



HAL
open science

Étude des facteurs pronostiques cliniques, biologiques et moléculaires du carcinome rénal métastatique traité par thérapies ciblées

François-Xavier Nouhaud

► **To cite this version:**

François-Xavier Nouhaud. Étude des facteurs pronostiques cliniques, biologiques et moléculaires du carcinome rénal métastatique traité par thérapies ciblées. Médecine humaine et pathologie. 2014. dumas-01059520

HAL Id: dumas-01059520

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01059520>

Submitted on 1 Sep 2014

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.

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN

ANNEE 2014

N°

**THESE POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE**

Diplôme d'état

PAR

NOUHAUD François-Xavier

NE LE 1 JUIN 1984 À LIMOGES

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 25 AVRIL 2014

**Etude des facteurs pronostiques cliniques,
biologiques et moléculaires du carcinome rénal
métastatique traité par thérapies ciblées**

Président de Jury : M. le Professeur C. Pfister

Directeur de thèse : M. le Docteur F. Di Fiore

Membres du Jury : M. le Professeur P. Grise
M. le Professeur J.C. Sabourin

ANNÉE UNIVERSITAIRE 2013 - 2014
U.F.R. DE MÉDECINE-PHARMACIE DE ROUEN

DOYEN : Professeur Pierre **FREGER**

ASSESEURS : Professeur Michel **GUERBET**
Professeur Benoit **VEBER**
Professeur Pascal **JOLY**

DOYENS HONORAIRES : Professeurs J. **BORDE** - Ph. **LAURET** - H. **PIGUET** - C. **THUILLEZ**

PROFESSEURS HONORAIRES : MM. M.-P. **AUGUSTIN** - J. **ANDRIEU-GUITRANCOURT** - M. **BENOZIO** - J. **BORDE** - Ph. **BRASSEUR** - R. **COLIN** - E. **COMOY** - J. **DALION** - **DESHAYES** - C. **FESSARD** - J.-P. **FILLASTRE** - P. **FRIGOT** - J. **GARNIER** - J. **HEMET** - B. **HILLEMAND** - G. **HUMBERT** - J.-M. **JOUANY** - R. **LAUMONIER** - Ph. **LAURET** - M. **LE FUR** - J.-P. **LEMERCIER** - J.-P. **LEMOINE** - Mlle **MAGARD** - MM. B. **MAITROT** - M. **MAISONNET** - F. **MATRAY** - P. **MITROFANOFF** - Mme A.-M. **ORECCHIONI** - MM. P. **PASQUIS** - H. **PIGUET** - M. **SAMSON** - Mme **SAMSON-DOLLFUS** - MM. J.-C. **SCHRUB** - R. **SOYER** - B. **TARDIF** - J. **TESTART** - J.M. **THOMINE** - C. **THUILLEZ** - P. **TRON** - C. **WINCKLER** - L.-M. **WOLF**

I - MÉDECINE

PROFESSEURS

M. Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN	Chirurgie Plastique
M. Bruno BACHY (<i>Surnombre</i>)	HCN	Chirurgie pédiatrique
M. Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. Jacques BENICHOU	HCN	Biostatistiques et informatique médicale
M. Jean-Paul BESSOU	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme Françoise BEURET-BLANQUART (<i>Sur.</i>)	CRMPR	Médecine physique et de réadaptation
M. Guy BONMARCHAND	HCN	Réanimation médicale
M. Olivier BOYER	UFR	Immunologie
M. Jean-François CAILLARD (<i>Surnombre</i>)	HCN	Médecine et santé au Travail

M. François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
M. Philippe CHASSAGNE	HB	Médecine interne (Gériatrie)
M. Vincent COMPÈRE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
M. Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie
M. Pierre CZERNICHOW	HCH	Epidémiologie, économie de la santé
M. Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et Imagerie Médicale
M. Stéfan DARMONI	HCN	Informatique Médicale/Techniques de communication
M. Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mme Danièle DEHESDIN (<i>Surnombre</i>)	HCN	Oto-Rhino-Laryngologie
M. Jean DOUCET	HB	Thérapeutique/Médecine - Interne - Gériatrie.
M. Bernard DUBRAY	CB	Radiothérapie
M. Philippe DUCROTTE	HCN	Hépatologie - Gastro - Entérologie
M. Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie Orthopédique - Traumatologique
M. Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
M. Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
M. Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
M. Pierre FREGER	HCN	Anatomie/Neurochirurgie
M. Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et Santé au Travail
M. Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie Médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
M. Michel GODIN	HB	Néphrologie
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
M. Philippe GRISE	HCN	Urologie
M. Didier HANNEQUIN	HCN	Neurologie
M. Fabrice JARDIN	CB	Hématologie
M. Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
M. Pascal JOLY	HCN	Dermato - vénéréologie
M. Jean-Marc KUHN	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie cytologie pathologiques
M. Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
M. Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
M. Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
M. Thierry LEQUERRE	HB	Rhumatologie
M. Eric LEREBOURS	HCN	Nutrition
Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
M. Hervé LEVESQUE	HB	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
M. Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie Cardiaque
M. Bertrand MACE	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique

M. David MALTETE	HCN	Neurologie
M. Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle MARIE	HB	Médecine Interne
M. Jean-Paul MARIE	HCN	ORL
M. Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - obstétrique
M. Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE	HCN	Epidémiologie
M. Pierre MICHEL	HCN	Hépto - Gastro - Entérologie
M. Francis MICHOT	HCN	Chirurgie digestive
M. Bruno MIHOUT (<i>Surnombre</i>)	HCN	Neurologie
M. Jean-François MUIR	HB	Pneumologie
M. Marc MURAINÉ	HCN	Ophthalmologie
M. Philippe MUSETTE	HCN	Dermatologie - Vénérologie
M. Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
M. Jean-Marc PERON	HCN	Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale
M. Christian PFISTER	HCN	Urologie
M. Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
M. Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
M. Bernard PROUST	HCN	Médecine légale
M. François PROUST	HCN	Neurochirurgie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie et médecine du dévelpt. et de la repro.
M. Jean-Christophe RICHARD (<i>Mise en dispo.</i>)	HCN	Réanimation Médicale, Médecine d'urgence
M. Horace ROMAN	HCN	Gynécologie Obstétrique
M. Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie – Pathologie
M. Guillaume SAVOYE	HCN	Hépto – Gastro
Mme Céline SAVOYE-COLLET	HCN	Imagerie Médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie
M. Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Thérapeutique
Mme Florence THIBAUT	HCN	Psychiatrie d'adultes
M. Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
M. Christian THUILLEZ	HB	Pharmacologie
M. Hervé TILLY	CB	Hématologie et transfusion
M. François TRON (<i>Surnombre</i>)	UFR	Immunologie
M. Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
M. Jean-Pierre VANNIER	HCN	Pédiatrie génétique
M. Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie Réanimation chirurgicale
M. Pierre VERA	CB	Biophysique et traitement de l'image
M. Eric VERIN	CRMPR	Médecine physique et de réadaptation
M. Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique

M. Olivier VITTECOQ	HB	Rhumatologie
M. Jacques WEBER	HCN	Physiologie

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
M. Jeremy BELLIEN	HCN	Pharmacologie
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
M. Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Physiologie
Mme Sophie CLAEYSSSENS	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
M. Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
M. Stéphane DERREY	HCN	Neurochirurgie
M. Eric DURAND	HCN	Cardiologie
M. Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
M. Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
M. Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
M. Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie Cellulaire
M. Thomas MOUREZ	HCN	Bactériologie
M. Jean-François MENARD	HCN	Biophysique
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et Biologie moléculaire
M. Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
M. Francis ROUSSEL	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
M. Pierre Hugues VIVIER	HCN	Imagerie Médicale

PROFESSEURS AGRÉGÉS OU CERTIFIÉS

Mme Dominique LANIEZ	UFR	Anglais
Mme Cristina BADULESCU	UFR	Communication

II - PHARMACIE

PROFESSEURS

M. Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
M. Jean-Jacques BONNET	Pharmacologie
M. Roland CAPRON (PU-PH)	Biophysique
M. Jean COSTENTIN (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
M. Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
M. Jean Pierre GOULLE	Toxicologie
M. Michel GUERBET	Toxicologie
M. Olivier LAFONT	Chimie organique
Mme Isabelle LEROUX	Physiologie
M. Paul MULDER	Sciences du médicament
Mme Martine PESTEL-CARON (PU-PH)	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
M. Rémi VARIN (PU-PH)	Pharmacie Hospitalière
M. Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
M. Philippe VERITE	Chimie analytique

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mme Dominique BOUCHER	Pharmacologie
M. Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
M. Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
M. Jean CHASTANG	Biomathématiques
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elisabeth CHOSSON	Botanique
Mme Cécile CORBIERE	Biochimie

M. Eric DITTMAR	Biophysique
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUC	Pharmacologie
M. Abdelhakim ELOMRI	Pharmacognosie
M. François ESTOUR	Chimie Organique
M. Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla GHARBI	Chimie analytique
Mme Marie-Laure GROULT	Botanique
M. Hervé HUE	Biophysique et Mathématiques
Mme Laetitia LE GOFF	Parasitologie Immunologie
Mme Hong LU	Biologie
Mme Sabine MENAGER	Chimie organique
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
M. Mohamed SKIBA	Pharmacie Galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie Galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
M. Frédéric ZIEGLER	Biochimie

PROFESSEUR CONTRACTUEL

Mme Elizabeth DE PAOLIS	Anglais
--------------------------------	---------

ATTACHÉS TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

M. Imane EL MEOUCHE	Bactériologie
Mme Juliette GAUTIER	Galénique
M. Romy RAZAKANDRAINIBE	Parasitologie

III - MÉDECINE GÉNÉRALE

PROFESSEUR

M. Jean-Loup **HERMIL** UFR Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIÉS À MI-TEMPS

M. Pierre **FAINSILBER** UFR Médecine générale

M. Alain **MERCIER** UFR Médecine générale

M. Philippe **NGUYEN THANH** UFR Médecine générale

MAÎTRE DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS À MI-TEMPS :

M. Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine générale

Mme Elisabeth **MAUVIARD** UFR Médecine générale

Mme Marie Thérèse **THUEUX** UFR Médecine générale

Mme Yveline **SERVIN** UFR Médecine Générale

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS-GUILLAUME

CB - Centre HENRI BECQUEREL

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation

LISTE DES RESPONSABLES DE DISCIPLINE

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
M. Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
M. Roland CAPRON	Biophysique
M. Jean CHASTANG	Mathématiques
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation, Economie de la Santé
Mme Elisabeth CHOSSON	Botanique
M. Jean-Jacques BONNET	Pharmacodynamie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
M. Loïc FAVENNEC	Parasitologie
M. Michel GUERBET	Toxicologie
M. Olivier LAFONT	Chimie organique
Mme Isabelle LEROUX-NICOLLET	Physiologie
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
M. Mohamed SKIBA	Pharmacie Galénique
M. Philippe VERITE	Chimie analytique

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

M. Sahil ADRIOUCH	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
--------------------------	---

Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
--------------------------------------	---

Mme Carine CLEREN	Neurosciences (Néovasc)
--------------------------	-------------------------

Mme Pascaline GAILDRAT	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
-------------------------------	---

M. Antoine OUVRARD-PASCAUD	Physiologie (Unité Inserm 1076)
-----------------------------------	---------------------------------

Mme Isabelle TOURNIER	Biochimie (UMR 1079)
------------------------------	----------------------

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

M. Serguei FETISSOV	Physiologie (Groupe ADEN)
----------------------------	---------------------------

Mme Su RUAN	Génie Informatique
--------------------	--------------------

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérés comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Christian PFISTER,

Vous avez su entendre mon souhait de m'orienter vers la cancérologie urologique et vous m'avez fait confiance pour m'initier à la recherche dans ce domaine. Vous m'avez ainsi permis d'élargir ma vision de notre spécialité. Vous êtes à l'origine de ce travail de thèse autour de la thématique du cancer du rein. Grâce à votre disponibilité et à votre soutien infaillible, mener à bien ce projet à vos côtés m'a énormément apporté, si bien que je souhaite pouvoir poursuivre ces travaux et n'en être qu'au début. Etre votre élève est une grande fierté. Vous me faites l'honneur de présider ce Jury. Je vous en remercie. Trouvez dans ce travail l'expression de ma reconnaissance et de ma profonde admiration.

A Monsieur le Professeur Philippe GRISE,

Travailler à vos côtés est une chance tant votre sens clinique et vos qualités chirurgicales sont sources de respect. La confiance que vous avez su me témoigner tout au long de mon internat en me confiant plusieurs travaux a contribué à me faire aller de l'avant. Je n'oublierai pas votre générosité. Vous me faites l'honneur de juger ce travail. Je vous en remercie. Trouvez dans cette thèse l'expression de ma gratitude et de mon profond respect.

A Monsieur le Docteur Frédéric DI FIORE,

Tu me fais l'honneur de diriger mes travaux de recherche depuis bientôt trois ans et je t'en remercie. Tu as su par ton écoute mettre la discussion au centre du travail pour rendre constructives les réunions et ainsi valoriser les idées. Ta disponibilité et ton soutien indéfectible me permettent aujourd'hui de présenter cette thèse qui est le fruit de notre collaboration.

A Monsieur le Professeur Jean-Christophe SABOURIN,

Vous m'avez fait l'honneur de m'accueillir pendant un an au sein de votre laboratoire. Cette année passée chez vous dans le cadre de mon Master 2 est à l'origine des travaux présentés dans cette thèse. Trouvez dans ce travail, l'expression de mon respect et de ma profonde gratitude.

A ma femme, Emmanuelle,

Merci d'être présente chaque jour à mes côtés, ton soutien de chaque instant et l'amour que tu me portes rendent tout bien plus facile.

A Baptiste,

Tu es ma plus grande fierté.

A mes Parents,

Vous m'avez permis d'être ce que je suis. Toi Maman en me transmettant ton expérience des sciences et toi Papa en me faisant découvrir la médecine. Soyez assurés de tout mon amour.

A ma sœur, Elsa,

Je sais que je peux toujours compter sur toi. Merci pour ta gentillesse et ta générosité.

A mes grands parents, Gaby, Jeannot, Colette, Jojo,

Votre soutien inconditionnel est admirable, vous ne m'avez apporté que du bonheur, je suis fier d'être votre petit fils.

A ma formidable belle famille,

Mes beaux parents, Michelle et Michel. Mes beaux frères et sœurs, Thomas et Camille, Florent et Laetitia, Lucile. Mes neveux. Merci de l'affection que vous me témoignez.

A mes amis,

A Limoges, Rouen et ailleurs : toujours là.

Au service d'Urologie de Rouen :

Monsieur le Professeur Louis SIBERT, vos conseils avisés, votre humour et votre disponibilité m'ont permis de toujours apprendre dans la bonne humeur à vos côtés.

Aux chefs : Romain C., Simon, Hubert, Latifa, Baptiste, Médhi.

A Emeric (rendez vous au 34), John (pas mal ta Modus...), David (un Rouennais ! un vrai !), Guillaume (t'oublieras pas les comptes rendus en ped), Erwann (c'était comment la traversée de la Suède en bus à 3h00 ?), Romain B (et bon courage), Nico (promis le deuxième s'appellera pas Augustin), Benoit (lits séparés la prochaine fois...), Mickaël (à bientôt à Toulouse), Athman (on se refait une petite formation ensemble ?), Isma (C'est comment de l'autre côté du périph ?), Julien D, Housseem, Haroun, Claire, Alexandre, Laure...

A Claudine, toujours là pour les internes.

A l'équipe du Laboratoire de Génétique Somatique des Tumeurs et de l'unité Inserm U 1079, pour m'avoir accueilli au sein de leur équipe et initié aux travaux de laboratoire. Pour leur aide précieuse : France Blanchard, Aude Lamy, Richard Sesboüé (pour les amorces et les tableaux Excel) Jean-Michel Flamand (pour la CGH).

Au service d'Urologie de Caen :

Monsieur le Professeur Bensadoun, merci pour votre accueil chaleureux au cours de mon passage dans votre service.

A Sophie LG, Sophie LT et Arnaud D.

Aux co-internes Caennais : Charles, Julie et Zelda

Aux chirurgiens qui m'ont formé et transmis leur passion :

Fabrice Dugardin, Emmanuel Goulet, Jean-Marc Baste, Benoît Lefebure, Gerald Del Gallo, Bertrand Pech de Laclause...

A mes co-interne gynécologues et de digestif, vasculaire et radiothérapie :

Julien C, Rachid, Edouard, Laurence, Nico LD, Dan, Maria, Gauthier, Laure, Zaza, Antoine, Marie, Leslie, Joumana, Thierry, Albane, Laureline, Charles et Lucie.

A mes amis d'internat :

Adrien (Bernard), Julien, Léna, Sophie, Anais, Nathalie, Alice, Karine, Emmanuelle, Julie, Amélie, Vincent, Azad et tous les autres, merci pour les bons moments passés ensemble et à venir !

SOMMAIRE

1. <u>Introduction</u>	1
2. <u>Contexte et Rationnel de l'Etude</u>	3
2.1. Cancer du Rein : Généralités	3
2.1.1. Epidémiologie	3
2.1.2. Facteurs de risque	3
2.1.3. Formes héréditaires	4
2.1.4. Histologie du cancer du rein	6
2.1.5. Classification TNM du cancer du rein	7
2.2. Cancer du Rein : Diagnostic	8
2.2.1. Diagnostic	8
2.2.2. La place de la biopsie dans la prise en charge d'une tumeur du rein	8
2.2.3. Place de l'imagerie dans la prise en charge du CCR	8
2.3. Cancer du Rein : Traitement	10
2.3.1. Traitement du cancer du rein localisé (T1-T2, N0, M0)	10
2.3.1.1. <i>Tumeurs < 4 cm</i>	10
2.3.1.2. <i>Tumeurs > 4 cm</i>	12
2.3.2. Traitement des cancers localement avancés (T3-T4, N0-N2, M0)	12
2.3.3. Traitement du cancer du rein métastatique	12
2.3.3.1. <i>Place de la néphrectomie pour le CCR d'emblée métastatique</i>	13
2.3.3.2. <i>Place de la chirurgie des métastases</i>	13
2.3.3.3. <i>Traitement médical du cancer du rein métastatique</i>	13
2.4. Cancer du Rein : Facteurs et Scores Pronostiques	16
2.4.1. Les facteurs pronostiques connus	16
2.4.1.1. <i>Facteurs anatomiques</i>	16
2.4.1.2. <i>Facteurs histologiques</i>	16
2.4.1.3. <i>Facteurs cliniques et biologiques</i>	17
2.4.1.4. <i>Facteurs moléculaires</i>	17
2.4.2. Les scores pronostiques et nomogrammes	17
2.4.2.1. <i>Cancer du rein localisé</i>	18
2.4.2.2. <i>Cancer du rein métastatique</i>	18
2.4.3. Intérêt en pratique : les recommandations	19
2.4.3.1. <i>Recommandations</i>	19
2.4.3.2. <i>Objectifs de recherche</i>	19
2.5. Cancer du Rein : Carcinogénèse et Génétique Tumorale	20
2.5.1. Les voies de signalisations impliquées dans le cancer du rein	21
2.5.1.1. <i>La voie VHL/HIF/VEGF</i>	21
2.5.1.2. <i>La Voie PI3K/AKT/mTOR</i>	23
2.5.1.3. <i>Les voies de L'EGF et des MAP Kinases</i>	24

2.5.1.4. <i>Implications cliniques : Les thérapies ciblées et leurs cibles</i>	24
2.5.2. Les principales altérations moléculaires du cancer du rein	25
2.5.2.1. <i>Les altérations génomiques</i>	25
2.5.2.1.1. Altérations génomiques quantitatives (AGQ)	25
2.5.2.1.2. Les mutations	27
2.5.2.1.3. Les polymorphismes nucléotidiques (SNPs)	27
2.5.2.2. <i>Les altérations épigénétiques</i>	27
2.5.2.2.1. Méthylation de l'ADN	27
2.5.2.2.2. Micro ARN (miARN)	27
2.5.3. Les principales méthodes d'exploration des AGQ	28
2.5.3.1. <i>Les méthodes ciblées</i>	28
2.5.3.2. <i>Les méthodes pangénomiques</i>	28
2.5.3.3. <i>QMPSF</i>	28
2.6. Rationnel de l'Etude	30
3. <u>Objectifs</u>	32
4. <u>Matériel et Méthodes</u>	33
4.1. Population de l'Etude	33
4.2. Evaluation des Facteurs Clinico-Biologiques	35
4.3. Analyse Moléculaire	36
4.3.1. Echantillons de l'étude	36
4.3.2. QMPSF	36
4.3.3. CGH	39
4.4. Analyse Statistique	40
5. <u>Résultats</u>	42
5.1. Caractéristiques de la Population	42
5.2. Impact de la Toxicité et de la Fonction Rénale	45
5.2.1. Etude descriptive de la toxicité et la fonction rénale	45
5.2.2. Etude de l'impact pronostique : analyse de survie	48
5.3. Impact de l'Age	51
5.3.1. Caractéristique des patients	51
5.3.2. Tolérance du traitement	51
5.3.3. Etude de survie	53
5.4. Etude des Facteurs Pronostiques en Deuxième Ligne de TC	54
5.4.1. Caractéristiques des patients traités en deuxième ligne de TC	54
5.4.2. Etude de survie et des facteurs pronostiques	56
5.5. Analyse Moléculaire	59
5.5.1. Patients Inclus dans l'Analyse Moléculaire	59
5.5.2. Résultats de la QMPSF	61
5.5.3. Série de Validation par CGH	64
5.5.4. Etude Clinique Préliminaire	65

6. <u>Discussion</u>	67
6.1. Impact de la Toxicité Induite et de la Fonction Rénale	67
6.2. Impact de l'Age	72
6.3. Etude des Facteurs Pronostiques en Deuxième Ligne de TC	74
6.4. Analyse Moléculaire	75
7. <u>Conclusion</u>	83
8. <u>Références</u>	84

Liste des abréviations utilisées dans le texte

AFU	Association Française d'Urologie
AGQ	Altération génomique quantitative
ARN	Acide Ribo Nucléique
ARNm	ARN Messenger
CCR	Carcinome à Cellules Rénales
CCRcc	Carcinome à Cellules Rénales à Cellules Claires
CGH	Hybridation Génomique Comparative
CRM	Cancer du rein métastatique
DFG	Débit de filtration glomérulaire
EAU	European Association of Urology
EGF	Epidermal Growth Factor
FISH	Hybridation In Situ par Fluorescence
HIF	Hypoxia Inducible Factor
HR	Hazard ratio
IC	Intervalle de confiance
IRM	Imagerie par résonance magnétique
LDH	Lactate déshydrogénase
LNI	Limite normale inférieure
LNS	Limite normale supérieure
MAPK	Mitogen Associated Protein Kinase
MDRD	Modification diet renal disease
miARN	Micro Acide Ribo Nucléique
MSKCC	Memorial Sloan-Kettering Cancer Center
MSKCC	Memorial Sloan-Kettering Cancer Center
mTI	Inhibiteur de mTOR
mTOR	Mammalian Target of Rapamicine
mTORC1	Complexe mTOR 1
ng	Nanogramme
OR	Odds ratio
PCR	Polymerase chain reaction
Pdb	Paires de bases
PDGF β	Platelet Derived Growth Factor B
PDGF β R	Platelet Derived Growth Factor B Receptor
PI3K	Phospho Inositide 3 Kinase
PNN	Polynucléaires neutrophiles
pTEN	Phosphatase and tensine homolog
pVHL	Protéine VHL
QMPSF	Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments
RECIST	Response Evaluation Criteria In Solid Tumor
RECIST	Response Evaluation Criteria In Solid Tumor
SG	Survie globale
SNPs	Polymorphisme nucléotidique

SSP	Survie sans progression
TC	Thérapies Ciblées
TDM	Tomodensitométrie
TGF α	Transforming Growth Factor α
TKI	Inhibiteur de tyrosine kinase
T _m	Température de fusion
TN	Tissu normal
TT	Tissu tumoral
UICC	Union for International Cancer Control
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor
VHL	von Hippel-Lindau
μ L	Microlitre

1. INTRODUCTION

Le cancer du rein métastatique (CRM) est historiquement l'une des tumeurs les plus difficile à traiter (1). En effet, la chirurgie de réduction tumorale ainsi que la radiothérapie ou la chimiothérapie ont une efficacité limitée voire nulle (1-3). Avant 2006 un traitement par immunothérapie utilisant l'interféron et l'interleukine 2 était proposé aux patients. Ces molécules ne présentaient qu'une efficacité clinique relativement faible et fréquemment accompagnée d'une mauvaise tolérance, que cela soit par voie sous cutanée ou intra veineuse (1). Si depuis 2006, l'émergence des thérapies ciblées (TC) a radicalement modifié la prise en charge de ces patients, le traitement du CRM n'en demeure pas moins complexe. En effet, il reste communément admis qu'à ce jour l'utilisation des TC n'est pas optimale, notamment du fait de l'absence de marqueur prédictif validé permettant de guider l'utilisation de ces molécules (4). Ainsi, les recommandations actuelles se basent sur l'utilisation de scores classiques tel que celui du *Memorial Sloan-Kettering Cancer Center* (MSKCC) (5-7). Or, ces facteurs pronostiques définis à partir de populations sélectionnées dans le cadre d'essais cliniques sont pour la plupart antérieurs aux TC, car initialement développés pour des patients traités par immunothérapies (2,5,8,9). Aussi, compte tenu du nombre de molécules de TC, et de leur utilisation séquentielle qui est désormais devenue le standard pour le traitement du CRM, la mise en évidence de facteurs pronostiques spécifiques apparaît nécessaire pour optimiser la prise en charge des patients (4). Dans ce contexte, la recherche de marqueurs moléculaires et de marqueurs cliniques demeure une priorité aujourd'hui (9-11). Concernant les études focalisées sur la mise en évidence de facteurs cliniques, de récents travaux ont rapporté l'association possible entre la survenue des principales toxicités (cutanée, cardiovasculaire, digestive et asthénie) et l'efficacité des traitements par sunitinib et sorafenib (12-15). L'étude du rapport entre l'efficacité et les toxicités induites des thérapies ciblées apparaît en effet intéressante pour d'une part, améliorer la connaissance et la gestion des

effets secondaires et pour d'autre part, évaluer de nouvelles stratégies thérapeutiques en fonction des toxicités observées. Cette notion de toxicité soulève également la question du traitement du CRM chez les patients plus fragiles comme les sujets âgés ou les patients ayant une insuffisance rénale. En effet, peu de données sont disponibles pour ces patients quant à l'efficacité et la tolérance du traitement, ni sur d'éventuelles modalités spécifiques d'utilisation des TC (16,17).

Concernant la recherche de marqueurs moléculaires, plusieurs travaux récents ont montré que les mécanismes et les altérations moléculaires impliqués dans la carcinogenèse du cancer du rein pouvaient être multiples, avec pour certains, un impact pronostique potentiel (18). Cependant, les études se sont concentrées sur des populations hétérogènes de patients traités pour un cancer du rein, qu'il soit métastatique ou non. Aussi, à notre connaissance, les données concernant les patients métastatiques traités par TC sont rares.

Nous proposons dans le cadre de ce travail d'étudier les facteurs pronostiques cliniques biologiques, et moléculaires au sein d'une population de patients traités par thérapies ciblées pour un CRM.

Pour cela, nous avons organisé notre travail selon quatre axes d'étude, explorant:

- 1- L'impact de la toxicité induite par les TC sur le pronostic, et l'impact d'une insuffisance rénale sur la tolérance des TC et la survie**
- 2- L'impact de l'âge sur la survie et la tolérance du traitement par TC**
- 3- Les facteurs pronostiques en deuxième ligne de TC**
- 4- Une analyse moléculaire permettant l'identification et l'étude de l'impact clinique potentiel des altérations génomiques quantitative (AGQ) présentes sur plusieurs gènes d'intérêt**

2. CONTEXTE ET RATIONNEL DE L'ETUDE

2.1. CANCER DU REIN : GENERALITES

2.1.1. Epidémiologie

Dans le monde, le cancer du rein ou carcinome à cellules rénales (CCR) représente environ 3% de l'ensemble des tumeurs malignes de l'adulte avec une incidence de 271 000 nouveaux cas en 2008 (13^{ème} rang des cancers) **(19)**. En France, selon les données de l'Institut National du Cancer, l'incidence du CCR était de 11080 nouveaux cas pour 3840 décès en 2011 ce qui le place au 6^{ème} rang des cancers, et 7^{ème} rang des causes de mortalité par cancer **(20)**. Le sexe ratio est de 2,5 hommes pour une femme. L'âge moyen au diagnostic est respectivement de 67 ans chez la femme et de 65 ans chez l'homme, tandis que celui au décès est de 75 ans et 71 ans **(20)**. En ce qui concerne le pronostic du cancer du rein, la survie spécifique globale, tous stades confondus est estimée à 79% à 1 an et 62% à 5 ans.

La forme métastatique du cancer du rein est fréquente avec notamment 25% à 30% de patients métastatiques d'emblée **(1)**. De plus, 10 à 30% des patients traités pour un CCR localisé ont un risque d'évolution métastatique lors de la surveillance, le délai moyen de survenue des métastases étant alors de 36 mois **(21)**. Le pronostic du CRM est sombre. Selon la classification pronostique du MSKCC, qui est la plus communément employée, la médiane de survie globale (SG) des patients présentant un CRM est de 20 à 24 mois pour les patients considérés de bon pronostic contre 5 à 6 mois pour le groupe de mauvais pronostic **(5)**.

2.1.2. Facteurs de risque

Bien que leurs impacts soient modérés, plusieurs facteurs de risque de développer un cancer du rein ont été identifiés.

-**Le tabac** est le facteur de risque le plus documenté. Le risque relatif des fumeurs est de 1,54 chez l'homme et de 1,22 chez la femme **(22)**. Ce risque apparait dose dépendant : en

effet, chez les patients fumant plus de 20 cigarettes par jour, le risque relatif est de 2,03 chez l'homme et de 1,58 chez la femme. Ce risque diminuerait après l'arrêt de l'intoxication tabagique tout en restant supérieur à celui des non-fumeurs pendant 20 ans **(19,20)**.

-**L'obésité** a également été identifiée comme un facteur de risque de CCR, en particulier chez la femme. En effet, le risque augmente avec l'indice de masse corporel : tout les 5kg/m², le risque relatif augmente de 1,21 chez l'homme et de 1,34 chez la femme **(19,20)**.

-**Certaines pathologies** ont également été décrites comme à risque de CCR : Les patients présentant une hypertension artérielle sont plus à risque de développer un CCR. Souvent incriminés, les traitements anti hypertenseurs n'ont pas été retrouvés comme facteurs de risque indépendant dans les études les plus récentes **(22)**. Le rôle du diabète de type 2, associé à une augmentation du risque pour certains cancers n'est pas clairement établi pour le CCR, tout comme les antécédents d'infection du tractus urinaire **(19)**. Les pathologies rénales sont à risque accru de CCR, notamment les patients présentant une insuffisance rénale chronique terminale. Ainsi, les patients hémodialysés ont un risque relatif 3 à 10 fois supérieur à celui de la population générale. Bien que la physiopathologie sous jacente demeure mal élucidée, la dysplasie rénale multikystique apparait comme la principale cause identifié **(6)**. Ce risque est corrélé avec la durée de la période d'hémodialyse **(19,22)**. Enfin les patients greffés rénaux ont un risque de développer un cancer du rein natif équivalent à celui des patients dialysés.

L'Association Européenne d'Urologie (EAU) recommande donc en prévention primaire du cancer du rein de lutter contre le tabagisme et l'obésité **(7)**.

2.1.3. Formes héréditaires

Si la majorité des CCR sont d'origines sporadiques, 2 à 3% de ces cancers ont une

origine héréditaire. L'identification des patients présentant un CCR d'origine héréditaire est essentielle pour mettre en place une prise en charge adaptée, ainsi qu'un dépistage pour les apparentés si celui-ci s'avère nécessaire.

Les tumeurs héréditaires surviennent le plus souvent 20 à 30 ans plus tôt que les tumeurs sporadiques et sont plus fréquemment multifocales ou bilatérales. Une dizaine d'affections génétiques de transmission autosomique dominante ont été clairement identifiées à ce jour (6).

Parmi elles, 4 affections principales, prédisposent à 4 types histologiques de CCR différents,

Tableau 1.

Tableau 1 : Principales prédispositions héréditaires au cancer rénal de l'adulte

Affection	Gène	Fréquence et type de tumeur rénale	Autres manifestations cliniques
Maladie de von Hippel-Lindau	<i>VHL</i> 3p25-26	40-70% Carcinomes à cellules claires	Hémangioblastomes du SNC et de la rétine, kystes et tumeurs endocrines du pancréas, phéochromocytome, tumeurs du sac endolymphatique, cystadénome de l'épididyme
Cancer rénal papillaire héréditaire	<i>MET</i> 7q31	50-67% Carcinomes papillaires de type 1	Aucun
Léiomyomatose cutané-utérine héréditaire avec cancer rénal	<i>FH</i> 1q42-43	15-18% Carcinome papillaire de type 2, carcinomes des tubes collecteurs	Léiomyomes cutanés et utérins
Syndrome de Birt-Hogg-Dubé	<i>BHD</i> 17p11.2	20-34% Cancers chromophobes, tumeurs hybrides, oncocytomes, carcinomes à cellules claires	Fibrofolliculomes cutanés, pneumothorax, kystes pulmonaires, polypes et carcinomes colorectaux

Les autres causes de cancer du rein d'origine héréditaire sont beaucoup plus rares, il s'agit de la translocation du chromosome 3, la sclérose tubéreuse de Bourneville, les paragangliomes héréditaires, et du syndrome de Cowden. Toutes ces pathologies doivent faire l'objet d'un dépistage génétique et d'une prise en charge spécialisée en collaboration avec une

équipe d'onco-génétique (6).

Afin de ne pas méconnaître une éventuelle origine héréditaire pour un CCR, l'Association Française d'Urologie recommande de rechercher une prédisposition au CCR chez les patients présentant l'un des critères suivants :

Recommandations 2013 de l'AFU, critères de recherche de prédisposition au CCR :

- Tumeur rénale avant 50 ans pour les carcinomes à cellule claire ou quel que soit l'âge pour les tumeurs papillaires de type 1 et 2 et les tumeurs chromophobes
- Tumeurs rénales multiples ou bilatérales
- Antécédent familial de tumeur rénale
- Association à d'autres manifestations cliniques évocatrices (patient ou apparentés)

2.1.4. Histologie du cancer du rein

D'après la classification WHO de 2004, les tumeurs malignes du rein qui représentent plus de 90% des tumeurs du rein, se répartissent en 10 types histologiques différents (23):

- Carcinome à cellules claires (CCRcc)
- Carcinome kystique multiloculaire à cellules claires
- Carcinome papillaire du rein
- Carcinome chromophobe du rein
- Carcinome des tubes collecteurs de Bellini
- Carcinome médullaire du rein
- Carcinome avec translocation Xp11
- Carcinome associé au neuroblastome
- Carcinome fusiforme tubuleux et mucineux
- Carcinome non classé

En pratique, trois sous types histologiques sont couramment rencontrés : le carcinome à cellules claires qui représente 80% des CCR, le carcinome papillaire (10-15%) et le carcinome chromophobe (4-5%). Les autres types histologiques étant beaucoup plus rares. Parmi les carcinomes de type papillaires, 2 sous-groupes ont été identifiés. Le type I correspondant à des tumeurs de bas grade, ayant un cytoplasme chromophile, et un pronostic favorable. Le type II correspondant à des tumeurs le plus souvent de haut grade, ayant un

cytoplasme éosinophile et avec un pronostic plus sombre du fait d'une évolution métastatique fréquente (23,24).

L'analyse histologique d'une pièce de CCR permet également de renseigner plusieurs éléments d'intérêt pronostique (6) :

- L'existence d'une composante sarcomatoïde au sein de la tumeur,
- La présence ou non d'embolies vasculaires microscopiques
- La présence ou non de nécrose tumorale
- La présence ou non d'un embolie tumoral au niveau de la veine rénale ou d'une de ses branches.
- La présence ou non d'un envahissement du système collecteur
- Le grade nucléaire de Fuhrman, basé sur l'aspect des noyaux des cellules tumorales divisé en 4 grades distincts. Il s'agit du système de classification histopronostique le plus communément admis, bien que sa pertinence soit remise en question pour les tumeurs papillaires et chromophobes (24,25).

2.1.5. Classification TNM du cancer du rein

Tableau 2 : Classification TNM 2009 du cancer du rein

TNM	Statut	
Tumeur (T)	Tx	Statut tumoral non défini
	T1a	Tumeur localisée au rein, ≤ 4 cm
	T1b	Tumeur localisée au rein, > 4 cm et ≤ 7 cm
	T2a	Tumeur localisée au rein, > 7 cm et ≤ 10 cm
	T2b	Tumeur localisée au rein, > 10 cm
	T3a	Tumeur envahissant le tissu adipeux péri-rénal et/ou le tissu adipeux hilaire mais pas le fascia de Gerota et/ou thrombus macroscopique dans la veine rénale ou ses branches
	T3b	Thrombus cave sous diaphragmatique
	T3c	Thrombus cave sus diaphragmatique ou envahissant la paroi musculaire de la veine cave
	T4	Tumeur infiltrant au-delà du fascia de Gérota et/ou envahissant la surrénale
	Métastase ganglionnaire (N)	Nx
N0		Pas de métastase ganglionnaire
N1		Métastase ganglionnaire dans un seul ganglion
N2		Métastase ganglionnaire dans plus d'un ganglion
Métastase à distance (M)	Mx	Pas d'évaluation du statut métastatique
	M0	Pas de métastase
	M1	Métastase tissulaire à distance

D'après la classification UICC des tumeurs malignes, 7^{ème} édition (26).

2.2. CANCER DU REIN : DIAGNOSTIC

2.2.1. Diagnostic

Actuellement, le diagnostic de cancer du rein est fortuit dans plus de la moitié des cas (7). En effet lors des 20 à 30 dernières années, une médicalisation plus importante de la population d'une part et les importants progrès des techniques d'imagerie (développement de l'échographie) d'autre part, ont été responsables d'une augmentation des diagnostics réalisés à un stade infra clinique. Lorsqu'il est symptomatique le cancer du rein se manifeste le plus souvent par une hématurie, plus rarement par une masse lombaire ou une douleur. L'association de ces trois symptômes, représentant la triade historique du CCR est désormais rare puisque retrouvée pour seulement 6 à 10% des cas. En revanche les syndromes paranéoplasiques restent fréquents, accompagnant 30% des CCR au diagnostic (7).

2.2.2. Place de la biopsie dans la prise en charge d'une tumeur du rein

Si suite à la découverte d'une tumeur rénale, la conduite à tenir est le plus souvent simple à établir, certaines situations sont plus délicates. Dans ce cas, la réalisation d'une biopsie percutanée de la tumeur devient intéressante afin d'obtenir une analyse histologique de la lésion, indispensable pour poser l'indication thérapeutique.

Indications de biopsie d'une tumeur rénale (6) :

- Distinction entre un cancer primitif ou une métastase
- Suspicion de lymphome
- Tumeur non extirpable avant mise en route d'un traitement systémique
- Suspicion de néphroblastome
- Forte probabilité de tumeur maligne
- Tumeur rénale solide avant traitement ablatif

2.2.3. Place de l'imagerie dans la prise en charge du CCR

Les examens d'imagerie jouent un rôle à chacune des étapes de la prise en charge du CCR : le dépistage, le diagnostic, le bilan pré thérapeutique et la surveillance. Bien que les

diagnostics fortuits aient permis de découvrir plus de tumeurs de plus petite taille à un stade asymptomatique de meilleur pronostic ? Néanmoins, le dépistage de masse du cancer du rein n'est pas recommandé, sauf pour certains patients présentant un risque de CCR supérieur à celui de la population générale en rapport avec une affection génétique ou encore une insuffisance rénale chronique. Au sein de ces populations, un dépistage régulier est nécessaire au moins par échographie. Cette surveillance doit être annuelle dès l'âge de 5 ans pour les patients porteurs d'une mutation du gène *VHL*, ou tous les deux ans à partir de 30 ans (ou 10 ans avant l'âge du diagnostic du cas le plus précoce parmi les apparentés) pour les patients présentant une autre cause de CCR familial (24). En ce qui concerne les patients suivis pour une insuffisance rénale chronique, une surveillance des reins natifs par une imagerie annuelle (échographie ou examen TDM) est recommandée (6).

Dans le cadre du bilan pré-thérapeutique, il est nécessaire de réaliser une évaluation de l'extension locale, régionale, veineuse, ganglionnaire et métastatique de la tumeur (stade TNM). L'examen de référence permettant d'évaluer l'ensemble de ces éléments est la tomodensitométrie (TDM) thoraco-abdomino-pelvienne injectée (6,7). L'imagerie par résonance magnétique (IRM) peut également avoir son intérêt : elle permet de renseigner le bilan pré-thérapeutique chez les patients présentant une insuffisance rénale interdisant l'utilisation de produit de contraste iodé. De plus elle permet de mieux évaluer les tumeurs kystiques ou bien les tumeurs mal caractérisées par la TDM, mais aussi l'extension à la veine cave.

Enfin l'imagerie joue un rôle dans le cadre de la surveillance après traitement d'une tumeur localisée afin de dépister d'éventuelles récurrences locales ou à distance. Cette surveillance repose là encore le plus souvent sur une TDM thoraco-abdomino-pelvienne. De même, en cas de traitement systémique pour une maladie inextirpable, une surveillance des volumes cibles par imagerie est également réalisée afin d'évaluer la réponse au traitement.

2.3.CANCER DU REIN : TRAITEMENT

2.3.1. Traitement du cancer du rein localisé (T1-T2, N0, M0)

2.3.1.1. Tumeurs < 4 cm

Plusieurs prises en charge sont possibles pour les CCR de moins de 4 cm, le choix sera adapté selon les caractéristiques et contraintes propres à chaque patient ainsi qu'à la tumeur.

Le traitement de référence en 2014 repose sur la chirurgie partielle du rein qui permet d'obtenir un contrôle carcinologique satisfaisant tout en limitant la perte néphronique. En effet, plusieurs études ont mis en évidence une plus faible diminution de la fonction rénale chez les patients traités par néphrectomie partielle par rapport à ceux traités par néphrectomie totale (27). De plus, il semblerait que les patients traités par néphrectomie partielle présentent également une meilleure survie en rapport avec une plus faible incidence des complications cardiovasculaires (28). Ainsi lorsqu'un traitement chirurgical est envisagé, une néphrectomie partielle doit être systématiquement proposée lorsqu'elle est techniquement possible. La place de la néphrectomie totale pour les tumeurs de moins de 4 cm est désormais très faible (6).

Parmi les alternatives à ce traitement chirurgical, un traitement ablatif peut parfois être discuté dans certaines situations. Ce traitement repose sur une destruction in situ de la tumeur le plus souvent par voie percutanée, voire au cours d'une procédure coelioscopique. Deux techniques ont fait la preuve de leur efficacité dans cette indication : la cryothérapie et la radiofréquence (6). Le principal avantage de ces techniques est qu'elles permettent théoriquement d'élargir l'accès à une prise en charge curative à des patients non opérables de par le caractère mini-invasif de la procédure, une meilleure épargne néphronique et un taux plus faible de complications. Cependant, ces traitements ne permettent pas d'évaluation précise de la tumeur et de la qualité du contrôle carcinologique car l'analyse histologique complète de la tumeur et l'évaluation du caractère complet ou non de la destruction de la

lésion n'est pas possible. De plus une biopsie préalable au traitement est indispensable afin d'affirmer le caractère malin de la tumeur.

Les indications des traitements ablatifs (6):

- Petites tumeurs corticales chez les patients âgés
- Patients avec comorbidités et risque chirurgical élevé mais espérance de vie significative.
- Patients à risque génétique de développer des tumeurs bilatérales et multiples
- Tumeurs bilatérales
- Rein unique, surtout si antécédent de néphrectomie pour tumeur

Enfin dans quelque cas, la surveillance active peut représenter une option : chez les patients âgés de plus de 75 ans présentant d'importantes comorbidités, et ayant une tumeur de moins de 40 mm, cette stratégie est envisageable (6). Ce type de surveillance n'est possible qu'après avoir confirmé par biopsie la nature maligne de la lésion afin d'éviter une surveillance inutile aux patients présentant une tumeur bénigne.

L'objectif recherché est de surveiller par imagerie l'évolution de la tumeur sur une période d'au moins 6 mois et d'en apprécier l'évolutivité. En effet, il a été rapporté que près d'un tiers des tumeurs restaient stables au cours de la surveillance pour un recul moyen de 29 mois (29). La croissance tumorale moyenne des lésions de faible taille étant de 0,28 cm par an avec un risque d'évolution métastatique très faible, inférieur à 2% (30,31). Au cours de la surveillance, l'indication d'une prise en charge curative se pose lorsque la taille de la tumeur atteint 40 mm. Cf. **Tableau 3**.

Tableau 3 : Protocole de surveillance active recommandé par l'AFU (6):

Critères d'inclusions	<ul style="list-style-type: none"> - Patients > 75 ans, comorbidités notables - Diagnostic incidentel par imagerie - Tumeur de moins de 4 cm - Tumeur maligne confirmée par biopsie - Adhésion à la surveillance rapprochée
Protocole de surveillance	<ul style="list-style-type: none"> - TDM rénal tous les 3 mois pendant 1 an - Puis tous les 6 mois pendant 2 ans - Puis annuel
Critères de traitement	<ul style="list-style-type: none"> - Temps de doublement du volume tumoral < 1 an - Diamètre > 4 cm - Manifestations cliniques liées au cancer

2.3.1.2. Tumeurs > 4 cm

Pour les CCR localisés de plus de 4 cm, les options thérapeutiques sont plus restreintes et l'approche chirurgicale est la référence. Si dans cette indication la place de la néphrectomie totale reste entière, il est désormais recommandé d'envisager en premier lieu la réalisation d'une chirurgie partielle dès lors que celle-ci est techniquement possible (6). En effet, si la chirurgie partielle est réalisée en marges saines, ses résultats carcinologiques sont identiques à ceux de la néphrectomie élargie pour les tumeurs > 4 cm (32).

2.3.2. Traitement des cancers localement avancés (T3-T4, N0-N2, M0)

Les CCR localement avancés correspondent aux tumeurs qui ne sont ni intra capsulaires, ni métastatiques. Leur traitement doit donc être curatif et nécessite une chirurgie d'exérèse complète en marge saine. Le standard repose sur la néphrectomie totale élargie par voie ouverte, étendue le cas échéant aux atteintes locorégionales : résection d'un thrombus de la veine cave, curage ganglionnaire en cas de N+, et lorsqu'elle est possible en marge saine, résection de l'envahissement d'un organe de voisinage (6).

2.3.3. Traitement du cancer du rein métastatique

Deux cas de figure sont à envisager pour le cancer du rein métastatique : les CCR d'emblée métastatiques, et les CCR secondairement métastatiques au cours de la surveillance après traitement d'une tumeur initialement localisée.

Si ces deux situations cliniques sont proches en terme de fréquence, elles diffèrent en revanche par leur prise en charge de la tumeur primitive. En effet, si la question de la résection chirurgicale de la tumeur primitive ne se pose pas pour les tumeurs secondairement métastatiques (initialement traitées dans la majorité des cas par néphrectomie en tant que CCR localisé), cette problématique est tout autre pour les tumeurs d'emblée métastatiques.

2.3.3.1. Place de la néphrectomie pour le CCR d'emblée métastatique

L'intérêt d'une chirurgie de réduction tumorale avait été démontré pour l'immunothérapie avec les essais du SWOG et de l'EORTC. En revanche, depuis l'émergence des thérapies ciblées, aucune étude d'un niveau de preuve suffisant n'a permis de déterminer si la néphrectomie de réduction tumorale avait un intérêt pour le traitement du CCR d'emblée métastatique.

Certaines études rétrospectives ont suggéré que la néphrectomie pouvait avoir un impact positif sur la survie des patients de bon pronostic ou de pronostic intermédiaire mais sans pouvoir le confirmer **(33)**. Actuellement, un essai clinique prospectif randomisé est actuellement en cours d'inclusion pour répondre à cette question (essai Carmena).

Dans ce contexte, en dehors d'un essai clinique, il est actuellement recommandé de réaliser une néphrectomie de réduction tumorale pour les patients en bon état général et dont le volume de la tumeur primitive représente plus de 80% de l'ensemble du volume tumoral. A l'inverse, pour les patients à l'état général altéré ou présentant un important volume tumoral métastatique, il est recommandé de ne pas réaliser de néphrectomie **(6)**.

2.3.3.2. Place de la chirurgie des métastases

L'intérêt d'une résection chirurgicale d'une métastase unique a été démontré avec une survie à 5 ans variant de 35 à 60 % selon les études **(33,34)**. De ce fait, lorsqu'une résection tumorale complète est envisageable, associée à une néphrectomie pour la tumeur primitive, la résection d'une métastase unique (voire sous certaines conditions pour les patients oligo-métastatiques) doit être envisagée **(6,7)**.

2.3.3.3. Traitement médical du cancer du rein métastatique

Du fait de l'expression du gène MDR (Multi Drug Resistance), le CRM est l'un des cancers présentant le plus de résistances aux différents traitements : la radiothérapie et la chimiothérapie ayant une efficacité limitée voire nulle dans cette indication **(1)**.

L'immunothérapie fut pendant près de 20 ans le traitement de référence du CRM. Initialement, ce traitement reposait sur l'utilisation d'interleukine 2 en bolus à forte dose. Puis l'association interleukine 2 et interféron alpha a ensuite été utilisée par voie intra veineuse puis sous cutanée permettant une augmentation significative de la survie par rapport aux monothérapies (21). Cependant, l'efficacité du traitement était modeste puisqu'il ne permettait qu'un contrôle limité de la progression de la maladie et un faible taux de réponse tumorale de l'ordre de 20 à 30%, au prix d'une toxicité (syndrome grippal) fréquemment sévère (1).

Depuis 2006, l'émergence des thérapies ciblées a permis de renforcer le panel thérapeutique disponible pour le traitement du CRM. Les molécules actuelles se répartissent en 3 classes : les inhibiteurs de tyrosine kinases (TKI) (sunitinib, sorafenib, pazopanib, axitinib), un anti VEGF (le bévacizumab) ciblant la voie du VEGF (Vascular endothelial Growth factor) et les inhibiteurs de mTOR (mTI) (everolimus, temsirolimus) agissant sur la voie PI3K/AKT/mTOR (21), **Tableau 4**. Le mode d'action de ces molécules est détaillé au paragraphe 2.5.1.4. Les thérapies ciblées ont permis d'améliorer significativement le pronostic des patients traités pour un CRM en doublant la survie sans progression et en permettant une médiane de survie globale proche de 2 ans (35–40).

Tableau 4 : Liste des molécules de thérapies ciblées disponibles à ce jour en France

Molécules	Laboratoire	AMM	Cibles	Classe
Sunitinib	Pfizer	2006	VEGFR1,2,3 - PDGFR α , β - FLT3 - cKIT	Inhibiteur de Tyrosine Kinase
Sorafénib	Bayer	2006	VEGFR1,2,3 - PDGFR β - FLT3 - cKIT - Ret	
Axitinib	Pfizer	2012	VEGFR1,2,3	
Pazopanib	GSK	2013	VEGFR1,2,3 - PDGFR β - cKIT	
Bevacizumab	Genentech/Roche	2007	VEFG	Anti VEGF
Everolimus	Novartis	2009	Complexe mTORC1	Inhibiteur de mTOR
Temsirolimus	Wyeth	2007	Complexe mTORC1	

Tableau 5 : Recommandation de l'AFU pour la première ligne de traitement d'un CRM (6)

Histologie	Groupe pronostique	Standard	Option
CCRcc	Bon et intermédiaire	Sunitinib Bévacizumab + INF Pazopanib	Cytokine Sorafenib Observation
	Mauvais	Temsirolimus	Sunitinib Pazopanib
Autres		Essai thérapeutique	Inhibiteur de mTor Sunitinib Sorafenib

Tableau 6 : Recommandation de l'AFU pour le traitement d'un CRM : 2^{ème} ligne (6)

Histologie	Première ligne	Standard	Option
CCRcc	Cytokine	Sorafenib Pazopanib Axitinib	Sunitinib Bevacizumab Temsirolimus
	Inhibiteur de VEGF	Everolimus Axitinib	Sorafénib
Autres		Essai thérapeutique	

2.4.CANCER DU REIN : FACTEURS ET SCORES PRONOSTIQUES

Plusieurs facteurs ayant une valeur pronostique ont été identifiés pour le cancer du rein. L'intérêt en pratique clinique des marqueurs pronostiques, utilisés seuls ou regroupés dans des scores est variable. La mise en évidence de marqueurs permettant de guider la prescription des thérapies ciblées vers une utilisation plus rationnelle de ces molécules dans le cadre d'une prise en charge personnalisée est un des principaux enjeux de la recherche dans le CRM. Nous proposons ci-dessous une synthèse des principaux facteurs pronostiques identifiés ainsi que de leur intérêt en pratique clinique.

2.4.1. Les facteurs pronostiques connus

2.4.1.1. Facteurs anatomiques

Les facteurs anatomiques sont nombreux et bien qu'ils ne présentent que peu d'intérêt lorsqu'ils sont utilisés individuellement, ils sont couramment utilisés dans la classification pronostique TNM (26) :

- Taille tumorale
- Franchissement capsulaire
- Envahissement veineux
- Envahissement de la graisse du sinus ou péri-rénale
- Envahissement surrénalien, ganglionnaire
- Métastase à distance

2.4.1.2. Facteurs histologiques

Comme déjà décrit, certaines données histologiques ont une valeur pronostique (7):

- Le grade de Fuhrman
- Le type histologique
- La présence d'une composante sarcomatoïde (>20%)
- Une invasion microvasculaire
- La nécrose tumorale
- L'envahissement du système collecteur

2.4.1.3. Facteurs cliniques et biologiques

Plusieurs facteurs cliniques ou anomalies biologiques ayant une valeur pronostique indépendante sont classiquement utilisés au sein de scores pronostiques ou nomogrammes :

Biologique

- Anémie
- Hypercalcémie
- LDH supérieur à la normale
- CRP supérieure à la normale
- Thrombocytose
- Hyperleucocytose à PNN

Clinique

- Etat général (Performance status)
- Symptômes locaux
- Cachexie
- Toxicité induite par le traitement par thérapies ciblées

2.4.1.4. Facteurs moléculaires

Plus récemment, des facteurs moléculaires ont également été étudiés et représentent toujours actuellement une voie de recherche prometteuse pour la mise en évidence de biomarqueurs pour le CCR. A ce jour, plusieurs facteurs ont été identifiés comme ayant une valeur pronostique, mais malheureusement sans intérêt en pratique clinique. Les principaux facteurs moléculaires identifiés sont **(9)**:

- L'anhydrase carbonique IX (CaIX)
- Le VEGF
- L'hypoxia inducible factor (HIF)
- P53
- PTEN
- Cadherine E
- CD44

D'autres facteurs ont également été identifiés comme étant associés à un intérêt pronostique, notamment parmi les altérations moléculaires, fréquentes au sein des CCR, cf. paragraphe 2.5.2.

2.4.2. Les scores pronostiques et nomogrammes

Différentes classifications pronostiques postopératoires regroupant plusieurs facteurs pronostiques indépendants ont été proposées, ayant le plus souvent une performance supérieure à la classification TNM **(6)**.

2.4.2.1. Cancer du rein localisé

Trois principaux systèmes pronostiques sont utilisables pour le CCR localisé. Cependant, leur intérêt en pratique courante est minime. Il s'agit du modèle UISS, du modèle SSIGN et du Nomogramme de Karakiewicz (41–45), **Tableau 7**.

Tableau 7 : Principaux systèmes pronostiques pour le cancer du rein localisé :

Variables	UISS	SSIGN	Karakiewicz
Stade TNM	X	X	X
Performance status	X		
Symptômes liés au cancer			X
Grade de Fuhrman	X	X	X
Nécrose tumorale		X	
Taille tumorale		X	X

2.4.2.2. Cancer du rein métastatique

C'est dans le cancer du rein métastatique que les modèles pronostiques ont le plus d'intérêt pour guider le traitement médical, **Tableau 8**. Cependant, le modèle le plus utilisé à l'heure actuelle est celui du MSKCC initialement développé pour les patients traités par immunothérapie pour un CRM, disponible depuis 1999 et mis à jour en 2002 (5,46). Bien que ce modèle semble également adapté pour les patients traités par thérapies ciblées, seul le score de Heng a été validé pour ces patients, et seulement pour des patients traités par TC ciblant la voie du VEGF (47).

Tableau 8 : Principaux systèmes pronostiques pour le cancer du rein métastatique :

Variables	MSKCC (2022)	Heng
Performance status	X	X
Délai diagnostic – traitement	X	X
LDH	X	
Calcémie corrigée	X	X
Hémoglobine	X	X
Polynucléaires neutrophiles		X
Plaquettes		X

2.4.3. Intérêt en pratique

2.4.3.1. Recommandations (CCAFU et EAU)

En pratique clinique, l'usage systématique de la classification TNM est recommandé à visée de classification pronostique, tout comme le grade de Fuhrman en tant que marqueur indépendant. L'utilisation d'un score pronostique est recommandée pour le traitement médical du CRM afin de guider le choix de la molécule en première ligne de traitement.

A l'inverse, aucune recherche de biomarqueur n'est recommandée du fait du manque d'intérêt clinique des marqueurs moléculaires connus à ce jour (6,7).

2.4.3.2. Objectifs de recherche

Bien que de nombreux facteurs pronostiques aient été identifiés, leur faible intérêt en pratique clinique d'une part et l'émergence des thérapies ciblées d'autre part, rendent de plus en plus nécessaire l'identification de nouveaux marqueurs pertinents, en particulier pour le traitement du CRM (4).

En effet, l'un des paradigmes actuels pour la prise en charge du cancer est le traitement personnalisé, permettant de proposer une stratégie thérapeutique adaptée au patient ainsi qu'à sa pathologie. Les récents progrès en terme de recherche moléculaire font espérer la possibilité d'identifier des biomarqueurs spécifiques permettant d'atteindre cet objectif (48). En ce qui concerne le traitement du CRM, bien que la mise sur le marché des TC ait permis une importante amélioration du pronostic des patients, il est communément admis que l'utilisation de ces molécules n'est toujours pas optimale (4). L'utilisation séquentielle des TC, qui est désormais le standard pour le traitement du CRM, pose le problème du choix de la molécule à chacune des lignes de traitement. L'arsenal thérapeutique à disposition s'étoffe régulièrement avec désormais 7 molécules disponibles (49). Il apparaît ainsi nécessaire de poursuivre les recherches ayant pour but l'identification de facteurs pronostiques permettant de faire une utilisation plus rationnelle des TC dans le traitement du CRM.

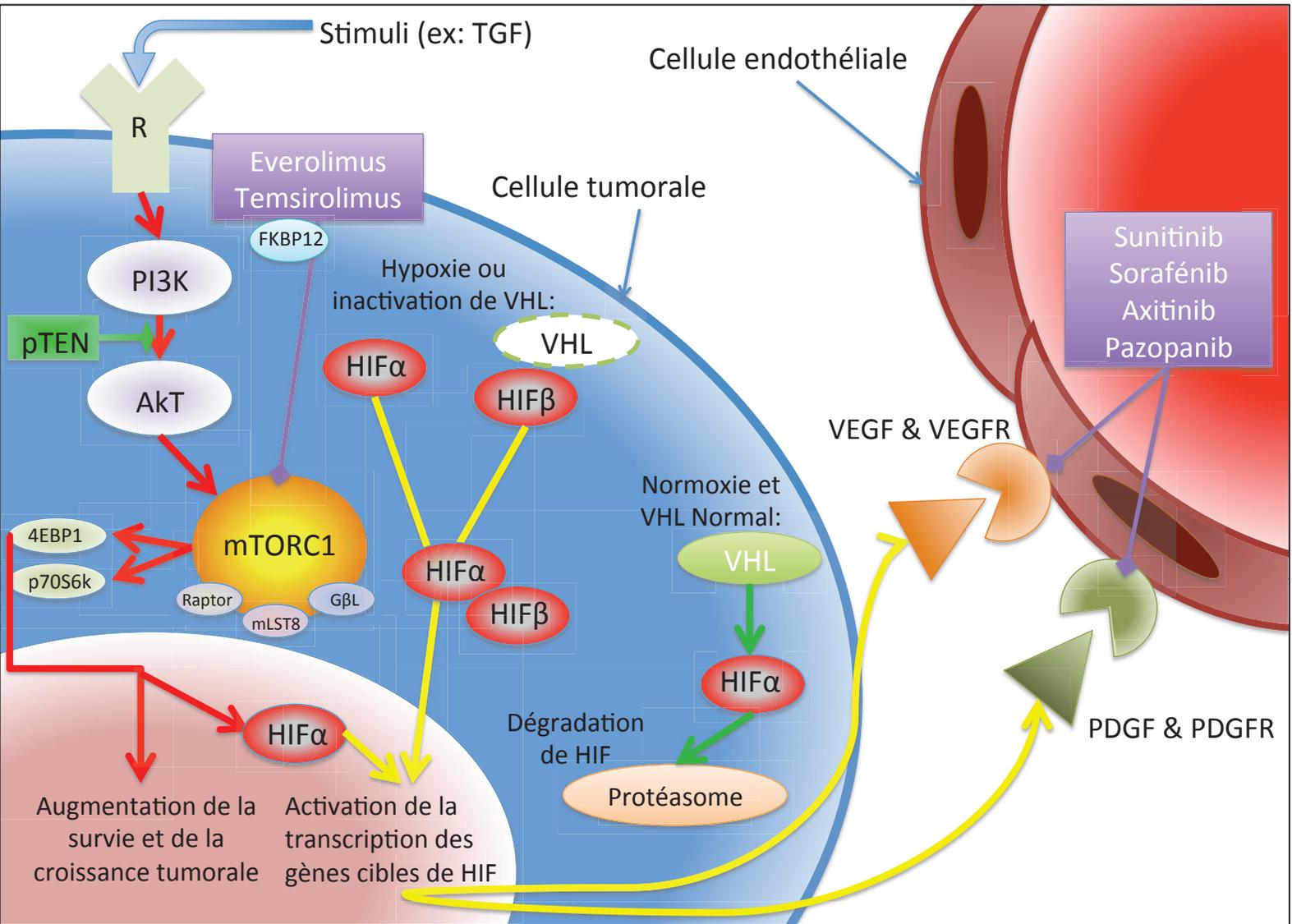


Figure 1 : Les principales voies de signalisation intracellulaire mises en jeu dans le cancer du rein : VHL/HIF/VEF et PI3K/AKT/mTOR ; et les sites d'actions sur ces voies des thérapies ciblées utilisées dans le cancer du rein métastatique

2.5.1. Les voies de signalisation impliquées dans le cancer du rein

Le CCR est issu de séries d'altérations génétiques au sein des cellules tubulaires du néphron. Le CCRcc a été le plus étudié du fait de sa fréquence et les principales voies de signalisation intracellulaire mises en cause dans la carcinogénèse de ces tumeurs ont été de fait les mieux caractérisées. La néoangiogenèse joue un rôle fondamental dans le développement de ces tumeurs. Ainsi, deux voies métaboliques sont particulièrement impliquées dans ce processus : la voie VHL/HIF/VEGF (*von Hippel-Lindau, Hypoxia Induced Factor, Vascular Endothelial Growth Factor*), et la voie de PI3K/AkT/mTOR (*Phospho-Inositide-3-Kinase, Mammalian Target of Rapamycine*). Une troisième voie a également été décrite, la voie de l'EGF/MAPKinases (*Epidermal Growth Factor, Mitogen Associated Protein Kinases*) (50).

2.5.1.1. La voie VHL/HIF/VEGF

La voie VHL/HIF/VEGF présente une importance majeure dans le développement des cancers à cellules claires. Elle permet le développement d'une néoangiogenèse via la surexpression de facteurs pro-angiogéniques par les cellules tumorales. Ces facteurs activent les cellules endothéliales et la formation de néovaisseaux tumoraux. **Figure 1.**

Le gène *VHL* est situé sur le chromosome 3 (3p25.3) et joue un rôle prépondérant au sein de cette voie. Il s'agit d'un gène suppresseur de tumeur. Une altération du gène *VHL* est retrouvée chez 60 à 90 % des patients présentant un cancer du rein (51) principalement en rapport avec des délétions sur le bras court du chromosome 3 (3p) retrouvées dans 70 à 75 % des cas, ou encore des mutations (10,18). Le produit du gène *VHL* est la protéine pVHL qui est un régulateur de HIF, qui est produit en continu au niveau cellulaire mais possède une demi-vie très courte. Il en existe deux formes : HIF 1 et 2 dont les modes de fonctionnement intra-cellulaires sont superposables et qui sont toutes deux régulées par pVHL et constituées de deux sous unités α et β . En présence d'oxygène, HIF α (codée par le gène *HIF1 α* situé en

14q23.2 ou *HIF2 α* , 2p21 p16) est hydroxylée sous l'action de la prolyl-hydroxylase puis reconnue par pVHL ce qui entraîne une ubiquitination de HIF α qui est détruit par les protéasomes cellulaires. En revanche en l'absence d'oxygène ou de pVHL, il n'y a pas de destruction de HIF α qui s'hétérodimérise avec HIF β (1q21) au sein du noyau et joue alors le rôle de facteur de transcription des gènes cibles de HIF et entraînent ainsi la libération principalement de VEGF (en particulier VEGF α , 6p12), PDGF β (*Platelet Derived Growth Factor β* , 22q13.1), TGF α (*Transforming Growth Factor α* , 2p13), et d'Erythropoïétine, **(Figure 1)**. Les profils d'expression de ces gènes vont différer selon *HIF1* ou *HIF2* et il est admis que *HIF2* aurait un potentiel oncogénique supérieur à *HIF1* **(52)**.

Le VEGF α et le PDGF β favorisent la néoangiogénèse en stimulant la cellule endothéliale ainsi que les péricytes et cellules musculaires lisses de soutien via leurs récepteurs membranaires spécifiques. Le récepteur du VEGF (VEGFR) existe sous plusieurs formes : VEGFR1 (ou Flt-1, 13q12), VEGFR2 (ou KDR/FLK-1, 4q11-q12) et VEGFR3 (ou Flt-4, 5q35.3). Parmi eux, le VEGFR2 joue en rôle majeur sur l'angiogénèse en raison de sa localisation sur les cellules endothéliales. Le récepteur au PDGF β (PDGFR β , 5q33.1) est situé au niveau des cellules périvasculaires (péricytes et cellules musculaires lisses) favorisant le soutien et le maintien des vaisseaux et néovaisseaux. Ces deux récepteurs possèdent une activité tyrosine kinase qui leur permet d'initier une fois activés la transduction du signal. Enfin, le TGF α est un facteur de croissance jouant un rôle autocrine de stimulation et prolifération des cellules tumorales agissant sur leurs récepteurs membranaires EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*, 7p12). En situation physiologique, cette voie permet de faciliter la survie cellulaire en cas d'hypoxie. En revanche en situation pathologique et d'activation constante et non réprimée, cette voie favorise la prolifération tumorale en stoppant l'entrée en apoptose des cellules et en stimulant la néoangiogénèse.

Au total, l'activation de cette voie est un événement précoce de la carcinogénèse dans le cancer du rein, la conséquence majeure étant l'hyper-expression des facteurs pro-angiogéniques (52).

2.5.1.2. La Voie PI3K/AkT/mTOR

La Voie PI3K/AkT/mTOR est également incontournable dans la biologie du cancer du rein. Elle se situe en aval des récepteurs aux facteurs de croissance (ex : EGFR), qui ont le plus souvent une activité tyrosine kinase (52). **Figure 1.** Dans cette voie, le récepteur active PI3K (3q26.3) qui active à son tour AkT (14q32.32) qui agit ensuite sur le complexe mTOR. A ce niveau, il existe un système de régulation par l'intermédiaire de PTEN (16q23) qui est un inhibiteur de AkT.

Il existe deux types de complexes protéiques mTOR (mTORC1 et mTORC2). Le complexe mTORC1, constitué notamment des protéines mTOR (1p36.2), Raptor (17q25.3) et mLST8 (16p13.3), joue un rôle majeur dans la carcinogénèse en agissant sur la synthèse protéique par stimulation de la traduction des ARNm en protéines. En effet, l'activation du complexe mTORC1 entraîne une augmentation globale de la synthèse protéique via ses médiateurs 4EBP1 (8p12) et p70S6k (17q23.1). Cependant, ce facteur initiateur de la synthèse protéique a une affinité variable selon les ARNm, celle-ci étant plus importante pour les ARNm fortement régulés, en particulier ceux intervenant dans le contrôle du cycle cellulaire, la prolifération ou l'apoptose.

Ainsi pour la carcinogénèse rénale, la voie de mTOR joue un rôle à plusieurs niveaux :

-Interaction avec la voie VHL/HIF/VEGF, via l'augmentation de la traduction de *HIF α* . Cette action sur la néoangiogénèse est indépendante de VHL.

-mTOR a également une action sur la transduction du signal. Cette molécule est un acteur central des voies de signalisation intracellulaires en aval de la chaîne de transduction et

son activation favorise le métabolisme tumoral via une forte augmentation de la synthèse protéique. Ceci entraîne une augmentation de la survie et de la croissance cellulaire (52).

2.5.1.3. Les voies de L'EGF et des MAP Kinases

Une troisième voie a été décrite dans le cancer du rein. Comme décrit plus haut, le TGF α joue un rôle important en tant que ligand de l'EGFR. Ce dernier possède deux principales voies de signalisation intracellulaires : la voie PI3K/Akt/mTOR déjà décrite et la voie des MAPKinases. Dans cette voie, une activation en cascade de plusieurs kinases aboutit à une modification de l'expression de nombreux gènes qui aura pour conséquence une stimulation de la prolifération cellulaire. Le rôle de cette voie apparaît donc complémentaire de celui de PI3K/Akt/mTOR qui comme décrit ci-dessus stimule la croissance et la survie cellulaire (52).

D'autres voies de signalisation ont été décrites comme étant impliquées dans le CCRcc, mais à ce jour, au vu des connaissances actuelles, les trois voies décrites ci-dessus semblent être les plus importantes.

2.5.1.4. Implications cliniques : Les thérapies ciblées et leurs cibles

La compréhension de ces différentes voies de signalisation intracellulaires régulant la carcinogénèse rénale a permis l'émergence des TC et ainsi l'amélioration significativement la prise en charge des patients présentant un CRM.

Ces molécules agissent sur des cibles clés des voies de signalisation mises en jeu dans le cancer du rein exposées ci-dessus. Les TKI agissent sur les récepteurs à activité tyrosine kinase des cellules endothéliales avec comme cibles principales : VEGFR 1 à 3 et PDGFR β . Cela permet d'inhiber l'angiogénèse stimulée par le VEGF et le PDGF dont l'expression est issue de la voie VHL/HIF/VEGF. En intracellulaire les molécules mTI se lient à FKBP12 (20p13) puis inhibent le complexe mTORc1 qui est activé par la voie PI3K/Akt/mTOR, **Figure 1, (35–40)**. Il n'existe pas de marqueurs pronostiques et/ou prédictifs validés de ces

différentes TC. Dans ce contexte, l'étude des anomalies moléculaires responsables de l'altération de ces voies de signalisation ainsi que des cibles des TC représente un axe important dans le cancer du rein.

2.5.2. Les principales altérations moléculaires du cancer du rein

Dans moins de 5 % des cas, le cancer du rein est lié à une forme héréditaire caractérisée par une altération moléculaire unique, souvent une mutation, permettant d'en faire le dépistage comme c'est le cas dans le cadre de la maladie de von Hippel-Lindau liée à une mutation du gène *VHL*. Bien que rares, ces tumeurs héréditaires ont joué un rôle important dans la compréhension et l'identification des altérations moléculaires sous-jacentes aux carcinomes rénaux sporadiques représentant la majorité des cancers du rein (10). Ainsi de nombreuses altérations moléculaires ont été identifiées et quel qu'en soit le type, elles peuvent avoir un rôle dans la transformation cancéreuse de la cellule rénale via :

- l'activation de proto-oncogènes
- l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs
- l'inactivation des gènes de réparation de l'ADN

2.5.2.1. Les altérations génomiques

2.5.2.1.1. Altérations génomiques quantitatives (AGQ)

Ce sont les plus fréquemment décrites, elles correspondent à des anomalies de la structure des chromosomes : translocation, amplification, délétion, substitution, insertion responsables de modifications du nombre de copies des gènes. De nombreuses études se sont intéressées à la mise en évidence des ces AGQ. Ainsi, des altérations chromosomiques ont été identifiées dans l'ensemble des types histologiques du CCR. C'est dans le CCRcc que ces AGQ sont les plus décrites, puisque retrouvées dans 70 à 75 % des cas. Les AGQ les plus fréquentes sont des délétions en particulier au niveau du bras court du chromosome 3 (3p) où

est situé le gène *VHL*. En effet, certaines études ont identifié des altérations en 3p jusque dans 90% des cas. Les autres altérations les plus fréquemment retrouvées étaient des amplifications en 5q, et des délétions en 6p, 9, 10, 14 et 18 (53–57). Au total, de nombreuses AGQ récurrentes ont été identifiées avec un impact pronostique potentiel pour certaines d’entre elles, **Tableau 9**. C’est en effet le cas pour les délétions sur le chromosome 9, ou encore en 3p, 4p ou 14q (58–66). Si l’impact clinique de ces altérations a été principalement rapporté chez les patients traités au stade localisé, il existe peu de données concernant leur impact chez les patients traités par TC au stade métastatique.

Tableau 9 : Liste des principales régions chromosomiques présentant des AGQ :
Détail de leurs fréquences et d'un éventuel intérêt pronostique

	Localisation chromosomique	Fréquence	Intérêt pronostique	Valeur pronostique	Hazard Ratio	Référence
Amplifications	1q	13%				(54)
	2q	13%				(54)
	3q	15%				(53)
	5q	69%				(53,54)
	7q	30%	OUI	Mauvais pronostic		(53,54,60)
	7p	18%				(53)
	8q	15%				(53,54)
	11q	23%				(53)
	12p	24%				(54)
	12q	23%	OUI	Mauvais pronostic		(53)
	20q	20%	OUI	Mauvais pronostic		(54,60)
Délétions	1p	18%	OUI	Mauvais pronostic		(53,54)
	2q	10%				(53)
	3p	80%	OUI	Bon pronostic	0,54	(53,59)
	4p	13%	OUI	Mauvais pronostic	4,01	(59,60)
	4q	18%				(53,54)
	6q	23%				(53,54)
	8p	32%				(54)
	9p	29%	OUI	Mauvais pronostic	3,18	(54,58,60)
	14q	40%	OUI	Mauvais pronostic	2,22	(58)

2.5.2.1.2. Les mutations

Des mutations d'oncogènes ou gènes suppresseurs de tumeurs ont également été identifiées. Elles sont particulièrement présentes dans les formes héréditaires de cancer du rein, notamment les mutations du gène *VHL* dans le cadre de la maladie homonyme. Mais ces mutations peuvent également être retrouvées dans le cadre des cancers sporadiques du rein **(10)**.

2.5.2.1.3. Les polymorphismes nucléotidiques (SNPs)

Des SNPs correspondant au changement d'un seul nucléotide sur la séquence d'un gène ont été décrits dans le cancer du rein. Plusieurs travaux de recherche récents se sont attachés à l'identification et l'étude de la valeur pronostique de SNPs concernant les gènes codant pour les cibles, les voies de signalisation intracellulaires et les voies du métabolisme du sunitinib. Leurs résultats ont retrouvé un intérêt pronostique pour certains SNPs **(67,68)**.

2.5.2.2. Les altérations épigénétiques

2.5.2.2.1. Méthylation de l'ADN

Les études concernant l'hyperméthylation dans le cancer du rein sont rares. Elles ont permis d'identifier plusieurs gènes dont les promoteurs comportaient une hyperméthylation. En revanche, l'intérêt pronostique de la méthylation de l'ADN dans le cancer du rein reste très peu étudié **(10,69)**.

2.5.2.2.2. Micro ARN (miARN)

Les micro-ARNs sont de courtes séquences ribo-nucléotidiques (d'environ 20 nucléotides), non codantes, dont le rôle est de réguler l'expression de nombreux gènes. Dans le cancer du rein, les études réalisées sur ce sujet ont permis de mettre en évidence une augmentation du nombre de certains miARN dans les cellules tumorales. L'étude de la valeur pronostique de ces miARN est une importante voie de recherche actuelle **(10,70)**.

2.5.3. Les principales méthodes d'exploration des AGQ

2.5.3.1. Les méthodes ciblées

Les méthodes ciblées de détection de l'ADN et de ses anomalies sont les plus anciennes. Elles reposent sur l'utilisation de sondes marquées (radiomarquées ou fluorescentes) qui s'hybrident à une séquence cible spécifique de l'ADN et sont révélées grâce à leur marquage. Ainsi les techniques de Southern Blot ou d'hybridation in situ (FISH si les sondes sont marquées par un fluorophore) peuvent être utilisées. D'autres techniques nécessitent en plus une phase d'amplification permettant d'obtenir un grand nombre de copies de la région cible, c'est le cas de la technique de *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Ces techniques sont adaptées à l'étude d'une altération moléculaire particulière déjà connue, avec comme principal avantage d'être peu onéreuses.

2.5.3.2. Les méthodes pangénomiques

Des techniques plus récentes ont permis d'étudier les anomalies moléculaires dans le cancer à l'échelle du génome notamment grâce à l'hybridation génomique comparative (CGH) basée sur la comparaison du nombre de copies des gènes entre le tissu normal et le tissu tumoral. Cette technique est à l'origine de la mise en évidence de nombreuses AGQ dans le cancer du rein comme décrit préalablement. De plus ces techniques ont connu d'importants progrès ces dernières années avec la mise au point des puces à ADN, permettant notamment de potentialiser l'utilisation de la CGH via la technique de *CGH-array*. L'intérêt de ces techniques pangénomiques réside dans la possibilité de réaliser une étude descriptive large de l'ensemble des anomalies moléculaires présentes dans les cellules tumorales, qu'elles soient connues ou non. Leur principale limite reste leur coût élevé.

2.5.3.3. QMPSF

La QMPSF ou *Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments* est une technique multi-cible de détection des AGQ mise au point par Killian et al. en 2007 (71). Il

s'agit d'une technique validée, permettant de réaliser en routine pour chaque patient, une détection simultanée d'AGQ présentes dans les cellules tumorales. Elle repose sur la technique de PCR utilisée en multiplex c'est à dire via l'amplification de plusieurs séquences cibles en même temps. Cette méthode a été initialement développée pour étudier les réarrangements génomiques constitutionnels des gènes MSH1, MSH2 et MSH6 dans le syndrome de Lynch (72). Actuellement, cette technique est utilisée dans le cadre d'un projet de recherche par notre laboratoire (Laboratoire de Génétique Somatique des Tumeurs) pour étudier l'impact pronostique des principales AGQ dans le cancer colo-rectal métastatique.

Cette méthode présente les avantages des techniques ciblées à savoir, la simplicité et la fiabilité de la PCR, un coût faible, tout en permettant d'explorer plusieurs cibles simultanément. Elle semble donc parfaitement adaptée à l'exploration de signatures moléculaires constituées de plusieurs AGQ sur différents gènes cibles.

Cette technique n'a jusqu'à présent jamais été utilisée pour mettre en évidence des AGQ dans les cellules tumorales rénales.

2.6. RATIONNEL DE L'ÉTUDE:

De ce rappel de l'état actuel des connaissances sur le cancer du rein et des recommandations pour sa prise en charge, il semble important de souligner le bouleversement qu'a représenté l'émergence des thérapies ciblées dans le traitement du cancer du rein métastatique.

D'une part, l'amélioration pronostique que ces nouvelles molécules ont apportée aux patients traités pour un CRM.

D'autre part, parallèlement à cette amélioration de la prise en charge, sont apparues de nombreuses interrogations autour de ces thérapies ciblées comme nous l'avons déjà évoqué. En effet, depuis la mise sur le marché des premières molécules de TC, se pose la question de la séquence optimale de traitement, question toujours d'actualité en 2014 étant donné l'augmentation continue du nombre de molécules disponibles.

Si les facteurs pronostiques « historiques » identifiés avant l'apparition des TC semblent conserver un intérêt, ils sont cependant insuffisants pour répondre à cette problématique. En effet, si plusieurs publications ont fait état de la nécessité d'identifier de nouveaux marqueurs pronostiques (4,48,49), la mise en évidence des voies de signalisation moléculaires impliquées dans le CCR associée aux progrès de la biologie moléculaire font espérer la possibilité d'identifier des biomarqueurs dont l'intérêt pronostique sera supérieur à celui des altérations moléculaires déjà identifiées (10).

Par ailleurs, la galénique des TC a également introduit une nouvelle problématique dans le traitement médical du cancer. En effet, il s'agit (à l'exception du temsirolimus et du bevacizumab) de traitements oraux rendant peu flexibles et adaptables les doses administrées. Il n'existe de plus qu'une seule posologie initiale recommandée pour le traitement, sans réelles données sur l'efficacité et les indications de réductions de doses. A l'inverse, les

chimiothérapies anti cancer sont habituellement prescrites avec une posologie adaptée à la surface corporelle des patients, le mode d'administration des TC est donc en rupture avec les standards du traitement médical du cancer. Au cours de l'utilisation des TC apparaissent des toxicités induites fréquentes et variables d'un patient à l'autre, sans que l'on puisse prédire leur survenue. Plusieurs études récentes se sont intéressées à l'évaluation de l'impact de ces toxicités mettant en évidence que les patients ayant une toxicité sévère semblaient avoir un meilleur pronostic **(12,14,15)**. Ces données renforcent les interrogations quant à la conduite à tenir en cas de survenue d'une toxicité sévère : maintien du traitement, changement de ligne, réduction de dose ?

De plus, cette relation toxicité efficacité fait évoquer une potentielle différence de biodisponibilité d'un patient à l'autre **(73,74)**. Le rôle que pourrait jouer la fonction rénale à ce niveau n'a été que très peu étudié. Cependant, la proportion de patients traités pour un CRM et ayant une fonction rénale altérée est importante, allant de 35 à 50% selon les séries **(75,76)**. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que la majorité des patients sont traités par une chirurgie rénale, et que certains avaient déjà une néphropathie sous-jacente favorisant la survenue du CCR.

De plus, très peu de données sont disponibles concernant la tolérance et l'efficacité des TC chez les sujets âgés représentant pourtant un taux important des patients traités pour un CRM **(17,77)**. Enfin, si les études concernant les facteurs pronostiques en première ligne de traitement par TC pour un CRM sont nombreuses, très peu ont en revanche porté sur la deuxième ligne de traitement.

3. OBJECTIFS

L'objectif principal de notre travail était l'étude des facteurs pronostiques cliniques, biologiques et moléculaires du carcinome rénal métastatique traité par thérapies ciblées, selon quatre axes :

- **AXE 1 : Toxicité induite et fonction rénale :**

Objectifs :

- Evaluer l'impact pronostique de la toxicité induite par les TC
- Evaluer l'impact d'une altération de la fonction rénale à l'initiation du traitement sur la survie ainsi que sur la toxicité

- **AXE 2 : Sujets âgés et TC :**

Objectifs :

- Evaluer l'impact sur la survie et sur la tolérance du traitement d'un âge supérieur à 70 ans à l'initiation du traitement.

- **AXE 3 : Etude des facteurs pronostiques en deuxième ligne de TC :**

Objectifs :

- Evaluer l'impact pour la deuxième ligne de traitement par TC des facteurs pronostiques usuels déjà décrits en 1^{ère} ligne.

- **AXE 4 : Etude moléculaire :**

Objectifs :

- Adapter la méthode de QMPSF pour l'étude des AGQ dans le CRM afin de réaliser une analyse descriptive des AGQ pour certains gènes d'intérêt,
- Effectuer une étude préliminaire de l'intérêt pronostique de ces AGQ.

4. MATERIEL ET METHODES

4.1. POPULATION DE L'ETUDE

Nous avons inclus dans cette étude rétrospective monocentrique l'ensemble des patients ayant été traités dans notre centre en première ligne de TC pour un CRM entre janvier 2006 et Juin 2012, **Figure 2**. Les molécules de TC étaient :

- **Le sunitinib** administré en deux prises quotidiennes de 50 mg pendant 4 semaines suivi de 2 semaines de pause thérapeutique
- **Le sorafénib** utilisé à la dose de 800 mg en 2 prises quotidiennes de façon continue
- **L'everolimus** délivré en une prise de 10 mg par jour en continu
- **Le temsirolimus** utilisé en perfusions hebdomadaires de 25 mg.

Ces posologies étaient adaptées à la discrétion de l'oncologue dès l'initiation du traitement ou secondairement selon la tolérance. Dès le début du traitement, un suivi clinico-biologique a été réalisé au 15^{ème} jour puis à 1 mois de traitement puis tous les mois (toutes les semaines pour les patients sous temsirolimus). Une évaluation tomодensitométrique des volumes cibles était effectuée tous les 3 à 4 mois.

Pour chaque patient, nous avons réalisé un recueil rétrospectif :

- Des données démographiques et cliniques
- Des caractéristiques anatomiques et histologiques de la tumeur
- Des modalités du traitement par TC,
- Des variables biologiques à l'initiation de chaque ligne de traitement

(Hémoglobine, plaquettes, polynucléaires neutrophiles, lactates déshydrogénase, calcémie corrigée, créatinine, albumine).

- Des scores pronostiques de Heng et du MSKCC.
- De la toxicité induite par le traitement par TC selon les grades de la classification Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) version 3.0.

Ce recueil de ces données a été effectué pour la première ligne de traitement ainsi que pour la deuxième pour les patients concernés.

Cette population a permis d'étudier les 4 axes évoqués dans les objectifs selon les modalités détaillées ci-dessous.

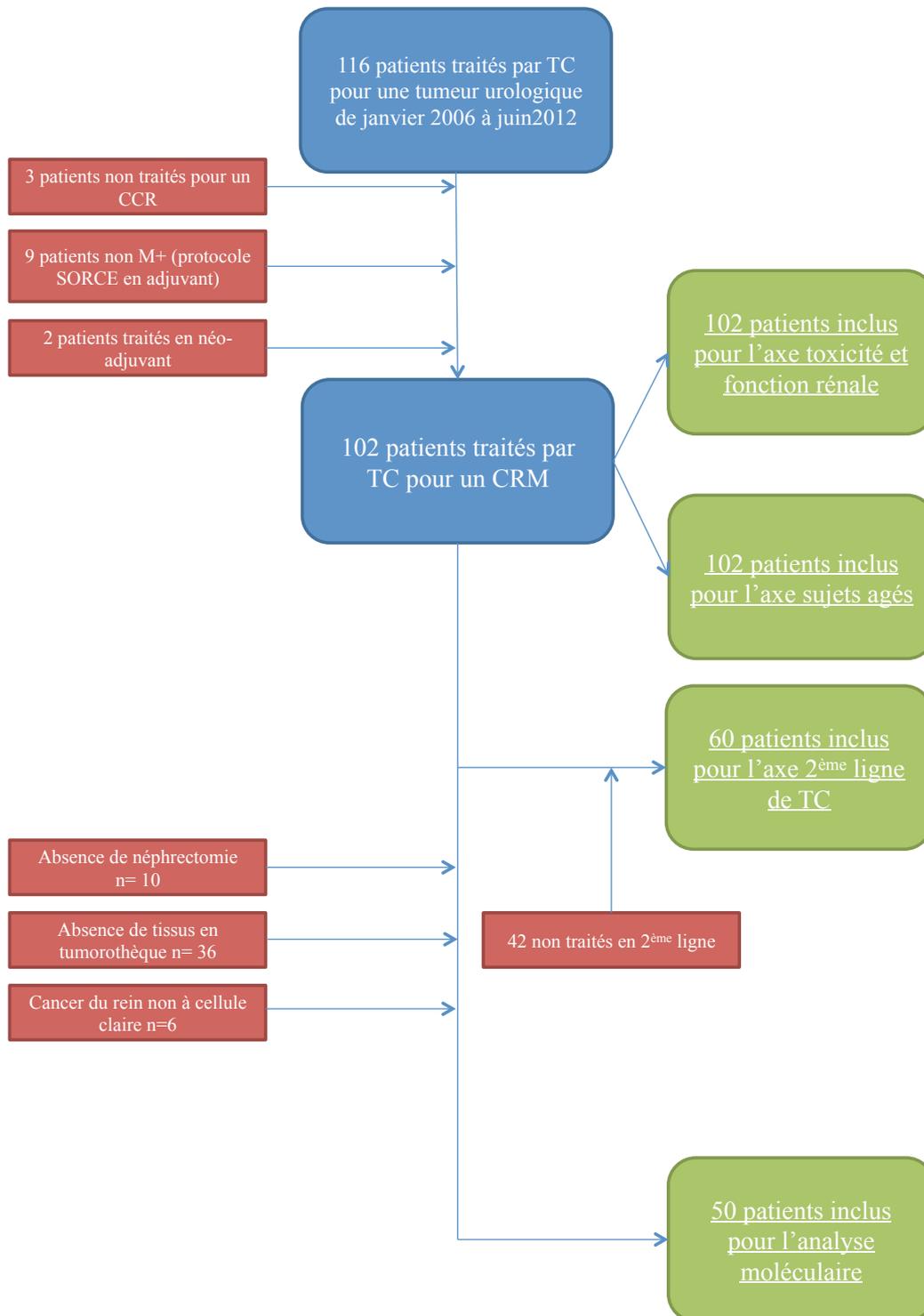


Figure 2 : Flow chart de la population de l'étude selon les différents axes traités

4.2. EVALUATION DES FACTEURS CLINICO-BIOLOGIQUES

AXE 1 : Il correspondait à l'étude de l'impact pronostique de la toxicité induite par les TC ainsi que l'impact d'une altération de la fonction rénale préexistante à l'initiation du traitement.

Les toxicités étaient classées selon deux groupes : groupe toxicités faibles et modérées (grade 0-2) et groupe toxicités sévères (grade 3-4).

La fonction rénale des patients représentée par le débit de filtration glomérulaire (DFG) était calculée selon la formule *Modification Diet in Renal Disease* (MDRD) (78), permettant de classer les patients en deux groupes (fonction rénale normale et fonction rénale altérée) à partir d'une valeur seuil de 60 mL/min/1,73 m² choisie car définissant l'insuffisance rénale (79). Les données des patients étaient ensuite confrontées entre ces deux groupes.

AXE 2 : Les données des patients de plus de 70 ans à l'initiation du traitement par TC étaient comparées à celles des patients de moins de 70 ans. L'analyse a concerné plus particulièrement les données du traitement par TC : tolérance de traitement, réductions de dose et les causes d'arrêt de la première ligne de traitement. Le score de comorbidité de Charlson, dont la valeur pronostique est reconnue a également été étudié (80,81).

AXE 3 : Les données spécifiques de la deuxième ligne de traitement ont été utilisées afin d'évaluer l'impact pour cette ligne des facteurs pronostiques usuels représentés par les items des scores pronostiques du MSKCC et de Heng ainsi que l'impact des facteurs émergents comme la toxicité induite.

4.3. ANALYSE MOLECULAIRE

4.3.1. Echantillons de l'étude

Au sein de la population détaillée ci-dessus, nous avons inclus dans l'analyse moléculaire, l'ensemble des patients pour lesquels nous disposions d'un échantillon de tissu tumoral (TT) et de tissu sain (TN) conservé congelé au sein de la tumorotheque de Haute-Normandie au Laboratoire de Génétique Somatique des Tumeurs (LGST). Les tissus étant conservés à -80 °C selon le protocole du laboratoire. Avant chaque intervention chirurgicale, les patients étaient informés par oral et par écrit de la mise en tumorotheque d'échantillons de la pièce opératoire dans un but de recherche. Leur consentement éclairé signé était recueilli en pré-opératoire.

Pour chaque patient inclus dans notre étude, un échantillon d'ADN issu du TT et un issu du TN ont été extraits par l'intermédiaire du kit *Nucleospin tissue* (Macherey-Nagel®) selon le protocole du fabricant, **Annexe 1**. Les concentrations d'ADN obtenues étaient testées par NanoDrop®, pour tout échantillon obtenant une concentration inférieure à 10 ng/µL, une nouvelle extraction était réalisée.

4.3.2. QMPSE

De courtes séquences génomiques (< 260 paires de bases), correspondant chacune à 14 gènes cibles, ont été amplifiées simultanément au sein de deux réaction de PCR (PCR 1 et PCR 2) explorant chacune 7 gènes cibles. Cette amplification a été possible grâce à l'utilisation d'amorces conçues spécifiquement pour cette étude afin d'être identifiées lors du séquençage. Ces amorces étaient marquées par un fluorochrome, **Annexe 2**.

Les 14 gènes cibles ont été sélectionnés selon des critères bibliographiques pour leur intérêt pronostique potentiel. Il s'agissait en effet de gènes pour lesquels des AGQ avaient déjà été décrites dans la littérature avec un potentiel intérêt pronostique, et/ou de gènes codant pour les

principales voies de signalisations impliquées dans le CCR et décrites ci-dessus, **Annexe 3**. De plus, deux séquences issues de 2 gènes contrôles étaient également amplifiées au sein de la réaction afin de standardiser les résultats obtenus. La liste des gènes sélectionnés pour l'analyse est détaillée dans le **Tableau 10**.

Tableau 10 : Liste des gènes sélectionnés pour l'étude :

Gène cible	Localisation chromosomique
KIF1B	1p36.2
PDCD1	2q37.3
VHL	3p25.3
MCM2	3q21.3
LPCAT1	5p15.33
PDGFRB	5q33.1
PTTG1	5q35.1
PLG	6q26
EGFR	7p11.2
MYC	8q24.21
CDKN2A	9p21.3
ALDOB	9q21.3
CDK4	12q13.2-q14.1
SLC7A8	14q11.2
CPNE 1 (Témoin 1)	20q11.22
DCHS 2 (Témoin 2)	4q31.3

Vingt-cinq μL du mélange ADN et réactifs était amplifiés selon le protocole suivant :

- Dénaturation pendant 3 minutes à 94 °C
- 26 cycles de PCR étaient réalisés selon la séquence :
 - dénaturation à 94 °C pendant 10 secondes
 - hybridation à 55 °C pendant 15 secondes
 - extension à 72 °C pendant 5 minutes

Ces cycles de PCR ont été réalisés sur un thermocycleur C1000TM Thermal Cycler (Bio Rad[®]). Par la suite, les amplicons obtenus étaient séparés par migration électrophorétique sur séquenceur automatique ABI PRISM 3100 DNA SequencerTM, (Applied Biosystem[®]). Les résultats des profils de fluorescence étaient ensuite analysés par l'intermédiaire du logiciel

GeneMapper 4.0™ (Applied Biosystem®). Un électrophorégramme était ainsi obtenu pour chaque échantillon d'ADN (tumoral et normal) des patients. Ces courbes présentaient pour chaque région cible amplifiée un pic correspondant au nombre de copies de la région cible. L'interprétation des courbes, reposait sur la superposition puis la comparaison des tracés du TN et du TT après alignement des gènes contrôles. Le rapport de hauteur des pics obtenus était calculé pour chaque région cible, un ratio supérieur à 1,2 témoignant d'une amplification et un ratio inférieur à 0,8 d'une délétion, **Figure 3**.

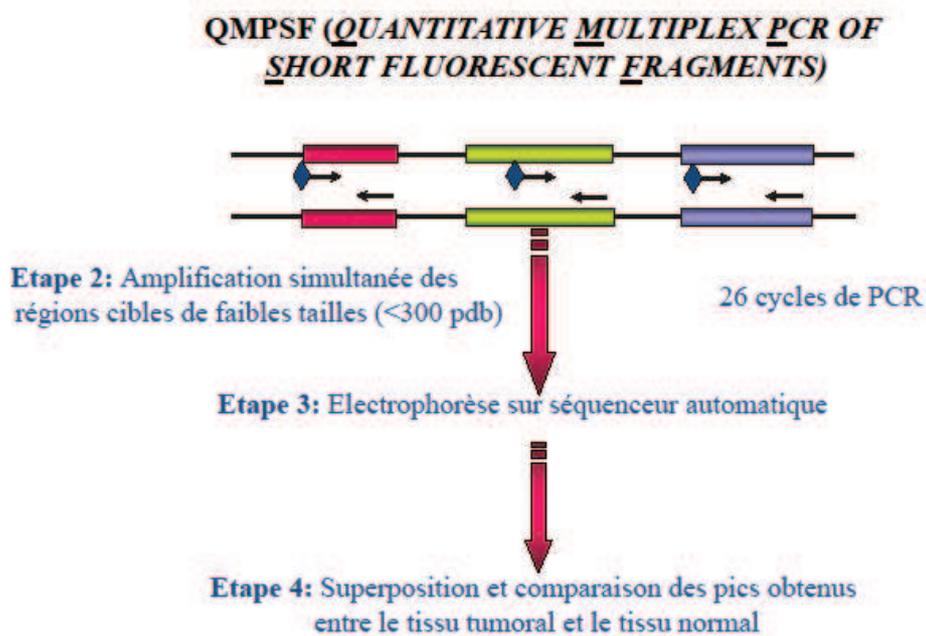


Figure 3a : Schéma du principe général de la QMPSF

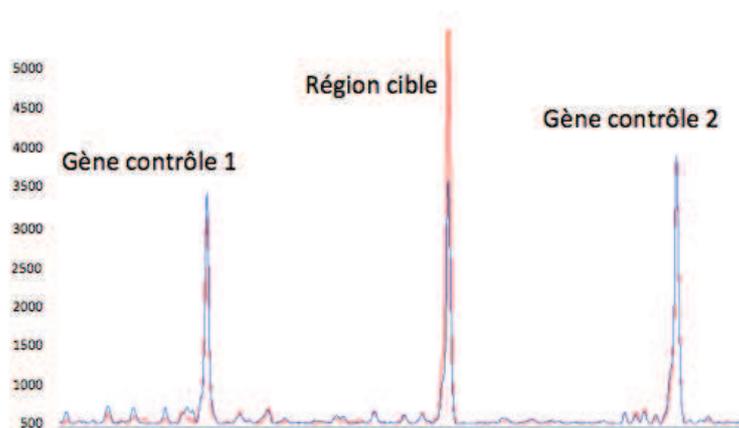


Figure 3b : Détail de l'étape 4 : alignement des gènes contrôles et superposition des pics du TN **en bleu**, et du TT **en rouge**. Calcul du ratio des pics dans la région cible. Ici : amplification du gène cible dans le tissu tumoral.

4.3.3. CGH

Une série de validation des résultats obtenus par QMPSF a été réalisée en les confrontant aux résultats obtenus par CGH array sur un échantillon de 8 patients issus de la population étudiée en QMPSF.

Pour cela, un kit Human Genome CGH Microarray (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) a été utilisé selon les instructions du fabricant. Les ADN issus du TT et du TN ont été marqués par un fluorochrome après une amplification de l'ensemble du génome. (GenomePlex ; Sigma-Aldrich, St. Louis MO). La résolution spatiale moyenne des puces à ADN était de 60 kilobases. L'ensemble des régions chromosomiques d'intérêt étudiées par QMPSF étaient explorées par au moins une sonde sur la puce de CGH.

Les résultats ont été analysés avec le logiciel CGH Analytics (v 3.3, Agilent Technologies). Les données obtenues par CGH étaient interprétées en faisant la moyenne des valeurs de la (des) sonde(s) explorant chaque gène d'intérêt et des valeurs de la sonde en amont et de la sonde en aval. Ensuite, les résultats obtenus étaient comparés à ceux issus de l'analyse par QMPSF.

4.4. ANALYSE STATISTIQUE

Les caractéristiques des patients et leurs répartitions selon les différents groupes prédéfinis ont été exprimées en pourcentages ou moyennes (+/- écart type) et comparées par le test statistique approprié (Chi2, Test exact de Fisher, Test T de Student). Le critère de jugement principal pour étudier la valeur pronostique des différentes variables était la survie globale (SG) définie comme le délai entre le début de la première ligne de traitement (ou 2^{ème} ligne le cas échéant) et la date de décès quelle qu'en soit la cause. Le critère secondaire de jugement était la survie sans progression (SSP) définie comme le délai entre le début de la première ligne de traitement (ou 2^{ème} ligne le cas échéant) et la mise en évidence d'une progression lors de la surveillance selon les critères RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumor) **(82)**, ou l'arrêt du traitement pour toxicité ou le décès du patient. En analyse univariée, les courbes de survies ont été calculées selon la méthode de Kaplan-Meier et comparées par le test du log rank.

En analyse multivariée, le modèle de Cox a été utilisé pour déterminer le Hazard Ratio (HR) et son intervalle de confiance à 95% [IC 95%] des différentes variables. L'analyse multivariée intégrait les variables pertinentes et statistiquement significatives en analyse univariée.

Pour étudier l'impact de la fonction rénale sur la toxicité, une régression logistique a été réalisée afin de déterminer l'Odds ratio (OR, [IC 95%]) de la fonction rénale en tenant compte des variables pouvant influencer la toxicité induite.

Pour l'axe moléculaire, la fréquence des AGQ identifiées par QMPSF a été exprimée en pourcentage. La concordance des résultats des AGQ identifiées par QMPSF et CGH a été exprimée en pourcentage et représentée graphiquement. Lors de l'étude clinique préliminaire l'association entre les AGQ et les facteurs clinico-biologique ou histologiques a été évaluée selon les tests usuels (test du Chi 2 ou Test exact de Fisher), l'analyse de survie a été réalisée selon la méthode de Kaplan-Meier et le test du Log-Rank.

Les résultats obtenus lors de cette étude étaient considérés comme statistiquement significatifs pour une valeur de $P < 0,05$. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel MedCalc® version 12.0.3.0, MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium.

5. RESULTATS

5.1. CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION

Un total de 102 patients traités consécutivement dans notre centre par TT pour un CRM ont été inclus dans l'étude. Le suivi médian était de 20 mois [1 - 87]. Les caractéristiques cliniques biologiques et anatomopathologiques des patients sont résumées dans le **Tableau 11**.

L'âge médian en début de première ligne de TC était de 62 ans [38 - 87], avec un sexe ratio de près de 2 hommes pour une femme (63,7 % d'hommes). Cinquante-deux patients (51 %) avaient une métastase synchrone au diagnostic alors que 50 patients ont évolué vers un stade métastatique au cours de la surveillance dans un délai de 40,2 (\pm 53,8) mois après le diagnostic de CCR localisé. Soixante-deux patients (60,8 %) présentaient plus d'un site métastatique, et 10 (9,8 %) avaient une localisation métastatique cérébrale.

Selon les critères du score MSKCC, 51 % des patients étaient de pronostic intermédiaire, contre respectivement, 23,5 % et 25,5 % pour les groupes de bon et mauvais pronostics.

Une néphrectomie avait été réalisée pour 92 (90,2 %) patients dans le but de traiter la tumeur primitive dont 42 des 52 (81 %) patients métastatiques d'emblée. Vingt-cinq (24,5 %) patients avaient eu une chirurgie d'exérèse d'une métastase et 14 (13,7 %) avaient reçu une immunothérapie antérieure à la première ligne de TC.

Les molécules de traitement utilisées en première ligne étaient le sunitinib pour 67 patients (65,7 %), le sorafenib pour 24 patients (23,5 %) et un inhibiteur de mTor pour 11 patients (10,8 %). Les caractéristiques de la première ligne de traitement sont résumées dans le **Tableau 12**.

La médiane de SG de la population de l'étude était de 21 mois et la médiane de SSP de 6 mois.

Tableau 11 : Caractéristiques clinico-biologiques des patients à l'initiation de la TC

Variables		Patients	
		N=	%
Age médian au début de la ligne 1		62	
Extrêmes		38 ; 87	
Sexe	Homme	65	63,7%
	Femme	37	36,3%
Métastase synchrone		52	51,0%
Plus d'un site métastatique		62	60,8%
Métastase cérébrale		10	9,8%
Karnofsky performance status	≥ 80 %	68	66,7%
	< 80 %	34	33,3%
Biologie	Albuminémie < LNI	40	39,2%
	Hémoglobine < LNI	34	33,3%
	Plaquettes > LNS	13	12,7%
	Polynucléaires neutrophiles >LNS	20	19,6%
	Calcémie corrigée > LNS	4	3,9%
	LDH > 1,5 LNS	13	12,7%
	DFG <60 ml/min/1,73m2	42	41,2%
Groupe pronostique du MSKCC	Bon pronostic	24	23,5%
	Pronostic intermédiaire	52	51,0%
	Mauvais pronostic	26	25,5%
Groupe pronostique de Heng	Bon pronostic	25	24,5%
	Pronostic intermédiaire	49	48,0%
	Mauvais pronostic	28	27,5%
Type Histologique	Carcinome rénal à cellule claire	87	85,3%
	Carcinome tubululo-papillaire	8	7,8%
	Autre	7	6,9%
Stade pT (n=92)	T 1-2	43	46,7%
	T 3-4	49	53,3%
Ganglions Positifs (N+) (n=92)		13	14,1%
Fuhrman ≥ 3 (n=92)		63	68,5%
Emboles vasculaires (n=92)		46	50,0%
Marges positives (n=92)		3	3,3%
Néphrectomie	Oui	92	90,2%
	Elargie	80	87,0%
	Partielle	6	6,5%
	Elargie + Thrombus Cave	6	6,5%
Métastasectomie antérieure à la première ligne		25	24,5%
Immunothérapie antérieure		14	13,7%

Notes: LNS, Limite normale supérieure; LNI limite normale inférieure; DFG, débit de filtration glomérulaire

Tableau 12 : Caractéristique de la première ligne de thérapies ciblées :

Variables	Patients	
	N=	%
Molécule de première ligne		
Sunitinib	67	65,7%
Sorafénib	24	23,5%
Everolimus	7	6,9%
Temsirolimus	4	3,9%
Survie globale médiane (mois)		21
Survie sans progression médiane (mois)		6
Toxicité induite par les TC		
Grade 0, 1, 2	50	49,0%
Grade 3, 4	52	51,0%
Toxicité grade 3, 4 selon les molécules de TC		
Sunitinib (n=66)	35	52%
Sorafénib (n=24)	15	62,5%
I mTor (n=9)	2	18%
Principales toxicités induites		
Cutanée/Muqueuse	65	63,7%
Digestive	59	57,8%
Hypertension artérielle	33	32,4%
Cause d'arrêt de la première ligne (n=92)		
Progression	64	69,6%
Toxicité	28	30,4%
Modification du traitement lié à la toxicité	65	63,7%
Age \geq 70 ans	33	32,4%
Seconde ligne de TC après la première	60	58,8%

5.2. IMPACT DE LA TOXICITE ET DE LA FONCTION RENALE

5.2.1. Etude descriptive de la toxicité et la fonction rénale

Au moins un événement de toxicité sévère a été retrouvé chez 51 % des patients au cours de la première ligne de TC, ce premier épisode survenant au cours des 5 premiers mois dans 83 % des cas. Le délai médian d'apparition du premier épisode de toxicité sévère était de 3 mois [0 - 12] après l'initiation de la première ligne, **Figure 4**. Comme détaillé dans le **Tableau 12**, les toxicités les plus fréquemment rencontrées, tous grades confondus étaient les toxicités : cutanées et muqueuses (63,7%), digestives (57,8%) et l'hypertension artérielle (32,4%). Cette toxicité induite était responsable d'une réduction des doses de TC administrées (temporaire ou définitive) pour 63,7% des patients, et de 30,4% des arrêts définitifs de la première ligne de traitement.

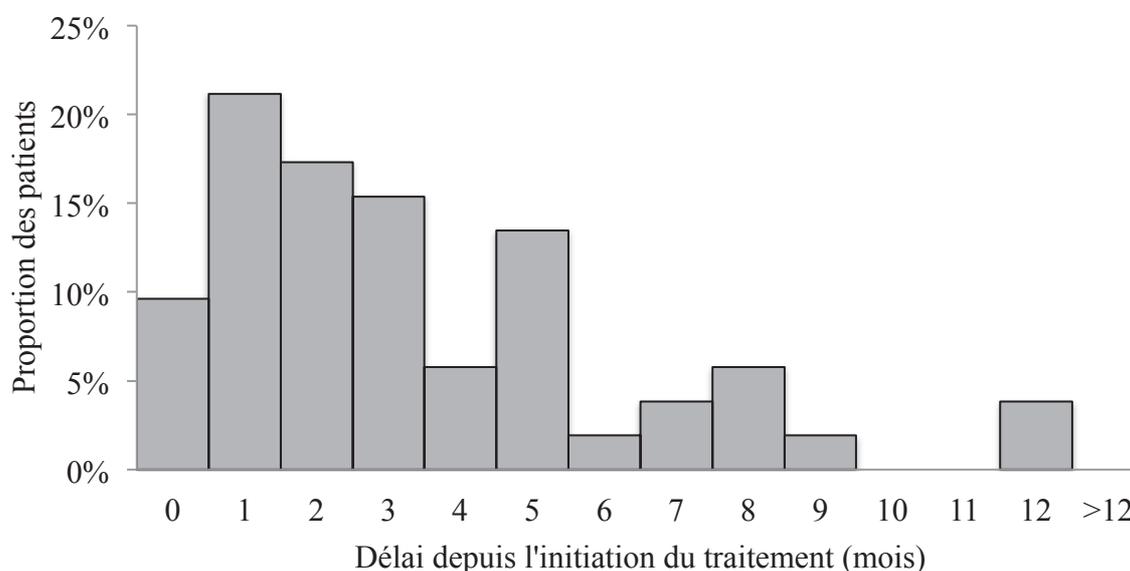


Figure 4 : Répartition dans le temps du premier épisode de toxicité sévère

Le DFG médian était de 64,3 ml/min/1,73m², [6,2 – 168,5], et 42 patients avaient une insuffisance rénale (DFG < 60 ml/min), dont 4 (3,9%) sévères (DFG < 30 ml/min) et un patient en hémodialyse chronique. Comme cela est résumé dans le **Tableau 13**, plusieurs

caractéristiques des patients ayant une insuffisance rénale étaient significativement différentes de celles des patients ayant une fonction rénale normale. En effet, les patients avec un DFG < 60 étaient significativement associés à une fréquence plus faibles de certains facteurs de mauvais pronostiques comme l’anémie (p = 0,0001), la thrombocytose (p = 0,009), l’index de Karnofsky < 80% (p = 0,003) et un délai diagnostic – traitement < 1 an (p= 0,002).

Tableau 13 : Caractéristiques des patients selon leur fonction rénale

Variables	Débit de filtration glomérulaire MDRD				P
	>60 n=60		<60ml/min n=42		
	n	%	n	%	
Sexe masculin	42	70%	25	60%	0,27
Age > 70 ans	12	20%	21	50%	0,001
Néphrectomie	52	87%	40	95%	0,15
Métastases pulmonaires	42	70%	28	67%	0,72
Métastases cérébrales	7	12%	3	7%	0,45
Karnofsky<80%	27	45%	7	17%	0,0028
Anémie	29	48%	5	12%	0,0001
Thrombocytose	12	20%	1	2%	0,009
PNN > LNS	14	23%	6	14%	0,26
Calcémie corrigée > LNS	4	7%	0	0%	0,14
LDH > 1,5 LNS	9	15%	4	10%	0,55
Toxicité sévère	19	32%	33	79%	<0,0001
Histologie à cellules claires	52	87%	36	86%	0,89
Intervalle diagnostic traitement < 1an	45	75%	19	45%	0,0022
Type de traitement :					0,12
Sunitinib	35	58%	32	76%	
Sorafenib	16	31%	8	20%	
Inhibiteur de mTOR	9	15%	2	5%	

Abréviations: LNS, limite normale supérieure

Les patients présentant un DFG < 60 développaient plus fréquemment une toxicité sévère au cours du traitement par TC (79 % vs. 32 %, p < 0,0001), le DFG moyen des patients présentant une toxicité sévère étant de 55,1 ± 18,9 ml/min/1,73 m², et celui des patients ne développant pas de toxicité sévère de 80,2 ± 27,8 ml/min/1,73 m² (p < 0,0001), **Figure 5**. Il existait une tendance à la survenue plus précoce du premier événement de toxicité sévère chez

les patients ayant une insuffisance rénale (délai moyen = $2,9 \pm 3,5$ mois contre $4,3 \pm 2,4$ mois ; $p = 0,15$).

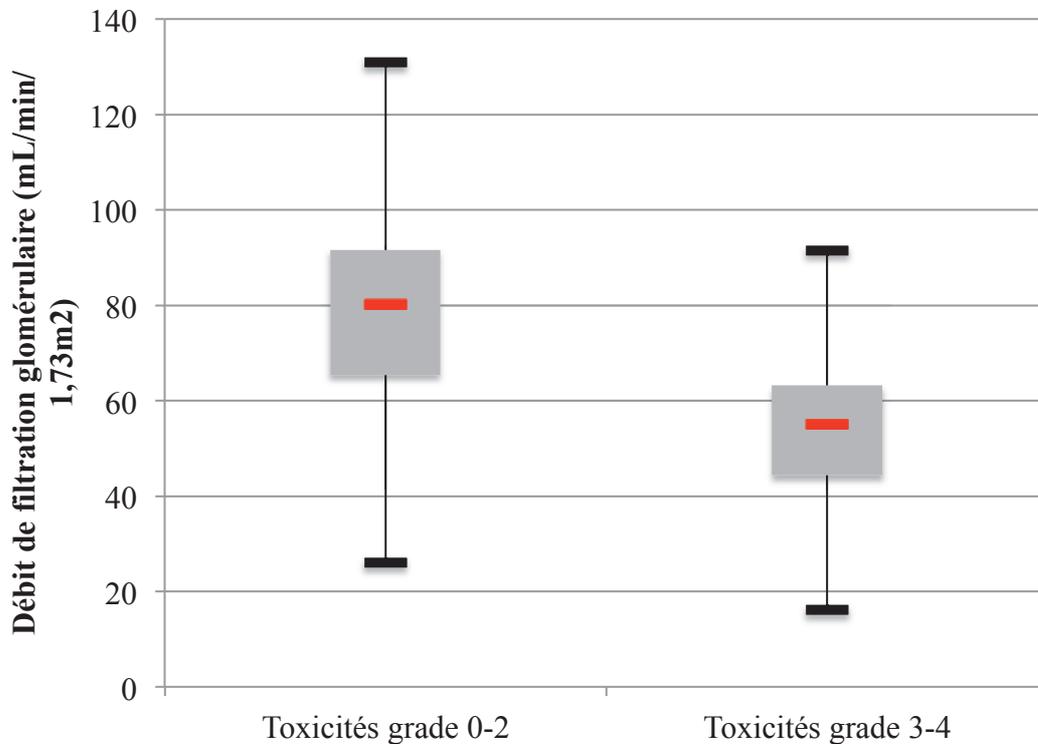


Figure 5 : Répartition du débit de filtration glomérulaire selon la toxicité induite par les TC

En analyse multivariée, la régression logistique a mis en évidence l'insuffisance rénale comme seul facteur indépendant de toxicité sévère : OR = 3,9 [1,38 – 11,01] $p = 0,01$,

Tableau 14.

Tableau 14: Régression logistique évaluant l'impact des différentes variables pouvant influencer la toxicité induite

	Odds Ratio	IC 95%	p
Age > 70 ans	2,67	0,87 - 8,14	0,08
Albuminémie < LNI	0,41	0,15 - 1,17	0,1
DFG < 60 ml/min	3,9	1,38 - 11,01	0,01
Sexe (M)	0,88	0,30 - 2,59	0,82
Hémoglobine < LNI	0,52	0,17 - 1,56	0,24
Karnofsky PS < 80%	0,55	0,18 - 1,64	0,28
Molécule de TC	0,74	0,35 - 1,53	0,41

5.2.2. Etude de l'impact pronostique : analyse de survie

En analyse univariée, les patients ayant une toxicité sévère avaient une SG et une SSP significativement supérieure aux patients avec des médianes de respectivement 34 vs. 13 mois pour la SG ($p < 0.0001$) et de 10,5 vs. 5 mois pour la SSP ($p = 0,0004$), **Figure 6**.

De même, les patients présentant une insuffisance rénale, avaient une meilleure SG et une meilleure SSP avec des médianes respectives de 33 vs. 13 mois pour le SG ($p = 0,001$) et de 12 vs. 6 mois pour la SSP ($p = 0,003$). Par ailleurs, les scores pronostiques du MSKCC et de Heng ainsi que les variables les composant avaient un impact pronostique significatif. L'existence d'une hypoalbuminémie ou d'une métastase cérébrale avaient un impact péjoratif sur la survie. L'ensemble des résultats de l'analyse univariée sont résumés dans le **Tableau 15**.

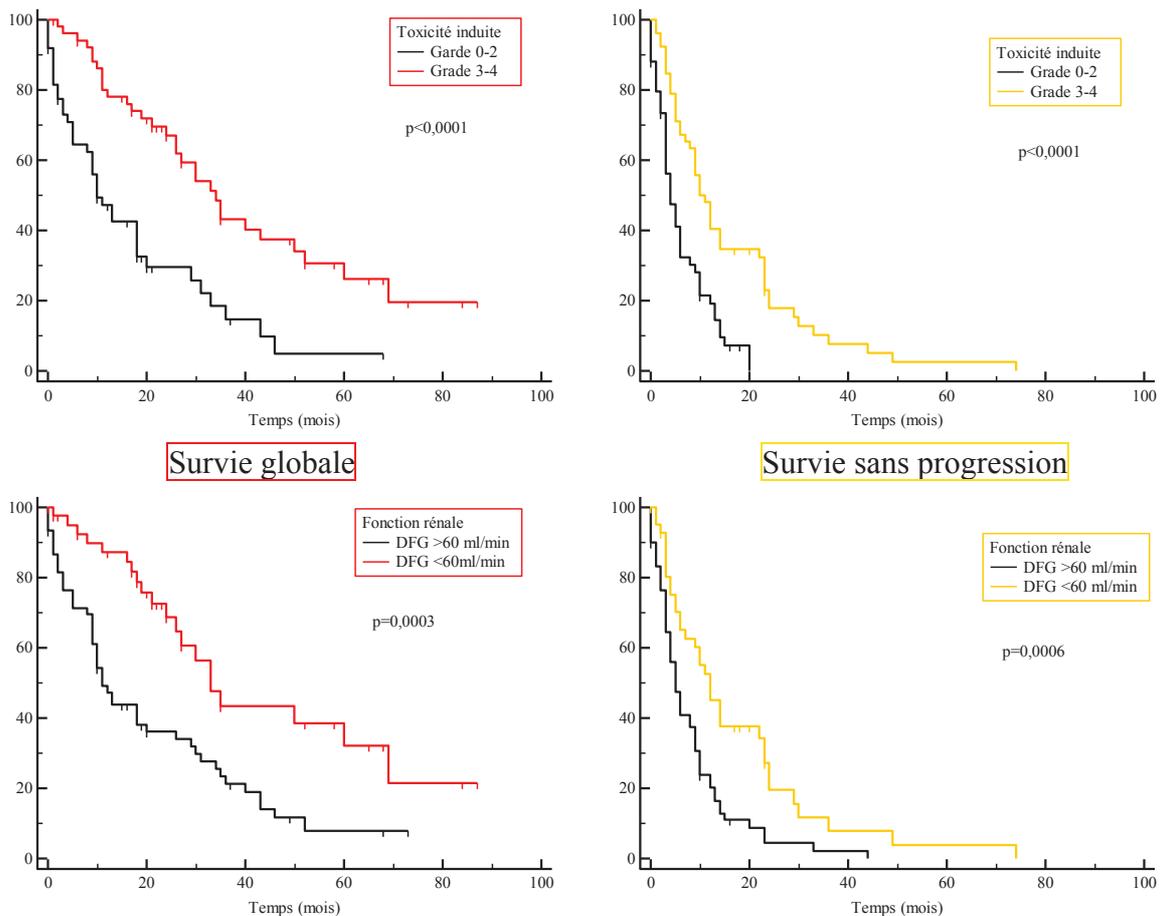


Figure 6 : Courbe de survie globale (noir/rouge) et sans progression (noir/jaune) selon la toxicité induite et la fonction rénale

Tableau 15: Analyse univariée de la survie globale et sans progression

Variables		SG		SSP	
		Médiane	p=	Médiane	p=
Sexe	Masculin	21	0,81	6	0,19
	Féminin	27		10	
Age	>=70	30	0,15	11	0,021
	<70	18		6	
Karnofsky performance status	≥ 80 %	31	<0,0001	10	0,0038
	< 80 %	9		3	
Métastase cérébrale	Oui	11	0,0048	6	0,27
	Non	27		8	
Molécule de première ligne de TC	Sunitinib	24	0,38	10	0,22
	Sorafénib	26		5	
	I mTOR	5		3	
Délai entre diagnostique et TC	>1an	35	0,001	10,5	0,012
	<1an	13		5	
Hémoglobine < LNI	Oui	9	<0,0001	5	0,0036
	Non	31		10	
Plaquettes < LNI	Oui	5	<0,0001	3	<0,0001
	Non	29		9	
Polynucléaires neutrophiles > LNS	Oui	9	0,013	4	0,006
	Non	27		9	
Albumine < LNI	Oui	10	<0,0001	4	0,0016
	Non	34		10	
Calcémie corrigée > LNS	Oui	6	0,005	2	0,033
	Non	26		8	
LDH > 1,5 LNS	Oui	13	0,079	5	0,35
	Non	26		9	
Débit de filtration glomérulaire < 60 ml/min	Oui	33	0,0003	12	0,0006
	Non	11		5	
Type histologique	CCRcc	21	0,9	8	0,28
	Autre	24		6	
Statut tumoral	T1-T2	26	0,57	9	0,71
	T3-T4	18		6	
Statut ganglionnaire	N0	27	0,07	9	0,068
	N+	10		5	
Groupe pronostique du MSKCC	Bon	35	<0,0001	12	0,0004
	Intermédiaire	26		8	
	Mauvais	8		3	
Groupe pronostique de Heng	Bon	35	<0,0001	11	<0,0001
	Intermédiaire	26		10	
	Mauvais	5		3	
Toxicité induite	Grade 0-2	10	<0,0001	4	<0,0001
	Grade 3-4	34		10,5	

Note: Abréviations: SG : survie globale, SSP survie sans progression, LNS (I) : limite normale supérieure (inférieure), ImTOR : inhibiteur de mTOR

En analyse multivariée, la toxicité sévère apparaissait comme un facteur indépendant de bon pronostic pour la survie globale : HR = 0,52 [0,28 – 0,96] p = 0,03. De même une hypoalbuminémie apparaissait comme un facteur de mauvais pronostic, p = 0,02. En ce qui concerne la survie sans progression, seule la toxicité a été identifiée comme un facteur pronostique indépendant : HR = 0,54 [0,31 – 0,95] p = 0,03.

Les résultats de l'analyse multivariée sont reportés dans le **Tableau 16**.

Tableau 16: Résultats de l'analyse multivariée pour la survie globale et sans progression

Variables	Survie globale			Survie sans progression		
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
Albuminémie < LNI	2,03	1,12 - 3,72	0,02	1,32	0,81 - 2,14	0,26
Calcémie > LNS	1,82	0,57 - 5,82	0,32	2,63	0,83 - 8,25	0,1
DFG < 60 ml/min	0,87	0,45 - 1,7	0,69	0,91	0,52 - 1,61	0,76
Diagnostic traitement < 1 an	1,42	0,78 - 2,63	0,25	1,38	0,84 - 2,28	0,21
Hémoglobine < LNI	1,34	0,69 - 2,63	0,38	1,02	0,59 - 1,61	0,93
Métastase cérébrale	1,92	0,76 - 4,82	0,17	0,94	0,41 - 2,19	0,89
Karnofsky PS < 80%	1,61	0,92 - 2,85	0,1	1,39	0,86 - 2,27	0,18
PNN > LNS	1,24	0,61 - 2,5	0,56	1,57	0,88 - 2,8	0,13
Plaquettes > LNS	1,94	0,89 - 4,21	0,1	1,81	0,89 - 3,71	0,1
Toxicité sévère (grade 3-4)	0,52	0,28 - 0,96	0,03	0,54	0,31 - 0,95	0,03

5.3.IMPACT DE L'AGE

5.3.1. Caractéristiques des patients

Pour cet axe de notre étude, la population étudiée intégrait l'ensemble des 102 patients traités par TC pour un CRM déjà décrits ci-dessus, cf. **Tableaux 1 et 2**. Trente-trois patients (32,3 %) étaient âgés d'au moins 70 ans à l'initiation du traitement. Les deux groupes de patients classés selon leurs âges ne présentaient pas de différences significatives pour la plupart des variables étudiées, en particulier, en ce qui concerne le score de comorbidité de Charlson : score moyen pour le groupe < 70 ans = $6,74 \pm 1,1$ et score moyen pour le groupe ≥ 70 ans = $7,11 \pm 1$, $p = 0,14$. Seuls la fonction rénale, la toxicité induite et le sexe étaient significativement différents entre les deux groupes. Les caractéristiques des patients selon leur catégorie d'âge sont résumées dans le **Tableau 17**. L'Age médian dans le groupe ≥ 70 ans était de 74 ans [70 - 87] et de 56 ans [38 – 69] dans le groupe < 70 ans.

5.3.2. Tolérance du traitement

Concernant la toxicité induite par les thérapies ciblées, si l'on considère l'ensemble des toxicités (tous grades, tous types) il n'y avait de pas de différence significative entre les deux groupes de patients. De même, lorsque l'on considère les 4 principaux types de toxicités rencontrées pour les TC (cutanéomuqueuses, hypertension artérielle, digestive et asthénie), il n'existait pas non plus de différence de fréquence entre les deux groupes (tous grades confondus). Le **Tableau 18** récapitule les résultats concernant les toxicités induites selon l'âge des patients.

En revanche, concernant la survenue d'événement de toxicité sévère, les patients > 70 ans présentaient plus fréquemment un épisode de toxicité sévère (tous types confondus) : 73% vs. 41%, $p = 0,0024$. Chez les sujets de plus de 70 ans, la toxicité était responsable d'une réduction de dose de traitement pour 79% des patients contre 51% pour les < 70 ans, $p =$

0,006, et d'un arrêt définitif de la première ligne de traitement pour respectivement 50% des patients contre 21%, p = 0,004.

Tableau 17: caractéristiques des patients selon leurs catégories d'âge

Variables	<70 ans		≥70ans		p	
	n	%	n	%		
Sexe masculin	49	71%	16	48%	0,026	
Néphrectomie	62	90%	30	91%	1	
Métastase synchrone	38	55%	14	42%	0,23	
Métastasectomie	16	23%	9	27%	0,65	
Métastase pulmonaire	48	70%	22	67%	0,77	
Métastase cérébrale	9	13%	1	3%	0,16	
Karnofsky PS < 80%	25	36%	9	27%	0,37	
Hémoglobine < LNI	26	38%	8	24%	0,18	
Plaquettes < LNI	12	17%	1	3%	0,06	
PNN > LNS	17	25%	3	9%	0,11	
Albumine < LNI	28	41%	12	36%	0,68	
DFG < 60 ml/min/1,73m2	21	30%	21	64%	0,0014	
Calcémie > LNS	3	4%	1	3%	1	
LDH < LNI	11	16%	2	6%	0,21	
Toxicité sévère grade (3-4)	28	41%	24	73%	0,0024	
N+	11	16%	2	6%	0,21	
Haut grade de Fuhrman (3-4)	43	67%	21	70%	0,79	
CCRcc	61	88%	27	82%	0,37	
Emboles vasculaires	30	51%	16	59%	0,47	
Score MSKCC	Bon	13	19%	11	33%	0,13
	Intermédiaire	35	51%	17	52%	
	Mauvais	21	30%	5	15%	
Score de Heng	Bon	14	20%	11	33%	0,11
	Intermédiaire	32	46%	17	52%	
	Mauvais	23	33%	5	15%	
Diagnostic - Traitement < 1an	47	68%	17	52%	0,1	
Première ligne de TC	Sunitinib	40	58%	27	82%	0,065
	Sorafénib	19	28%	5	15%	
	ImTOR	10	14%	1	3%	

Tableau 18: Toxicité induite par les thérapies ciblées selon l'âge des patients

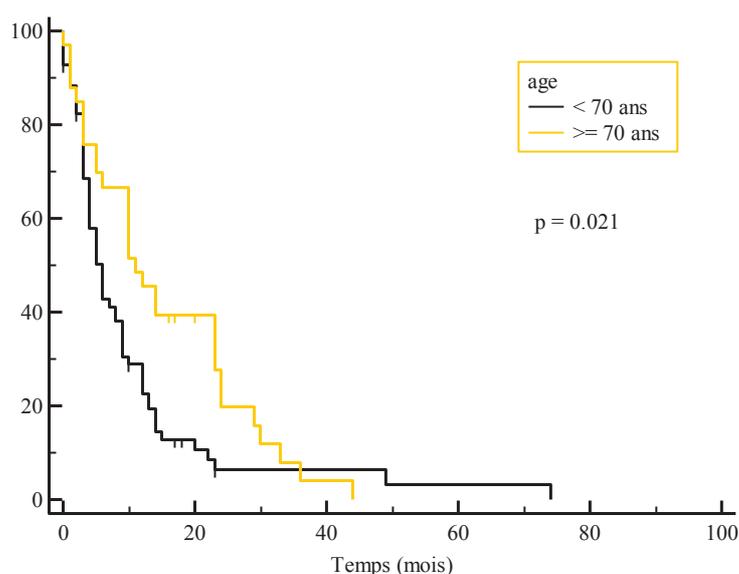
Toxicité	<70 ans		>70 ans		p
	n=	%	n=	%	
Tous type tous grades	62	90%	31	94%	0,7
Cutanéo-muqueuse (TG)	51	74%	24	73%	0,69
Digestive (TG)	35	51%	22	67%	0,13
HTA (TG)	17	25%	8	24%	0,96
Asthénie (TG)	26	38%	13	39%	0,86
Toxicité sévère	28	41%	24	73%	0,0024
Réduction de dose	35	51%	26	79%	0,006
Arrêt du traitement	13	21%	15	50%	0,004

Abbréviation: HTA= hypertension artérielle, TG= Tous grades

5.3.3. Etude de survie

En analyse univariée, il n'a pas été mis en évidence de différence significative entre les deux groupes d'âge pour la survie globale, $p = 0,15$. En revanche les patients de plus de 70 ans avaient une SSP significativement supérieure aux patients < 70 ans : médiane de SSP = 11 mois vs. 6 mois respectivement, $p = 0,02$. Cf. **Tableau 1** et **Figure 17**.

Malgré un résultat significatif pour la SSP, l'âge n'a pas été intégré à l'analyse multivariée du fait de son association significative à la toxicité induite et à l'altération de la fonction rénale, deux facteurs également intégrés au modèle de Cox.

**Figure 7 :** Survie sans progression selon l'âge des patients

5.4. ETUDE DES FACTEURS PRONOSTIQUES EN DEUXIEME LIGNE DE TC

5.4.1. Caractéristiques des patients traités en deuxième ligne de TC

Parmi les 102 patients traités par TC, 60 (58,8%) ont initié une deuxième ligne. L'âge médian en début de 2^{ème} ligne était de 61 ans [39 - 81]. Les caractéristiques clinico-biologiques des patients en début de seconde ligne de TC sont résumées dans le **Tableau 19**.

Tableau 19: Caractéristique des patients à l'initiation de la deuxième ligne de de TC

Variables		Patients	
		n=	%
Age médian au début de la ligne 1		61	
Extrêmes		39 - 81	
Sexe	Homme	40	67%
	Femme	20	33%
Age ≥ 70 ans		17	28%
Métastase cérébrale		5	8%
Karnofsky performance status <80%		15	25%
Biologie	Albuminémie < LNI	22	37%
	Hémoglobine < LNI	15	25%
	Plaquettes > LNS	7	12%
	Polynucléaires neutrophiles >LNS	11	18%
	Calcémie corrigée > LNS	1	2%
	LDH > 1,5 LNS	8	13%
	DFG <60 ml/min/1,73m2	21	35%
Groupe pronostique du MSKCC	Bon pronostic	17	28%
	Pronostic intermédiaire	31	52%
	Mauvais pronostic	12	20%
Groupe pronostique de Heng	Bon pronostic	16	27%
	Pronostic intermédiaire	33	55%
	Mauvais pronostic	11	18%
Type Histologique	Carcinome rénal à cellules claires	51	85%
	Autre	9	15%
Stade pT (n=59)	T 1-2	28	47%
	T 3-4	31	53%
Ganglions Positifs (N+) (n=59)		8	14%
Fuhrman ≥ 3 (n=59)		45	76%
Néphrectomie		59	98%

Notes: LNS, Limite normale supérieure; LNI limite normale inférieure

L'évérolimus était la molécule la plus employée avec 26 patients traités, devant le sunitinib (20), le sorafénib (10) et le temsirolimus. Le traitement était responsable de toxicités induites sévères pour 28 patients (47%), entraînant une réduction de dose pour 48% des patients et de 28 % des arrêt du traitement. Les toxicités les plus fréquemment rencontrées étaient cutanées (48 %) et digestives (43 %), **Tableau 20**.

Tableau 20: Caractéristiques de la deuxième ligne de traitement

Variables	Patients	
	N=	%
Molécule de deuxième ligne		
Sunitinib	20	33%
Sorafénib	10	17%
Everolimus	26	43%
Temsirolimus	4	7%
Molécule de première ligne		
Sunitinib	38	63%
Sorafénib	19	32%
ImTOR	3	5%
Survie globale médiane (mois)	13	
Survie sans progression médiane (mois)	4	
Toxicité induite par les TC		
Grade 0, 1, 2	32	53%
Grade 3, 4	28	47%
Toxicité grade 3, 4 selon les molécules de TC		
Everolimus (n=26)	14	54%
Sunitinib (n=20)	8	40%
Sorafénib (n=10)	6	60%
Temsirolimus (n=4)	0	0%
Principales toxicités induites		
Cutanée/Muqueuse	29	48%
Digestive	26	43%
Hypertension artérielle	11	18%
Cause d'arrêt de la deuxième ligne (n=57)		
Progression	41	72%
Toxicité	16	28%
Cause d'arrêt de la première ligne		
Progression	44	73%
Toxicité	16	27%
Modification du traitement lié à la toxicité	29	48%
Troisième ligne de TC	34	57%

5.4.2. Etude de survie et des facteurs pronostiques

La survie globale en 2^{ème} ligne de TC était de 13 mois, et la SSP de 4 mois. Les principaux facteurs pronostiques cliniques et biologiques connus en première ligne de traitement avaient également un impact pronostique en 2^{ème} ligne, **Tableau 21**. De plus, les facteurs pronostiques émergents (en première ligne) comme la toxicité induite et l'altération de la fonction rénale ont également été identifiés comme ayant un impact pronostic en 2^{ème} ligne. Ainsi, les patients ayant un DFG < 60 ml/min à l'initiation de la 2^{ème} ligne avaient une meilleure SG (24 mois vs. 9, p = 0,035) et une meilleure SSP (7 mois vs. 4, p = 0,043). De même, les patients ayant une toxicité sévère induite par la 2^{ème} ligne avaient une meilleure SG (26 mois vs. 10, p = 0,003) et une meilleure SSP (5 mois vs. 4, p = 0,047), **Tableau 21 et**

Figure 8.

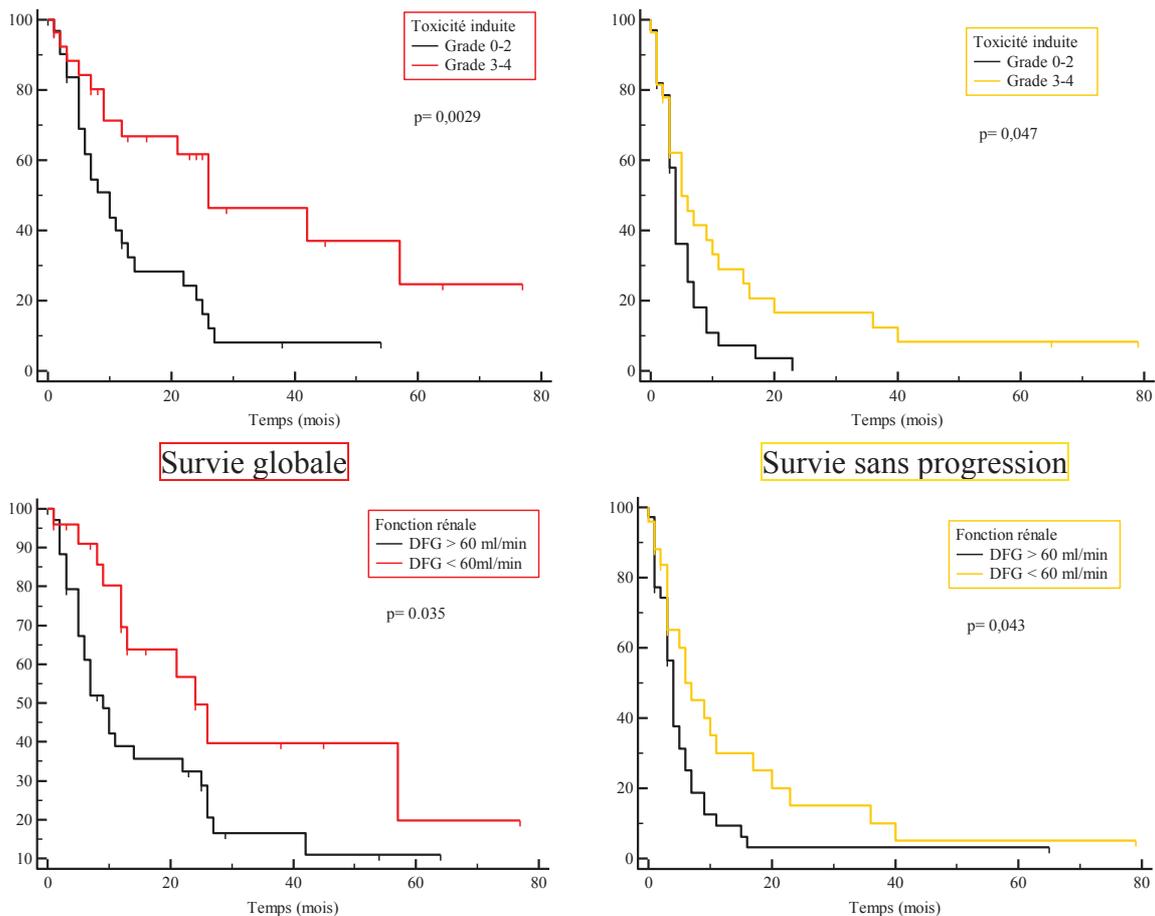


Figure 8 : Courbe de survie globale et sans progression selon la toxicité induite et la fonction rénale en 2^{ème} de ligne de TC

Tableau 21: Analyse univariée de la survie globale et sans progression en deuxième de ligne de TC

Variables	SG		SSP		
	Médiane	p=	Médiane	p=	
Age	≥70	21	0,62	6	0,34
	<70	12		4	
Karnofsky performance status	≥ 80 %	22	0,086	6	0,018
	< 80 %	9		3	
Métastase cérébrale	Oui	5	0,0002	1	0,0004
	Non	21		5	
Molécule de première ligne de TC	Sunitinib	25	0,22	4	0,33
	Sorafénib	26		5,5	
	Évérolimus	12		4	
	Temsirolimus	9		3	
Hémoglobine < LNI	Oui	5	0,0005	3	0,047
	Non	22		5	
Plaquettes < LNI	Oui	7	0,044	4	0,17
	Non	21		4	
Polynucléaires neutrophiles > LNS	Oui	10	0,34	4	0,38
	Non	21		5	
Albumine < LNI	Oui	8	0,0005	3	0,0075
	Non	26		6	
Calcémie corrigée > LNS	Oui	14	0,76	4	0,64
	Non	12		4	
LDH > 1,5 LNS	Oui	6	0,033	3,5	0,24
	Non	14		5	
Débit de filtration glomérulaire < 60 ml/min	< 60 ml/min	24	0,035	7	0,043
	≥ 60 ml/min	9		4	
Type histologique*	CCRcc	12	0,68	4	0,29
	Autre	19,5		7	
Groupe pronostique du MSKCC*	Bon	26	0,0037	7	0,015
	Intermédiaire	12		5	
	Mauvais	6		3	
Groupe pronostique de Heng*	Bon	26	0,0077	10	0,014
	Intermédiaire	12		4	
	Mauvais	6		3	
Toxicité induite	Grade 0-2	10	0,003	4	0,047
	Grade 3-4	26		5	

Note: Abréviations: SG : survie globale, SSP survie sans progression, LNS (I) : limite normale supérieure (inférieure) ; * Données avant première ligne de traitement

En analyse multivariée, la toxicité induite était retrouvée comme un facteur indépendant de bon pronostic pour la SG : HR = 0,36 [0,16 – 0,78] p = 0,01. De même, l'existence d'une métastase cérébrale est apparue comme un facteur indépendant de mauvais pronostic pour la SG : HR = 4,72 [1,43 – 15,6] p=0,011 et pour la SSP : HR = 3,93 [1,41 – 10,94] p=0,009,

Tableau 22.

Tableau 22: Résultats de l'analyse multivariée pour la SG et la SSP en deuxième ligne de TC

Variables	Survie globale			Survie sans progression		
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
Albuminémie < LNI	2,11	0,97 - 4,58	0,061	1,62	0,83 - 3,14	0,16
DFG < 60 ml/min	0,83	0,38 - 1,80	0,63	0,69	0,37 - 1,27	0,23
Hémoglobinémié < LNI	1,86	0,63 - 5,46	0,26	1,18	0,56 - 2,47	0,66
Métastase cérébrale	4,72	1,43 - 15,60	0,011	3,93	1,41 - 10,94	0,009
Karnofsky PS < 80%	-	-	-	1,62	0,73 - 3,6	0,24
Plaquettes > LNS	1,21	0,41 - 3,61	0,73	-	-	-
LDH > 1,5 LNS	2,19	0,73 - 6,55	0,16	-	-	-
Toxicité sévère (grade 3-4)	0,36	0,162 - 0,78	0,01	0,62	0,33 - 1,14	0,13

5.5. ANALYSE MOLECULAIRE

5.5.1. Patients inclus dans l'analyse moléculaire

Comme déjà rapporté, 50 patients ont été inclus dans cet axe de l'étude parmi les 102 traités par TC, le principal facteur d'exclusion étant bien entendu la disponibilité de tissu en tumorotheque. Les données des patients inclus n'étaient pas significativement différentes des données des patients exclus à l'exception de trois variables. En effet, les patients inclus dans l'étude QMPSF avaient un taux supérieur de tumeurs de haut grade ($p = 0,01$), un délai de survenue des métastases inférieur ($p = 0,002$) ainsi qu'un délai entre le diagnostic et l'initiation du traitement par TC plus fréquemment inférieur à 1 an ($p = 0,036$). L'ensemble des caractéristiques des patients inclus et exclus de l'analyse moléculaire sont reportées dans le **Tableau 23**.

L'âge médian était de 60,5 ans [36-79] et le suivi médian à partir du début de la première ligne de traitement par TC était de 18 mois [1-84]. Soixante-deux pourcent des patients étaient des hommes. Vingt-neuf patients (58%) avaient une métastase synchrone au diagnostic, et 21 sont devenus métastatiques en moyenne $14,5 \pm 13,0$ mois après le diagnostic de cancer du rein. Selon le score pronostique du MSKCC, 58% des patients avaient un pronostic intermédiaire, et 26% un mauvais pronostic. Pour la première ligne de traitement, la majorité des patients recevaient un TKI (86%), notamment du sunitinib (56%). Avant le début de la première ligne de traitement, 15 patients (30%) avaient un état général altéré (Karnofsky $< 80\%$). Sur le plan histologique, 39 patients (81,3%) avaient des tumeurs de haut grade (3 et 4 de Führman) et 26 (55,3%) avaient une tumeur de stade T3 ou T4. La médiane de SG était de 19 mois, et la médiane de SSP de 5 mois.

Tableau 23 : Caractéristiques cliniques, biologiques et histologiques des patients inclus et exclus de l'étude et comparaison des populations

Variables		Patients de l'étude		Patients exclus*		Test χ^2 *
		N=	%	N=	%	p=
Age	Moyenne (ans)	60,2		64,3		0,07
Sexe	Homme	31	62.0%	34	65.4%	0,88
	Femme	19	38.0%	18	34.6%	
Métastase synchrone	OUI	29	58.0%	23	44.2%	0.23
	NON	21	42.0%	29	55.8%	
Délai métastase	Moyenne (mois)	14,5		58,9		0,002
Karnofsky PS	Altéré (< 80 %)	15	30.0%	19	36.5%	0,62
	Normal	35	70.0%	33	63.5%	
Hémoglobine	Normale	35	70.0%	33	63.5%	0,62
	Anémie	15	30.0%	19	36.5%	
Plaquettes	Normale	43	86.0%	46	88.5%	0,94
	Thrombocytose	7	14.0%	6	11.5%	
Délai diagnostic traitement	<1 an	13	26.0%	25	48.1%	0,036
	>1 an	37	74.0%	27	51.9%	
Polynucléaires neutrophiles	Normale	39	78.0%	43	82.7%	0,73
	Polynucléose	11	22.0%	9	17.3%	
Albuminémie	Normale	30	60.0%	32	61.5%	0,96
	Hypoalbuminémie	20	40.0%	20	38.5%	
Clairance de la cratininémie	Normale	30	60.0%	30	57.7%	0,97
	<60mL/min	20	40.0%	22	42.3%	
Calcémie	Normale	49	98.0%	49	94.2%	0,98
	Hypercalcémie	1	2.0%	3	5.8%	
LDH	Normale	40	80.0%	49	94.2%	0,06
	>1,5 normale	10	20.0%	3	5.8%	
Molécule de traitement L1	Sunitinib	28	56.0%	39	75.0%	0,22
	Sorafenib	15	30.0%	9	17.3%	
	Everolimus	4	8.0%	3	5.8%	
	Temsirolimus	3	6.0%	1	1.9%	
TNM stade T	T1-2	21	44.7%	22	48.9%	0,85
	T3-4	26	55.3%	23	51.1%	
Grade de Furhman	Bas grade	9	18.8%	20	45.5%	0,01
	Haut grade	39	81.3%	24	54.5%	
Score pronostique du MSKCC	Bon	8	16.0%	16	30.8%	0,19
	Intermédiaire	29	58.0%	23	44.2%	
	Mauvais	13	26.0%	13	25.0%	
Score pronostique de Heng	Bon	10	20.0%	15	28.8%	0,57
	Intermédiaire	25	50.0%	24	46.2%	
	Mauvais	15	30.0%	13	25.0%	

Notes:* Ou test exact de Fisher si nécessaire

5.5.2. Résultats de la QMPSF

L'extraction d'ADN a été réalisée pour l'ensemble des TN et TT des 50 patients inclus dans l'étude. Les concentrations obtenues après contrôle par NanoDrop® ont nécessité une nouvelle extraction pour 9 échantillons ($C < 10 \text{ ng}/\mu\text{L}$) et la concentration moyenne était de $52,3 \pm 36,2 \text{ ng}/\mu\text{L}$ pour l'ensemble de la population. Après cette nouvelle extraction, seul un échantillon de TT présentait toujours une concentration faible à $1,2 \text{ ng}/\mu\text{L}$.

L'application de la méthode de QMPSF a permis de déterminer les profils complets des AGQ des gènes cibles étudiés pour 47 patients (94%), **Figure 9**. Pour 2 patients (4%), seuls les résultats de la PCR2 étaient interprétables, correspondant ainsi à la moitié des gènes cibles et pour un patient, aucun résultat interprétable n'a été obtenu du fait d'un échec de l'amplification par PCR de l'ADN du TT. Il s'agissait du patient pour lequel l'extraction de l'échantillon de TT n'avait pas permis d'obtenir une concentration satisfaisante. Les résultats présentés ci-dessous correspondent à ceux des 47 patients dont les profils complets ont été obtenus.

La fréquence globale des AGQ identifiées était de 33% avec 17% de pertes et 16% de gains, **Figure 11**. Les gènes les plus altérés étaient *ALDOB* (62% d'AGQ), *PLG* (53%) *LPCATI* (51%), les fréquences des AGQ identifiées pour chaque gène sont rapportées dans la **Figure 10 et le Tableau 24**. Quatre patients (8%) ne présentaient pas d'AGQ, 20 patients (41%) présentaient moins de 5 AGQ, et aucun patient ne présentait 14 AGQ (100%).

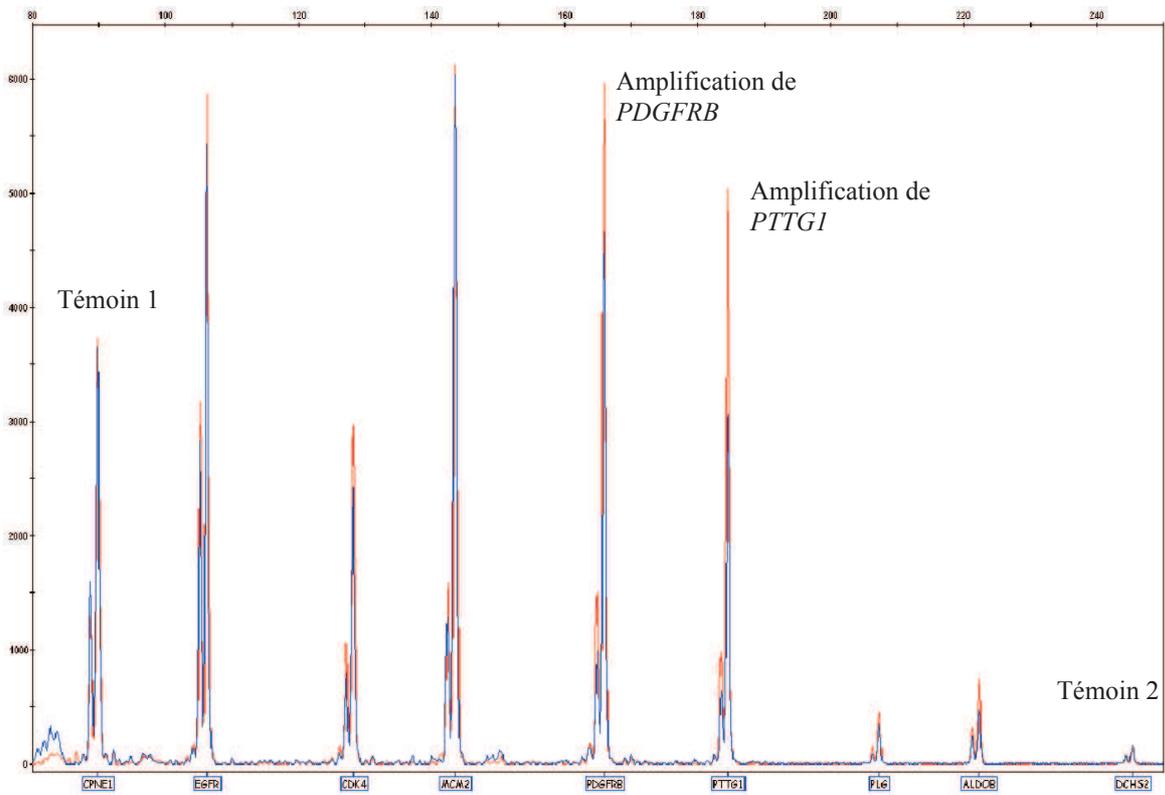
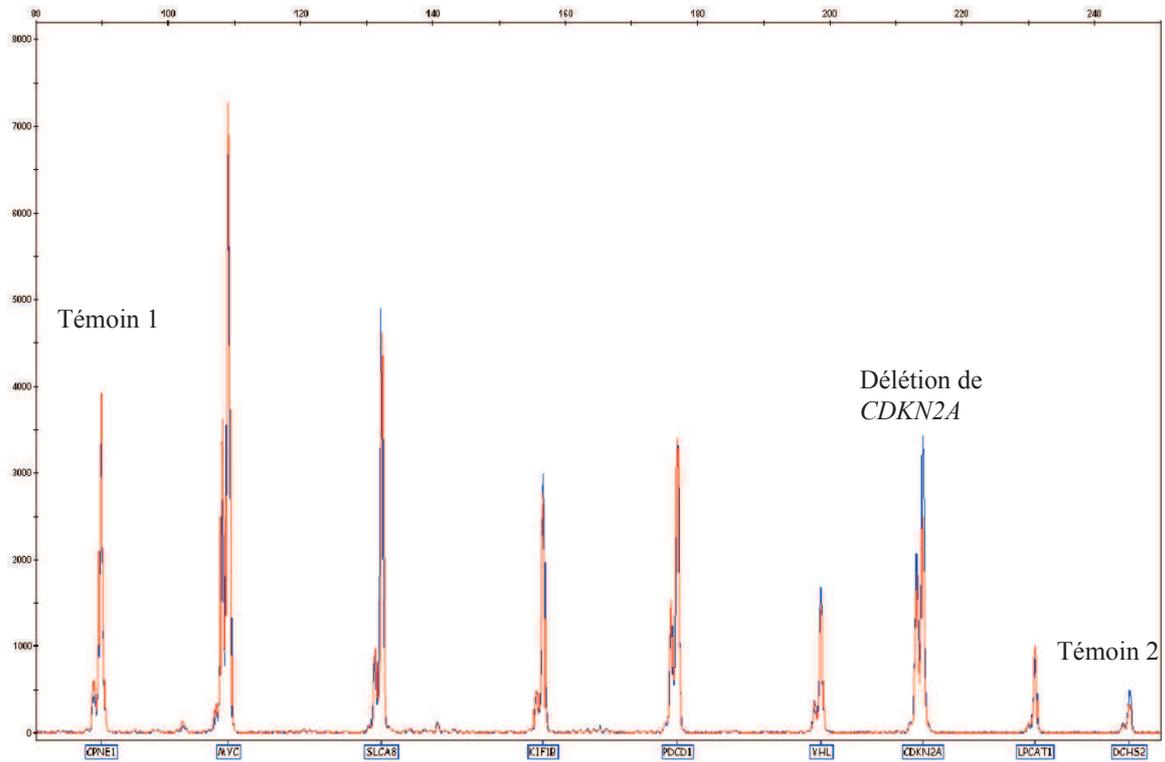


Figure 9 : Exemple d'électrophorégrammes issus d'une QMPSF pour la PCR1 en haut et la PCR2 en bas.

Tableau 23: Fréquence des AGQ par gène

Gène	Absence d'AGQ	Perte	Gain	Total AGQ
ALDOB	38%	45%	17%	62%
CDK4	78%	2%	20%	22%
CDKN2A	57%	32%	11%	43%
EGFR	83%	4%	13%	17%
KIF1B	70%	17%	13%	30%
LPCAT1	49%	17%	34%	51%
MCM2	87%	2%	11%	13%
MYC	79%	9%	13%	21%
PDCD1	70%	6%	23%	30%
PDGFRB	68%	11%	21%	32%
PLG	47%	36%	18%	53%
PTTG1	71%	13%	16%	29%
SLCA8	74%	17%	9%	26%
VHL	60%	28%	13%	40%
Total	67%	17%	16%	33%

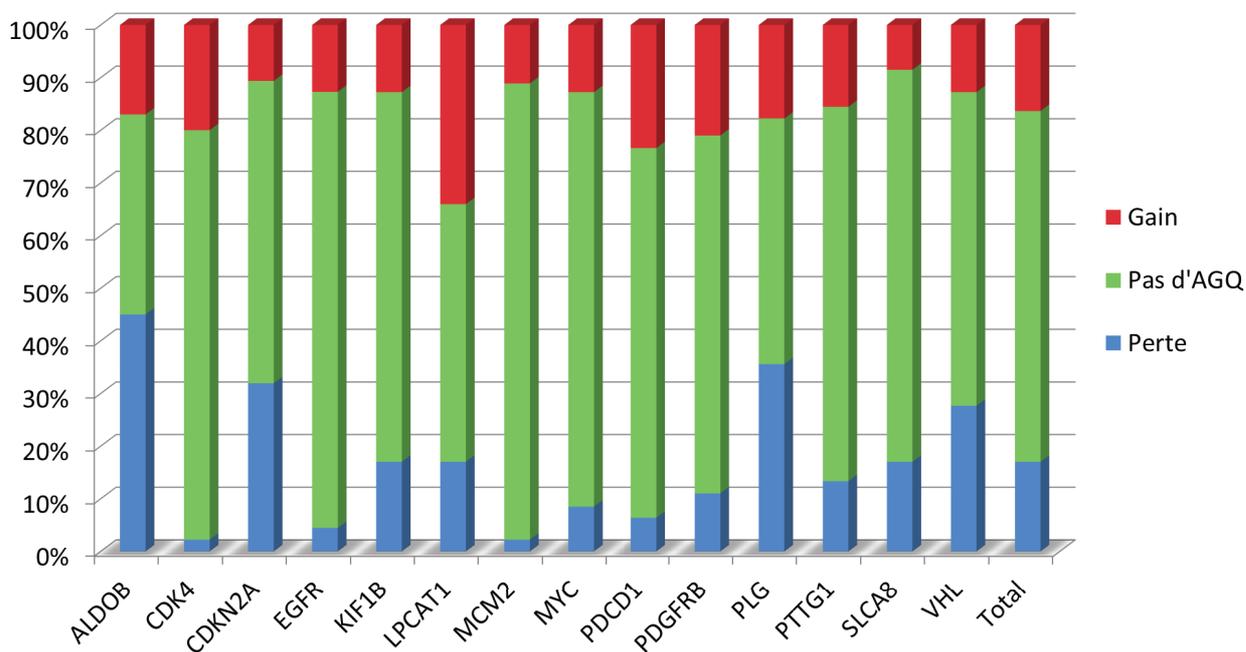


Figure 10 : Fréquences des AGQ identifiées pour chaque gène

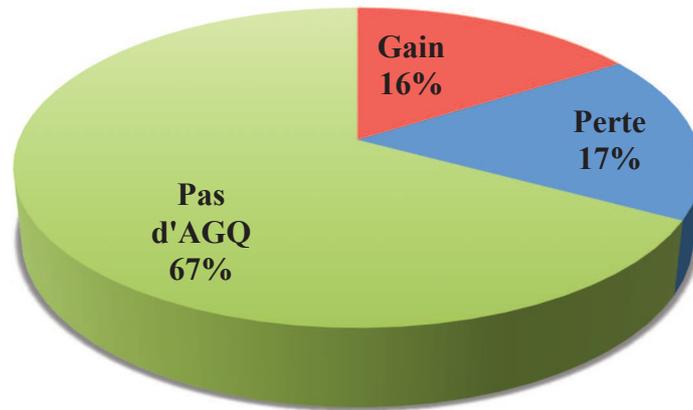


Figure 11 : Fréquence globale des AGQ identifiées

5.5.3. Série de validation par CGH

L'analyse par CGH-array a permis d'étudier le profil des AGQ des 8 patients inclus dans la série de validation. La confrontation des AGQ identifiées par QMPSF à celle obtenues par CGH a mis en évidence une concordance pour 80 % des gènes étudiés, **Figures 12 et 13**.

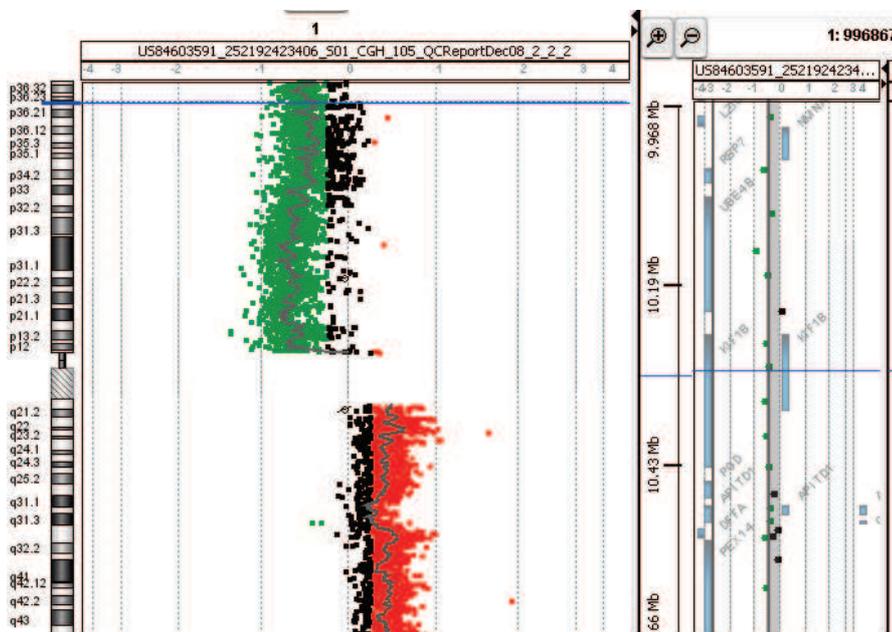


Figure 12 : Exemple de résultat obtenu en CGH : Pour le gène KIF1B, le ratio retrouvé est à 0,7 contre un résultat à 0,6 en QMPSF (soit une perte concernant KIF1B chez ce patient)

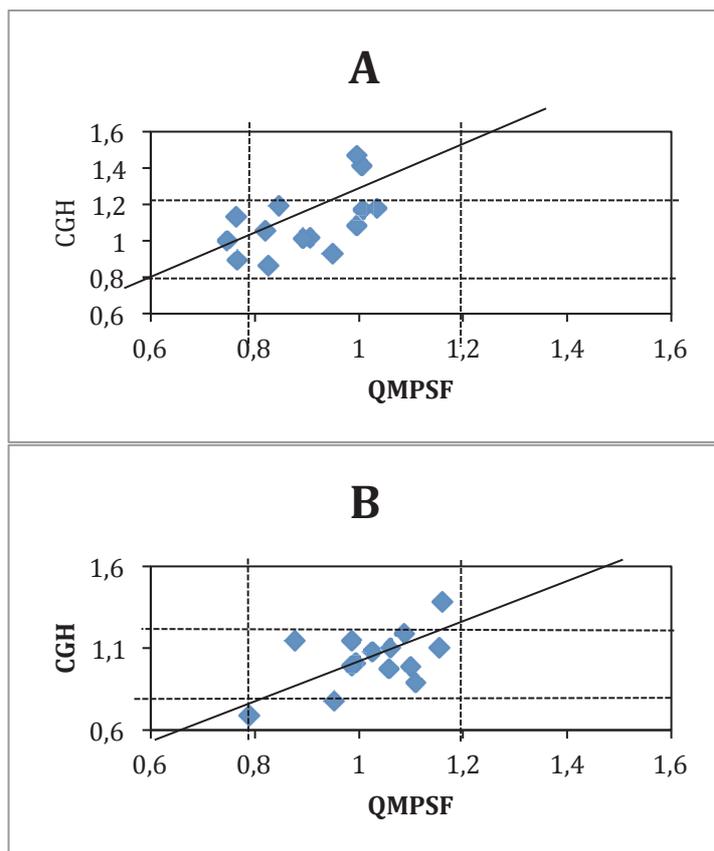


Figure 13 : Exemple de comparaison des résultats d'analyse du nombre de copies des 14 gènes cibles obtenus par QMPSF (axe x) et CGH (axe y). (Résultats pour 2 patients A et B). Les courbes de tendance sont représentées à titre indicatif.

5.5.4. Etude clinique préliminaire

L'étude de la corrélation entre les AGQ identifiées et les données clinico-biologiques a mis en évidence plusieurs associations entre les AGQ et les variables étudiées, **Tableau 25**.

Parmi ces résultats, il est à noter qu'une perte sur le gène *CDKN2A* était associée à un stade T plus élevé ($p = 0,028$). Une perte de *ALDOB* était un facteur de mauvais pronostic pour la survie à 20 mois ($p = 0,04$), à l'inverse d'un gain de *PLG* ($p = 0,05$). Plusieurs AGQ ont été identifiées comme étant associées au grade de Fuhrman, comme une perte pour *VHL* associée dans 100% des cas à un haut grade ($p = 0,04$), ou encore une perte au niveau de *ALDOB* plus fréquemment associée à un haut grade ($p = 0,03$).

Enfin l'étude de l'impact des AGQ sur la survie selon la méthode de Kaplan-Meier n'a pas mis en évidence de résultats significatifs, que ce soit pour la SG ou la SSP.

Tableau 25: Résultats de l'étude de corrélation entre les AGQ identifiées et les données clinico-biologiques des patients

Gènes	AGQ	Variable				
		Métastases synchrones				p
		Oui	%	Non	%	
CDKN2A	Amplifié	0	0%	5	26%	0,007
	Non amplifié	28	100%	14	74%	

Gènes	AGQ	Métastases pulmonaires				
		Oui	%	Non	%	p
SLC7A8	Amplifié	0	0%	4	100%	0,01
	Non amplifié	30	100%	14	32%	
PDGFRB	Amplifié	3	10%	7	41%	0,02
	Non amplifié	27	90%	10	59%	

Gènes	AGQ	Survie à 20 mois				
		Oui	%	Non	%	p
ALDOB	Déléte	5	25%	16	59%	0,04
	Non Déléte	15	75%	11	41%	
PLG	Amplifié	6	30%	2	7%	0,05
	Non Amplifié	14	70%	25	93%	

Gènes	AGQ	Stade T				
		T1-T2	%	T3-T4	%	p
CDKN2A	Déléte	3	14%	12	46%	0,028
	Non Déléte	18	86%	14	54%	
EGFR	Amplifié	6	29%	0	0%	0,005
	Non Amplifié	15	71%	26	100%	
PLG	Déléte	3	14%	14	54%	0,006
	Non Déléte	18	86%	12	46%	

Gènes	AGQ	Haut Grade				
		Oui	%	Non	%	p
VHL	Déléte	13	35%	0	0%	0,04
	Non délete	24	65%	10	100%	
ALDOB	Déléte	20	54%	1	10%	0,03
	Non délete	17	46%	9	90%	
PDGFRB	Amplifié	5	14%	5	50%	0,02
	Non amplifié	31	86%	5	50%	
PLG	Déléte	17	46%	0	0%	0,008
	Non délete	20	54%	10	100%	

Gènes	AGQ	Emboles				
		Oui	%	Non	%	p
PDGFRB	Amplifié	2	7%	8	40%	0,01
	Non amplifié	25	93%	12	60%	

Note: Seuls les résultats significatifs ont été rapportés

6. DISCUSSION

L'évolution naturelle du CRM est extrêmement péjorative avec une médiane de survie inférieure à 10 mois. Pendant longtemps, ce pronostic n'a été que peu amélioré par l'utilisation de l'immunothérapie, la médiane de SG demeurant inférieure à 1 an, et la survie à 5 ans estimée entre 5 et 10% (83). Bien entendu, l'émergence des thérapies ciblées a permis d'améliorer ce pronostic en doublant la médiane de SSP et en permettant une médiane de SG proche de 2 ans (35). Cependant l'utilisation de ces molécules reste non optimale et nécessite de nouveaux facteurs pronostiques afin d'en améliorer l'efficacité (4).

Dans ce contexte, notre étude rétrospective monocentrique a permis de mettre en évidence différents facteurs d'intérêt pronostique selon les quatre axes étudiés.

Ainsi, nous avons rapporté l'impact pronostique de la toxicité induite en première et en deuxième ligne de traitement, ainsi que l'impact de l'altération de la fonction rénale et de l'âge. Nous avons également mis en évidence un intérêt pronostique pour les métastases cérébrales et l'hypoalbuminémie. De même en deuxième ligne de traitement, l'impact des facteurs pronostiques usuel semble conservé. A notre connaissance, ces résultats n'ont été que peu rapportés dans la littérature.

Concernant l'analyse moléculaire, notre étude a permis de mettre au point la technique de QMPSF pour l'étude des AGQ dans le cancer du rein avec une bonne concordance avec les résultats obtenus par CGH. Nous avons ainsi pu réaliser une analyse descriptive des AGQ pour les 14 gènes cibles étudiés et réaliser une étude préliminaire clinico-moléculaire.

6.1. IMPACT DE LA TOXICITE INDUITE ET DE LA FONCTION RENALE

Nos résultats ont permis de mettre en avant l'impact pronostique de la toxicité induite par les thérapies ciblées, nous avons en effet mis évidence que l'existence d'une toxicité induite sévère était un facteur pronostique indépendant de meilleure survie globale et sans

progression. Nous avons également mis en évidence que l'existence d'une altération de la fonction rénale avant l'initiation du traitement par TC était un facteur indépendant de développer une toxicité sévère au cours du traitement, et qu'une altération de la fonction rénale était corrélée à une meilleure survie globale et sans progression.

Dans notre étude, la moitié des patients ont eu une toxicité sévère (grade 3-4) responsable de près d'un tiers des arrêts de la première ligne de traitement. Cependant, nous avons mis en évidence un impact pronostique significatif d'une toxicité sévère induite par les TC sur la SG mais également la SSP, plus rarement étudiée **(13,14)**. De plus, nos résultats ont identifié la toxicité sévère comme un facteur pronostique indépendant en analyse multivariée, pour la SG et la SSP.

Par rapport aux études publiées sur le sujet, notre travail portait sur l'ensemble des toxicités clinico-biologiques induites, à l'inverse des autres séries. Celle de Poprach et al. sur une cohorte rétrospective de 705 patients traités par sunitinib et 365 traités par sorafenib n'évaluait que l'impact de la toxicité cutanée. Ou encore celle de Bono et al. sur 64 patients s'intéressait à l'hypertension artérielle induite **(13,14)**.

L'étude de Poprach et al. a mis en évidence un impact de la toxicité cutanée avec une médiane de SG à 43 mois pour les patients ayant une toxicité cutanée contre 31 mois sans toxicité ($p=0,027$). En analyse multivariée, la toxicité cutanée n'a été identifiée comme facteur indépendant que dans le sous-groupe de patients traités par sunitinib. Concernant l'étude de Bono et al. il était rapporté une médiane de SSP à 4,7 chez les patients ne présentant pas d'hypertension induite contre une médiane non atteinte en cas d'hypertension ($p=0,0003$).

Par ailleurs, une altération de la fonction rénale est fréquente chez les patients traités pour un CRM, la littérature rapportant une incidence variant entre 37 et 50 %, et notre étude

retrouvant un taux à 41 % **(75,76)**. Malgré cette incidence importante, l'impact de la fonction rénale chez les patients traités par TC pour un CRM n'est pas clairement établi. En effet, les essais de phase III concernant les différentes molécules de TC n'ont inclus que des patients ayant une fonction rénale « adéquate », tandis que la plupart des études s'étant intéressées aux facteurs pronostiques n'ont pas inclus l'analyse de la fonction rénale **(35–39)**. Parmi les rares études sur le sujet, Macfarlane et al. ont rapporté leurs résultats concernant la fonction rénale au sein d'une étude rétrospective incluant 529 patients **(76)**. En se basant sur une définition de l'insuffisance rénale identique à celle retenue dans notre travail, les auteurs rapportaient une meilleure survie globale pour les patients ayant un DFG < 60 mL/min en analyse univariée (HR = 0,71, p = 0,006), en revanche ils n'ont pas mis en évidence de lien avec la SSP. De plus, comme c'était le cas dans notre travail, ils ont également identifié que les patients avec un DFG < 60 présentaient moins fréquemment certains facteurs de mauvais pronostic comme une anémie (p = 0,04), une thrombocytose (p < 0,0001), une neutrophilie (p = 0,006), une hypercalcémie (p = 0,008) et un délai diagnostic – traitement < 1 an (p = 0,007).

D'autre part, malgré un effectif limité de 51 patients, Gutpa et al. ont mis en évidence dans leur étude une tendance à une SG supérieure pour les patients avec un DFG < 60 et traité par sunitinib (SG médiane = 13,2 vs. 8 mois) ou évérolimus (12,5 vs. 6,2 mois) **(84)**. L'ensemble de ces résultats souligne, comme nous le suggérons, le potentiel impact clinique de l'insuffisance rénale chez les patients traités par TC pour un CRM.

Nos résultats ont permis de mettre en évidence que les patients ayant un DFG < 60 avaient un taux de toxicités induites sévères significativement supérieur à celui des patients ayant une fonction rénale normale. De plus, en analyse multivariée, l'insuffisance rénale a été identifiée comme seul facteur indépendant pour la survenue d'une toxicité sévère. A notre connaissance, de tels résultats n'avaient pas été rapportés jusqu'alors dans la littérature. En effet, la possibilité d'utiliser les TC chez les patients ayant une insuffisance rénale a été

rapportée par plusieurs études rétrospectives. Cependant, ces différentes études n'ont inclus que des patients ayant un DFG < 60 et les résultats obtenus n'étaient donc pas comparés avec un groupe de patients ayant une fonction rénale normale, à l'inverse de notre étude (16,75,84).

Notre principale hypothèse pour expliquer l'ensemble de ces résultats serait une bio-disponibilité supérieure des TC chez les patients ayant une altération de la fonction rénale. Bien que le métabolisme et l'élimination des TC soient essentiellement assurés par voie hépatobiliaire via le CYP3A4, les reins assurent tout de même 16 % de l'élimination pour le sunitinib, 19 % pour le sorafenib et 5 % pour l'évérolimus (85–87). A ce sujet, Houk et al. ont rapporté dans une méta-analyse de pharmacocinétique/pharmacodynamie qu'une augmentation de l'exposition au sunitinib était corrélée avec une augmentation de l'efficacité clinique du traitement et une augmentation du risque d'effets secondaires (73). L'interprétation de ces résultats doit prendre en compte le fait que cette étude incluait des patients traités pour différentes tumeurs primitives : 169 CRM, 401 tumeurs stromales gastro-intestinales et 69 autres tumeurs solides. Cependant, les données pharmacocinétiques des ces différents groupes de tumeurs étaient néanmoins similaires lors d'une étude précédente (74). Concernant notre étude, ces données pourraient expliquer le taux supérieur de toxicités induites et la meilleure survie dans le groupe de patients ayant une insuffisance rénale par une bio-disponibilité supérieure à celle des patients ayant une fonction rénale normale.

Ces résultats suggèrent la nécessité de réaliser une étude prospective afin de déterminer l'impact de la bio-disponibilité des TC sur l'efficacité et la tolérance du traitement dans le CRM. En effet, il apparaît important de mieux comprendre les liens existant entre toxicité, survie et fonction rénale. Il existerait alors un intérêt à développer des mesures préventives et symptomatiques afin de pouvoir maintenir le traitement chez les patients

développant une toxicité et limiter ainsi le recours aux réductions de doses. A l'inverse, une analyse de la bio-disponibilité du traitement semble également nécessaire afin d'étudier l'intérêt d'une éventuelle escalade de dose pour les patients ne présentant pas de toxicités induites par les traitements aux posologies usuelles.

De plus, l'analyse des facteurs clinico-biologiques usuels a retrouvé comme attendu un intérêt pronostique pour les facteurs déjà connus tels que les scores du MSKCC ou celui de Heng, ainsi que pour chacune de leurs variables. Nous avons donc rapporté un impact pronostique pour des variables plus rarement étudiées comme l'hypo-albuminémie ou la présence de métastases cérébrales à l'induction du traitement.

Concernant l'hypo-albuminémie, présente chez 40 % des patients, et bien que ce paramètre nutritionnel soit classiquement rapporté en cancérologie, sa valeur prédictive dans le CRM traité par TC n'a été que très peu étudié. Karakiewicz et al. ont rapporté la valeur pronostique de l'albuminémie dans le CRM traité par bévacizumab-interféron. Dans ce travail, un nomogramme de la SSP à 6, 12, 18 et 24 mois a été développé en intégrant plusieurs variables dont l'albuminémie initiale. Celle-ci avait été identifiée comme facteur de mauvais pronostic pour la survie en analyses uni et multivariées lorsque son taux était inférieur à la normale **(88)**. Le maintien d'un bon état nutritionnel ou une prise en charge adaptée des patients dénutris apparaissent ainsi nécessaire pour optimiser l'efficacité du traitement par TC.

Concernant la valeur pronostique des caractéristiques des métastases, dans les études de Motzer *et al.* **(89,90)** le nombre de métastases d'une part et leur localisation (pulmonaires, hépatiques ou osseuses) d'autre part avaient un impact pronostic sur la SG. Nous n'avons pas exploré ces données dans notre étude.

En revanche, nous avons observé que l'existence d'une métastase cérébrale, retrouvée chez 9,8% des patients à l'initiation du traitement, était un facteur indépendant de mauvais pronostic pour la SG. La fréquence observée dans notre étude était concordante aux données publiées qui rapportent un taux de 8 à 15% (47,91). Il est à noter que ce facteur n'a pas été retrouvé de façon significative dans l'analyse pronostique de Heng, mais qu'il existait une forte tendance avec des médianes de SG proches de nos résultats (22,7 mois sans métastase cérébrale vs 14 mois $p=0,07$) (47). Par ailleurs, il est important de rappeler que dans la plupart des essais cliniques l'existence d'une métastase cérébrale constituait un critère d'exclusion excluant ainsi les patients de plus mauvais pronostic. Cette donnée explique également que les études traitant des métastases cérébrales dans le cancer du rein métastatique soient rares (91).

6.2.IMPACT DE L'AGE

Cet axe de l'étude a permis de mettre en évidence une toxicité supérieure des TC chez les patients âgés de plus de 70 ans qui représentaient près d'un tiers des patients traités pour un CRM. De plus, nous avons retrouvé que cette toxicité supérieure était responsable d'un taux significativement plus important de réduction de dose et d'arrêt de traitement par rapport aux sujets plus jeunes. Cependant, cette toxicité supérieure ne semblait pas avoir d'impact sur le pronostic des patients, il n'y avait en effet pas de différence significative en terme de survie globale entre les deux groupes.

Bien que la proportion de patients âgés traités pour un CRM soit importante, peu d'études sont disponibles concernant le traitement par TC pour cette population. En effet, les patients âgés sont sous-représentés au sein des essais cliniques, et les données issues de l'utilisation en routine des TC chez les sujets âgés sont rares (17,77).

Dans une étude rétrospective réalisée sur 48 patients âgés de plus de 70 ans, Derbel et al. ont également mis en évidence une toxicité induite importante, avec des incidences globales de

96% et 92% pour les patients traités respectivement par sorafénib et sunitinib (77). Les toxicités les plus fréquemment rencontrées étant l'asthénie (respectivement 58% et 75%), les toxicités digestives (54%, 25%) et cutanées (71% et 25%). Concernant l'efficacité du traitement, la médiane de SG rapportée était à 18 mois, et 6 mois pour la SSP (77). Une modification de traitement pour toxicité (réduction de dose, interruption temporaire ou définitive de la ligne de TC) est rapportée pour 75% des patients traités par sunitinib et 50% pour le sorafénib. Ces valeurs se rapprochant de celles rapportées au sein de notre population où les modifications de traitement pour toxicité concernaient 79% des patients.

Dans une autre étude rétrospective réalisée sur 68 patients de plus de 70 ans traités par sunitinib, Brunello et al. ont rapporté une incidence importante de certains effets secondaires : asthénie (81 %), lésions cutanéomuqueuses (62 %) et hypertension (59 %) (17). Ces toxicités étaient là encore responsables de réductions de dose pour 69 % des patients. Concernant la survie, la médiane de SG était à 18,3 mois et la médiane de SSP à 13,6 mois, proche de la médiane de SSP retrouvée dans notre étude à 11.

Les résultats de ces deux études mettaient en évidence un important taux de toxicité au sein de cette population de patients âgés sans pour autant impacter leur survie. Cependant, contrairement à notre travail, ces deux travaux ne comparaient pas les données des sujets âgés à celles d'une population de patient plus jeunes.

L'efficacité des thérapies ciblées semble donc être conservée chez les patients âgés, au prix d'une moins bonne tolérance nécessitant une adaptation de dose plus fréquente. Il semble qu'il y aurait un intérêt légitime à proposer aux patients plus âgés une surveillance rapprochée afin de dépister le plus précocement possible une éventuelle toxicité induite. Il apparaît également pertinent d'étudier l'intérêt d'une dose plus faible à l'initiation du traitement suivie si besoin d'une augmentation progressive de la posologie en l'absence de toxicité. Enfin, concernant les résultats de la fonction rénale, les patients du groupe ≥ 70 ans avaient plus

fréquemment un DFG < 60 mL/min. Si l'on se reporte au paragraphe précédent cette notion pourrait être une des explications d'une toxicité supérieure au sein de ce groupe, ainsi que de l'efficacité conservée. Ces données mettent en effet de nouveau en avant le rapport fonction rénale, toxicité, efficacité déjà évoqué précédemment dans nos résultats.

6.3. ETUDE DES FACTEURS PRONOSTIQUES EN DEUXIEME LIGNE DE TC

Bien que le standard actuel pour le traitement du CRM soit une utilisation séquentielle des TC, la grande majorité des études s'est intéressée à la première ligne de traitement. Aussi, dans le cadre du troisième axe de notre travail, nous avons étudié les caractéristiques et les facteurs pronostiques des patients traités en deuxième ligne de TC. Dans ce cadre, nous avons pu mettre en évidence que la majorité des facteurs ayant un intérêt pronostique déjà connu en première ligne de traitement gardait un intérêt pour la deuxième ligne (Score du MSKCC, score de Heng, anémie, thrombocytose...). De plus comme nous l'avons observé pour la première ligne de traitement, nous avons de nouveau mis en évidence l'impact pronostique de la toxicité induite : en effet l'existence d'une toxicité sévère induite par la deuxième ligne de traitement était associée à une meilleure SG et une meilleure SSP. De plus en analyse multivariée, la toxicité sévère a été identifiée comme un facteur indépendant de bon pronostic pour la survie globale. En plus de cet impact de la toxicité, nous avons également retrouvé qu'une insuffisance rénale à l'initiation de la 2^{ème} ligne avait un impact pronostique significatif pour la SG et la SSP, comme l'albuminémie et l'existence de métastases cérébrales.

Dans une étude rétrospective menée chez 251 patients traités en première ligne de TC pour un CRM, Levy et al. ont rapporté 131 patients (52,2 %) traités en deuxième ligne de traitement (92). La médiane de SG était de 20,8 mois. Cette valeur plus élevée que celle que nous avons observée au sein de notre population (13 mois) peut en partie être expliquée par le

fait qu'une part des patients de l'étude (26%) était issue d'essais cliniques pour lesquels ils avaient été sélectionnés selon différents critères clinico-biologiques. Ce travail ne s'était en revanche pas intéressé à l'étude des facteurs pronostiques en deuxième ligne de traitement, ni à la toxicité induite.

A notre connaissance, ces résultats confirmant la persistance d'un intérêt pronostique pour les facteurs déjà connus en première ligne et particulier concernant la toxicité induite et la fonction rénale n'ont pas été rapportés à ce jour dans la littérature.

En ce qui concerne les différentes lignes de traitement, si le taux de patients traités en première ligne en recevant une seconde dans l'étude de Lévy et al. était proche des valeurs que nous avons retrouvées (52,2 % vs. 60 %), le taux de patients recevant une troisième ligne était plus faible que celui de notre étude (18,7 % vs. 36,2 %) (92). Dans une étude réalisée en troisième ligne de traitement chez 281 patients, Iacovelli et al. ont rapporté un taux de 13,6 % des patients présentant un CRM recevant 3 lignes de TC (93). Ainsi, il semblerait que le taux de patients recevant une troisième cible au sein de notre population soit supérieur à celui rapporté dans la littérature. Les explications possibles à cette disparité peuvent être les différences potentielles entre les populations, mais aussi des modalités différentes d'utilisation des TC, notamment concernant la gestion des toxicités avec un changement de ligne plus précoce et moins de réduction de dose.

6.4. ANALYSE MOLECULAIRE

Concernant l'axe moléculaire de notre étude, celui-ci nous a permis d'adapter la méthode de QMPSF (encore appelée code-barres moléculaire) inédite pour le cancer du rein. L'utilisation de cette méthode nous a permis d'identifier des AGQ sur l'ensemble des gènes sélectionnés. En effet, il a été mis en évidence des AGQ pour chacun des 14 gènes ciblés, reflétant la pertinence de notre choix pour les cibles. De plus, cette sélection semble

également satisfaisante lorsque l'on considère les données de la littérature et notamment celles rapportées par de récents travaux parus après notre phase de sélection de gènes cibles. En effet, à partir d'une analyse moléculaire extensive de 240 tumeurs (analyses par whole genome/exome, séquençage ARN, étude de la méthylation et des altérations génomiques quantitatives), l'étude de Sato et al. a montré qu'il existait une corrélation entre les profils de méthylation, de mutations et les altérations génomiques quantitatives au sein des CCRcc. Ainsi, dans cette étude, les régions chromosomiques comportant les altérations les plus significatives correspondaient aux régions 3p, 5q, 7q, 8q, 9p, 14q, et 18q, avec un intérêt pronostique pour les régions 9p, et 14q **(18)**. A l'exception des régions 7q et 18q, toutes avaient été intégrées dans notre travail reflétant ainsi la pertinence de nos critères de sélection. Par ailleurs, parmi l'ensemble des régions présentant un intérêt pronostique décrites dans la littérature, seules 3 régions (4p, 7q et 20q) n'ont pas été intégrées dans notre étude car aucun gène altéré pouvant être ciblé par la QMPSF n'y avait été décrit (les AGQ décrites concernant de trop grandes régions chromosomiques pour être ciblées de manière efficace par un gène en QMPSF) **(Annexe 3) (53,54,59–61,94)**. Enfin l'étude de validation par CGH a montré une concordance satisfaisante des données obtenues entre les deux méthodes permettant de confirmer l'adaptabilité de la méthode à l'étude du CCR.

Lorsque l'on compare les résultats obtenus avec ceux de la littérature, le type d'AGQ le plus fréquemment identifié pour chaque gène correspondait au type d'AGQ attendu pour 13 gènes sur 14. Ainsi, comme attendu, nous avons mis en évidence une majorité de pertes pour les gènes *ALDOB* (9q), *CDKN2A* (9p), *KIF1B* (1p), *PLG* (6q), *SLC7A8* (14q) et *VHL* (3p), (53–55,58–60,66), **Tableau 26**. De même, les altérations les plus fréquemment retrouvées pour les gènes *CDK4* (12q), *LPCAT1* (5p), *MCM2* (3q), *MYC* (8q), *EGFR* (7p), *PTTG1* (5q) et *PDGFRB* (5q) étaient des gains ce qui correspondait aux résultats rapportés dans les autres

études (53–55). Seul le gène PDCD1 a été retrouvé plus fréquemment amplifié alors qu’une majorité de perte était attendue (53).

Tableau 26: Confrontation des résultats de la QMPSF avec les résultats de la littérature

Gènes	AGQ retrouvées		AGQ Attendues*			
	Délétion	Amplification	Type	%	Concordance	Réf
ALDOB	45%	17%	Délétion	22%	OUI	(55)
CDK4	2%	20%	Amplification	23%	OUI	(53)
CDKN2A	32%	11%	Délétion	26-29%	OUI	(53–55,60,66)
EGFR	4%	13%	Amplification	17%	OUI	(53,55)
KIF1B	17%	13%	Délétion	14%	OUI	(53)
LPCAT1	17%	34%	Amplification	24%	OUI	(55)
MCM2	2%	11%	Amplification	15%	OUI	(53)
MYC	9%	13%	Amplification	8-20%	OUI	(53,55)
PDCD1	6%	23%	Délétion	10%	NON	(53)
PDGFRB	11%	21%	Amplification	64%	OUI	(53)
PLG	36%	18%	Délétion	17%	OUI	(55)
PTTG1	13%	16%	Amplification	30-60%	OUI	(55,62)
SLC7A8	17%	9%	Délétion	24%	OUI	(55)
VHL	28%	13%	Délétion	60-90%	OUI	(53–55,61)

En ce qui concerne les fréquences de ces altérations, plusieurs explications sont possibles concernant les différences observées avec les données publiées. Tout d’abord, il est important de souligner que, comme l’a illustré notre propre revue de la littérature, il existe une certaine hétérogénéité entre les différentes études concernant la fréquence des AGQ. Deuxièmement, la divergence de fréquence pour certaines AGQ peut également s’expliquer par le type de méthode utilisée puisque le seuil de précision peut être variable notamment en rapport avec des résolutions différentes. En effet, dans certaines études, la mise en évidence d’une perte de copies a été réalisée par la recherche d’une perte d’hétérozygotie (LOH) au niveau de régions microsatellites situées le plus souvent sur ou à proximité du gène d’intérêt (95). De plus, cette analyse se limite par définition aux patients dits informatifs à savoir hétérozygotes pour le ou les loci étudiés. Concernant les gains de copies des gènes, ces altérations sont le plus souvent détectées par FISH pour les analyses ciblées ou par CGH pour des analyses pangénomiques avec parfois des résultats divergents. En effet, concernant le

gène *EGFR* par exemple, Dordevic et al. n'avaient pas réussi à mettre en évidence d'amplification de ce gène en utilisant la FISH chez 41 patients alors que Girgis et al. avaient mis en évidence 18% d'amplification par CGH-array (53,65). Concernant la CGH dont l'avantage principal est de permettre une analyse large des AGQ sur l'ensemble du génome, sa résolution est variable selon les études et les puces utilisées, et plus faible que celle de la QMPSF qui à l'inverse est une technique très ciblée. Ceci pouvant potentiellement expliquer la variation de fréquence d'AGQ d'une étude à l'autre.

En effet, comme l'illustre la **Figure 14** la région explorée par la QMPSF est ciblées sur une à deux centaines de paires de bases au niveau d'un gène ce qui à l'échelle d'un chromosome représente une région très petite. A l'inverse la *CGH-array* utilise des sondes plus ou moins nombreuses selon la résolution de la puce employée, et comme le montre la **Figure 15**, certaines puces peuvent par exemple explorer le chromosome 3p tout en n'ayant pas de sonde explorant le gène *VHL*.

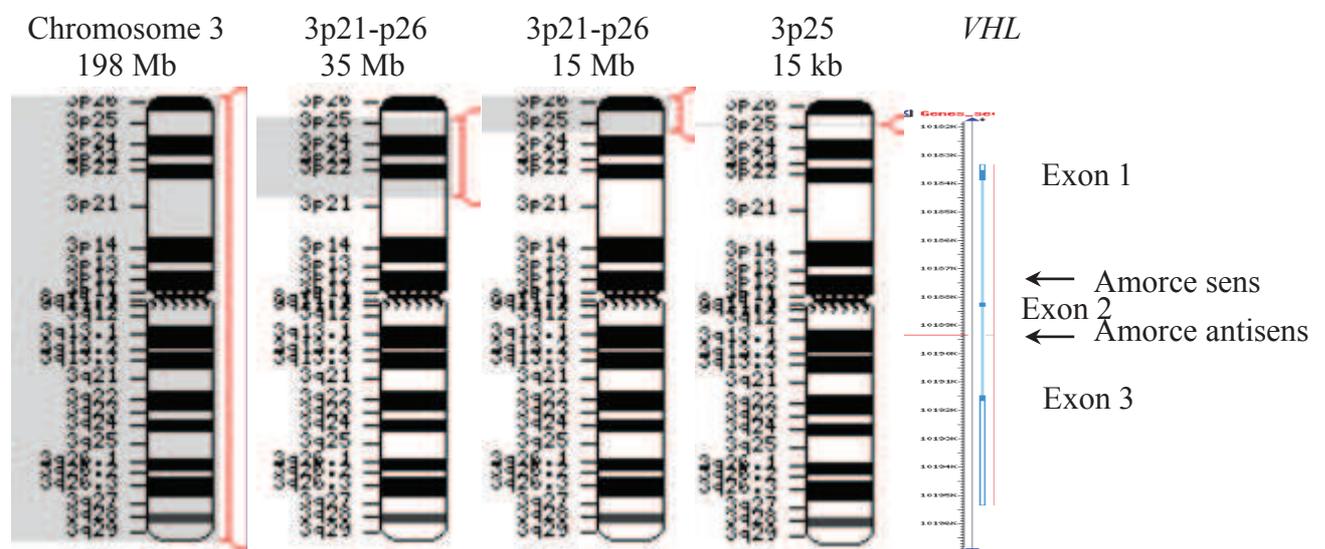


Figure 14 : Visualisation des régions chromosomiques : exemple de *VHL*, avec le système de cartographie (Map Viewer) du NCBI. La taille des régions grisées est précisée au dessus du chromosome.

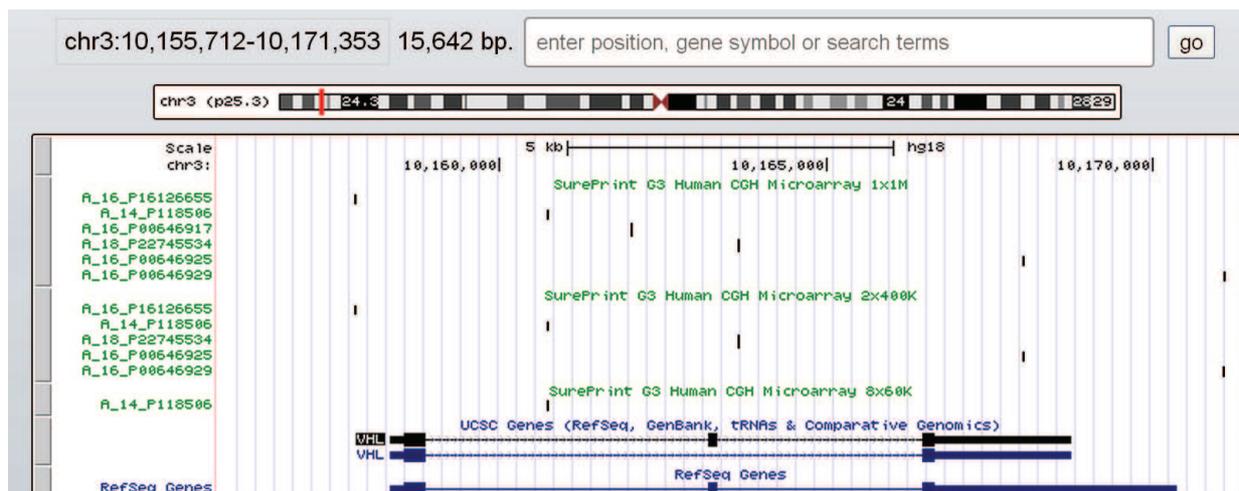


Figure 15 : Visualisation de la couverture par les sondes de CGH Agilent : exemple de *VHL*, avec le système de cartographie de l'UCSC. La puce 8x60K ne comporte qu'une sonde dans le gène *VHL*, la puce 4x180K (non figurée) aucune, la puce 2x400K trois sondes, enfin la puce 1x1M quatre sondes.

Cependant, la reproductibilité des résultats obtenus entre la CGH et la QMPSF a été testée ici comme lors d'une étude antérieure avec à chaque fois une concordance satisfaisante entre les 2 méthodes (71). Au final, et comme le montre notre travail, la QMPSF se positionne en complément de la CGH car elle permet d'être utilisée pour les principales régions d'intérêts mise en évidence par CGH, avec une résolution supérieure donc permettant une exploration plus précise de la zone ciblée.

De plus, la présence d'une population sélectionnée dans notre étude peut également être un facteur de variation de la fréquence des AGQ. En effet, la plupart des autres travaux ont été réalisés sur des populations hétérogènes étudiées au stade localisé et métastatique de la maladie dans le but d'évaluer l'impact pronostique des AGQ. A l'opposé, notre étude a été ciblée sur l'analyse de tumeurs issues d'une population plus homogène de patients qui ont tous connu une évolution métastatique et de par ce fait, différente des populations habituellement étudiées.

Enfin, les différences observées pour la fréquence de certaines AGQ pourraient être

également liées à l'hétérogénéité tumorale que nous n'avons pas analysée. La notion d'hétérogénéité tumorale a été récemment mise en évidence et particulièrement dans le cadre du cancer du rein **(96)**. Ainsi, dans le travail de Gerlinger et al. les altérations moléculaires détectées variaient d'une région à l'autre de la tumeur, rendant donc délicate l'interprétation des AGQ identifiées sur une seule localisation tumorale. De plus, cette notion s'applique également aux métastases, or les études moléculaires étant le plus souvent réalisées sur du tissu issu de la tumeur primitive qui a été retirée par néphrectomie, les AGQ identifiées sur ce tissu sont potentiellement différentes des celles présentes aux sein des métastases pour lesquelles les patients sont traités et dont on évalue l'évolution clinique **(96,97)**.

Concernant les résultats obtenus dans la deuxième partie de l'étude, nous avons mis en évidence de possibles corrélations entre certaines AGQ et les caractéristiques cliniques des patients. Trois gènes semblaient présenter des résultats prometteurs avec un potentiel intérêt histo-pronostique.

Le premier était le gène *CDKN2A* pour lequel la valeur pronostique a déjà été rapporté dans la littérature. Nous avons objectivé qu'une perte au niveau de ce gène était significativement associée à un stade T plus élevé (80% de T3-4 vs. 20% de T1-2). Ce résultat a déjà été rapporté par plusieurs études. En effet, Sanjmyatav et al. sur une cohorte de 53 patients (métastatiques ou non), en utilisant la CGH-array, avaient mis en évidence que les délétions de la région chromosomique 9p21.3 (porteuse du gène *CDKN2A*) étaient significativement plus fréquentes chez les patients présentant un stade T plus élevé **(60)**. De même Klatte et al. et Brunelli et al. avaient également rapporté cette notion **(58,59)**. Ces trois études ont également mis en évidence que les patients ayant une perte de cette région chromosomique avaient une moins bonne survie sans progression ou spécifique. Résultat que nous n'avons pas retrouvé au sein de notre population. Cependant, dans ces études, les

patients présentant une perte de la région 9p étaient plus fréquemment métastatiques (47,5 % vs 30,1 % $p=0,03$), et donc de plus mauvais pronostic pouvant expliquer les différences de survie. Comme notre étude n'incluait pas de patients non métastatiques, il n'était d'une part pas possible de confirmer l'association de cette AGQ avec les métastases, et d'autre part notre étude de survie ne s'intéressait qu'au groupe de mauvais pronostic. En revanche, nous avons mis en évidence que les patients présentant un gain au niveau de *CDKN2A* n'étaient pas métastatiques d'emblée (100 % vs. 0), il semblerait donc qu'à l'inverse d'une perte, un gain de *CDKN2A* soit relativement protecteurs vis-à-vis des métastases.

Le deuxième gène pour lequel nous avons mis en évidence un intérêt potentiel est *ALDOB*. En effet, parmi les patients survivants à 20 mois, 25% présentaient une perte de *ALDOB* contre 59% pour les patients décédés avant 20 mois. De plus une perte au niveau de ce gène était également plus fréquente pour les tumeurs de haut grade de Fuhrman (54% vs. 10% pour les bas grades). Il semblerait que les pertes concernant ce gène soit associées à un mauvais pronostic.

Enfin, le gène *PLG* était également retrouvé corrélé de façon concordante à plusieurs éléments pronostiques. Une perte au niveau du gène était plus fréquente pour les tumeurs de haut grade (46% vs. 0%) ainsi que pour les stades T plus élevés (54% vs. 14%). De plus, une amplification au niveau de *PLG* était plus fréquente chez les patients vivants à 20 mois (30% vs. 7%).

D'un point de vue méthodologique, la limite principale de notre travail est liée à la taille modeste de l'effectif disponible. En effet, compte tenu de l'objectif, nous avons volontairement restreint l'analyse aux patients métastatiques traités par TC. Ainsi, si les analyses concernant les caractéristiques et l'impact clinique des AGQ ont montré des résultats intéressants, il est logique de les considérer comme préliminaires compte tenu de la faible

puissance statistique de cette partie du travail. A ce titre, le recrutement d'échantillons supplémentaires est en cours afin de compléter les analyses sur une plus large série de patients. Cependant, ce choix de restreindre notre population d'étude aux seuls patients métastatiques nous a permis de rapporter les résultats descriptifs présentés ci-dessus au sein d'une cohorte homogène de patients traités par TC, ce qui à notre connaissance n'avait pas été réalisé par d'autres études.

La comparaison de la population des patients inclus et exclus de l'analyse moléculaire a mis en évidence certaines différences significatives faisant évoquer un moins bon pronostic dans les groupes des patients inclus. Cette différence s'explique essentiellement par la date à partir de laquelle les tissus ont été inclus en tumorotheque (à partir de 2002). En effet, cette contrainte a entraîné l'exclusion des patients opérés avant 2002 et traités après 2006 par TC. A l'inverse, les inclusions les plus récentes dans notre cohorte (pour lesquelles les inclusions en tumorotheque étaient systématiques) concernaient des patients ayant débuté leur traitement par TC il y a moins de 2 ans, impliquant qu'ils étaient soit d'emblée soit rapidement métastatiques après le diagnostic. Ainsi, ces notions expliquent que les patients inclus dans l'analyse moléculaire présentaient un délai de survenue des métastases inférieur, et un taux supérieur de délai diagnostic traitement < 1 an.

7. CONCLUSION

Cette étude nous a permis de mettre en évidence plusieurs facteurs d'intérêt pronostique dans le cancer du rein métastatique traité par thérapie ciblée.

Les résultats concernant l'étude des facteurs cliniques sont dominés par l'impact pronostique de la toxicité induite par les thérapies ciblées. La toxicité induite était en effet un dénominateur commun pour les trois axes d'études du fait de son impact clinique en première et deuxième ligne, mais également de son incidence supérieure chez les sujets âgés et insuffisant rénaux. Ainsi il semble pertinent de proposer de nouvelles études pour mieux déterminer la place de la toxicité dans la prise en charge des patients traités par TC pour un CRM. En effet, au vu de ces résultats, il apparaît qu'une meilleure compréhension des rapports entre toxicité, survie et fonction rénale pourrait permettre de mieux prédire et prévenir les toxicités sévères sans impacter la survie, dans le cadre d'une utilisation plus personnalisée des TC.

Enfin, la partie moléculaire de notre étude a permis d'adapter et d'utiliser avec succès la technique de QMPSF pour l'étude du cancer du rein. Les résultats préliminaires ont mis en évidence plusieurs AGQ ayant une valeur pronostique prometteuse, et pour lesquels une étude de confirmation sur une cohorte plus importante semble nécessaire.

8. REFERENCES

1. Gupta K, Miller JD, Li JZ, Russell MW, Charbonneau C. Epidemiologic and socioeconomic burden of metastatic renal cell carcinoma (mRCC): a literature review. *Cancer Treat Rev.* 2008 May;34(3):193–205.
2. Patard J-J, Baumert H, Corréas J-M, Escudier B, Lang H, Long J-A, et al. [Recommendations Onco-Urology 2010: Kidney cancer]. *Progrès En Urol J Assoc Française Urol Société Française Urol.* 2010 Nov;20 Suppl 4:S319–339.
3. Escudier B, Osanto S, Ljungberg B, Porta C, Wagstaff J, Mulders P, et al. Multidisciplinary management of metastatic renal cell carcinoma in the era of targeted therapies. *Cancer Treat Rev.* 2012 Apr;38(2):127–32.
4. Escudier B, Albiges L, Blesius A, Loriot Y, Massard C, Fizazi K. How to select targeted therapy in renal cell cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol Esmo.* 2010 Oct;21 Suppl 7:vii59–62.
5. Motzer RJ, Bacik J, Murphy BA, Russo P, Mazumdar M. Interferon-alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2002 Jan 1;20(1):289–96.
6. Patard J-J, Méjean A, Richard S, Coloby P, Baumert H, Bensalah K, et al. [CCAFU Recommendations 2013: Renal cancer]. *Progrès En Urol J Assoc Française Urol Société Française Urol.* 2013 Nov;23 Suppl 2:S177–204.
7. Ljungberg B, Bensalah K, Bex A, Canfield S, Debestani S, Hofmann F, et al. Guidelines on Renal Cell Carcinoma. *EAU Guidelines.* 2013th ed. 2013.
8. Ljungberg B, Cowan NC, Hanbury DC, Hora M, Kuczyk MA, Merseburger AS, et al. EAU guidelines on renal cell carcinoma: the 2010 update. *Eur Urol.* 2010 Sep;58(3):398–406.
9. Sun M, Shariat SF, Cheng C, Ficarra V, Murai M, Oudard S, et al. Prognostic factors and predictive models in renal cell carcinoma: a contemporary review. *Eur Urol.* 2011 Oct;60(4):644–61.
10. Junker K, Ficarra V, Kwon ED, Leibovich BC, Thompson RH, Oosterwijk E. Potential Role of Genetic Markers in the Management of Kidney Cancer. *Eur Urol.* 2013;63(2):244–51.
11. Sonpavde G, Choueiri TK. Biomarkers: the next therapeutic hurdle in metastatic renal cell carcinoma. *Br J Cancer.* 2012 Sep 25;107(7):1009–16.
12. Di Fiore F, Rigal O, Ménager C, Michel P, Pfister C. Severe clinical toxicities are correlated with survival in patients with advanced renal cell carcinoma treated with sunitinib and sorafenib. *Br J Cancer.* 2011 Dec 6;105(12):1811–3.
13. Bono P, Rautiola J, Utriainen T, Joensuu H. Hypertension as predictor of sunitinib treatment outcome in metastatic renal cell carcinoma. *Acta Oncol Stockh Swed.* 2011 May;50(4):569–73.
14. Poprach A, Pavlik T, Melichar B, Puzanov I, Dusek L, Bortlicek Z, et al. Skin toxicity and efficacy of sunitinib and sorafenib in metastatic renal cell carcinoma: a national registry-based study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol Esmo.* 2012 Dec;23(12):3137–43.
15. Rini BI, Cohen DP, Lu DR, Chen I, Hariharan S, Gore ME, et al. Hypertension as a Biomarker of Efficacy in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma Treated With

- Sunitinib. *J Natl Cancer Inst.* 2011 May 4;103(9):763–73.
16. Khan G, Golshayan A, Elson P, Wood L, Garcia J, Bukowski R, et al. Sunitinib and sorafenib in metastatic renal cell carcinoma patients with renal insufficiency. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol Esmo.* 2010 Aug;21(8):1618–22.
 17. Brunello A, Basso U, Sacco C, Sava T, De Vivo R, Camerini A, et al. Safety and activity of sunitinib in elderly patients (≥ 70 years) with metastatic renal cell carcinoma: a multicenter study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol Esmo.* 2013 Feb;24(2):336–42.
 18. Sato Y, Yoshizato T, Shiraishi Y, Maekawa S, Okuno Y, Kamura T, et al. Integrated molecular analysis of clear-cell renal cell carcinoma. *Nat Genet.* 2013 Aug;45(8):860–7.
 19. Ljungberg B, Campbell SC, Choi HY, Cho HY, Jacqmin D, Lee JE, et al. The epidemiology of renal cell carcinoma. *Eur Urol.* 2011 Oct;60(4):615–21.
 20. Institut Nationale du Cancer. Epidémiologie des cancers en France métropolitaine - Incidence et mortalité [Internet]. Institut National du Cancer. 2013 [cited 2013 Jan 9]. Available from: <http://lesdonnees.e-cancer.fr/les-fiches-de-synthese/29-incidence-mortalite/38-ensemble-des-cancers/22-epidemiologie-des-cancers-en-france-metropolitaine-incidence-et-mortalite.html>
 21. Méjean A, Leuret T. [Prise en charge of metastatic renal carcinoma]. *Progrès En Urol J Assoc Française Urol Société Française Urol.* 2008 Nov;18 Suppl 7:S298–308.
 22. Lipworth L, Tarone RE, McLaughlin JK. The Epidemiology of Renal Cell Carcinoma. *J Urol.* 2006 décembre;176(6):2353–8.
 23. Lopez-Beltran A, Scarpelli M, Montironi R, Kirkali Z. 2004 WHO Classification of the Renal Tumors of the Adults. *Eur Urol.* 2006 May;49(5):798–805.
 24. Mejean A, Correas J-M, Escudier B, de Fromont M, Lang H, Long J-A, et al. [Kidney tumors]. *Progrès En Urol J Assoc Française Urol Société Française Urol.* 2007 Nov;17(6):1101–44.
 25. Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1982 Oct;6(7):655–63.
 26. UICC, Union for International Cancer Control. TNM Classification of malignant Tumours, 7th Edition. 7th ed. Leslie H. Sobin, Mary K. Gospodarowicz, Christian Wittekind. Wiley-Blackwell; 2009. p. 255–7.
 27. Boulière F, Crepel M, Bigot P, Pignot G, Bessedé T, de la Taille A, et al. [Nephron-sparing surgery is superior to radical nephrectomy in preserving renal function outcome in tumors larger than 4 cm]. *Progrès En Urol J Assoc Française Urol Société Française Urol.* 2011 Nov;21(12):842–50.
 28. Weight CJ, Larson BT, Fergany AF, Gao T, Lane BR, Campbell SC, et al. Nephrectomy induced chronic renal insufficiency is associated with increased risk of cardiovascular death and death from any cause in patients with localized cT1b renal masses. *J Urol.* 2010 Apr;183(4):1317–23.
 29. Kunkle DA, Crispen PL, Chen DYT, Greenberg RE, Uzzo RG. Enhancing renal masses with zero net growth during active surveillance. *J Urol.* 2007 Mar;177(3):849–853; discussion 853–854.
 30. Chawla SN, Crispen PL, Hanlon AL, Greenberg RE, Chen DYT, Uzzo RG. The natural history of observed enhancing renal masses: meta-analysis and review of the world literature. *J Urol.* 2006 Feb;175(2):425–31.

31. Smaldone MC, Kutikov A, Egleston BL, Canter DJ, Viterbo R, Chen DYT, et al. Small renal masses progressing to metastases under active surveillance. *Cancer*. 2012 février;118(4):997–1006.
32. Patard J-J, Shvarts O, Lam JS, Pantuck AJ, Kim HL, Ficarra V, et al. Safety and efficacy of partial nephrectomy for all T1 tumors based on an international multicenter experience. *J Urol*. 2004 Jun;171(6 Pt 1):2181–2185, quiz 2435.
33. Choueiri TK, Xie W, Kollmannsberger C, North S, Knox JJ, Lampard JG, et al. The Impact of Cytoreductive Nephrectomy on Survival of Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma Receiving Vascular Endothelial Growth Factor Targeted Therapy. *J Urol*. 2011 Jan;185(1):60–6.
34. Van Poppel H, Baert L. Nephrectomy for metastatic renal cell carcinoma and surgery for distant metastases. *Acta Urol Belg*. 1996 May;64(2):11–7.
35. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2007 Jan 11;356(2):115–24.
36. Escudier B, Eisen T, Stadler WM, Szczylik C, Oudard S, Siebels M, et al. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2007 Jan 11;356(2):125–34.
37. Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, Hutson TE, Porta C, Bracarda S, et al. Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet*. 2008 Aug 9;372(9637):449–56.
38. Sternberg CN, Davis ID, Mardiak J, Szczylik C, Lee E, Wagstaff J, et al. Pazopanib in locally advanced or metastatic renal cell carcinoma: results of a randomized phase III trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2010 Feb 20;28(6):1061–8.
39. Rini BI, Escudier B, Tomczak P, Kaprin A, Szczylik C, Hutson TE, et al. Comparative effectiveness of axitinib versus sorafenib in advanced renal cell carcinoma (AXIS): a randomised phase 3 trial. *Lancet*. 2011 Dec 3;378(9807):1931–9.
40. Hudes G, Carducci M, Tomczak P, Dutcher J, Figlin R, Kapoor A, et al. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2007 May 31;356(22):2271–81.
41. Zisman A, Pantuck AJ, Dorey F, Said JW, Shvarts O, Quintana D, et al. Improved prognostication of renal cell carcinoma using an integrated staging system. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2001 Mar 15;19(6):1649–57.
42. Patard J-J, Kim HL, Lam JS, Dorey FJ, Pantuck AJ, Zisman A, et al. Use of the University of California Los Angeles integrated staging system to predict survival in renal cell carcinoma: an international multicenter study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2004 Aug 15;22(16):3316–22.
43. Frank I, Blute ML, Chevillat JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H. An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score. *J Urol*. 2002 Dec;168(6):2395–400.
44. Zigeuner R, Hutterer G, Chromecki T, Imamovic A, Kampel-Kettner K, Rehak P, et al. External validation of the Mayo Clinic stage, size, grade, and necrosis (SSIGN) score for clear-cell renal cell carcinoma in a single European centre applying routine pathology. *Eur Urol*. 2010 Jan;57(1):102–9.

45. Karakiewicz PI, Briganti A, Chun FK-H, Trinh Q-D, Perrotte P, Ficarra V, et al. Multi-institutional validation of a new renal cancer-specific survival nomogram. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2007 Apr 10;25(11):1316–22.
46. Motzer RJ, Mazumdar M, Bacik J, Berg W, Amsterdam A, Ferrara J. Survival and prognostic stratification of 670 patients with advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1999 Aug;17(8):2530–40.
47. Heng DY, Xie W, Regan MM, Warren MA, Golshayan AR, Sahi C, et al. Prognostic factors for overall survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with vascular endothelial growth factor-targeted agents: results from a large, multicenter study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2009 Dec 1;27(34):5794–9.
48. Bex A, Gore M, Mulders P, Sternberg CN. Recent advances in the treatment of advanced renal cell carcinoma: towards multidisciplinary personalized care. *Bju Int*. 2012 Nov;110(9):1289–300.
49. Escudier B, Goupil MG, Massard C, Fizazi K. Sequential therapy in renal cell carcinoma. *Cancer*. 2009 May 15;115(10 Suppl):2321–6.
50. Linehan WM, Srinivasan R, Schmidt LS. The genetic basis of kidney cancer: a metabolic disease. *Nat Rev Urol*. 2010 May;7(5):277–85.
51. Sudarshan S, Karam JA, Brugarolas J, Thompson RH, Uzzo R, Rini B, et al. Metabolism of Kidney Cancer: From the Lab to Clinical Practice. *Eur Urol*. 2013;63(2):333–40.
52. Edeline J, Vigneau C, Patard J-J, Rioux-Leclercq N. [Signalling pathways in renal-cell carcinoma: from the molecular biology to the future therapy]. *Bull Cancer (Paris)*. 2010;97:5–15.
53. Girgis AH, Iakovlev VV, Beheshti B, Bayani J, Squire JA, Bui A, et al. Multilevel whole-genome analysis reveals candidate biomarkers in clear cell renal cell carcinoma. *Cancer Res*. 2012 Oct 15;72(20):5273–84.
54. Beroukhi R, Brunet J-P, Di Napoli A, Mertz KD, Seeley A, Pires MM, et al. Patterns of gene expression and copy-number alterations in von-hippel lindau disease-associated and sporadic clear cell carcinoma of the kidney. *Cancer Res*. 2009 Jun 1;69(11):4674–81.
55. Dondeti VR, Wubbenhorst B, Lal P, Gordan JD, D'Andrea K, Attiyeh EF, et al. Integrative genomic analyses of sporadic clear cell renal cell carcinoma define disease subtypes and potential new therapeutic targets. *Cancer Res*. 2012 Jan 1;72(1):112–21.
56. Yoshimoto T, Matsuura K, Karnan S, Tagawa H, Nakada C, Tanigawa M, et al. High-resolution analysis of DNA copy number alterations and gene expression in renal clear cell carcinoma. *J Pathol*. 2007 Dec;213(4):392–401.
57. Krill-Burger JM, Lyons MA, Kelly LA, Sciulli CM, Petrosko P, Chandran UR, et al. Renal cell neoplasms contain shared tumor type-specific copy number variations. *Am J Pathol*. 2012 Jun;180(6):2427–39.
58. Brunelli M, Eccher A, Gobbo S, Ficarra V, Novara G, Cossu-Rocca P, et al. Loss of chromosome 9p is an independent prognostic factor in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Mod Pathol Off J United States Can Acad Pathol Inc*. 2008 Jan;21(1):1–6.
59. Klatte T, Rao PN, de Martino M, LaRochelle J, Shuch B, Zomorodian N, et al. Cytogenetic profile predicts prognosis of patients with clear cell renal cell carcinoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2009 Feb 10;27(5):746–53.

60. Sanjmyatav J, Junker K, Matthes S, Muehr M, Sava D, Sternal M, et al. Identification of genomic alterations associated with metastasis and cancer specific survival in clear cell renal cell carcinoma. *J Urol*. 2011 Nov;186(5):2078–83.
61. Kroeger N, Klatte T, Chamie K, Rao PN, Birkhäuser FD, Sonn GA, et al. Deletions of chromosomes 3p and 14q molecularly subclassify clear cell renal cell carcinoma. *Cancer*. 2013 Apr 15;119(8):1547–54.
62. Wondergem B, Zhang Z, Huang D, Ong CK, Koeman J, Hof DV, et al. Expression of the PTTG1 oncogene is associated with aggressive clear cell renal cell carcinoma. *Cancer Res*. 2012 Sep 1;72(17):4361–71.
63. Matsuda D, Khoo SK, Massie A, Iwamura M, Chen J, Petillo D, et al. Identification of copy number alterations and its association with pathological features in clear cell and papillary RCC. *Cancer Lett*. 2008 Dec 18;272(2):260–7.
64. Monzon FA, Alvarez K, Peterson L, Truong L, Amato RJ, Hernandez-McClain J, et al. Chromosome 14q loss defines a molecular subtype of clear-cell renal cell carcinoma associated with poor prognosis. *Mod Pathol Off J United States Can Acad Pathol Inc*. 2011 Nov;24(11):1470–9.
65. Dorđević G, Matušan Ilijaš K, Hadžisejdić I, Maričić A, Grahovac B, Jonjić N. EGFR protein overexpression correlates with chromosome 7 polysomy and poor prognostic parameters in clear cell renal cell carcinoma. *J Biomed Sci*. 2012;19:40.
66. Schraml P, Struckmann K, Bednar R, Fu W, Gasser T, Wilber K, et al. CDKN2A mutation analysis, protein expression, and deletion mapping of chromosome 9p in conventional clear-cell renal carcinomas: evidence for a second tumor suppressor gene proximal to CDKN2A. *Am J Pathol*. 2001 Feb;158(2):593–601.
67. Beuselinck B, Karadimou A, Lambrechts D, Claes B, Wolter P, Couchy G, et al. Single-nucleotide polymorphisms associated with outcome in metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib. *Br J Cancer*. 2013 Mar 5;108(4):887–900.
68. Garcia-Donas J, Esteban E, Leandro-García LJ, Castellano DE, del Alba AG, Climent MA, et al. Single nucleotide polymorphism associations with response and toxic effects in patients with advanced renal-cell carcinoma treated with first-line sunitinib: a multicentre, observational, prospective study. *Lancet Oncol*. 2011 Nov;12(12):1143–50.
69. Morris MR, Ricketts CJ, Gentle D, McRonald F, Carli N, Khalili H, et al. Genome-wide methylation analysis identifies epigenetically inactivated candidate tumour suppressor genes in renal cell carcinoma. *Oncogene*. 2011 Mar 24;30(12):1390–401.
70. Gottardo F, Liu CG, Ferracin M, Calin GA, Fassan M, Bassi P, et al. Micro-RNA profiling in kidney and bladder cancers. *Urol Oncol*. 2007 Oct;25(5):387–92.
71. Killian A, Di Fiore F, Le Pessot F, Blanchard F, Lamy A, Raux G, et al. A simple method for the routine detection of somatic quantitative genetic alterations in colorectal cancer. *Gastroenterology*. 2007 Feb;132(2):645–53.
72. Di Fiore F, Charbonnier F, Martin C, Frerot S, Olschwang S, Wang Q, et al. Screening for genomic rearrangements of the MMR genes must be included in the routine diagnosis of HNPCC. *J Med Genet*. 2004 Jan;41(1):18–20.
73. Houk BE, Bello CL, Poland B, Rosen LS, Demetri GD, Motzer RJ. Relationship between exposure to sunitinib and efficacy and tolerability endpoints in patients with cancer: results of a pharmacokinetic/pharmacodynamic meta-analysis. *Cancer Chemother Pharmacol*.

2010 Jul;66(2):357–71.

74. Houk BE, Bello CL, Kang D, Amantea M. A Population Pharmacokinetic Meta-analysis of Sunitinib Malate (SU11248) and Its Primary Metabolite (SU12662) in Healthy Volunteers and Oncology Patients. *Clin Cancer Res*. 2009 Apr 1;15(7):2497–506.
75. Josephs D, Hutson TE, Cowey CL, Pickering LM, Larkin JM, Gore ME, et al. Efficacy and toxicity of sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma with severe renal impairment or on haemodialysis. *Bju Int*. 2011 Oct;108(8):1279–83.
76. Macfarlane R, Heng DYC, Xie W, Knox JJ, McDermott DF, Rini BI, et al. The impact of kidney function on the outcome of metastatic renal cell carcinoma patients treated with vascular endothelial growth factor-targeted therapy. *Cancer*. 2012 Jan 15;118(2):365–70.
77. Derbel Miled O, Dionne C, Terret C, Segura-Ferlay C, Flechon A, Neidhart E-M, et al. Sorafenib and sunitinib for elderly patients with renal cell carcinoma. *J Geriatr Oncol*. 2013 Jul;4(3):255–61.
78. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med*. 1999 Mar 16;130(6):461–70.
79. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2002 Feb;39(2 Suppl 1):S1–266.
80. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*. 1987;40(5):373–83.
81. Neuzillet Y. [Evaluation of co-morbidities and co-morbidity evaluation scores]. *Progrès En Urol J Assoc Française Urol Société Française Urol*. 2009 Nov;19 Suppl 3:S80–86.
82. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst*. 2000 Feb 2;92(3):205–16.
83. Tourani J-M, Pfister C, Tubiana N, Ouldkaci M, Prevot G, Lucas V, et al. Subcutaneous interleukin-2 and interferon alfa administration in patients with metastatic renal cell carcinoma: final results of SCAPP III, a large, multicenter, phase II, nonrandomized study with sequential analysis design--the Subcutaneous Administration Propeukin Program Cooperative Group. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2003 Nov 1;21(21):3987–94.
84. Gupta S, Parsa V, Heilbrun LK, Smith DW, Dickow B, Heath E, et al. Safety and efficacy of molecularly targeted agents in patients with metastatic kidney cancer with renal dysfunction. *Anticancer Drugs*. 2011 Sep;22(8):794–800.
85. Pfizer Laboratories. Sutent® Sunitinib Maleate Capsules [Internet]. 2006 [cited 2014 Jan 31]. Available from: <http://labeling.pfizer.com/ShowLabeling.aspx?id=607>
86. Bayer Pharma. Nexavar® Sorafenib film-coated tablets [Internet]. 2006 [cited 2014 Jan 31]. Available from: http://www.nexavar-international.com/html/pdf/EU_EI_SmPC_Oct11.pdf
87. Novartis Pharmaceuticals. Afinitor® Everolimus Tablets [Internet]. 2009 [cited 2014

Jan 31]. Available from: <http://www.pharma.us.novartis.com/product/pi/pdf/afinitor.pdf>

88. Karakiewicz PI, Sun M, Bellmunt J, Sneller V, Escudier B. Prediction of progression-free survival rates after bevacizumab plus interferon versus interferon alone in patients with metastatic renal cell carcinoma: comparison of a nomogram to the Motzer criteria. *Eur Urol*. 2011 Jul;60(1):48–56.
89. Motzer RJ, Bukowski RM, Figlin RA, Hutson TE, Michaelson MD, Kim ST, et al. Prognostic nomogram for sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Cancer*. 2008 Oct 1;113(7):1552–8.
90. Motzer RJ, Escudier B, Bukowski R, Rini BI, Hutson TE, Barrios CH, et al. Prognostic factors for survival in 1059 patients treated with sunitinib for metastatic renal cell carcinoma. *Br J Cancer*. 2013 May 21;
91. Vickers MM, Al-Harbi H, Choueiri TK, Kollmannsberger C, North S, Mackenzie M, et al. Prognostic Factors of Survival for Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma With Brain Metastases Treated With Targeted Therapy: Results From the International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium. *Clin Genitourin Cancer*. 2013 May 14;
92. Levy A, Menard J, Albiges L, Loriot Y, Di Palma M, Fizazi K, et al. Second line treatment of metastatic renal cell carcinoma: The Institut Gustave Roussy experience with targeted therapies in 251 consecutive patients. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. 2013 May;49(8):1898–904.
93. Iacovelli R, Carteni G, Sternberg CN, Milella M, Santoni M, Di Lorenzo G, et al. Clinical outcomes in patients receiving three lines of targeted therapy for metastatic renal cell carcinoma: results from a large patient cohort. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. 2013 Jun;49(9):2134–42.
94. Arai E, Ushijima S, Tsuda H, Fujimoto H, Hosoda F, Shibata T, et al. Genetic clustering of clear cell renal cell carcinoma based on array-comparative genomic hybridization: its association with DNA methylation alteration and patient outcome. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2008 Sep 1;14(17):5531–9.
95. Perego RA, Corizzato M, Brambilla P, Ferrero S, Bianchi C, Fasoli E, et al. Concentration and microsatellite status of plasma DNA for monitoring patients with renal carcinoma. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. 2008 May;44(7):1039–47.
96. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Larkin J, Endesfelder D, Gronroos E, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med*. 2012 Mar 8;366(10):883–92.
97. Kim M-Y, Oskarsson T, Acharyya S, Nguyen DX, Zhang XH-F, Norton L, et al. Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell*. 2009 Dec 24;139(7):1315–26.

ANNEXES

Genomic DNA from tissue

Protocol-at-a-glance (Rev. 12)

NucleoSpin® Tissue

1	Prepare sample		Cut 25 mg into small pieces
2	Pre-lyse sample		180 µL T1 25 µL Proteinase K 56 °C, 1–3 h
3	Lyse sample		200 µL B3 70 °C, 10 min
4	Adjust DNA binding conditions		210 µL 96–100 % ethanol
5	Bind DNA	 	Load all 11,000 x g, 1 min
6	Wash silica membrane	 1 st and 2 nd 	1 st wash 500 µL BW 2 nd wash 600 µL B5 11,000 x g, 1 min
7	Dry silica membrane		11,000 x g, 1 min
8	Elute highly pure DNA	 	100 µL BE (70 °C) RT, 1 min 11,000 x g, 1 min

Annexe 1 : Protocole du kit NucleoSpin© Tissue utilisé pour réaliser l'extraction des échantillons d'ADN étudiés à partir de tissus congelés (-80°C).

Annexe 2: Détail des couples d'amorces mis au point pour explorer les gènes cibles choisis par QMPFS

Gènes cibles	Taille totale des amplicons	F (sens) avec queue (en minuscules)	R (antisens) avec queue (en minuscules)
CPNE1 (témoin)	93	cgtagatagCACTGACTTTTCCCTTTTCTTGG	gatagggttaGTGGGCACTTCTGCGAGC
EGFR 7p12	108	cgtagatagGTGGGCTGACGGGTTTCCT	gatagggttaGCACTCTGGGTGGCACTGTATG
MYC 8q24.12	112	gatagggttaGCCAGGTTTCCGCACCA	cgtagatagTTGAGGGGCATCGTCGC
CDK4 12q13.2-q14.1	130	cgtagatagACCAGATGGCACTTACACCC	gatagggttaCATGAAGCACATGACTTCTCAAT
SLC7A8 14q11.2	135	cgtagatagCTTGGTGGTCCCTGGGTAT	gatagggttaGCTTCACGTGGATCATGGC
MCM2 3q21.3	145	cgtagatagGAGGAAGGCAGCACGGAG	gatagggttaCCATTGGCAGTGTTGAGGG
KIF1B 1p36.2	157	cgtagatagTAGCCGTTCCCACGCTGT	gatagggttaGGACTTCTCAAATCTCCATCCT
PDGFRB 5q31.3	166	cgtagatagTCAGTTTCCCTGTCTGCAAGG	gatagggttaCTCCCAGTACGTCACGTTAGTCT
PDCD1 2q37.3	176	gatagggttaCAGGTTCCGGTGCCGGTACT	cgtagatagTGGAAATCCAGCTCCCCATA
PTTG1 5q35.1	185	cgtagatagACCTCCCCTTGAGTGGAGTG	gatagggttaTGAAACAAATTGTTTGCAGCC
VHL 3p25.3	199	cgtagatagGCTCAGGCGATCTACTGACG	gatagggttaTGGCAATTCTAGGCCGAAG
PLG 6q26	208	cgtagatagGGCAGAGGTTGCAGTGAGCT	gatagggttaCCACATTCCCGCGATAGTTTT
CDKN2A 9p21.3	215	gatagggttaGCACCAGAGGCAGTAACCATG	cgtagatagGACTCAGGCCGTCCCACC
ALDOB 9q21.3-q22.2	225	cgtagatagTTGCAGGAACAAACAAAGAAAC	gatagggttaGACTGGCCCAAGGTCACAG
LPCAT1 5p15.33	232	cgtagatagGAAATCCTGTGGCTCACGC	gatagggttaCAACCAGAGGCTCCTCGAA
DCHS2 (témoin)	246	cgtagatagATTGTTTCGTGTCTGGGATGAGA	gatagggttaGAATAGGTGGAAACTATGAAGTGCTA

Annexe 3: Synthèse des gènes cibles potentiels retenus après revue de la littérature:

Gène/Synonyme	AGQ ou Intérêt du gène	Localisation chromosomique	Fréquence de l'AGQ	Gène des voies de signalisation	Intérêt pronostique	Cible QMPSF	Raison de non sélection
KIF1B	Perte	1p36.2	14%		OUI	OUI	
mTOR	Cible mTI	1p36.2		OUI			Région explorée par KIF1B
AP1TD1	Perte	1p36.22	14%				Région explorée par KIF1B
CASP9	Perte	1p36.21	14%				Région explorée par KIF1B
SDHB	Perte	1p36.1-p35	14%				Région explorée par KIF1B
RUNX3	Perte	1p36.11	18%				Région explorée par KIF1B
ARID1A	Perte	1p35.3	14%				Région explorée par KIF1B
AJAP1	Perte	1p36.32	14%				Région explorée par KIF1B
CTNNBIP1 / ICAT	Perte	1p36.22	14%				Région explorée par KIF1B
XRCC2	Perte	2q35	10%				Région explorée par PDCD1
IGFBP5	Perte	2q33-q36	10%				Région explorée par PDCD2
NHEJ1	Perte	2q35	10%				Région explorée par PDCD3
CAB39 / MO25	Perte	2q37.1	10%				Région explorée par PDCD4
BOK	Perte	2q37.3	10%				Région explorée par PDCD5
PDCD1	Perte	2q37.3	10%			OUI	
PTH1R	Perte	3p22-p21.1	76%				Région explorée par VHL
VHL	Perte	3p25.3	60-90%	OUI	OUI	OUI	
MCM2	Gain	3q21.3	15%			OUI	
PDGFRA / PDGFR-2	Cible TKI	4q12		OUI			Absence d'AGQ décrite
c-KIT	Cible TKI	4q11-q12		OUI			Absence d'AGQ décrite
KDR/VEGFR2/VEGFR3	Cible TKI	4q11-q12		OUI			Absence d'AGQ décrite
CDKN2AIP/CARF	Perte	4q33-q35.1	16%				Gène de faible intérêt
SORBS2	Perte	4q33-q35.1	16%				Gène de faible intérêt
LPCAT1	Gain	5p15.33	24%			OUI	
VCAN	Gain	5q14.3	19%				Région explorée par PDGFRB
HAPLN1	Gain	5q14.3	19%				Région explorée par PDGFRB
LOX	Gain	5q23.1	31%				Région explorée par PDGFRB
TGFBI	Gain	5q31.1	28-70%	OUI			Région explorée par PDGFRB
CSF1R	Gain	5q32	64%	OUI			Région explorée par PDGFRB
PDGFRB / PDGFR-1	Gain	5q33.1	64%	OUI		OUI	
FABP6	Gain	5q33.3-q34	30%				Région explorée par PDGFRB et PTTG1
PTTG1	Gain	5q35.1	30-60%			OUI	
STC2	Gain	5q35.2	31%				Région explorée par PTTG1
FLT4 / VEGFR3	Cible TKI	5q35.3		OUI			Pas d'AMQ et explorée par PTTG1
PERP	Perte	6q24	23%				Région explorée par PLG
CITED2	Perte	6q23.3	23%				Région explorée par PLG
PLAGL1/ZAC1	Perte	6q24-q25	23%				Région explorée par PLG
EPM2A	Perte	6q24	23%				Région explorée par PLG
SLC22A2 / OCT2	Perte	6q25.3	23%				Région explorée par PLG
LPA	Perte	6q26	17%	OUI			Région explorée par PLG
PLG	Perte	6q26	17%			OUI	
SEC61G	Gain	7p11.2	18%				Région explorée par EGFR
EGFR	Gain	7p11.2	18%	OUI		OUI	
NPTX2	Gain	7q21.3-q22.1	17%				Gène non décrit comme altéré
MCM7	Gain	7q21.3-q22.1	24%				Gène non décrit comme altéré
MET / HGFR	Gain	7q31		OUI			Absence d'AGQ décrite
EZH2	Gain	7q36.1	13%		OUI		Fréquence d'AGQ faible
FGFR1	Perte	8p12	32%				Région de faible intérêt
MYC	Gain	8q24.21	8-20%	OUI		OUI	
TYRP1	Perte	9p23	26%				Région explorée par CDKN2A
CDKN2A	Perte	9p21.3	26-29%	OUI	OUI	OUI	
CDKN2B	Perte	9p21.3	26-29%	OUI	OUI		Région explorée par CDKN2A
LRRC19	Perte	9p21.2	20%		OUI		Région explorée par CDKN2A
TRPM3	Perte	9q21.12	24%				Région explorée par ALDOB
FBP1	Perte	9q22.32	20%				Région explorée par ALDOB
ALDOB	Perte	9q21.3	22%		OUI	OUI	
RET	Cible TKI	10q11.2		OUI			Absence d'AGQ décrite
CCND1	Gain	11q13.3	7%				Fréquence d'AGQ faible
CDK4	Gain	12q13.2-q14.1	23%	OUI	OUI	OUI	
FLT3	Cible TKI	13q12		OUI			Absence d'AGQ décrite
VEGFR1	Cible TKI	13q12		OUI			Absence d'AGQ décrite
SLC7A8	Perte	14q11.2	24%		OUI	OUI	
SERPINA5	Perte	14q32.13	20%		OUI		Région explorée par SLC7A8
FKBP12 / FKBP1A	Cible mTI	20p13		OUI			Absence d'AGQ décrite

Note: Les gènes sont classés selon leurs localisations chromosomiques

Les régions chromosomiques voisines sont regroupées par lignes de couleurs ce qui permet de mettre en évidence le gène cible sélectionné par région

RESUME

Objectif : Le traitement médical du cancer du rein métastatique (CRM) a été profondément bouleversé par l'émergence des thérapies ciblées (TC). Cependant, si ces molécules ont permis d'améliorer le pronostic des patients traités, leur utilisation actuelle n'est pas optimale. Aussi l'identification de marqueurs pronostiques permettant de guider l'utilisation des TC dans le cadre d'une prise en charge personnalisée s'avère nécessaire. L'objectif de notre travail était d'étudier les facteurs pronostiques cliniques, biologiques, et moléculaires au sein d'une population de patients traités par TC pour un CRM.

Matériel et méthodes : Une étude a été réalisée chez les patients traités par TC pour un CRM dans notre centre entre 2006 et 2012. L'ensemble des données cliniques et biologiques ont été collectées rétrospectivement. L'analyse des facteurs pronostiques a été réalisée selon 4 axes : Etude de l'impact de la toxicité induite par le traitement et de la fonction rénale, étude de l'impact de l'âge à l'initiation du traitement, étude des facteurs pronostiques en deuxième ligne de TC. Le quatrième axe a consisté en une analyse moléculaire chez les patients pour lesquels du tissu tumoral congelé était disponible. La technique de QMPSF a été adaptée au rein et utilisée pour identifier les altérations génomiques quantitatives (AGQ), et déterminer leur intérêt pronostique.

Résultats : 102 patients ont été inclus dans l'étude. L'âge médian était de 62 [38-87] ans. Une toxicité induite sévère et une altération de la fonction rénale sont apparues comme associées à une meilleure survie globale (SG) et sans progression (SSP) $p < 0,05$. La toxicité sévère a également été identifiée comme facteur indépendant pour la SG (HR=0,52 $p=0,03$) et la SSP (HR=0,54 $P=0,03$) et l'altération de la fonction rénale comme facteur de survenue de toxicité sévère (OR=3,9 $p=0,01$). Concernant le deuxième axe, les patients de plus de 70 ans présentaient significativement plus de toxicités sévères (73% vs. 41%, $p=0,002$), plus de réduction de doses des TC (79% vs. 51%, $p=0,006$) et plus d'arrêt du traitement (50% vs. 21%, $p=0,004$), cependant, ces différences de tolérance n'impactaient pas la survie. Pour le 3^{ème} axe, les facteurs pronostiques usuels ont été identifiés comme gardant un intérêt pronostique en 2^{ème} ligne. De plus, une toxicité sévère a de nouveau été identifiées comme associée à une meilleure SG et SSP ($p < 0,05$). L'analyse moléculaire a inclus 50 patients et a permis d'adapter avec succès la QMPSF pour l'étude du cancer du rein. Un intérêt pronostique potentiel a été identifié pour certaines AGQ, notamment les délétions des gènes *CDKN2A*, *PLG*, et *ALDOB* associées à des facteurs de mauvais pronostic ($p < 0,05$).

Conclusion : Cette étude nous a permis de mettre en avant l'intérêt pronostique de la toxicité induite par les TC, ainsi que le potentiel rôle sous-jacent d'une altération de la fonction rénale. L'analyse moléculaire a également mis en évidence l'intérêt pronostique de certaines AGQ. Ces résultats doivent désormais être confirmés par de nouvelles études.

Mots Clés : Cancer du rein métastatique, Thérapies ciblées, Facteurs Pronostiques, Toxicités induites, Insuffisance rénale, Sujet âgé, Altérations moléculaires.