la prostate. Traitement. Ann. Urol. 38, 225–258.

Freeman, M.R., and Solomon, K.R. (2004). Cholesterol and prostate cancer. J. Cell. Biochem. 91, 54–69.

Friedenreich, C.M., and Orenstein, M.R. (2002). Physical activity and cancer prevention: etiologic evidence and biological mechanisms. J. Nutr. 132, 3456S – 3464S.

Friedenreich, C.M., and Thune, I. (2001). A review of physical activity and prostate cancer risk. Cancer Causes Control 12, 461–475.

Friedenreich, C.M., Neilson, H.K., and Lynch, B.M. (2010). State of the epidemiological evidence on physical activity and cancer prevention. Eur. J. Cancer 46, 2593–2604.

Frohlich, D.A., McCabe, M.T., Arnold, R.S., and Day, M.L. (2008). The role of Nrf2 in increased reactive oxygen species and DNA damage in prostate tumorigenesis. Oncogene 27, 4353–4362.

Fu, Z., and Tindall, D. (2008). FOXOs, cancer and regulation of apoptosis. Oncogene 27, 2312.

Fuchs, S.Y., Adler, V., Pincus, M.R., and Ronai, Z. (1998). MEKK1/JNK signaling stabilizes and activates p53. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 95, 10541–10546.

Fuchs-Tarlovsky, V. (2013). Role of antioxidants in cancer therapy. Nutr. Burbank Los Angel. Cty. Calif 29, 15–21.

Fujino, G., Noguchi, T., Takeda, K., and Ichijo, H. (2006). Thioredoxin and protein kinases in redox signaling. Semin. Cancer Biol. 16, 427–435.

Fukuda, R., Hirota, K., Fan, F., Jung, Y.D., Ellis, L.M., and Semenza, G.L. (2002). Insulin-like growth factor 1 induces hypoxia-inducible factor 1-mediated vascular endothelial growth factor expression, which is dependent on MAP kinase and phosphatidylinositol 3-kinase signaling in colon cancer cells. J. Biol. Chem. 277, 38205–38211.

Fulton, D.J.R. (2009). Nox5 and the regulation of cellular function. Antioxid. Redox Signal. 11, 2443–2452.

Furlanetto, R.W., Harwell, S.E., and Frick, K.K. (1994). Insulin-like growth factor-I induces cyclin-D1 expression in MG63 human osteosarcoma cells in vitro. Mol. Endocrinol. Baltim. Md 8, 510–517.

Furukawa-Hibi, Y., Yoshida-Araki, K., Ohta, T., Ikeda, K., and Motoyama, N. (2002). FOXO Forkhead Transcription Factors Induce G2-M Checkpoint in Response to Oxidative Stress. J. Biol. Chem. 277, 26729–26732.

Furukawa-Hibi, Y., Kobayashi, Y., Chen, C., and Motoyama, N. (2005). FOXO Transcription Factors in Cell-Cycle Regulation and the Response to Oxidative Stress. Antioxid. Redox Signal. 7, 752–760.

Galardi, S., Mercatelli, N., Giorda, E., Massalini, S., Frajese, G.V., Ciafrè, S.A., and Farace, M.G. (2007). miR-221 and miR-222 expression affects the proliferation potential of human prostate carcinoma cell lines by targeting p27Kip1. J. Biol. Chem. 282, 23716–23724.

Galbiati, F., Razani, B., and Lisanti, M.P. (2001). Emerging themes in lipid rafts and caveolae. Cell 106, 403–411.

Gallagher, E.J., and LeRoith, D. (2011). Minireview: IGF, Insulin, and Cancer. Endocrinology 152, 2546–2551.

Galli, F. (2007). Membrane rafts and redox therapies in cancer: A commentary on “Radioresistance of human carcinoma cells is correlated to a defect in raft membrane clustering.” Free Radic. Biol. Med. 43, 678–680.

Galvão, D.A., Nosaka, K., Taaffe, D.R., Spry, N., Kristjanson, L.J., McGuigan, M.R., Suzuki, K., Yamaya, K., and Newton, R.U. (2006). Resistance training and reduction of treatment side effects in prostate cancer patients. Med. Sci. Sports Exerc. 38, 2045–2052.

Galvão, D.A., Taaffe, D.R., Spry, N., Joseph, D., and Newton, R.U. (2010). Combined Resistance and Aerobic Exercise Program Reverses Muscle Loss in Men Undergoing Androgen Suppression Therapy for Prostate Cancer Without Bone Metastases: A Randomized Controlled Trial. J. Clin. Oncol. 28, 340–347.

Gao, H., Ouyang, X., Banach-Petrosky, W.A., Gerald, W.L., Shen, M.M., and Abate-Shen, C. (2006). Combinatorial activities of Akt and B-Raf/Erk signaling in a mouse model of androgen-independent prostate cancer. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 103, 14477–14482.

García-Santamarina, S., Boronat, S., Calvo, I.A., Rodríguez-Gabriel, M., Ayté, J., Molina, H., and Hidalgo, E. (2013). Is oxidized thioredoxin a major trigger for cysteine oxidation? Clues from a redox proteomics approach. Antioxid. Redox Signal. 18, 1549–1556.

Gardès-Albert M, Bonnefond-Rousselot D, Abedinzadeh Z, and Jore D (2003). Espèces réactives de l’oxygène Comment l’oxygène peut-il devenir toxique ? Actual. Chim. 91–96.

Gardner, J.R., Livingston, P.M., and Fraser, S.F. (2014). Effects of exercise on treatment-related adverse effects for patients with prostate cancer receiving androgen-deprivation therapy: a systematic review. J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol. 32, 335–346.

Gasmi, J., and Sanderson, J.T. (2010). Growth inhibitory, antiandrogenic, and pro-apoptotic effects of punicic acid in LNCaP human prostate cancer cells. J. Agric. Food Chem. 58, 12149–12156.

GASTON, K.E., KIM, D., SINGH, S., FORD III, O.H., and MOHLER, J.L. (2003). Racial Differences in Androgen Receptor Protein Expression in Men With Clinically Localized Prostate Cancer. J. Urol. 170, 990–993.

Gaziano, J.M., Glynn, R.J., Christen, W.G., Kurth, T., Belanger, C., MacFadyen, J., Bubes, V., Manson, J.E., Sesso, H.D., and Buring, J.E. (2009). Vitamins E and C in the prevention of prostate and total cancer in men: the Physicians’ Health Study II randomized controlled trial. JAMA 301, 52–62.

Ge, Y.-F., Sun, J., Jin, C.-J., Cao, B.-Q., Jiang, Z.-F., and Shao, J.-F. (2013). AntagomiR-27a targets FOXO3a in glioblastoma and suppresses U87 cell growth in vitro and in vivo. Asian Pac. J. Cancer Prev. APJCP 14, 963–968.

George, L., Lokhandwala, M.F., and Asghar, M. (2009). Exercise activates redox-sensitive transcription factors and restores renal D1 receptor function in old rats. AJP Ren. Physiol. 297, F1174–F1180.

Geybels, M.S., Verhage, B.A.J., Arts, I.C.W., van Schooten, F.J., Goldbohm, R.A., and van den Brandt, P.A. (2013). Dietary flavonoid intake, black tea consumption, and risk of overall and advanced stage prostate cancer. Am. J. Epidemiol. 177, 1388–1398.

Ghafar, M.A., Anastasiadis, A.G., Chen, M.-W., Burchardt, M., Olsson, L.E., Xie, H., Benson, M.C., and Buttyan, R. (2003). Acute hypoxia increases the aggressive characteristics and survival properties of prostate cancer cells. The Prostate 54, 58–67.

Gil, M.I., Tomás-Barberán, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M., and Kader, A.A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. J. Agric. Food Chem. 48, 4581–4589.

Gioeli, D., Mandell, J.W., Petroni, G.R., Frierson, H.F., Jr, and Weber, M.J. (1999). Activation of mitogen-activated protein kinase associated with prostate cancer progression. Cancer Res. 59, 279–284.

Gioeli, D., Wunderlich, W., Sebolt-Leopold, J., Bekiranov, S., Wulfkuhle, J.D., Petricoin, E.F., Conaway, M., and Weber, M.J. (2011). Compensatory Pathways Induced by MEK Inhibition Are Effective Drug Targets for Combination Therapy against Castration-Resistant Prostate Cancer. Mol. Cancer Ther. 10, 1581–1590.

Giovannucci, E., Leitzmann, M., Spiegelman, D., Rimm, E.B., Colditz, G.A., Stampfer, M.J., and Willett, W.C. (1998). A prospective study of physical activity and prostate cancer in male health professionals. Cancer Res. 58, 5117–5122.

Giovannucci, E., Rimm, E.B., Liu, Y., Stampfer, M.J., and Willett, W.C. (2002). A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. J. Natl. Cancer Inst. 94, 391–398.

Giovannucci, E.L., Liu, Y., Leitzmann, M.F., Stampfer, M.J., and Willett, W.C. (2005). A prospective study of physical activity and incident and fatal prostate cancer. Arch. Intern. Med. 165, 1005–1010.

Gleason, D.F. (1992). Histologic grading of prostate cancer: A perspective. Hum. Pathol. 23, 273–279.

Gm, E.-S., Km, I., Et, E.S., Nm, A.-H., and Ta, M. (2010). Efficacy of Punica granatum extract on in-vitro and in-vivo control of Trichomonas vaginalis. J. Egypt. Soc. Parasitol. 40, 229–244.

Gomez-Cabrera, M.-C., Domenech, E., and Viña, J. (2008). Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. Free Radic. Biol. Med. 44, 126–131.

Goodman, G.E., Thornquist, M.D., Balmes, J., Cullen, M.R., Meyskens, F.L., Omenn, G.S., Valanis, B., and Williams, J.H. (2004). The Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial: incidence of lung cancer and cardiovascular disease mortality during 6-year follow-up after stopping beta-carotene and retinol supplements. J. Natl. Cancer Inst. 96, 1743–1750.

Goodwin, A.C., Jadallah, S., Toubaji, A., Lecksell, K., Hicks, J.L., Kowalski, J., Bova, G.S., De Marzo, A.M., Netto, G.J., and Casero, R.A. (2008). Increased spermine oxidase expression in human prostate cancer and prostatic intraepithelial neoplasia tissues. The Prostate 68, 766–772.

Gopalakrishna, R., and Anderson, W.B. (1989). Ca2+- and phospholipid-independent activation of protein kinase C by selective oxidative modification of the regulatory domain. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 86, 6758–6762.

Gordanpour, A., Nam, R.K., Sugar, L., and Seth, A. (2012). MicroRNAs in prostate cancer: from biomarkers to molecularly-based therapeutics. Prostate Cancer Prostatic Dis. 15, 314–319.

Gorrini, C., Harris, I.S., and Mak, T.W. (2013). Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. Nat. Rev. Drug Discov. 12, 931–947.

Goto, S., and Radák, Z. (2007). REGULAR EXERCISE ATTENUATES OXIDATIVE STRESS IN AGING RAT TISSUES: APossible MECHANISM TOWARD ANTI-AGING MEDICINE. J Exerc Sci Fit 5, 1–6.

Goto, S., and Radák, Z. (2009). Hormetic effects of reactive oxygen species by exercise: a view from animal studies for successful aging in human. Dose-Response Publ. Int. Hormesis Soc. 8, 68–72.

Graff, J.R., Konicek, B.W., McNulty, A.M., Wang, Z., Houck, K., Allen, S., Paul, J.D., Hbaiu, A., Goode, R.G., Sandusky, G.E., et al. (2000). Increased AKT activity contributes to prostate cancer progression by dramatically accelerating prostate tumor growth and diminishing p27Kip1 expression. J. Biol. Chem. 275, 24500–24505.

Grammatikos, G., Teichgräber, V., Carpinteiro, A., Trarbach, T., Weller, M., Hengge, U.R., and Gulbins, E. (2007). Overexpression of acid sphingomyelinase sensitizes glioma cells to chemotherapy. Antioxid. Redox Signal. 9, 1449–1456.

Greer, E.L., and Brunet, A. (2005). FOXO transcription factors at the interface between longevity and tumor suppression. Oncogene 24, 7410–7425.

Greer, E.L., and Brunet, A. (2008). FOXO transcription factors in ageing and cancer. Acta Physiol. 192, 19–28.

Gross, E. (2011). Radiothérapie conformationelle du cancer de prostate. Prog. En Urol. 21, 801–807.

Gross, D.N., van den Heuvel, A.P.J., and Birnbaum, M.J. (2008). The role of FoxO in the regulation of metabolism. Oncogene 27, 2320–2336.

Groussard, C., Rannou-Bekono, F., Machefer, G., Chevanne, M., Vincent, S., Sergent, O., Cillard, J., and Gratas-Delamarche, A. (2003). Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. Eur. J. Appl. Physiol. 89, 14–20.

Gulbins, E., and Kolesnick, R. (2003). Raft ceramide in molecular medicine. Oncogene 22, 7070–7077.

Guo, C., Wei, J., Yang, J., Xu, J., Pang, W., and Jiang, Y. (2008). Pomegranate juice is potentially better than apple juice in improving antioxidant function in elderly subjects. Nutr. Res. N. Y. N 28, 72–77.

Gupta, S., Campbell, D., Derijard, B., and Davis, R.J. (1995). Transcription factor ATF2 regulation by the JNK signal transduction pathway. Science 267, 389–393.

Gupta-Elera, G., Garrett, A.R., Robison, R.A., and O'Neill, K.L. (2012). The role of oxidative stress in prostate cancer. Eur. J. Cancer Prev. Off. J. Eur. Cancer Prev. Organ. ECP 21, 155–162.

Guyton, K.Z., and Kensler, T.W. (1993). Oxidative mechanisms in carcinogenesis. Br. Med. Bull. 49, 523–544.

Guyton, K.Z., Liu, Y., Gorospe, M., Xu, Q., and Holbrook, N.J. (1996). Activation of mitogen-activated protein kinase by H2O2. Role in cell survival following oxidant injury. J. Biol. Chem. 271, 4138–4142.

Hadad, N., and Levy, R. (2012). The synergistic anti-inflammatory effects of lycopene, lutein, β-carotene, and carnosic acid combinations via redox-based inhibition of NF-κB signaling. Free Radic. Biol. Med. 53, 1381–1391.

Haddad, J.J. (2004). Redox and oxidant-mediated regulation of apoptosis signaling pathways: immuno-pharmaco-redox conception of oxidative siege versus cell death commitment. Int. Immunopharmacol. 4, 475–493.

Haidari, M., Ali, M., Ward Casscells, S., and Madjid, M. (2009). Pomegranate (Punica granatum) purified polyphenol extract inhibits influenza virus and has a synergistic effect with oseltamivir. Phytomedicine Int. J. Phytother. Phytopharm. 16, 1127–1136.

Hall, J.D., Bissonette, E.A., Boyd, J.C., and Theodorescu, D. (2003). Motivations and influences on the use of complementary medicine in patients with localized prostate cancer treated with curative intent: results of a pilot study. BJU Int. 91, 603–607.

Halliwell, B., and Gutteridge, J.M. (1990). The antioxidants of human extracellular fluids. Arch. Biochem. Biophys. 280, 1–8.

Harman, D. (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. J. Gerontol. 11, 298–300.

Harris, M.T., Feldberg, R.S., Lau, K.M., Lazarus, N.H., and Cochrane, D.E. (2000). Expression of proinflammatory genes during estrogen-induced inflammation of the rat prostate. The Prostate 44, 19–25.

Harrison, R. (2002). Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? Free Radic. Biol. Med. 33, 774–797.

Hartman, R.E., Shah, A., Fagan, A.M., Schwetye, K.E., Parsadanian, M., Schulman, R.N., Finn, M.B., and Holtzman, D.M. (2006). Pomegranate juice decreases amyloid load and improves behavior in a mouse model of Alzheimer's disease. Neurobiol. Dis. 24, 506–515.

Hastak, K., Gupta, S., Ahmad, N., Agarwal, M.K., Agarwal, M.L., and Mukhtar, H. (2003). Role of p53 and NF-kappaB in epigallocatechin-3-gallate-induced apoptosis of LNCaP cells. Oncogene 22, 4851–4859.

Heber, D. (2008). Multitargeted therapy of cancer by ellagitannins. Cancer Lett. 269, 262–268.

Heinlein, C.A., and Chang, C. (2004). Androgen receptor in prostate cancer. Endocr. Rev. 25, 276–308.

Hercberg, S., Galan, P., Preziosi, P., Bertrais, S., Mennen, L., Malvy, D., Roussel, A.-M., Favier, A., and Briançon, S. (2004). The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. Arch. Intern. Med. 164, 2335–2342.

Héron-Milhavet, L., and LeRoith, D. (2002). Insulin-like growth factor I induces MDM2-dependent degradation of p53 via the p38 MAPK pathway in response to DNA damage. J. Biol. Chem. 277, 15600–15606.

Herzig, S., Long, F., Jhala, U.S., Hedrick, S., Quinn, R., Bauer, A., Rudolph, D., Schutz, G., Yoon, C., Puigserver, P., et al. (2001). CREB regulates hepatic gluconeogenesis through the coactivator PGC-1. Nature 413, 179–183.

Hill, M.M., Adrain, C., Duriez, P.J., Creagh, E.M., and Martin, S.J. (2004). Analysis of the composition, assembly kinetics and activity of native Apaf-1 apoptosomes. EMBO J. 23, 2134–2145.

Hirota, K., Murata, M., Sachi, Y., Nakamura, H., Takeuchi, J., Mori, K., and Yodoi, J. (1999). Distinct roles of thioredoxin in the cytoplasm and in the nucleus. A two-step mechanism of redox regulation of transcription factor NF-kappaB. J. Biol. Chem. 274, 27891–27897.

Ho, E., Boileau, T.W.-M., and Bray, T.M. (2004). Dietary influences on endocrine-inflammatory interactions in prostate cancer development. Arch. Biochem. Biophys. 428, 109–117.

Holley, A.K., Miao, L., St Clair, D.K., and St Clair, W.H. (2014). Redox-modulated phenomena and radiation therapy: the central role of superoxide dismutases. Antioxid. Redox Signal. 20, 1567–1589.

Hong, J.-H., Kim, M.-J., Park, M.-R., Kwag, O.-G., Lee, I.-S., Byun, B.H., Lee, S.-C., Lee, K.-B., and Rhee, S.-J. (2004). Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem. 340, 107–115.

Hong, M.Y., Seeram, N.P., and Heber, D. (2008). Pomegranate polyphenols down-regulate expression of androgen-synthesizing genes in human prostate cancer cells overexpressing the androgen receptor. J. Nutr. Biochem. 19, 848–855.

Howley, E.T. (2001). Type of activity: resistance, aerobic and leisure versus occupational physical activity. Med. Sci. Sports Exerc. 33, S364–S369; discussion S419–S420.

Hu, M.C.-T., Lee, D.-F., Xia, W., Golfman, L.S., Ou-Yang, F., Yang, J.-Y., Zou, Y., Bao, S., Hanada, N., Saso, H., et al. (2004). IkappaB kinase promotes tumorigenesis through inhibition of forkhead FOXO3a. Cell 117, 225–237.

Hu, W., Feng, Z., Eveleigh, J., Iyer, G., Pan, J., Amin, S., Chung, F.-L., and Tang, M.-S. (2002). The major lipid peroxidation product, trans-4-hydroxy-2-nonenal, preferentially forms DNA adducts at codon 249 of human p53 gene, a unique mutational hotspot in hepatocellular carcinoma. Carcinogenesis 23, 1781–1789.

Huang, C., Jacobson, K., and Schaller, M.D. (2004). MAP kinases and cell migration. J. Cell Sci. 117, 4619–4628.

Huang, T.T., Carlson, E.J., Kozy, H.M., Mantha, S., Goodman, S.I., Ursell, P.C., and Epstein, C.J. (2001). Genetic modification of prenatal lethality and dilated cardiomyopathy in Mn superoxide dismutase mutant mice. Free Radic. Biol. Med. 31, 1101–1110.

Huang, W.-C., Chen, C.-L., Lin, Y.-S., and Lin, C.-F. (2011). Apoptotic Sphingolipid Ceramide in Cancer Therapy. J. Lipids 2011, e565316.

Hübner, A., Mulholland, D.J., Standen, C.L., Karasarides, M., Cavanagh-Kyros, J., Barrett, T., Chi, H., Greiner, D.L., Tournier, C., Sawyers, C.L., et al. (2012). JNK and PTEN cooperatively control the development of invasive adenocarcinoma of the prostate. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 109, 12046–12051.

Hussain, S.P., Hofseth, L.J., and Harris, C.C. (2003). Radical causes of cancer. Nat. Rev. Cancer 3, 276–285.

Hvid, T., Winding, K., Rinnov, A., Dejgaard, T., Thomsen, C., Iversen, P., Brasso, K., Mikines, K.J., van Hall, G., Lindegaard, B., et al. (2013). Endurance training improves insulin sensitivity and body

composition in prostate cancer patients treated with androgen deprivation therapy. Endocr. Relat. Cancer 20, 621–632.

Imperato-McGinley, J., and Zhu, Y.-S. (2002). Androgens and male physiology the syndrome of 5α-reductase-2 deficiency. Mol. Cell. Endocrinol. 198, 51–59.

Itoh, K., Wakabayashi, N., Katoh, Y., Ishii, T., Igarashi, K., Engel, J.D., and Yamamoto, M. (1999). Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain. Genes Dev. 13, 76–86.

Jackson, M.J., Khassaf, M., Vasilaki, A., McArdle, F., and McArdle, A. (2004). Vitamin E and the oxidative stress of exercise. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1031, 158–168.

Jaramillo, M.C., and Zhang, D.D. (2013). The emerging role of the Nrf2-Keap1 signaling pathway in cancer. Genes Dev. 27, 2179–2191.

Jarzen, J., Diamanduros, A., and Scarpinato, K.D. (2013). Mismatch repair proteins in recurrent prostate cancer. Adv. Clin. Chem. 60, 65–84.

Jeanteur, P. (2010). miARNs et cancer. Bull. Cancer (Paris) 97, 1231–1239.

Jeon, J.Y., and Meyerhardt, J.A. (2013). Exercise after cancer diagnosis: time to get moving. Oncol. Williston Park N 27, 585–586, 588.

Ji, L.L. (1999). Antioxidants and oxidative stress in exercise. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Soc. Exp. Biol. Med. N. Y. N 222, 283–292.

Ji, L.L. (2008). Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: Role of redox signaling. Free Radic. Biol. Med. 44, 142–152.

Ji, L.L., Leeuwenburgh, C., Leichtweis, S., Gore, M., Fiebig, R., Hollander, J., and Bejma, J. (1998). Oxidative stress and aging. Role of exercise and its influences on antioxidant systems. Ann. N. Y. Acad. Sci. 854, 102–117.

Ji, L.L., Gomez-Cabrera, M.-C., and Vina, J. (2006). Exercise and hormesis: activation of cellular antioxidant signaling pathway. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1067, 425–435.

Jin, S., Zhou, F., Katirai, F., and Li, P.-L. (2011). Lipid Raft Redox Signaling: Molecular Mechanisms in Health and Disease. Antioxid. Redox Signal. 15, 1043–1083.

Johanningsmeier, S.D., and Harris, G.K. (2011). Pomegranate as a functional food and nutraceutical source. Annu. Rev. Food Sci. Technol. 2, 181–201.

Johnsen, N.F., Tjønneland, A., Thomsen, B.L.R., Christensen, J., Loft, S., Friedenreich, C., Key, T.J., Allen, N.E., Lahmann, P.H., Mejlvig, L., et al. (2009). Physical activity and risk of prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort. Int. J. Cancer J. Int. Cancer 125, 902–908.

Johnson, J.J., Bailey, H.H., and Mukhtar, H. (2010). Green tea polyphenols for prostate cancer chemoprevention: a translational perspective. Phytomedicine Int. J. Phytother. Phytopharm. 17, 3–13.

Jones, D.P. (2006). Redefining oxidative stress. Antioxid. Redox Signal. 8, 1865–1879.

Jones, L.W., Antonelli, J., Masko, E.M., Broadwater, G., Lascola, C.D., Fels, D., Dewhirst, M.W., Dyck, J.R.B., Nagendran, J., Flores, C.T., et al. (2012). Exercise modulation of the host-tumor interaction in an orthotopic model of murine prostate cancer. J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985 113, 263–272.

Jorgenson, T.C., Zhong, W., and Oberley, T.D. (2013). Redox imbalance and biochemical changes in cancer. Cancer Res. 73, 6118–6123.

Jung, K.-A., and Kwak, M.-K. (2010). The Nrf2 system as a potential target for the development of indirect antioxidants. Mol. Basel Switz. 15, 7266–7291.

Kamata, T. (2009). Roles of Nox1 and other Nox isoforms in cancer development. Cancer Sci. 100, 1382–1388.

Kamata, H., and Hirata, H. (1999). Redox Regulation of Cellular Signalling. Cell. Signal. 11, 1–14.

Kangas, R., and Pöllänen, E. (2013). Physical activity responsive miRNAs – Potential mediators of training responses in human skeletal muscle? J. Sport Health Sci. 2, 101–103.

Kansanen, E., Kuosmanen, S.M., Leinonen, H., and Levonen, A.-L. (2013). The Keap1-Nrf2 pathway: Mechanisms of activation and dysregulation in cancer. Redox Biol. 1, 45–49.

Kanwal, R., Pandey, M., Bhaskaran, N., Maclennan, G.T., Fu, P., Ponsky, L.E., and Gupta, S. (2014). Protection against oxidative DNA damage and stress in human prostate by glutathione S-transferase P1. Mol. Carcinog. 53, 8–18.

Karius, T., Schnekenburger, M., Dicato, M., and Diederich, M. (2012). MicroRNAs in cancer management and their modulation by dietary agents. Biochem. Pharmacol. 83, 1591–1601.

Karlenius, T.C., and Tonissen, K.F. (2010). Thioredoxin and Cancer: A Role for Thioredoxin in all States of Tumor Oxygenation. Cancers 2, 209–232.

Karoui, H., Hogg, N., Fréjaville, C., Tordo, P., and Kalyanaraman, B. (1996). Characterization of sulfur-centered radical intermediates formed during the oxidation of thiols and sulfite by peroxynitrite. ESR-spin trapping and oxygen uptake studies. J. Biol. Chem. 271, 6000–6009.

Kelley, G.A., Kelley, K.S., and Tran, Z.V. (2005). Walking and Non-HDL-C in adults: a meta-analysis of randomized controlled trials. Prev. Cardiol. 8, 102–107.

Kelly, R.B. (2010). Diet and exercise in the management of hyperlipidemia. Am. Fam. Physician 81, 1097–1102.

Kelly, B.D., Miller, N., Healy, N.A., Walsh, K., and Kerin, M.J. (2013). A review of expression profiling of circulating microRNAs in men with prostate cancer. BJU Int. 111, 17–21.

Kenfield, S.A., Stampfer, M.J., Giovannucci, E., and Chan, J.M. (2011). Physical Activity and Survival After Prostate Cancer Diagnosis in the Health Professionals Follow-Up Study. J. Clin. Oncol. 29, 726–732.

Khan, K.M., Thompson, A.M., Blair, S.N., Sallis, J.F., Powell, K.E., Bull, F.C., and Bauman, A.E. (2012). Sport and exercise as contributors to the health of nations. The Lancet 380, 59–64.

Khandrika, L., Kumar, B., Koul, S., Maroni, P., and Koul, H.K. (2009). Oxidative stress in prostate cancer. Cancer Lett. 282, 125–136.

Khandwala, H.M., McCutcheon, I.E., Flyvbjerg, A., and Friend, K.E. (2000). The effects of insulin-like growth factors on tumorigenesis and neoplastic growth. Endocr. Rev. 21, 215–244.

Khanna, S., Atalay, M., Laaksonen, D.E., Gul, M., Roy, S., and Sen, C.K. (1999). Alpha-lipoic acid supplementation: tissue glutathione homeostasis at rest and after exercise. J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985 86, 1191–1196.

Khassaf, M., McArdle, A., Esanu, C., Vasilaki, A., McArdle, F., Griffiths, R.D., Brodie, D.A., and Jackson, M.J. (2003). Effect of vitamin C supplements on antioxidant defence and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle. J. Physiol. 549, 645–652.

Khor, T.O., Fuentes, F., Shu, L., Paredes-Gonzalez, X., Yang, A.Y., Liu, Y., Smiraglia, D.J., Yegnasubramanian, S., Nelson, W.G., and Kong, A.-N.T. (2014). Epigenetic DNA Methylation of Anti-oxidative Stress Regulator Nrf2 in Human Prostate Cancer. Cancer Prev. Res. Phila. Pa.

Khraiwesh, B., Arif, M.A., Seumel, G.I., Ossowski, S., Weigel, D., Reski, R., and Frank, W. (2010). Transcriptional control of gene expression by microRNAs. Cell 140, 111–122.

Kiffin, R., Christian, C., Knecht, E., and Cuervo, A.M. (2004). Activation of chaperone-mediated autophagy during oxidative stress. Mol. Biol. Cell 15, 4829–4840.

Kim, E.K., and Choi, E.-J. (2010). Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis. 1802, 396–405.

Kim, W.T., and Kim, W.-J. (2013). MicroRNAs in prostate cancer. Prostate Int. 1, 3–9.

Kim, A.H., Khursigara, G., Sun, X., Franke, T.F., and Chao, M.V. (2001). Akt Phosphorylates and Negatively Regulates Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1. Mol. Cell. Biol. 21, 893–901.

Kim, J., Mizokami, A., Shin, M., Izumi, K., Konaka, H., Kadono, Y., Kitagawa, Y., Keller, E.T., Zhang, J., and Namiki, M. (2014). SOD3 acts as a tumor suppressor in PC-3 prostate cancer cells via hydrogen peroxide accumulation. Anticancer Res. 34, 2821–2831.

Kim, M.J., Cardiff, R.D., Desai, N., Banach-Petrosky, W.A., Parsons, R., Shen, M.M., and Abate-Shen, C. (2002). Cooperativity of Nkx3.1 and Pten loss of function in a mouse model of prostate carcinogenesis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99, 2884–2889.

Kimbro, K.S., and Simons, J.W. (2006). Hypoxia-inducible factor-1 in human breast and prostate cancer. Endocr. Relat. Cancer 13, 739–749.

Kimura, K., Markowski, M., Bowen, C., and Gelmann, E.P. (2001). Androgen blocks apoptosis of hormone-dependent prostate cancer cells. Cancer Res. 61, 5611–5618.

Kinkade, C.W., Castillo-Martin, M., Puzio-Kuter, A., Yan, J., Foster, T.H., Gao, H., Sun, Y., Ouyang, X., Gerald, W.L., Cordon-Cardo, C., et al. (2008). Targeting AKT/mTOR and ERK MAPK signaling inhibits hormone-refractory prostate cancer in a preclinical mouse model. J. Clin. Invest.

Kirkin, V., Joos, S., and Zörnig, M. (2004). The role of Bcl-2 family members in tumorigenesis. Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res. 1644, 229–249.

Kitahara, C.M., Berrington de González, A., Freedman, N.D., Huxley, R., Mok, Y., Jee, S.H., and Samet, J.M. (2011). Total cholesterol and cancer risk in a large prospective study in Korea. J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol. 29, 1592–1598.

Klaunig, J.E., Kamendulis, L.M., and Hocevar, B.A. (2010). Oxidative Stress and Oxidative Damage in Carcinogenesis. Toxicol. Pathol. 38, 96–109.

Klaunig, J.E., Wang, Z., Pu, X., and Zhou, S. (2011). Oxidative stress and oxidative damage in chemical carcinogenesis. Toxicol. Appl. Pharmacol. 254, 86–99.

Klein, E.A., Casey, G., and Silverman, R. (2006). Genetic susceptibility and oxidative stress in prostate cancer: Integrated model with implications for prevention. Urology 68, 1145–1151.

Klein, E.A., Thompson, I.M., Tangen, C.M., Crowley, J.J., Lucia, M.S., Goodman, P.J., Minasian, L.M., Ford, L.G., Parnes, H.L., Gaziano, J.M., et al. (2011). Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). JAMA 306, 1549–1556.

Klotz, L., Zhang, L., Lam, A., Nam, R., Mamedov, A., and Loblaw, A. (2010). Clinical results of long-term follow-up of a large, active surveillance cohort with localized prostate cancer. J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol. 28, 126–131.

Klotz, L.O., Pellieux, C., Briviba, K., Pierlot, C., Aubry, J.M., and Sies, H. (1999). Mitogen-activated protein kinase (p38-, JNK-, ERK-) activation pattern induced by extracellular and intracellular singlet oxygen and UVA. Eur. J. Biochem. FEBS 260, 917–922.

Kobriger, S.L., Smith, J., Hollman, J.H., and Smith, A.M. (2006). The contribution of golf to daily physical activity recommendations: how many steps does it take to complete a round of golf? Mayo Clin. Proc. 81, 1041–1043.

Kobzik, L., Reid, M.B., Bredt, D.S., and Stamler, J.S. (1994). Nitric oxide in skeletal muscle. Nature 372, 546–548.

Kodama, S., Tanaka, S., Saito, K., Shu, M., Sone, Y., Onitake, F., Suzuki, E., Shimano, H., Yamamoto, S., Kondo, K., et al. (2007). Effect of aerobic exercise training on serum levels of high-density lipoprotein cholesterol: a meta-analysis. Arch. Intern. Med. 167, 999–1008.

Kohno, M., and Pouyssegur, J. (2006). Targeting the ERK signaling pathway in cancer therapy. Ann. Med. 38, 200–211.

Kolesnick, R., and Fuks, Z. (2003). Radiation and ceramide-induced apoptosis. Oncogene 22, 5897–5906.

Kong, D., Heath, E., Chen, W., Cher, M., Powell, I., Heilbrun, L., Li, Y., Ali, S., Sethi, S., Hassan, O., et al. (2012). Epigenetic silencing of miR-34a in human prostate cancer cells and tumor tissue specimens can be reversed by BR-DIM treatment. Am. J. Transl. Res. 4, 14–23.

Kong, Q., Beel, J.A., and Lillehei, K.O. (2000). A threshold concept for cancer therapy. Med. Hypotheses 55, 29–35.

Kops, G.J.P.L., Dansen, T.B., Polderman, P.E., Saarloos, I., Wirtz, K.W.A., Coffer, P.J., Huang, T.-T., Bos, J.L., Medema, R.H., and Burgering, B.M.T. (2002). Forkhead transcription factor FOXO3a protects quiescent cells from oxidative stress. Nature 419, 316–321.

Kosova, F., Temeltaş, G., Arı, Z., and Lekili, M. (2014). Possible relations between oxidative damage and apoptosis in benign prostate hyperplasia and prostate cancer patients. Tumour Biol. J. Int. Soc. Oncodevelopmental Biol. Med. 35, 4295–4299.

Koul, H.K., Pal, M., and Koul, S. (2013). Role of p38 MAP Kinase Signal Transduction in Solid Tumors. Genes Cancer 4, 342–359.

Koyama, S., Cobb, L.J., Mehta, H.H., Seeram, N.P., Heber, D., Pantuck, A.J., and Cohen, P. (2010). Pomegranate extract induces apoptosis in human prostate cancer cells by modulation of the IGF-IGFBP axis. Growth Horm. IGF Res. Off. J. Growth Horm. Res. Soc. Int. IGF Res. Soc. 20, 55–62.

Krajewska, M., Krajewski, S., Epstein, J.I., Shabaik, A., Sauvageot, J., Song, K., Kitada, S., and Reed, J.C. (1996). Immunohistochemical analysis of bcl-2, bax, bcl-X, and mcl-1 expression in prostate cancers. Am. J. Pathol. 148, 1567–1576.

Krishnadasan, A., Kennedy, N., Zhao, Y., Morgenstern, H., and Ritz, B. (2008). Nested case-control study of occupational physical activity and prostate cancer among workers using a job exposure matrix. Cancer Causes Control CCC 19, 107–114.

Kristal, A.R., Till, C., Song, X., Tangen, C.M., Goodman, P.J., Neuhauser, M.L., Schenk, J.M., Thompson, I.M., Meyskens, F.L., Goodman, G.E., et al. (2014a). Plasma vitamin D and prostate cancer risk: results from the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol. 23, 1494–1504.

Kristal, A.R., Darke, A.K., Morris, J.S., Tangen, C.M., Goodman, P.J., Thompson, I.M., Meyskens, F.L., Goodman, G.E., Minasian, L.M., Parnes, H.L., et al. (2014b). Baseline selenium status and effects of selenium and vitamin e supplementation on prostate cancer risk. J. Natl. Cancer Inst. 106, djt456.

Kruk, J., and Czerniak, U. (2013). Physical activity and its relation to cancer risk: updating the evidence. Asian Pac. J. Cancer Prev. APJCP 14, 3993–4003.

Kryston, T.B., Georgiev, A.B., Pissis, P., and Georgakilas, A.G. (2011). Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. Mutat. Res. 711, 193–201.

Kucuk, O. (2002). Chemoprevention of prostate cancer. In Prostate Cancer: New Horizons in Research and Treatment, M.L. Cher, A. Raz, and K.V. Honn, eds. (Springer US), pp. 331–344.

Kumar, C.C., and Madison, V. (2005). AKT crystal structure and AKT-specific inhibitors. Oncogene 24, 7493–7501.

Kumar, Craw E. D., and Barqawi A. B. (2005). Epidemiology of Prostate Cancer. US Oncol. Rev. 1(1):1–6.

Kumar, B., Koul, S., Khandrika, L., Meacham, R.B., and Koul, H.K. (2008). Oxidative stress is inherent in prostate cancer cells and is required for aggressive phenotype. Cancer Res. 68, 1777–1785.

Kumar, S., Kumar, S., Rajendran, M., Alam, S.M., Lin, F.-F., Cheng, P.-W., and Lin, M.-F. (2011). Steroids up-regulate p66Shc longevity protein in growth regulation by inhibiting its ubiquitination. PloS One 6, e15942.

Kushi, L.H., Doyle, C., McCullough, M., Rock, C.L., Demark-Wahnefried, W., Bandera, E.V., Gapstur, S., Patel, A.V., Andrews, K., Gansler, T., et al. (2012). American Cancer Society Guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. CA. Cancer J. Clin. 62, 30–67.

Kwon, G.T., Cho, H.J., Chung, W.-Y., Park, K.-K., Moon, A., and Park, J.H.Y. (2009). Isoliquiritigenin inhibits migration and invasion of prostate cancer cells: possible mediation by decreased JNK/AP-1 signaling. J. Nutr. Biochem. 20, 663–676.

Lai, G.Y., Weinstein, S.J., Taylor, P.R., McGlynn, K.A., Virtamo, J., Gail, M.H., Albanes, D., and Freedman, N.D. (2014). Effects of α-tocopherol and β-carotene supplementation on liver cancer incidence and chronic liver disease mortality in the ATBC study. Br. J. Cancer 111, 2220–2223.

Lamb, D.J., and Zhang, L. (2005). Challenges in prostate cancer research: animal models for nutritional studies of chemoprevention and disease progression. J. Nutr. 135, 3009S – 3015S.

Lambeth, J.D. (2004). NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. Nat. Rev. Immunol. 4, 181–189.

Lander, H.M., Milbank, A.J., Tauras, J.M., Hajjar, D.P., Hempstead, B.L., Schwartz, G.D., Kraemer, R.T., Mirza, U.A., Chait, B.T., Burk, S.C., et al. (1996). Redox regulation of cell signalling. Nature 381, 380–381.

Landis, G.N., and Tower, J. (2005). Superoxide dismutase evolution and life span regulation. Mech. Ageing Dev. 126, 365–379.

Lansky, E.P., and Newman, R.A. (2007). Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. J. Ethnopharmacol. 109, 177–206.

Larsson, R., and Cerutti, P. (1989). Translocation and enhancement of phosphotransferase activity of protein kinase C following exposure in mouse epidermal cells to oxidants. Cancer Res. 49, 5627–5632.

Lasselin, J., Drouin, S.J., Champy, C.M., Léon, P., Casenave, J., Cussenot, O., Bitker, M.-O., and Rouprêt, M. (2013). Influence de la testostérone plasmatique au cours de l'histoire naturelle du cancer de la prostate : analyse de la littérature. Prog. En Urol. 23, 438–443.

Lau, A., Villeneuve, N.F., Sun, Z., Wong, P.K., and Zhang, D.D. (2008). Dual roles of Nrf2 in cancer. Pharmacol. Res. Off. J. Ital. Pharmacol. Soc. 58, 262–270.

Lawenda, B.D., Kelly, K.M., Ladas, E.J., Sagar, S.M., Vickers, A., and Blumberg, J.B. (2008). Should Supplemental Antioxidant Administration Be Avoided During Chemotherapy and Radiation Therapy? J. Natl. Cancer Inst. 100, 773–783.

Lawrie, C.H., Gal, S., Dunlop, H.M., Pushkaran, B., Liggins, A.P., Pulford, K., Banham, A.H., Pezzella, F., Boultwood, J., Wainscoat, J.S., et al. (2008). Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. Br. J. Haematol. 141, 672–675.

Leach, J.K., Van Tuyle, G., Lin, P.S., Schmidt-Ullrich, R., and Mikkelsen, R.B. (2001). Ionizing radiation-induced, mitochondria-dependent generation of reactive oxygen/nitrogen. Cancer Res. 61, 3894–3901.

Lee, I.-M., Shiroma, E.J., Lobelo, F., Puska, P., Blair, S.N., Katzmarzyk, P.T., and Lancet Physical Activity Series Working Group (2012). Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. Lancet 380, 219–229.

Lee, J.G., Zheng, R., McCafferty-Cepero, J.M., Burnstein, K.L., Nanus, D.M., and Shen, R. (2009). Endothelin-1 enhances the expression of the androgen receptor via activation of the c-myc pathway in prostate cancer cells. Mol. Carcinog. 48, 141–149.

Lee, M.-S., Igawa, T., Chen, S.-J., Van Bemmel, D., Lin, J.S., Lin, F.-F., Johansson, S.L., Christman, J.K., and Lin, M.-F. (2004). p66Shc protein is upregulated by steroid hormones in hormone-sensitive cancer cells and in primary prostate carcinomas. Int. J. Cancer J. Int. Cancer 108, 672–678.

Lee, W.H., Morton, R.A., Epstein, J.I., Brooks, J.D., Campbell, P.A., Bova, G.S., Hsieh, W.S., Isaacs, W.B., and Nelson, W.G. (1994). Cytidine methylation of regulatory sequences near the pi-class glutathione S-transferase gene accompanies human prostatic carcinogenesis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 91, 11733–11737.

Leeuwenburgh, C., and Heinecke, J.W. (2001). Oxidative stress and antioxidants in exercise. Curr. Med. Chem. 8, 829–838.

Leeuwenburgh, C., Fiebig, R., Chandwaney, R., and Ji, L.L. (1994). Aging and exercise training in skeletal muscle: responses of glutathione and antioxidant enzyme systems. Am. J. Physiol. 267, R439–R445.

Leeuwenburgh, C., Hansen, P.A., Holloszy, J.O., and Heinecke, J.W. (1999). Oxidized amino acids in the urine of aging rats: potential markers for assessing oxidative stress in vivo. Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol. 276, R128–R135.

Lehtinen, M.K., Yuan, Z., Boag, P.R., Yang, Y., Villén, J., Becker, E.B.E., DiBacco, S., de la Iglesia, N., Gygi, S., Blackwell, T.K., et al. (2006). A conserved MST-FOXO signaling pathway mediates oxidative-stress responses and extends life span. Cell 125, 987–1001.

Lei, K., and Davis, R.J. (2003). JNK phosphorylation of Bim-related members of the Bcl2 family induces Bax-dependent apoptosis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 100, 2432–2437.

Leick, L., Lyngby, S.S., Wojtaszewski, J.F.P., Wojtasewski, J.F.P., and Pilegaard, H. (2010). PGC-1alpha is required for training-induced prevention of age-associated decline in mitochondrial enzymes in mouse skeletal muscle. Exp. Gerontol. 45, 336–342.

Leitzmann, M.F., and Rohrmann, S. (2012). Risk factors for the onset of prostatic cancer: age, location, and behavioral correlates. Clin. Epidemiol. 4, 1–11.

Lemanne, D., Cassileth, B., and Gubili, J. (2013). The role of physical activity in cancer prevention, treatment, recovery, and survivorship. Oncol. Williston Park N 27, 580–585.

LeRoith, D., and Roberts Jr, C.T. (2003). The insulin-like growth factor system and cancer. Cancer Lett. 195, 127–137.

Leung, P.-S., Aronson, W.J., Ngo, T.H., Golding, L.A., and Barnard, R.J. (2004). Exercise alters the IGF axis in vivo and increases p53 protein in prostate tumor cells in vitro. J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985 96, 450–454.

Levine, R.L. (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. Free Radic. Biol. Med. 32, 790–796.

Li, Y., and Sarkar, F.H. (2002). Inhibition of nuclear factor kappaB activation in PC3 cells by genistein is mediated via Akt signaling pathway. Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res. 8, 2369–2377.

Li, L., Ittmann, M.M., Ayala, G., Tsai, M.-J., Amato, R.J., Wheeler, T.M., Miles, B.J., Kadmon, D., and Thompson, T.C. (2005). The emerging role of the PI3-K-Akt pathway in prostate cancer progression. Prostate Cancer Prostatic Dis. 8, 108–118.

Li, Q., Fu, G.-B., Zheng, J.-T., He, J., Niu, X.-B., Chen, Q.-D., Yin, Y., Qian, X., Xu, Q., Wang, M., et al. (2013). NADPH oxidase subunit p22(phox)-mediated reactive oxygen species contribute to angiogenesis and tumor growth through AKT and ERK1/2 signaling pathways in prostate cancer. Biochim. Biophys. Acta 1833, 3375–3385.

Li, Y., Wang, Z., Kong, D., Li, R., Sarkar, S.H., and Sarkar, F.H. (2008). Regulation of Akt/FOXO3a/GSK-3beta/AR signaling network by isoflavone in prostate cancer cells. J. Biol. Chem. 283, 27707–27716.

Li, Y., Ahmad, A., Kong, D., Bao, B., and Sarkar, F.H. (2014). Recent progress on nutraceutical research in prostate cancer. Cancer Metastasis Rev. 33, 629–640.

Lim, S.D., Sun, C., Lambeth, J.D., Marshall, F., Amin, M., Chung, L., Petros, J.A., and Arnold, R.S. (2005). Increased Nox1 and hydrogen peroxide in prostate cancer. The Prostate 62, 200–207.

Lin, H., Lu, J.-P., Laflamme, P., Qiao, S., Shayegan, B., Bryskin, I., Monardo, L., Wilson, B.C., Singh, G., and Pinthus, J.H. (2010). Inter-related in vitro effects of androgens, fatty acids and oxidative stress in prostate cancer: a mechanistic model supporting prevention strategies. Int. J. Oncol. 37, 761–766.

Lin, H.-M., Castillo, L., Mahon, K.L., Chiam, K., Lee, B.Y., Nguyen, Q., Boyer, M.J., Stockler, M.R., Pavlakis, N., Marx, G., et al. (2014). Circulating microRNAs are associated with docetaxel chemotherapy outcome in castration-resistant prostate cancer. Br. J. Cancer 110, 2462–2471.

Lin, X., Asgari, K., Putzi, M.J., Gage, W.R., Yu, X., Cornblatt, B.S., Kumar, A., Piantadosi, S., DeWeese, T.L., De Marzo, A.M., et al. (2001). Reversal of GSTP1 CpG island hypermethylation and reactivation of pi-class glutathione S-transferase (GSTP1) expression in human prostate cancer cells by treatment with procainamide. Cancer Res. 61, 8611–8616.

Lincoln, D.T., Ali Emadi, E.M., Tonissen, K.F., and Clarke, F.M. (2003). The thioredoxin-thioredoxin reductase system: over-expression in human cancer. Anticancer Res. 23, 2425–2433.

Linja, M.J., Savinainen, K.J., Tammela, T.L.J., Isola, J.J., and Visakorpi, T. (2003). Expression of ERα and ERβ in prostate cancer. The Prostate 55, 180–186.

Lippert, M.C., McClain, R., Boyd, J.C., and Theodorescu, D. (1999). Alternative medicine use in patients with localized prostate carcinoma treated with curative intent. Cancer 86, 2642–2648.

Lippman, S.M., Klein, E.A., Goodman, P.J., Lucia, M.S., Thompson, I.M., Ford, L.G., Parnes, H.L., Minasian, L.M., Gaziano, J.M., Hartline, J.A., et al. (2009). Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). JAMA 301, 39–51.

Littman, A.J., Kristal, A.R., and White, E. (2006). Recreational physical activity and prostate cancer risk (United States). Cancer Causes Control CCC 17, 831–841.

Liu, J., Beckman, B.S., and Foroozesh, M. (2013). A review of ceramide analogs as potential anticancer agents. Future Med. Chem. 5, 1405–1421.

Liu, P., Cheng, H., Roberts, T.M., and Zhao, J.J. (2009a). Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. Nat. Rev. Drug Discov. 8, 627–644.

Liu, X., Cheng, J.C., Turner, L.S., Elojeimy, S., Beckham, T.H., Bielawska, A., Keane, T.E., Hannun, Y.A., and Norris, J.S. (2009b). Acid Ceramidase Up-regulation in Prostate Cancer: Role in Tumor Development and Implications for Therapy. Expert Opin. Ther. Targets 13, 1449–1458.

Liu, Y., Fiskum, G., and Schubert, D. (2002). Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain. J. Neurochem. 80, 780–787.

Liu, Y., Hu, F., Li, D., Wang, F., Zhu, L., Chen, W., Ge, J., An, R., and Zhao, Y. (2011). Does Physical Activity Reduce the Risk of Prostate Cancer? A Systematic Review and Meta-analysis. Eur. Urol. 60, 1029–1044.

Lo, U.-G., Yang, D., and Hsieh, J.-T. (2013). The role of microRNAs in prostate cancer progression. Transl. Androl. Urol. 2, 228–241.

Lodygin, D., Tarasov, V., Epanchintsev, A., Berking, C., Knyazeva, T., Körner, H., Knyazev, P., Diebold, J., and Hermeking, H. (2008). Inactivation of miR-34a by aberrant CpG methylation in multiple types of cancer. Cell Cycle Georget. Tex 7, 2591–2600.

Lonergan, P.E., and Tindall, D.J. (2011). Androgen receptor signaling in prostate cancer development and progression. J. Carcinog. 10, 20.

Long, J.-A., Thuillier, C., Terrier, N., Descotes, J.-L., and Rambeaud, J.-J. (2011). Place de la prostatectomie radicale dans le traitement du cancer de prostate. Médecine Nucl. 35, 384–389.

López-Lázaro, M. (2007). Dual role of hydrogen peroxide in cancer: possible relevance to cancer chemoprevention and therapy. Cancer Lett. 252, 1–8.

Loren, D.J., Seeram, N.P., Schulman, R.N., and Holtzman, D.M. (2005). Maternal dietary supplementation with pomegranate juice is neuroprotective in an animal model of neonatal hypoxic-ischemic brain injury. Pediatr. Res. 57, 858–864.

Lu, J., and Holmgren, A. (2014). The thioredoxin antioxidant system. Free Radic. Biol. Med. 66, 75–87.

Lu, Z., and Xu, S. (2006). ERK1/2 MAP kinases in cell survival and apoptosis. IUBMB Life 58, 621–631.

Lu, J., Getz, G., Miska, E.A., Alvarez-Saavedra, E., Lamb, J., Peck, D., Sweet-Cordero, A., Ebert, B.L., Mak, R.H., Ferrando, A.A., et al. (2005). MicroRNA expression profiles classify human cancers. Nature 435, 834–838.

Lu, J.P., Monardo, L., Bryskin, I., Hou, Z.F., Trachtenberg, J., Wilson, B.C., and Pinthus, J.H. (2010). Androgens induce oxidative stress and radiation resistance in prostate cancer cells though NADPH oxidase. Prostate Cancer Prostatic Dis. 13, 39–46.

Lu, S., Tsai, S.Y., and Tsai, M.J. (1997). Regulation of androgen-dependent prostatic cancer cell growth: androgen regulation of CDK2, CDK4, and CKI p16 genes. Cancer Res. 57, 4511–4516.

Luo, J., Solimini, N.L., and Elledge, S.J. (2009). Principles of cancer therapy: oncogene and non-oncogene addiction. Cell 136, 823–837.

Ma, Q. (2010). Transcriptional responses to oxidative stress: pathological and toxicological implications. Pharmacol. Ther. 125, 376–393.

Mabjeesh, N.J., Willard, M.T., Frederickson, C.E., Zhong, H., and Simons, J.W. (2003). Androgens stimulate hypoxia-inducible factor 1 activation via autocrine loop of tyrosine kinase receptor/phosphatidylinositol 3'-kinase/protein kinase B in prostate cancer cells. Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res. 9, 2416–2425.

Mackey, T.J., Borkowski, A., Amin, P., Jacobs, S.C., and Kyprianou, N. (1998). bcl-2/bax ratio as a predictive marker for therapeutic response to radiotherapy in patients with prostate cancer. Urology 52, 1085–1090.

MacVicar, M.G., Winningham, M.L., and Nickel, J.L. (1989). Effects of aerobic interval training on cancer patients' functional capacity. Nurs. Res. 38, 348–351.

Mahdy, A.E., Cheng, J.C., Li, J., Elojeimy, S., Meacham, W.D., Turner, L.S., Bai, A., Gault, C.R., McPherson, A.S., Garcia, N., et al. (2009). Acid Ceramidase Upregulation in Prostate Cancer Cells Confers Resistance to Radiation: AC Inhibition, a Potential Radiosensitizer. Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther. 17, 430–438.

Majerczak, J., Rychlik, B., Grzelak, A., Grzmil, P., Karasinski, J., Pierzchalski, P., Pulaski, L., Bartosz, G., and Zoladz, J.A. (2010). Effect of 5-week moderate intensity endurance training on the oxidative stress, muscle specific uncoupling protein (UCP3) and superoxide dismutase (SOD2) contents in vastus lateralis of young, healthy men. J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Pol. Physiol. Soc. 61, 743–751.

Malik, A., and Mukhtar, H. (2006). Prostate cancer prevention through pomegranate fruit. Cell Cycle Georget. Tex 5, 371–373.

Malik, A., Afaq, F., Sarfaraz, S., Adhami, V.M., Syed, D.N., and Mukhtar, H. (2005). Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 102, 14813–14818.

Malik, S.N., Brattain, M., Ghosh, P.M., Troyer, D.A., Prihoda, T., Bedolla, R., and Kreisberg, J.I. (2002). Immunohistochemical Demonstration of Phospho-Akt in High Gleason Grade Prostate Cancer. Clin. Cancer Res. 8, 1168–1171.

Malins, D.C., Johnson, P.M., Wheeler, T.M., Barker, E.A., Polissar, N.L., and Vinson, M.A. (2001). Age-related Radical-induced DNA Damage Is Linked to Prostate Cancer. Cancer Res. 61, 6025–6028.

Mandair, D., Rossi, R., Pericleous, M., Whyand, T., and Caplin, M. (2014). Prostate cancer and the influence of dietary factors and supplements: a systematic review. Nutr. Metab. 11, 30.

Manning, B.D., and Cantley, L.C. (2007). AKT/PKB signaling: navigating downstream. Cell 129, 1261–1274.

Marín Caro, M.M., Laviano, A., and Pichard, C. (2007). Nutritional intervention and quality of life in adult oncology patients. Clin. Nutr. 26, 289–301.

Marnett, L.J. (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. Mutat. Res. 424, 83–95.

Maroni, P.D., Koul, S., Meacham, R.B., and Koul, H.K. (2004). Mitogen Activated Protein kinase signal transduction pathways in the prostate. Cell Commun. Signal. CCS 2, 5.

De Marzo, A.M., Platz, E.A., Sutcliffe, S., Xu, J., Grönberg, H., Drake, C.G., Nakai, Y., Isaacs, W.B., and Nelson, W.G. (2007). Inflammation in prostate carcinogenesis. Nat. Rev. Cancer 7, 256–269.

Masella, R., Di Benedetto, R., Varì, R., Filesi, C., and Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. J. Nutr. Biochem. 16, 577–586.

MatÉs, J.M., Pérez-Gómez, C., and De Castro, I.N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. Clin. Biochem. 32, 595–603.

Matiello, R., Fukui, R.T., Silva, M.E., Rocha, D.M., Wajchenberg, B.L., Azhar, S., and Santos, R.F. (2010). Differential regulation of PGC-1alpha expression in rat liver and skeletal muscle in response to voluntary running. Nutr. Metab. 7, 36.

Matsukawa, J., Matsuzawa, A., Takeda, K., and Ichijo, H. (2004). The ASK1-MAP kinase cascades in mammalian stress response. J. Biochem. (Tokyo) 136, 261–265.

maudelonde, A.S., Chen, H., Papadopoulos, V., and Zirkin, B.R. (2009). Leydig cell aging and the mechanisms of reduced testosterone synthesis. Mol. Cell. Endocrinol. 299, 23–31.

Mavridis, K., Stravodimos, K., and Scorilas, A. (2013). Downregulation and prognostic performance of microRNA 224 expression in prostate cancer. Clin. Chem. 59, 261–269.

Mazure, N.M., Chen, E.Y., Yeh, P., Laderoute, K.R., and Giaccia, A.J. (1996). Oncogenic transformation and hypoxia synergistically act to modulate vascular endothelial growth factor expression. Cancer Res. 56, 3436–3440.

McClung, J.M., Deruisseau, K.C., Whidden, M.A., Van Remmen, H., Richardson, A., Song, W., Vrabas, I.S., and Powers, S.K. (2010). Overexpression of antioxidant enzymes in diaphragm muscle does not alter contraction-induced fatigue or recovery. Exp. Physiol. 95, 222–231.

McCracken, S.R.C., Ramsay, A., Heer, R., Mathers, M.E., Jenkins, B.L., Edwards, J., Robson, C.N., Marquez, R., Cohen, P., and Leung, H.Y. (2008). Aberrant expression of extracellular signal-regulated kinase 5 in human prostate cancer. Oncogene 27, 2978–2988.

McCubrey, J.A., Steelman, L.S., Chappell, W.H., Abrams, S.L., Wong, E.W.T., Chang, F., Lehmann, B., Terrian, D.M., Milella, M., Tafuri, A., et al. (2007). Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance. Biochim. Biophys. Acta 1773, 1263–1284.

McCullough, D.J., Nguyen, L.M.-D., Siemann, D.W., and Behnke, B.J. (2013). Effects of exercise training on tumor hypoxia and vascular function in the rodent preclinical orthotopic prostate cancer model. J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985 115, 1846–1854.

McGough, C., Baldwin, C., Frost, G., and Andreyev, H.J.N. (2004). Role of nutritional intervention in patients treated with radiotherapy for pelvic malignancy. Br. J. Cancer 90, 2278–2287.

McMenamin, M.E., Soung, P., Perera, S., Kaplan, I., Loda, M., and Sellers, W.R. (1999). Loss of PTEN Expression in Paraffin-embedded Primary Prostate Cancer Correlates with High Gleason Score and Advanced Stage. Cancer Res. 59, 4291–4296.

Medema, R.H., Kops, G.J., Bos, J.L., and Burgering, B.M. (2000). AFX-like Forkhead transcription factors mediate cell-cycle regulation by Ras and PKB through p27kip1. Nature 404, 782–787.

Mehraein-Ghomi, F., Basu, H.S., Church, D.R., Hoffmann, F.M., and Wilding, G. (2010). Androgen receptor requires JunD as a coactivator to switch on an oxidative stress generation pathway in prostate cancer cells. Cancer Res. 70, 4560–4568.

Mehta, P.B., Jenkins, B.L., McCarthy, L., Thilak, L., Robson, C.N., Neal, D.E., and Leung, H.Y. (2003). MEK5 overexpression is associated with metastatic prostate cancer, and stimulates proliferation, MMP-9 expression and invasion. Oncogene 22, 1381–1389.

Melino, G., Bernassola, F., Knight, R.A., Corasaniti, M.T., Nistico, G., and Finazzi-Agro, A. (1997). S-nitrosylation regulates apoptosis. Nature 388, 432–433.

Mena, P., Gironés-Vilaplana, A., Moreno, D.A., and García-Viguera, C. (2011). Pomegranate Fruit for health Promotion: Myths and Realities. Glob. Sci. Books 33–42.

Di Meo, S., and Venditti, P. (2001). Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. Biol. Signals Recept. 10, 125–140.

Merry, T.L., and McConell, G.K. (2012). Do reactive oxygen species regulate skeletal muscle glucose uptake during contraction? Exerc. Sport Sci. Rev. 40, 102–105.

Miao, L., Holley, A.K., Zhao, Y., St Clair, W.H., and St Clair, D.K. (2014). Redox-mediated and ionizing-radiation-induced inflammatory mediators in prostate cancer development and treatment. Antioxid. Redox Signal. 20, 1481–1500.

Michel, F., Bonnefont-Rousselot, D., Mas, E., Drai, J., and Thérond, P. (2008). [Biomarkers of lipid peroxidation: analytical aspects]. Ann. Biol. Clin. (Paris) 66, 605–620.

Midzak, A.S., Chen, H., Papadopoulos, V., and Zirkin, B.R. (2009). Leydig cell aging and the mechanisms of reduced testosterone synthesis. Mol. Cell. Endocrinol. 299, 23–31.

Miki, H., and Funato, Y. (2012). Regulation of intracellular signalling through cysteine oxidation by reactive oxygen species. J. Biochem. (Tokyo) 151, 255–261.

Mikkelsen, R.B., and Wardman, P. (2003). Biological chemistry of reactive oxygen and nitrogen and radiation-induced signal transduction mechanisms. Oncogene 22, 5734–5754.

Miles, L. (2007). Physical activity and the prevention of cancer: a review of recent findings. Nutr. Bull. 32, 250–282.

Miller, D.C., Gruber, S.B., Hollenbeck, B.K., Montie, J.E., and Wei, J.T. (2006). Incidence of initial local therapy among men with lower-risk prostate cancer in the United States. J. Natl. Cancer Inst. 98, 1134–1141.

Minshall, C., Arkins, S., Straza, J., Conners, J., Dantzer, R., Freund, G.G., and Kelley, K.W. (1997). IL-4 and insulin-like growth factor-I inhibit the decline in Bcl-2 and promote the survival of IL-3-deprived myeloid progenitors. J. Immunol. Baltim. Md 1950 159, 1225–1232.

Miró, A.M., Sastre-Serra, J., Pons, D.G., Valle, A., Roca, P., and Oliver, J. (2011). 17β-Estradiol regulates oxidative stress in prostate cancer cell lines according to ERalpha/ERbeta ratio. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 123, 133–139.

Mishra, S., Murphy, L.C., and Murphy, L.J. (2006). The Prohibitins: emerging roles in diverse functions. J. Cell. Mol. Med. 10, 353–363.

Mishra, S.I., Scherer, R.W., Snyder, C., Geigle, P.M., Berlanstein, D.R., and Topaloglu, O. (2012). Exercise interventions on health-related quality of life for people with cancer during active treatment. Cochrane Database Syst. Rev. 8, CD008465.

Mitchell, P.S., Parkin, R.K., Kroh, E.M., Fritz, B.R., Wyman, S.K., Pogosova-Agadjanyan, E.L., Peterson, A., Noteboom, J., O'Briant, K.C., Allen, A., et al. (2008). Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 105, 10513–10518.

Miyake, H., Hara, I., Kamidono, S., and Eto, H. (2004). Oxidative DNA damage in patients with prostate cancer and its response to treatment. J. Urol. 171, 1533–1536.

Miyazaki, H., Oh-ishi, S., Ookawara, T., Kizaki, T., Toshinai, K., Ha, S., Haga, S., Ji, L.L., and Ohno, H. (2001). Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. Eur. J. Appl. Physiol. 84, 1–6.

Miyoshi, N., Oubrahim, H., Chock, P.B., and Stadtman, E.R. (2006). Age-dependent cell death and the role of ATP in hydrogen peroxide-induced apoptosis and necrosis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 103, 1727–1731.

Modur, V., Nagarajan, R., Evers, B.M., and Milbrandt, J. (2002). FOXO proteins regulate tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand expression. Implications for PTEN mutation in prostate cancer. J. Biol. Chem. 277, 47928–47937.

Mohan, M., Waghulde, H., and Kasture, S. (2010). Effect of pomegranate juice on Angiotensin II-induced hypertension in diabetic Wistar rats. Phytother. Res. PTR 24 Suppl 2, S196–S203.

MOHLER, J.L., GASTON, K.E., MOORE, D.T., SCHELL, M.J., COHEN, B.L., WEAVER, C., and PETRUSZ, P. (2004). RACIAL DIFFERENCES IN PROSTATE ANDROGEN LEVELS IN MEN WITH CLINICALLY LOCALIZED PROSTATE CANCER. J. Urol. 171, 2277–2280.

Monga, U., Garber, S.L., Thornby, J., Vallbona, C., Kerrigan, A.J., Monga, T.N., and Zimmermann, K.P. (2007). Exercise prevents fatigue and improves quality of life in prostate cancer patients undergoing radiotherapy. Arch. Phys. Med. Rehabil. 88, 1416–1422.

Moon, H., Hill, M.M., Roberts, M.J., Gardiner, R.A., and Brown, A.J. (2014). Statins: protectors or pretenders in prostate cancer? Trends Endocrinol. Metab. 25, 188–196.

Moore, S.C., Peters, T.M., Ahn, J., Park, Y., Schatzkin, A., Albanes, D., Ballard-Barbash, R., Hollenbeck, A., and Leitzmann, M.F. (2008). Physical Activity in Relation to Total, Advanced, and Fatal Prostate Cancer. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol. 17, 2458–2466.

Mooren, F.C., Viereck, J., Krüger, K., and Thum, T. (2014). Circulating microRNAs as potential biomarkers of aerobic exercise capacity. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 306, H557–H563.

Morad, S.A.F., and Cabot, M.C. (2013). Ceramide-orchestrated signalling in cancer cells. Nat. Rev. Cancer 13, 51–65.

Morrison, D.K. (2012). MAP Kinase Pathways. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 4, a011254.

Moss, R.W. (2007). Do Antioxidants Interfere With Radiation Therapy for Cancer? Integr. Cancer Ther. 6, 281–292.

Mukhopadhyay, A., Bueso-Ramos, C., Chatterjee, D., Pantazis, P., and Aggarwal, B.B. (2001). Curcumin downregulates cell survival mechanisms in human prostate cancer cell lines. Oncogene 20, 7597–7609.

Mulholland, D.J., Kobayashi, N., Ruscetti, M., Zhi, A., Tran, L.M., Huang, J., Gleave, M., and Wu, H. (2012). Pten loss and RAS/MAPK activation cooperate to promote EMT and metastasis initiated from prostate cancer stem/progenitor cells. Cancer Res. 72, 1878–1889.

Muller, P.A.J., and Vousden, K.H. (2013). p53 mutations in cancer. Nat. Cell Biol. 15, 2–8.

Muller, F.L., Liu, Y., and Van Remmen, H. (2004). Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane. J. Biol. Chem. 279, 49064–49073.

Munshi, A., and Ramesh, R. (2013). Mitogen-activated protein kinases and their role in radiation response. Genes Cancer 4, 401–408.

Na, H.-K., and Surh, Y.-J. (2006). Intracellular signaling network as a prime chemopreventive target of (–)-epigallocatechin gallate. Mol. Nutr. Food Res. 50, 152–159.

Na, Y.M., Kim, M.Y., Kim, Y.K., Ha, Y.R., and Yoon, D.S. (2000). Exercise therapy effect on natural killer cell cytotoxic activity in stomach cancer patients after curative surgery. Arch. Phys. Med. Rehabil. 81, 777–779.

Nagai, H., Noguchi, T., Takeda, K., and Ichijo, H. (2007). Pathophysiological roles of ASK1-MAP kinase signaling pathways. J. Biochem. Mol. Biol. 40, 1–6.

Nair, S., Li, W., and Kong, A.-N.T. (2007). Natural dietary anti-cancer chemopreventive compounds: redox-mediated differential signaling mechanisms in cytoprotection of normal cells versus cytotoxicity in tumor cells. Acta Pharmacol. Sin. 28, 459–472.

Nakae, J., Barr, V., and Accili, D. (2000). Differential regulation of gene expression by insulin and IGF-1 receptors correlates with phosphorylation of a single amino acid residue in the forkhead transcription factor FKHR. EMBO J. 19, 989–996.

Nakamura, K., Yasunaga, Y., Segawa, T., Ko, D., Moul, J.W., Srivastava, S., and Rhim, J.S. (2002). Curcumin down-regulates AR gene expression and activation in prostate cancer cell lines. Int. J. Oncol. 21, 825–830.

Nakayama, M., Gonzalgo, M.L., Yegnasubramanian, S., Lin, X., De Marzo, A.M., and Nelson, W.G. (2004). GSTP1 CpG island hypermethylation as a molecular biomarker for prostate cancer. J. Cell. Biochem. 91, 540–552.

Nakazawa, H., Genka, C., and Fujishima, M. (1996). Pathological aspects of active oxygens/free radicals. Jpn. J. Physiol. 46, 15–32.

Nash, A.F., and Melezinek, I. (2000). The role of prostate specific antigen measurement in the detection and management of prostate cancer. Endocr. Relat. Cancer 7, 37–51.

Nelson, A.R., Fingleton, B., Rothenberg, M.L., and Matrisian, L.M. (2000). Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol. 18, 1135–1149.

Nemoto, S., and Finkel, T. (2002). Redox regulation of forkhead proteins through a p66shc-dependent signaling pathway. Science 295, 2450–2452.

Nguyen, T., Nioi, P., and Pickett, C.B. (2009). The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress. J. Biol. Chem. 284, 13291–13295.

De Nigris, F., Williams-Ignarro, S., Lerman, L.O., Crimi, E., Botti, C., Mansueto, G., D'Armiento, F.P., De Rosa, G., Sica, V., Ignarro, L.J., et al. (2005). Beneficial effects of pomegranate juice on oxidation-sensitive genes and endothelial nitric oxide synthase activity at sites of perturbed shear stress. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 102, 4896–4901.

De Nigris, F., Williams-Ignarro, S., Sica, V., Lerman, L.O., D'Armiento, F.P., Byrns, R.E., Casamassimi, A., Carpentiero, D., Schiano, C., Sumi, D., et al. (2007). Effects of a pomegranate fruit extract rich in punicalagin on oxidation-sensitive genes and eNOS activity at sites of perturbed shear stress and atherogenesis. Cardiovasc. Res. 73, 414–423.

Nikolaidis, M.G., Jamurtas, A.Z., Paschalis, V., Fatouros, I.G., Koutedakis, Y., and Kouretas, D. (2008). The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations. Sports Med. Auckl. NZ 38, 579–606.

Nikolaidis, M.G., Kyparos, A., Spanou, C., Paschalis, V., Theodorou, A.A., and Vrabas, I.S. (2012). Redox biology of exercise: an integrative and comparative consideration of some overlooked issues. J. Exp. Biol. 215, 1615–1625.

Nogueira, L., Corradi, R., and Eastham, J.A. (2009). Prostatic specific antigen for prostate cancer detection. Int. Braz. J. Urol. 35, 521–531.

Norman, A., Moradi, T., Gridley, G., Dosemeci, M., Rydh, B., Nyrén, O., and Wolk, A. (2002). Occupational physical activity and risk for prostate cancer in a nationwide cohort study in Sweden. Br. J. Cancer 86, 70–75.

North, S., Moenner, M., and Bikfalvi, A. (2005). Recent developments in the regulation of the angiogenic switch by cellular stress factors in tumors. Cancer Lett. 218, 1–14.

Ntais, C., Polycarpou, A., and Ioannidis, J.P.A. (2003). SRD5A2 gene polymorphisms and the risk of prostate cancer: a meta-analysis. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol. 12, 618–624.

Ogonovszky, H., Sasvári, M., Dosek, A., Berkes, I., Kaneko, T., Tahara, S., Nakamoto, H., Goto, S., and Radák, Z. (2005). The effects of moderate, strenuous, and overtraining on oxidative stress markers and DNA repair in rat liver. Can. J. Appl. Physiol. Rev. Can. Physiol. Appliquée 30, 186–195.

Oh, H.Y., Lee, E.J., Yoon, S., Chung, B.H., Cho, K.S., and Hong, S.J. (2007). Cholesterol level of lipid raft microdomains regulates apoptotic cell death in prostate cancer cells through EGFR-mediated Akt and ERK signal transduction. The Prostate 67, 1061–1069.

Oh-ishi, S., Kizaki, T., Nagasawa, J., Izawa, T., Komabayashi, T., Nagata, N., Suzuki, K., Taniguchi, N., and Ohno, H. (1997). Effects of endurance training on superoxide dismutase activity, content and mRNA expression in rat muscle. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 24, 326–332.

Oleinik, N.V., Krupenko, N.I., and Krupenko, S.A. (2007). Cooperation between JNK1 and JNK2 in activation of p53 apoptotic pathway. Oncogene 26, 7222–7230.

Olinski, R., Gackowski, D., Foksinski, M., Rozalski, R., Roszkowski, K., and Jaruga, P. (2002). Oxidative DNA damage: assessment of the role in carcinogenesis, atherosclerosis, and acquired immunodeficiency syndrome. Free Radic. Biol. Med. 33, 192–200.

Omenn, G.S., Goodman, G.E., Thornquist, M.D., Balmes, J., Cullen, M.R., Glass, A., Keogh, J.P., Meyskens, F.L., Valanis, B., Williams, J.H., et al. (1996). Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. J. Natl. Cancer Inst. 88, 1550–1559.

Orient, A., Donkó, A., Szabó, A., Leto, T.L., and Geiszt, M. (2007). Novel sources of reactive oxygen species in the human body. Nephrol. Dial. Transplant. Off. Publ. Eur. Dial. Transpl. Assoc. - Eur. Ren. Assoc. 22, 1281–1288.

Ornish, D., Weidner, G., Fair, W.R., Marlin, R., Pettengill, E.B., Raisin, C.J., Dunn-Emke, S., Crutchfield, L., Jacobs, F.N., Barnard, R.J., et al. (2005). Intensive lifestyle changes may affect the progression of prostate cancer. J. Urol. 174, 1065–1069; discussion 1069–1070.

Orsini, N., Bellocco, R., Bottai, M., Pagano, M., Andersson, S.-O., Johansson, J.-E., Giovannucci, E., and Wolk, A. (2009). A prospective study of lifetime physical activity and prostate cancer incidence and mortality. Br. J. Cancer 101, 1932–1938.

Osman, I., Drobnjak, M., Fazzari, M., Ferrara, J., Scher, H.I., and Cordon-Cardo, C. (1999). Inactivation of the p53 pathway in prostate cancer: impact on tumor progression. Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res. 5, 2082–2088.

Oudard, S., Collectif, Abbou, C., Adotevi, O., and Tannock, I.-F. (2005). Le cancer de la prostate (Paris: Ellipses Marketing).

Ouyang, X., DeWeese, T.L., Nelson, W.G., and Abate-Shen, C. (2005). Loss-of-Function of Nkx3.1 Promotes Increased Oxidative Damage in Prostate Carcinogenesis. Cancer Res. 65, 6773–6779.

Ozen, M., Creighton, C.J., Ozdemir, M., and Ittmann, M. (2008). Widespread deregulation of microRNA expression in human prostate cancer. Oncogene 27, 1788–1793.

Ozmen, H., Erulas, F.A., Karatas, F., Cukurovali, A., and Yalcin, O. (2006). Comparison of the concentration of trace metals (Ni, Zn, Co, Cu and Se), Fe, vitamins A, C and E, and lipid peroxidation in patients with prostate cancer. Clin. Chem. Lab. Med. CCLM FESCC 44, 175–179.

Paccagnella, A., Morassutti, I., and Rosti, G. (2011). Nutritional intervention for improving treatment tolerance in cancer patients. Curr. Opin. Oncol. 23, 322–330.

PACHER, P., BECKMAN, J.S., and LIAUDET, L. (2007). Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. Physiol. Rev. 87, 315–424.

Paller, C.J., Ye, X., Wozniak, P.J., Gillespie, B.K., Sieber, P.R., Greengold, R.H., Stockton, B.R., Hertzman, B.L., Efros, M.D., Roper, R.P., et al. (2013). A randomized phase II study of pomegranate extract for men with rising PSA following initial therapy for localized prostate cancer. Prostate Cancer Prostatic Dis. 16, 50–55.

Palozza, P., Colangelo, M., Simone, R., Catalano, A., Boninsegna, A., Lanza, P., Monego, G., and Ranelletti, F.O. (2010). Lycopene induces cell growth inhibition by altering mevalonate pathway and Ras signaling in cancer cell lines. Carcinogenesis 31, 1813–1821.

Pande, V., and Ramos, M.J. (2005). NF-kappaB in human disease: current inhibitors and prospects for de novo structure based design of inhibitors. Curr. Med. Chem. 12, 357–374.

Pang, Y., Young, C.Y.F., and Yuan, H. (2010). MicroRNAs and prostate cancer. Acta Biochim. Biophys. Sin. 42, 363–369.

Pantuck, A.J., Leppert, J.T., Zomorodian, N., Aronson, W., Hong, J., Barnard, R.J., Seeram, N., Liker, H., Wang, H., Elashoff, R., et al. (2006). Phase II study of pomegranate juice for men with rising prostate-specific antigen following surgery or radiation for prostate cancer. Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res. 12, 4018–4026.

Papa, S., Guerrieri, F., and Capitanio, N. (1997). A possible role of slips in cytochrome C oxidase in the antioxygen defense system of the cell. Biosci. Rep. 17, 23–31.

Park, H.S., Schoenfeld, J.D., Mailhot, R.B., Shive, M., Hartman, R.I., Ogembo, R., and Mucci, L.A. (2013). Statins and prostate cancer recurrence following radical prostatectomy or radiotherapy: a systematic review and meta-analysis. Ann. Oncol. mdt077.

Park, S.-Y., Yu, X., Ip, C., Mohler, J.L., Bogner, P.N., and Park, Y.-M. (2007). Peroxiredoxin 1 interacts with androgen receptor and enhances its transactivation. Cancer Res. 67, 9294–9303.

Parkkari, J., Natri, A., Kannus, P., Mänttäri, A., Laukkanen, R., Haapasalo, H., Nenonen, A., Pasanen, M., Oja, P., and Vuori, I. (2000). A controlled trial of the health benefits of regular walking on a golf course ∗. Am. J. Med. 109, 102–108.

Parks, D.A., Williams, T.K., and Beckman, J.S. (1988). Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. Am. J. Physiol. 254, G768–G774.

Paroo, Z., Ye, X., Chen, S., and Liu, Q. (2009). Phosphorylation of the human micro-RNA generating complex mediates MAPK/Erk signaling. Cell 139, 112–122.

Párrizas, M., and LeRoith, D. (1997). Insulin-like growth factor-1 inhibition of apoptosis is associated with increased expression of the bcl-xL gene product. Endocrinology 138, 1355–1358.

Paschos, A., Pandya, R., Duivenvoorden, W.C.M., and Pinthus, J.H. (2013). Oxidative stress in prostate cancer: changing research concepts towards a novel paradigm for prevention and therapeutics. Prostate Cancer Prostatic Dis. 16, 217–225.

Pate, R.R., O'Neill, J.R., and Lobelo, F. (2008). The evolving definition of "sedentary." Exerc. Sport Sci. Rev. 36, 173–178.

Patel, A.V., Rodriguez, C., Jacobs, E.J., Solomon, L., Thun, M.J., and Calle, E.E. (2005). Recreational physical activity and risk of prostate cancer in a large cohort of U.S. men. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol. 14, 275–279.

Patel, C., Dadhaniya, P., Hingorani, L., and Soni, M.G. (2008). Safety assessment of pomegranate fruit extract: acute and subchronic toxicity studies. Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc. 46, 2728–2735.

Patra, S.K. (2008). Dissecting lipid raft facilitated cell signaling pathways in cancer. Biochim. Biophys. Acta BBA - Rev. Cancer 1785, 182–206.

Peiffert, D. (2005). Curiethérapie interstitielle des cancers localisés de prostate par implants permanents d'iode 125. Cancer/Radiothérapie 9, 388–393.

Pelicano, H., Carney, D., and Huang, P. (2004). ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. Drug Resist. Updat. Rev. Comment. Antimicrob. Anticancer Chemother. 7, 97–110.

Pelton, K., Freeman, M.R., and Solomon, K.R. (2012). Cholesterol and Prostate Cancer. Curr. Opin. Pharmacol. 12, 751–759.

Pérez-Vicente, A., Gil-Izquierdo, A., and García-Viguera, C. (2002). In vitro gastrointestinal digestion study of pomegranate juice phenolic compounds, anthocyanins, and vitamin C. J. Agric. Food Chem. 50, 2308–2312.

Perrin, P. (2006). Surveillance active des cancers de la prostate. Ann. Urol. 40, 111–116.

Peternelj, T.-T., and Coombes, J.S. (2011). Antioxidant Supplementation during Exercise Training. Sports Med. 41, 1043–1069.

Peters, C., Lötzerich, H., Niemeier, B., Schüle, K., and Uhlenbruck, G. (1994). Influence of a moderate exercise training on natural killer cytotoxicity and personality traits in cancer patients. Anticancer Res. 14, 1033–1036.

Peters, C., Lötzerich, H., Niemeir, B., Schüle, K., and Uhlenbruck, G. (1995). Exercise, cancer and the immune response of monocytes. Anticancer Res. 15, 175–179.

Petros, J.A., Baumann, A.K., Ruiz-Pesini, E., Amin, M.B., Sun, C.Q., Hall, J., Lim, S., Issa, M.M., Flanders, W.D., Hosseini, S.H., et al. (2005). mtDNA mutations increase tumorigenicity in prostate cancer. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 102, 719–724.

Phin, S., Moore, M.W., and Cotter, P.D. (2013). Genomic Rearrangements of PTEN in Prostate Cancer. Front. Oncol. 3.

Pinho, R.A., Andrades, M.E., Oliveira, M.R., Pirola, A.C., Zago, M.S., Silveira, P.C.L., Dal-Pizzol, F., and Moreira, J.C.F. (2006). Imbalance in SOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. Cell Biol. Int. 30, 848–853.

Pinthus, J.H., Bryskin, I., Trachtenberg, J., Lu, J.-P., Singh, G., Fridman, E., and Wilson, B.C. (2007). Androgen Induces Adaptation to Oxidative Stress in Prostate Cancer: Implications for Treatment with Radiation Therapy. Neoplasia N. Y. N 9, 68–80.

Platz, E.A., and Giovannucci, E. (2004). The epidemiology of sex steroid hormones and their signaling and metabolic pathways in the etiology of prostate cancer. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 92, 237–253.

Platz, E.A., Leitzmann, M.F., Visvanathan, K., Rimm, E.B., Stampfer, M.J., Willett, W.C., and Giovannucci, E. (2006). Statin drugs and risk of advanced prostate cancer. J. Natl. Cancer Inst. 98, 1819–1825.

Pocobelli, G., Peters, U., Kristal, A.R., and White, E. (2009). Use of supplements of multivitamins, vitamin C, and vitamin E in relation to mortality. Am. J. Epidemiol. 170, 472–483.

Porkka, K.P., Pfeiffer, M.J., Waltering, K.K., Vessella, R.L., Tammela, T.L.J., and Visakorpi, T. (2007). MicroRNA expression profiling in prostate cancer. Cancer Res. 67, 6130–6135.

Porkka, K.P., Ogg, E.-L., Saramäki, O.R., Vessella, R.L., Pukkila, H., Lähdesmäki, H., van Weerden, W.M., Wolf, M., Kallioniemi, O.P., Jenster, G., et al. (2011). The miR-15a-miR-16-1 locus is homozygously deleted in a subset of prostate cancers. Genes. Chromosomes Cancer 50, 499–509.

Poulsen, H.E., Prieme, H., and Loft, S. (1998). Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. Eur. J. Cancer Prev. Off. J. Eur. Cancer Prev. Organ. ECP 7, 9–16.

Powers, S.K., and Jackson, M.J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. Physiol. Rev. 88, 1243–1276.

Powers, S., Nelson, W.B., and Larson-Meyer, E. (2011). Antioxidant and Vitamin D supplements for athletes: sense or nonsense? J. Sports Sci. 29 Suppl 1, S47–S55.

Powers, S.K., Ji, L.L., and Leeuwenburgh, C. (1999). Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. Med. Sci. Sports Exerc. 31, 987–997.

Powis, G., and Montfort, W.R. (2001). Properties and Biological Activities of Thioredoxins. Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 30, 421–455.

Preiser, J.-C. (2012). Oxidative Stress. J. Parenter. Enter. Nutr. 36, 147–154.

Price, D.T., Della Rocca, G., Guo, C., Ballo, M.S., Schwinn, D.A., and Luttrell, L.M. (1999). Activation of extracellular signal-regulated kinase in human prostate cancer. J. Urol. 162, 1537–1542.

Radak, Z., Chung, H.Y., and Goto, S. (2005). Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. Biogerontology 6, 71–75.

Radak, Z., Chung, H.Y., and Goto, S. (2008a). Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. Free Radic. Biol. Med. 44, 153–159.

Radak, Z., Chung, H.Y., Koltai, E., Taylor, A.W., and Goto, S. (2008b). Exercise, oxidative stress and hormesis. Ageing Res. Rev. 7, 34–42.

Radak, Z., Zhao, Z., Koltai, E., Ohno, H., and Atalay, M. (2013). Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. Antioxid. Redox Signal. 18, 1208–1246.

Raffoul, J.J., Wang, Y., Kucuk, O., Forman, J.D., Sarkar, F.H., and Hillman, G.G. (2006). Genistein inhibits radiation-induced activation of NF-kappaB in prostate cancer cells promoting apoptosis and G2/M cell cycle arrest. BMC Cancer 6, 107.

Rahman, K.M.W., Banerjee, S., Ali, S., Ahmad, A., Wang, Z., Kong, D., and Sakr, W.A. (2009). 3,3'-Diindolylmethane enhances taxotere-induced apoptosis in hormone-refractory prostate cancer cells through survivin down-regulation. Cancer Res. 69, 4468–4475.

Rajendran, M., Thomes, P., Zhang, L., Veeramani, S., and Lin, M.-F. (2010). p66Shc--a longevity redox protein in human prostate cancer progression and metastasis : p66Shc in cancer progression and metastasis. Cancer Metastasis Rev. 29, 207–222.

Ramaswamy, S., Nakamura, N., Sansal, I., Bergeron, L., and Sellers, W.R. (2002). A novel mechanism of gene regulation and tumor suppression by the transcription factor FKHR. Cancer Cell 2, 81–91.

Ramsay, A.K., McCracken, S.R.C., Soofi, M., Fleming, J., Yu, A.X., Ahmad, I., Morland, R., Machesky, L., Nixon, C., Edwards, D.R., et al. (2011). ERK5 signalling in prostate cancer promotes an invasive phenotype. Br. J. Cancer 104, 664–672.

Rattan, S.I.S. (2008). Hormesis in aging. Ageing Res. Rev. 7, 63–78.

Raver-Shapira, N., Marciano, E., Meiri, E., Spector, Y., Rosenfeld, N., Moskovits, N., Bentwich, Z., and Oren, M. (2007). Transcriptional activation of miR-34a contributes to p53-mediated apoptosis. Mol. Cell 26, 731–743.

Ravery, V. (2002). Cancer de la prostate (Springer Science & Business Media).

Reid, M.B. (2001). Nitric oxide, reactive oxygen species, and skeletal muscle contraction. Med. Sci. Sports Exerc. 33, 371–376.

Reid, M.B. (2008). Free radicals and muscle fatigue: Of ROS, canaries, and the IOC. Free Radic. Biol. Med. 44, 169–179.

Ren, F., Zhang, S., Mitchell, S.H., Butler, R., and Young, C.Y. (2000). Tea polyphenols down-regulate the expression of the androgen receptor in LNCaP prostate cancer cells. Oncogene 19, 1924–1932.

Rettig, M.B., Heber, D., An, J., Seeram, N.P., Rao, J.Y., Liu, H., Klatte, T., Belldegrun, A., Moro, A., Henning, S.M., et al. (2008). Pomegranate extract inhibits androgen-independent prostate cancer growth through a nuclear factor-kappaB-dependent mechanism. Mol. Cancer Ther. 7, 2662–2671.

Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M., and Aggarwal, B.B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? Free Radic. Biol. Med. 49, 1603–1616.

Rhee, S.G., Chae, H.Z., and Kim, K. (2005). Peroxiredoxins: A historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. Free Radic. Biol. Med. 38, 1543–1552.

Richman, E.L., Kenfield, S.A., Stampfer, M.J., Paciorek, A., Carroll, P.R., and Chan, J.M. (2011). Physical activity after diagnosis and risk of prostate cancer progression: data from the Cancer of the Prostate Strategic Urologic Research Endeavor. Cancer Res. 71, 3889–3895.

Richter, C., Park, J.W., and Ames, B.N. (1988). Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 85, 6465–6467.

Ricke, W.A., McPherson, S.J., Bianco, J.J., Cunha, G.R., Wang, Y., and Risbridger, G.P. (2008). Prostatic hormonal carcinogenesis is mediated by in situ estrogen production and estrogen receptor alpha signaling. FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol. 22, 1512–1520.

Ripple, M.O., Henry, W.F., Rago, R.P., and Wilding, G. (1997). Prooxidant-antioxidant shift induced by androgen treatment of human prostate carcinoma cells. J. Natl. Cancer Inst. 89, 40–48.

Ristow, M., Zarse, K., Oberbach, A., Klöting, N., Birringer, M., Kiehntopf, M., Stumvoll, M., Kahn, C.R., and Blüher, M. (2009). Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 106, 8665–8670.

Robert, J. (2010). La voie de la phosphatidylinositol-3-kinase. In Signalisation cellulaire et cancer, (Springer Paris), pp. 59–69.

Rock, C.L. (2005). Dietary Counseling Is Beneficial for the Patient With Cancer. J. Clin. Oncol. 23, 1348–1349.

Rock, C.L., Doyle, C., Demark-Wahnefried, W., Meyerhardt, J., Courneya, K.S., Schwartz, A.L., Bandera, E.V., Hamilton, K.K., Grant, B., McCullough, M., et al. (2012). Nutrition and physical activity guidelines for cancer survivors. CA. Cancer J. Clin. 62, 242–274.

Rodríguez-Berriguete, G., Fraile, B., Martínez-Onsurbe, P., Olmedilla, G., Paniagua, R., and Royuela, M. (2012). MAP Kinases and Prostate Cancer. J. Signal Transduct. 2012, 169170.

Rosenblat, M., Hayek, T., and Aviram, M. (2006). Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. Atherosclerosis 187, 363–371.

Ross, S.A., and Davis, C.D. (2011). MicroRNA, Nutrition, and Cancer Prevention. Adv. Nutr. Int. Rev. J. 2, 472–485.

Roy, S.K., Srivastava, R.K., and Shankar, S. (2010). Inhibition of PI3K/AKT and MAPK/ERK pathways causes activation of FOXO transcription factor, leading to cell cycle arrest and apoptosis in pancreatic cancer. J. Mol. Signal. 5, 10.

Royuela, M., Arenas, M.I., Bethencourt, F.R., Sánchez-Chapado, M., Fraile, B., and Paniagua, R. (2002). Regulation of proliferation/apoptosis equilibrium by mitogen-activated protein kinases in normal, hyperplastic, and carcinomatous human prostate. Hum. Pathol. 33, 299–306.

Rundqvist, H., Augsten, M., Strömberg, A., Rullman, E., Mijwel, S., Kharaziha, P., Panaretakis, T., Gustafsson, T., and Östman, A. (2013). Effect of acute exercise on prostate cancer cell growth. PloS One 8, e67579.

Saborido, A., Naudí, A., Portero-Otín, M., Pamplona, R., and Megías, A. (2011). Stanozolol treatment decreases the mitochondrial ROS generation and oxidative stress induced by acute exercise in rat skeletal muscle. J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985 110, 661–669.

Saini, S., Majid, S., and Dahiya, R. (2010). Diet, microRNAs and prostate cancer. Pharm. Res. 27, 1014–1026.

Saitoh, M., Nishitoh, H., Fujii, M., Takeda, K., Tobiume, K., Sawada, Y., Kawabata, M., Miyazono, K., and Ichijo, H. (1998). Mammalian thioredoxin is a direct inhibitor of apoptosis signal-regulating kinase (ASK) 1. EMBO J. 17, 2596–2606.

Salomon, L., Azria, D., Bastide, C., Beuzeboc, P., Cormier, L., Cornud, F., Eiss, D., Eschwège, P., Gaschignard, N., Hennequin, C., et al. (2010). Recommandations en Onco-Urologie 2010 : Cancer de la prostate. Prog. En Urol. 20, Supplement 4, S217–S251.

Salomon, L., Bastide, C., Beuzeboc, P., Cormier, L., Fromont, G., Hennequin, C., Mongiat-Artus, P., Peyromaure, M., Ploussard, G., Renard-Penna, R., et al. (2013). Recommandations en onco-urologie 2013 du CCAFU : Cancer de la prostate. Prog. En Urol. 23, Supplement 2, S69–S101.

Sartippour, M.R., Seeram, N.P., Rao, J.Y., Moro, A., Harris, D.M., Henning, S.M., Firouzi, A., Rettig, M.B., Aronson, W.J., Pantuck, A.J., et al. (2008). Ellagitannin-rich pomegranate extract inhibits angiogenesis in prostate cancer in vitro and in vivo. Int. J. Oncol. 32, 475–480.

Sastre, J., Asensi, M., Gascó, E., Pallardó, F.V., Ferrero, J.A., Furukawa, T., and Viña, J. (1992). Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. Am. J. Physiol. 263, R992–R995.

Sayed, D., and Abdellatif, M. (2011). MicroRNAs in development and disease. Physiol. Rev. 91, 827–887.

Schayek, H., Seti, H., Greenberg, N.M., Sun, S., Werner, H., and Plymate, S.R. (2010). Differential regulation of insulin-like growth factor-I receptor gene expression by wild type and mutant androgen receptor in prostate cancer cells. Mol. Cell. Endocrinol. 323, 239–245.

Schieke, S.M., Briviba, K., Klotz, L.O., and Sies, H. (1999). Activation pattern of mitogen-activated protein kinases elicited by peroxynitrite: attenuation by selenite supplementation. FEBS Lett. 448, 301–303.

Schröder, F.H., Hugosson, J., Roobol, M.J., Tammela, T.L.J., Ciatto, S., Nelen, V., Kwiatkowski, M., Lujan, M., Lilja, H., Zappa, M., et al. (2009). Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. N. Engl. J. Med. 360, 1320–1328.

Schroeter, H., Boyd, C.S., Ahmed, R., Spencer, J.P.E., Duncan, R.F., Rice-Evans, C., and Cadenas, E. (2003). c-Jun N-terminal kinase (JNK)-mediated modulation of brain mitochondria function: new target proteins for JNK signalling in mitochondrion-dependent apoptosis. Biochem. J. 372, 359–369.

Seeram, N.P., Lee, R., and Heber, D. (2004). Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (Punica granatum L.) juice. Clin. Chim. Acta 348, 63–68.

Seeram, N.P., Henning, S.M., Zhang, Y., Suchard, M., Li, Z., and Heber, D. (2006). Pomegranate Juice Ellagitannin Metabolites Are Present in Human Plasma and Some Persist in Urine for Up to 48 Hours. J. Nutr. 136, 2481–2485.

Seeram, N.P., Aronson, W.J., Zhang, Y., Henning, S.M., Moro, A., Lee, R.-P., Sartippour, M., Harris, D.M., Rettig, M., Suchard, M.A., et al. (2007). Pomegranate ellagitannin-derived metabolites inhibit prostate cancer growth and localize to the mouse prostate gland. J. Agric. Food Chem. 55, 7732–7737.

Segal, A.W., and Jones, O.T.G. (1978). Novel cytochrome b system in phagocytic vacuoles of human granulocytes. Nature 276, 515–517.

Segal, R.J., Reid, R.D., Courneya, K.S., Malone, S.C., Parliament, M.B., Scott, C.G., Venner, P.M., Quinney, H.A., Jones, L.W., D'Angelo, M.E.S., et al. (2003). Resistance exercise in men receiving androgen deprivation therapy for prostate cancer. J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol. 21, 1653–1659.

Segal, R.J., Reid, R.D., Courneya, K.S., Sigal, R.J., Kenny, G.P., Prud'Homme, D.G., Malone, S.C., Wells, G.A., Scott, C.G., and Slovinec D'Angelo, M.E. (2009). Randomized controlled trial of resistance or aerobic exercise in men receiving radiation therapy for prostate cancer. J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol. 27, 344–351.

Seisen, T., Rouprêt, M., Faix, A., and Droupy, S. (2012). La prostate : une glande au carrefour uro-génital. Prog. En Urol. 22, Supplement 1, S2–S6.

Seoane, J., Le, H.-V., Shen, L., Anderson, S.A., and Massagué, J. (2004). Integration of Smad and forkhead pathways in the control of neuroepithelial and glioblastoma cell proliferation. Cell 117, 211–223.

Serrander, L., Cartier, L., Bedard, K., Banfi, B., Lardy, B., Plastre, O., Sienkiewicz, A., Forro, L., Schlegel, W., and Krause, K.-H. (2007). NOX4 activity is determined by mRNA levels and reveals a unique pattern of ROS generation. Biochem. J. 406, 105–114.

Sesso, H.D. (2000). A drive for the health benefits of walking. Am. J. Med. 109, 160–161.

Sethi, G., Sung, B., and Aggarwal, B.B. (2008). Nuclear Factor-κB Activation: From Bench to Bedside. Exp. Biol. Med. 233, 21–31.

Sfanos, K.S., and De Marzo, A.M. (2012). Prostate cancer and inflammation: the evidence. Histopathology 60, 199–215.

Shan, W., Zhong, W., Zhao, R., and Oberley, T.D. (2010). Thioredoxin 1 as a subcellular biomarker of redox imbalance in human prostate cancer progression. Free Radic. Biol. Med. 49, 2078–2087.

Sharma, A., Yeow, W.-S., Ertel, A., Coleman, I., Clegg, N., Thangavel, C., Morrissey, C., Zhang, X., Comstock, C.E.S., Witkiewicz, A.K., et al. (2010). The retinoblastoma tumor suppressor controls androgen signaling and human prostate cancer progression. J. Clin. Invest. 120, 4478–4492.

Sharma, M., Juvvuna, P.K., Kukreti, H., and McFarlane, C. (2014). Mega roles of microRNAs in regulation of skeletal muscle health and disease. Front. Physiol. 5.

Shen, M.M., and Abate-Shen, C. (2003). Roles of the Nkx3.1 homeobox gene in prostate organogenesis and carcinogenesis. Dev. Dyn. Off. Publ. Am. Assoc. Anat. 228, 767–778.

Shen, M.M., and Abate-Shen, C. (2010). Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. Genes Dev. 24, 1967–2000.

Shin, W.-H., Park, S.-J., and Kim, E.-J. (2006). Protective effect of anthocyanins in middle cerebral artery occlusion and reperfusion model of cerebral ischemia in rats. Life Sci. 79, 130–137.

Shiota, M., Yokomizo, A., and Naito, S. (2011a). Oxidative stress and androgen receptor signaling in the development and progression of castration-resistant prostate cancer. Free Radic. Biol. Med. 51, 1320–1328.

Shiota, M., Yokomizo, A., Kashiwagi, E., Takeuchi, A., Fujimoto, N., Uchiumi, T., and Naito, S. (2011b). Peroxiredoxin 2 in the nucleus and cytoplasm distinctly regulates androgen receptor activity in prostate cancer cells. Free Radic. Biol. Med. 51, 78–87.

Shukla, S., and Gupta, S. (2005). Dietary agents in the chemoprevention of prostate cancer. Nutr. Cancer 53, 18–32.

Shukla, S., and Gupta, S. (2010). Apigenin: A Promising Molecule for Cancer Prevention. Pharm. Res. 27, 962–978.

Shukla, Y., and Kalra, N. (2007). Cancer chemoprevention with garlic and its constituents. Cancer Lett. 247, 167–181.

Shukla, M., Gupta, K., Rasheed, Z., Khan, K.A., and Haqqi, T.M. (2008). Consumption of hydrolyzable tannins-rich pomegranate extract suppresses inflammation and joint damage in rheumatoid arthritis. Nutr. Burbank Los Angel. Cty. Calif 24, 733–743.

Shukla, S., Shukla, M., Maclennan, G.T., Fu, P., and Gupta, S. (2009). Deregulation of FOXO3A during prostate cancer progression. Int. J. Oncol. 34, 1613–1620.

Shukla, S., Bhaskaran, N., Maclennan, G.T., and Gupta, S. (2013). Deregulation of FoxO3a accelerates prostate cancer progression in TRAMP mice. The Prostate 73, 1507–1517.

Shukla, S., Bhaskaran, N., Babcook, M.A., Fu, P., Maclennan, G.T., and Gupta, S. (2014). Apigenin inhibits prostate cancer progression in TRAMP mice via targeting PI3K/Akt/FoxO pathway. Carcinogenesis 35, 452–460.

Siddiqui, I.A., Adhami, V.M., Afaq, F., Ahmad, N., and Mukhtar, H. (2004). Modulation of phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B- and mitogen-activated protein kinase-pathways by tea polyphenols in human prostate cancer cells. J. Cell. Biochem. 91, 232–242.

Siddiqui, I.A., Asim, M., Hafeez, B.B., Adhami, V.M., Tarapore, R.S., and Mukhtar, H. (2011). Green tea polyphenol EGCG blunts androgen receptor function in prostate cancer. FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol. 25, 1198–1207.

Siegel, R., Ma, J., Zou, Z., and Jemal, A. (2014). Cancer statistics, 2014. CA. Cancer J. Clin. 64, 9–29.

Sies, H. (2007). Biological redox systems and oxidative stress. Cell. Mol. Life Sci. CMLS 64, 2181–2188.

Silvius, J.R. (2003). Role of cholesterol in lipid raft formation: lessons from lipid model systems. Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr. 1610, 174–183.

Simone, N.L., Soule, B.P., Ly, D., Saleh, A.D., Savage, J.E., DeGraff, W., Cook, J., Harris, C.C., Gius, D., and Mitchell, J.B. (2009). Ionizing Radiation-Induced Oxidative Stress Alters miRNA Expression. PLoS ONE 4, e6377.

Simons, K., and Toomre, D. (2000). Lipid rafts and signal transduction. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 1, 31–39.

Singh-Gupta, V., Zhang, H., Banerjee, S., Kong, D., Raffoul, J.J., Sarkar, F.H., and Hillman, G.G. (2009). Radiation-induced HIF-1alpha cell survival pathway is inhibited by soy isoflavones in prostate cancer cells. Int. J. Cancer J. Int. Cancer 124, 1675–1684.

Sircar, D., and Subbaiah, P.V. (2007). Isoprostane measurement in plasma and urine by liquid chromatography-mass spectrometry with one-step sample preparation. Clin. Chem. 53, 251–258.

Soliman, S., Aronson, W.J., and Barnard, R.J. (2011). Analyzing serum-stimulated prostate cancer cell lines after low-fat, high-fiber diet and exercise intervention. Evid.-Based Complement. Altern. Med. ECAM 2011, 529053.

Solomon, K.R., and Freeman, M.R. (2011). The Complex Interplay Between Cholesterol and Prostate Malignancy. Urol. Clin. North Am. 38, 243–259.

Son, Y., Cheong, Y.-K., Kim, N.-H., Chung, H.-T., Kang, D.G., and Pae, H.-O. (2011). Mitogen-Activated Protein Kinases and Reactive Oxygen Species: How Can ROS Activate MAPK Pathways? J. Signal Transduct. 2011, e792639.

Spinks, J., and Woods, R. Water and Inorganic aqueous systems. In Introduction to Radiation Chemistry, (New York), pp. 243–313.

Sporn, M.B., and Liby, K.T. (2005). Cancer chemoprevention: scientific promise, clinical uncertainty. Nat. Clin. Pract. Oncol. 2, 518–525.

Srivastava, D.S.L., and Mittal, R.D. (2005). Free radical injury and antioxidant status in patients with benign prostate hyperplasia and prostate cancer. Indian J. Clin. Biochem. IJCB 20, 162–165.

Stadtman, E.R. (1993). Oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins by radiolysis and by metal-catalyzed reactions. Annu. Rev. Biochem. 62, 797–821.

Staerman, F., Peyromaure, M., Irani, J., Gaschignard, N., Mottet, N., Soulié, M., and Salomon, L. (2011). Place de la surveillance active dans le cancer de la prostate à faible risque de progression. Prog. En Urol. 21, 448–454.

Stattin, P., Rinaldi, S., Biessy, C., Stenman, U.-H., Hallmans, G., and Kaaks, R. (2004). High levels of circulating insulin-like growth factor-I increase prostate cancer risk: a prospective study in a population-based nonscreened cohort. J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol. 22, 3104–3112.

Stearns, M.E., and Wang, M. (2011). Synergistic Effects of the Green Tea Extract Epigallocatechin-3-gallate and Taxane in Eradication of Malignant Human Prostate Tumors. Transl. Oncol. 4, 147–156.

Stenner-Liewen, F., Liewen, H., Cathomas, R., Renner, C., Petrausch, U., Sulser, T., Spanaus, K., Seifert, H.H., Strebel, R.T., Knuth, A., et al. (2013). Daily Pomegranate Intake Has No Impact on PSA Levels in Patients with Advanced Prostate Cancer - Results of a Phase IIb Randomized Controlled Trial. J. Cancer 4, 597–605.

Stephan, C., Ralla, B., and Jung, K. (2014). Prostate-specific antigen and other serum and urine markers in prostate cancer. Biochim. Biophys. Acta BBA - Rev. Cancer 1846, 99–112.

Stevnsner, T., Thorslund, T., de Souza-Pinto, N.C., and Bohr, V.A. (2002). Mitochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with aging. Exp. Gerontol. 37, 1189–1196.

Storz, P. (2005). Reactive oxygen species in tumor progression. Front. Biosci. J. Virtual Libr. 10, 1881–1896.

St-Pierre, J., Drori, S., Uldry, M., Silvaggi, J.M., Rhee, J., Jäger, S., Handschin, C., Zheng, K., Lin, J., Yang, W., et al. (2006). Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators. Cell 127, 397–408.

Su, Z.-Y., Shu, L., Khor, T.O., Lee, J.H., Fuentes, F., and Kong, A.-N.T. (2013). A perspective on dietary phytochemicals and cancer chemoprevention: oxidative stress, nrf2, and epigenomics. Top. Curr. Chem. 329, 133–162.

Sun, Y., Sukumaran, P., Varma, A., Derry, S., Sahmoun, A.E., and Singh, B.B. (2014). Cholesterol-induced activation of TRPM7 regulates cell proliferation, migration, and viability of human prostate cells. Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res. 1843, 1839–1850.

Supiot, S., Créhange, G., Latorzeff, I., Pommier, P., Paumier, A., Rio, E., Delaroche, G., Guérif, S., Catton, C., Martin, J., et al. (2013). [Hypofractionated radiotherapy in prostate cancer]. Cancer Radiothérapie J. Société Fr. Radiothérapie Oncol. 17, 349–354.

Surapaneni, K.M., and Venkata, G.R. (2006). Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with carcinoma of prostate. Indian J. Physiol. Pharmacol. 50, 350–354.

Surh, Y.-J. (2003). Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. Nat. Rev. Cancer 3, 768–780.

Surh, Y.-J. (2008). NF-kappa B and Nrf2 as potential chemopreventive targets of some anti-inflammatory and antioxidative phytonutrients with anti-inflammatory and antioxidative activities. Asia Pac. J. Clin. Nutr. 17 Suppl 1, 269–272.

Suzuki, S., Shiraga, K., Sato, S., Punfa, W., Naiki-Ito, A., Yamashita, Y., Shirai, T., and Takahashi, S. (2013). Apocynin, an NADPH oxidase inhibitor, suppresses rat prostate carcinogenesis. Cancer Sci. 104, 1711–1717.

Suzuki, Y.J., Carini, M., and Butterfield, D.A. (2010). Protein Carbonylation. Antioxid. Redox Signal. 12, 323–325.

Syed, D.N., Afaq, F., and Mukhtar, H. (2007). Pomegranate derived products for cancer chemoprevention. Semin. Cancer Biol. 17, 377–385.

Tam, N.N.C., Gao, Y., Leung, Y.-K., and Ho, S.-M. (2003). Androgenic regulation of oxidative stress in the rat prostate: involvement of NAD(P)H oxidases and antioxidant defense machinery during prostatic involution and regrowth. Am. J. Pathol. 163, 2513–2522.

Taneja, S.S., Ha, S., and Garabedian, M.J. (2001). Androgen stimulated cellular proliferation in the human prostate cancer cell line LNCaP is associated with reduced retinoblastoma protein expression. J. Cell. Biochem. 84, 188–199.

Tang, E.D., Nuñez, G., Barr, F.G., and Guan, K.L. (1999). Negative regulation of the forkhead transcription factor FKHR by Akt. J. Biol. Chem. 274, 16741–16746.

Tang, T.T.-L., Dowbenko, D., Jackson, A., Toney, L., Lewin, D.A., Dent, A.L., and Lasky, L.A. (2002). The forkhead transcription factor AFX activates apoptosis by induction of the BCL-6 transcriptional repressor. J. Biol. Chem. 277, 14255–14265.

Tang, Y., Parmakhtiar, B., Simoneau, A.R., Xie, J., Fruehauf, J., Lilly, M., and Zi, X. (2011). Lycopene enhances docetaxel's effect in castration-resistant prostate cancer associated with insulin-like growth factor I receptor levels. Neoplasia N. Y. N 13, 108–119.

Taylor, B.S., Schultz, N., Hieronymus, H., Gopalan, A., Xiao, Y., Carver, B.S., Arora, V.K., Kaushik, P., Cerami, E., Reva, B., et al. (2010). Integrative genomic profiling of human prostate cancer. Cancer Cell 18, 11–22.

Thannickal, V.J., and Fanburg, B.L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 279, L1005–L1028.

Thomas, R.J., Holm, M., and Al-Adhami, A. (2014). Physical activity after cancer: An evidence review of the international literature. Br. J. Med. Pract. Volume 7, 7(1):a708.

Thompson, H.J., Jiang, W., and Zhu, Z. (2009). Candidate mechanisms accounting for effects of physical activity on breast carcinogenesis. IUBMB Life 61, 895–901.

Thune, I., and Furberg, A.S. (2001). Physical activity and cancer risk: dose-response and cancer, all sites and site-specific. Med. Sci. Sports Exerc. 33, S530–S550; discussion S609–S610.

Tobiume, K., Matsuzawa, A., Takahashi, T., Nishitoh, H., Morita, K., Takeda, K., Minowa, O., Miyazono, K., Noda, T., and Ichijo, H. (2001). ASK1 is required for sustained activations of JNK/p38 MAP kinases and apoptosis. EMBO Rep. 2, 222–228.

Toledano, I., Graff, P., Serre, A., Boisselier, P., Bensadoun, R.-J., Ortholan, C., Pommier, P., Racadot, S., Calais, G., Alfonsi, M., et al. (2012). Intensity-modulated radiotherapy in head and neck cancer: Results of the prospective study GORTEC 2004–03. Radiother. Oncol. 103, 57–62.

Tomasetti, M., Santarelli, L., Alleva, R., Dong, L.-F., and Neuzil, J. (2014). Redox-active and redox-silent compounds: synergistic therapeutics in cancer. Curr. Med. Chem.

Tonevitsky, A.G., Maltseva, D.V., Abbasi, A., Samatov, T.R., Sakharov, D.A., Shkurnikov, M.U., Lebedev, A.E., Galatenko, V.V., Grigoriev, A.I., and Northoff, H. (2013). Dynamically regulated miRNA-mRNA networks revealed by exercise. BMC Physiol. 13, 9.

Toyokuni, S. (2006). Novel aspects of oxidative stress-associated carcinogenesis. Antioxid. Redox Signal. 8, 1373–1377.

Trachootham, D., Alexandre, J., and Huang, P. (2009). Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? Nat. Rev. Drug Discov. 8, 579–591.

Tran, H., Brunet, A., Grenier, J.M., Datta, S.R., Fornace, A.J., DiStefano, P.S., Chiang, L.W., and Greenberg, M.E. (2002). DNA repair pathway stimulated by the forkhead transcription factor FOXO3a through the Gadd45 protein. Science 296, 530–534.

Traverso, N., Ricciarelli, R., Nitti, M., Marengo, B., Furfaro, A.L., Pronzato, M.A., Marinari, U.M., and Domenicotti, C. (2013). Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance. Oxid. Med. Cell. Longev. 2013, 972913.

Tremblay, M.S. (2012). Major initiatives related to childhood obesity and physical inactivity in Canada: the year in review. Can. J. Public Health Rev. Can. Santé Publique 103, 164–169.

Tsihlias, J., Kapusta, L.R., DeBoer, G., Morava-Protzner, I., Zbieranowski, I., Bhattacharya, N., Catzavelos, G.C., Klotz, L.H., and Slingerland, J.M. (1998). Loss of cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 is a novel prognostic factor in localized human prostate adenocarcinoma. Cancer Res. 58, 542–548.

Tsou, Y.-H., Shih, C.-T., Ching, C.-H., Huang, J.-Y., Jen, C.J., Yu, L., Kuo, Y.-M., Wu, F.-S., and Chuang, J.-I. (2014). Treadmill exercise activates Nrf2 antioxidant system to protect the nigrostriatal dopaminergic neurons from MPP(+) toxicity. Exp. Neurol. 263C, 50–62.

Tsuruta, F., Sunayama, J., Mori, Y., Hattori, S., Shimizu, S., Tsujimoto, Y., Yoshioka, K., Masuyama, N., and Gotoh, Y. (2004). JNK promotes Bax translocation to mitochondria through phosphorylation of 14-3-3 proteins. EMBO J. 23, 1889–1899.

Turjanski, A.G., Vaqué, J.P., and Gutkind, J.S. (2007). MAP kinases and the control of nuclear events. Oncogene 26, 3240–3253.

Türk, G., Sönmez, M., Aydin, M., Yüce, A., Gür, S., Yüksel, M., Aksu, E.H., and Aksoy, H. (2008). Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. Clin. Nutr. Edinb. Scotl. 27, 289–296.

Turrens, J.F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. J. Physiol. 552, 335–344.

Tymchuk, C.N., Barnard, R.J., Heber, D., and Aronson, W.J. (2001). Evidence of an inhibitory effect of diet and exercise on prostate cancer cell growth. J. Urol. 166, 1185–1189.

Tzivion, G., Dobson, M., and Ramakrishnan, G. (2011). FoxO transcription factors; Regulation by AKT and 14-3-3 proteins. Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res. 1813, 1938–1945.

Ueda, T., Bruchovsky, N., and Sadar, M.D. (2002). Activation of the androgen receptor N-terminal domain by interleukin-6 via MAPK and STAT3 signal transduction pathways. J. Biol. Chem. 277, 7076–7085.

Urso, M.L., and Clarkson, P.M. (2003). Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. Toxicology 189, 41–54.

Ushio-Fukai, M., and Nakamura, Y. (2008). Reactive oxygen species and angiogenesis: NADPH oxidase as target for cancer therapy. Cancer Lett. 266, 37–52.

Uttara, B., Singh, A.V., Zamboni, P., and Mahajan, R.. (2009). Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. Curr. Neuropharmacol. 7, 65–74.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., and Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem. Biol. Interact. 160, 1–40.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell Biol. 39, 44–84.

Vandenbos, F., Chevallier, D., and Michiels, J.-F. (2004). Cancers de la prostate: classification histopathologique. ONCOLOGIE 6, 385–393.

Vayalil, P.K., and Katiyar, S.K. (2004). Treatment of epigallocatechin-3-gallate inhibits matrix metalloproteinases-2 and -9 via inhibition of activation of mitogen-activated protein kinases, c-jun and NF-kappaB in human prostate carcinoma DU-145 cells. The Prostate 59, 33–42.

Veeramani, S., Yuan, T.-C., Lin, F.-F., and Lin, M.-F. (2008). Mitochondrial redox signaling by p66Shc is involved in regulating androgenic growth stimulation of human prostate cancer cells. Oncogene 27, 5057–5068.

Veeramani, S., Chou, Y.-W., Lin, F.C., Muniyan, S., Lin, F.-F., Kumar, S., Xie, Y., Lele, S.M., Tu, Y., and Lin, M.-F. (2012). Reactive oxygen species induced by p66Shc longevity protein mediate nongenomic androgen action via tyrosine phosphorylation signaling to enhance tumorigenicity of prostate cancer cells. Free Radic. Biol. Med. 53, 95–108.

De Velasco, M.A., and Uemura, H. (2012). Preclinical Remodeling of Human Prostate Cancer through the PTEN/AKT Pathway. Adv. Urol. 2012, 419348.

Veldscholte, J., Berrevoets, C.A., Zegers, N.D., van der Kwast, T.H., Grootegoed, J.A., and Mulder, E. (1992). Hormone-induced dissociation of the androgen receptor-heat-shock protein complex: use of a new monoclonal antibody to distinguish transformed from nontransformed receptors. Biochemistry (Mosc.) 31, 7422–7430.

Velicer, C.M., and Ulrich, C.M. (2008). Vitamin and Mineral Supplement Use Among US Adults After Cancer Diagnosis: A Systematic Review. J. Clin. Oncol. 26, 665–673.

Venditti, P., Masullo, P., and Di Meo, S. (1999). Effect of Training on H2O2 Release by Mitochondria from Rat Skeletal Muscle. Arch. Biochem. Biophys. 372, 315–320.

Vinall, R.L., Chen, J.Q., Hubbard, N.E., Sulaimon, S.S., Shen, M.M., Devere White, R.W., and Borowsky, A.D. (2012). Initiation of prostate cancer in mice by Tp53R270H: evidence for an alternative molecular progression. Dis. Model. Mech. 5, 914–920.

Virtamo, J., Taylor, P.R., Kontto, J., Männistö, S., Utriainen, M., Weinstein, S.J., Huttunen, J., and Albanes, D. (2014). Effects of α-tocopherol and β-carotene supplementation on cancer incidence and mortality: 18-year postintervention follow-up of the Alpha-tocopherol, Beta-carotene Cancer Prevention Study. Int. J. Cancer J. Int. Cancer 135, 178–185.

Vivanco, I., and Sawyers, C.L. (2002). The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. Nat. Rev. Cancer 2, 489–501.

Vivanco, I., Palaskas, N., Tran, C., Finn, S.P., Getz, G., Kennedy, N.J., Jiao, J., Rose, J., Xie, W., Loda, M., et al. (2007). Identification of the JNK signaling pathway as a functional target of the tumor suppressor PTEN. Cancer Cell 11, 555–569.

Di Vizio, D., Solomon, K.R., and Freeman, M.R. (2008). Cholesterol and cholesterol-rich membranes in prostate cancer: an update. Tumori 94, 633–639.

Volinia, S., Calin, G.A., Liu, C.-G., Ambs, S., Cimmino, A., Petrocca, F., Visone, R., Iorio, M., Roldo, C., Ferracin, M., et al. (2006). A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 103, 2257–2261.

Vollaard, N.B.J., Shearman, J.P., and Cooper, C.E. (2005). Exercise-induced oxidative stress:myths, realities and physiological relevance. Sports Med. Auckl. NZ 35, 1045–1062.

Voorrips, L.E., Ravelli, A.C., Dongelmans, P.C., Deurenberg, P., and Van Staveren, W.A. (1991). A physical activity questionnaire for the elderly. Med. Sci. Sports Exerc. 23, 974–979.

Wagner, B.A., Buettner, G.R., and Burns, C.P. (1996). Vitamin E slows the rate of free radical-mediated lipid peroxidation in cells. Arch. Biochem. Biophys. 334, 261–267.

Walter, B.A., Valera, V.A., Pinto, P.A., and Merino, M.J. (2013). Comprehensive microRNA Profiling of Prostate Cancer. J. Cancer 4, 350–357.

Wang, X., and Stocco, D.M. (2005). The decline in testosterone biosynthesis during male aging: A consequence of multiple alterations. Mol. Cell. Endocrinol. 238, 1–7.

Wang, J., Eltoum, I.-E., and Lamartiniere, C.A. (2004). Genistein alters growth factor signaling in transgenic prostate model (TRAMP). Mol. Cell. Endocrinol. 219, 171–180.

Wang, J., Jacob, N.K., Ladner, K.J., Beg, A., Perko, J.D., Tanner, S.M., Liyanarachchi, S., Fishel, R., and Guttridge, D.C. (2009). RelA/p65 functions to maintain cellular senescence by regulating genomic stability and DNA repair. EMBO Rep. 10, 1272–1278.

Wang, L., Alcon, A., Yuan, H., Ho, J., Li, Q.-J., and Martins-Green, M. (2011). Cellular and molecular mechanisms of pomegranate juice-induced anti-metastatic effect on prostate cancer cells. Integr. Biol. Quant. Biosci. Nano Macro 3, 742–754.

Wang, Y., Kreisberg, J.I., and Ghosh, P.M. (2007). Cross-talk between the androgen receptor and the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in prostate cancer. Curr. Cancer Drug Targets 7, 591–604.

Wannamethee, S.G., Lowe, G.D.O., Whincup, P.H., Rumley, A., Walker, M., and Lennon, L. (2002). Physical activity and hemostatic and inflammatory variables in elderly men. Circulation 105, 1785–1790.

Waris, G., and Ahsan, H. (2006). Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. J. Carcinog. 5, 14.

Warlick, C., Trock, B.J., Landis, P., Epstein, J.I., and Carter, H.B. (2006). Delayed versus immediate surgical intervention and prostate cancer outcome. J. Natl. Cancer Inst. 98, 355–357.

Wen, S., Niu, Y., Lee, S.O., and Chang, C. (2014). Androgen receptor (AR) positive vs negative roles in prostate cancer cell deaths including apoptosis, anoikis, entosis, necrosis and autophagic cell death. Cancer Treat. Rev. 40, 31–40.

Westermarck, J., and Kähäri, V.-M. (1999). Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion. FASEB J. 13, 781–792.

Weston, C.R., Balmanno, K., Chalmers, C., Hadfield, K., Molton, S.A., Ley, R., Wagner, E.F., and Cook, S.J. (2003). Activation of ERK1/2 by ΔRaf-1 : ER* represses Bim expression independently of the JNK or PI3K pathways. Oncogene 22, 1281–1293.

Windsor, P.M., Nicol, K.F., and Potter, J. (2004). A randomized, controlled trial of aerobic exercise for treatment-related fatigue in men receiving radical external beam radiotherapy for localized prostate carcinoma. Cancer 101, 550–557.

Winningham, M.L., and MacVicar, M.G. (1988). The effect of aerobic exercise on patient reports of nausea. Oncol. Nurs. Forum 15, 447–450.

Winningham, M.L., MacVicar, M.G., Bondoc, M., Anderson, J.I., and Minton, J.P. (1989). Effect of aerobic exercise on body weight and composition in patients with breast cancer on adjuvant chemotherapy. Oncol. Nurs. Forum 16, 683–689.

Wood, Z.A., Poole, L.B., and Karplus, P.A. (2003). Peroxiredoxin evolution and the regulation of hydrogen peroxide signaling. Science 300, 650–653.

Wu, Z.-H., and Miyamoto, S. (2007). Many faces of NF-kappaB signaling induced by genotoxic stress. J. Mol. Med. Berl. Ger. 85, 1187–1202.

Xia, Z., Dickens, M., Raingeaud, J., Davis, R.J., and Greenberg, M.E. (1995). Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis. Science 270, 1326–1331.

Xiao, H., Gwede, C.K., Kiros, G., and Milla, K. (2007). Analysis of prostate cancer incidence using geographic information system and multilevel modeling. J. Natl. Med. Assoc. 99, 218–225.

Xiao, L.-J., Lin, P., Lin, F., Liu, X., Qin, W., Zou, H.-F., Guo, L., Liu, W., Wang, S.-J., and Yu, X.-G. (2012). ADAM17 targets MMP-2 and MMP-9 via EGFR-MEK-ERK pathway activation to promote prostate cancer cell invasion. Int. J. Oncol. 40, 1714–1724.

Xu, B., Feng, N.-H., Li, P.-C., Tao, J., Wu, D., Zhang, Z.-D., Tong, N., Wang, J.-F., Song, N.-H., Zhang, W., et al. (2010). A functional polymorphism in Pre-miR-146a gene is associated with prostate cancer risk and mature miR-146a expression in vivo. The Prostate 70, 467–472.

Xylinas, E., Durand, X., Campeggi, A., Ploussard, G., Allory, Y., Vordos, D., Hoznek, A., De La Taille, A., Abbou, C.-C., and Salomon, L. (2011). Surveillance active du cancer de prostate ayant des critères de latence : les critères SURACAP sont-ils suffisants ? Prog. En Urol. 21, 264–269.

Yamamori, T., Yasui, H., Yamazumi, M., Wada, Y., Nakamura, Y., Nakamura, H., and Inanami, O. (2012). Ionizing radiation induces mitochondrial reactive oxygen species production accompanied by upregulation of mitochondrial electron transport chain function and mitochondrial content under control of the cell cycle checkpoint. Free Radic. Biol. Med. 53, 260–270.

Yang, J.-Y., Zong, C.S., Xia, W., Yamaguchi, H., Ding, Q., Xie, X., Lang, J.-Y., Lai, C.-C., Chang, C.-J., Huang, W.-C., et al. (2008). ERK promotes tumorigenesis by inhibiting FOXO3a via MDM2-mediated degradation. Nat. Cell Biol. 10, 138–148.

Yang, L., Xie, S., Jamaluddin, M.S., Altuwaijri, S., Ni, J., Kim, E., Chen, Y.-T., Hu, Y.-C., Wang, L., Chuang, K.-H., et al. (2005). Induction of androgen receptor expression by phosphatidylinositol 3-kinase/Akt downstream substrate, FOXO3a, and their roles in apoptosis of LNCaP prostate cancer cells. J. Biol. Chem. 280, 33558–33565.

Yasinska, I.M., Kozhukhar, A.V., and Sumbayev, V.V. (2004). S-nitrosation of thioredoxin in the nitrogen monoxide/superoxide system activates apoptosis signal-regulating kinase 1. Arch. Biochem. Biophys. 428, 198–203.

Yilmaz, M.I., Saglam, K., Sonmez, A., Gok, D.E., Basal, S., Kilic, S., Akay, C., and Kocar, I.H. (2004). Antioxidant system activation in prostate cancer. Biol. Trace Elem. Res. 98, 13–19.

Yin, D., Tamaki, N., Parent, A.D., and Zhang, J.H. (2005). Insulin-like growth factor-I decreased etoposide-induced apoptosis in glioma cells by increasing bcl-2 expression and decreasing CPP32 activity. Neurol. Res. 27, 27–35.

Yoshimoto, M., Cunha, I.W., Coudry, R.A., Fonseca, F.P., Torres, C.H., Soares, F.A., and Squire, J.A. (2007). FISH analysis of 107 prostate cancers shows that PTEN genomic deletion is associated with poor clinical outcome. Br. J. Cancer 97, 678–685.

Young-McCaughan, S. (2012). Potential for prostate cancer prevention through physical activity. World J. Urol. 30, 167–179.

Yu, H., and Rohan, T. (2000). Role of the insulin-like growth factor family in cancer development and progression. J. Natl. Cancer Inst. 92, 1472–1489.

Yu, S., Khor, T.O., Cheung, K.-L., Li, W., Wu, T.-Y., Huang, Y., Foster, B.A., Kan, Y.W., and Kong, A.-N. (2010). Nrf2 expression is regulated by epigenetic mechanisms in prostate cancer of TRAMP mice. PloS One 5, e8579.

Zacharewicz, E., Lamon, S., and Russell, A.P. (2013). MicroRNAs in skeletal muscle and their regulation with exercise, ageing, and disease. Front. Physiol. 4, 266.

Zeidan, Y.H., Pettus, B.J., Elojeimy, S., Taha, T., Obeid, L.M., Kawamori, T., Norris, J.S., and Hannun, Y.A. (2006). Acid Ceramidase but Not Acid Sphingomyelinase Is Required for Tumor Necrosis Factor-α-induced PGE2 Production. J. Biol. Chem. 281, 24695–24703.

Zhang, J., Johnston, G., Stebler, B., and Keller, E.T. (2001). Hydrogen peroxide activates NFkappaB and the interleukin-6 promoter through NFkappaB-inducing kinase. Antioxid. Redox Signal. 3, 493–504.

Zhang, J., Dhakal, I.B., Greene, G., Lang, N.P., and Kadlubar, F.F. (2010a). Polymorphisms in hOGG1 and XRCC1 and Risk of Prostate Cancer: Effects Modified by Plasma Antioxidants. Urology 75, 779–785.

Zhang, L., Altuwaijri, S., Deng, F., Chen, L., Lal, P., Bhanot, U.K., Korets, R., Wenske, S., Lilja, H.G., Chang, C., et al. (2009). NF-kappaB regulates androgen receptor expression and prostate cancer growth. Am. J. Pathol. 175, 489–499.

Zhang, X., Wang, Q., Neil, B., and Chen, X. (2010b). Effect of lycopene on androgen receptor and prostate-specific antigen velocity. Chin. Med. J. (Engl.) 123, 2231–2236.

Zhang, X., Tang, N., Hadden, T.J., and Rishi, A.K. (2011). Akt, FoxO and regulation of apoptosis. Biochim. Biophys. Acta 1813, 1978–1986.

Zhong, H., De Marzo, A.M., Laughner, E., Lim, M., Hilton, D.A., Zagzag, D., Buechler, P., Isaacs, W.B., Semenza, G.L., and Simons, J.W. (1999). Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha in common human cancers and their metastases. Cancer Res. 59, 5830–5835.

Zhuang, L., Lin, J., Lu, M.L., Solomon, K.R., and Freeman, M.R. (2002). Cholesterol-rich Lipid Rafts Mediate Akt-regulated Survival in Prostate Cancer Cells. Cancer Res. 62, 2227–2231.

Zhuang, L., Kim, J., Adam, R.M., Solomon, K.R., and Freeman, M.R. (2005). Cholesterol targeting alters lipid raft composition and cell survival in prostate cancer cells and xenografts. J. Clin. Invest. 115, 959–968.

Globocan 2012 - (http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx).

Institut Curie 2011 - (http://curie.fr/actualites/126-milliards-d%E2%80%99euros-cout-estime-cancer-europe-004693).

Annexes

Publications relatives au travail de thèse

Rebillard A, Lefeuvre-Orfila L, Gueritat J, Cillard J. Prostate cancer and physical activity: Adaptive response to oxidative stress. *Free Rad Biol Med.* 2013 Jul; 60: 115-24. IF=5,423

Gueritat J, Lefeuvre-Orfila L, Vincent S, Cretual A, Ravanat J.L, Gratas-Delamarche A, Rannou-Bekono F, Rebillard A. Exercise training combined with antioxidant supplementation prevents the anti-proliferative activity of single treatment in prostate cancer through inhibition of redox adaptation. *Free Rad Biol Med.* 2014 Sept. IF=5,423

Gueritat J, Martin B, Lefeuvre-Orfila L, Saligaut D, Rannou-Bekono F and Rebillard A. Physical exercise prevents human prostate cancer cells proliferation: molecular mechanisms involved. *Soumission prévue dans Cancer Prevention Research.*

Gueritat J, Gómez-Cabrera C, Serna E, Le Ferrec E, Viña J and Rebillard A. Physical exercise modulates microRNAs expression profile in animal prostate cancer tissue. *En cours d'écriture.*

Gueritat J, Chiavassa S, Noblet C, Assi M, Lefeuvre-Orfila L, Paris F and Rebillard A. Exercise training prevents human prostate tumor progression and enhances the efficacy of ionizing radiation in animal prostate cancer model. *En cours d'écriture.*

Communications en congrès internationaux

Gueritat J, Rannou-Bekono F, Delamarche A and Rebillard A. Effect of physical activity on human prostate cancer cells proliferation: involvement of oxidative stress? 20th International Congress on sports sciences for students, Budapest, 2012. *Communication orale*.

Gueritat J, Martin B, Lefeuvre-Orfila L, Saligaut D, Rannou-Bekono F and Rebillard A. Effect of physical activity on human prostate cancer cells proliferation: involvement of oxidative stress? 4th International symposium Redox signaling and oxidative stress, Valencia, 2012. *Poster commenté.*

Gueritat J , Lefeuvre-Orfila L, Vincent S, Delamarche A, Rannou-Bekono F and Rebillard A. Involvement of oxidative stress in prostate cancer progression : a preventive effect of physical activity and/or pomegranate juice ? Congrès de la SFRR, Paris, 2013. *Poster commenté.*

Gueritat J , Lefeuvre-Orfila L, Vincent S, Delamarche A, Rannou-Bekono F and Rebillard A. Involvement of oxidative stress in prostate cancer progression : a preventive effect of physical activity and/or pomegranate juice ? 18th Annual ECSS Congress, Barcelona, 2013. *Communication orale*.

- **Expérimentation animale de niveau 1**
- Optimiser sa recherche d'informations dans le domaine biomédical
- Mettre en place un système de veille scientifique efficace
- Maitrise de l'information scientifique
- Table ronde de l'école Doctorale VAS
- Forum docteurs et entreprises
- Management de projet
- Encadrement d'équipe. communication et conduite de projet
- Communication scientifique en français et anglais

Résumé

Le cancer de la prostate est un problème de santé publique majeur. L'exercice physique régulier fait désormais partie des moyens bien décrits pour améliorer la qualité de vie des patients atteints de cancer. Une activité physique quotidienne est donc recommandée pendant et après le traitement. Toutefois, aucune étude ne s'est intéressée aux interactions potentielles entre l'exercice physique, la consommation d'antioxydants et la radiothérapie. L'absence de connaissances sur les mécanismes moléculaires associés à ces stratégies connues pour moduler le stress oxydant, un facteur crucial dans l'évolution de la carcinogenèse prostatique, soulève aujourd'hui une question majeure : l'exercice physique influence-t-il la progression tumorale ? Les objectifs de ce travail de thèse étaient de déterminer les effets de l'exercice physique, combinée ou non à d'autres stratégies, sur la progression du cancer de la prostate et d'identifier des mécanismes moléculaires notamment redox-sensibles impliqués dans ces effets. En s'appuyant sur différentes études *in vitro* et *in vivo*, nos travaux ont mis en évidence que l'exercice physique prévient la progression du cancer de la prostate via la régulation du statut redox et de voies de signalisation redox-dépendantes, ou via une modulation de la cholestérolémie ou encore du profil d'expression des miRNAs. Nos travaux démontrent également que l'exercice physique associé à la prise d'antioxydants alimentaires inhibe les effets antiprolifératifs de ces stratégies isolées, et inversement, que l'exercice physique potentialise l'efficacité de la radiothérapie. **Mots-clés :** cancer de la prostate, exercice physique, radiothérapie, stress oxydant, miARN, voies de signalisation.

Abstract

Prostate cancer is a major public health problem. It has now been widely recognized that regular physical exercise improves the quality of life of cancer patients. Thirty minutes of physical activity a day is recommended during and after treatment. However, potential interactions of physical exercise, dietary antioxidant intake and radiotherapy have not yet been studied. The lack of knowledge on molecular mechanisms associated with these strategies known to modulate oxidative stress, a key factor in prostate cancer evolution, raises a question: does physical exercise influence the efficiency of patient management and tumor evolution? The objectives of this work was to determine the effects of physical exercise, combined or not with others strategies, on prostate cancer progression and to identify redox sensitive-molecular mechanisms involved in these effects. We used different *in vitro* and *in vivo* approaches to achieve these aims. Our researches underline the essential role of physical exercise in prevention of prostate tumor progression, through a redox state and signaling pathways regulation, but also through a modulation of cholesterol levels or miRNA expression profiles. We also demonstrate that physical exercise associated to dietary antioxidant consumption limits anti-proliferative effects of these isolated treatments. Inversely, we reported that regular physical exercise enhances radiotherapy efficiency. **Key words**: prostate cancer, physical exercise, radiotherapy, oxidative stress, miRNA, signaling pathways.