

Année 2020/2021

N°

Thèse

Pour le
DOCTORAT EN MEDECINE
Diplôme d'État
par

Romain CHAUTARD

Né le 04 octobre 1992 à Grasse (06)

Évaluation de la spectroscopie moyen-infrarouge sur sérum comme marqueur pronostique de patients traités en première ligne par chimiothérapie associée au bévacizumab dans le cancer colorectal métastatique

Présentée et soutenue publiquement le **11 juin 2021** devant un jury composé de :

Président du Jury : Professeur Claude LINASSIER, Cancérologie, Radiothérapie, Faculté de Médecine – Tours

Membres du Jury :

Professeur Michel DUCREUX, Oncologie digestive, Institut Gustave Roussy – Villejuif

Docteur William RAOUL, Chargé de recherche Inserm UMR 1069, Université de Tours – Tours

Docteur Morgane CAULET, Gastroentérologie, hépatologie, CHRU Tours – Tours

Directeur de thèse : Professeur Thierry LECOMTE, Gastroentérologie, hépatologie – Tours

UNIVERSITE DE TOURS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN
Pr Patrice DIOT

VICE-DOYEN
Pr Henri MARRET

ASSESSEURS
Pr Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*
Pr Mathias BUCHLER, *Relations internationales*
Pr Theodora BEJAN-ANGOULVANT, *Moyens – relations avec l'Université*
Pr Clarisse DIBAO-DINA, *Médecine générale*
Pr François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*
Pr Patrick VOURC'H, *Recherche*

RESPONSABLE ADMINISTRATIVE
Mme Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES
Pr Emile ARON (†) – 1962-1966
Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962
Pr Georges DESBUQUOIS (†) – 1966-1972
Pr André GOUAZE (†) – 1972-1994
Pr Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004
Pr Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES
Pr Daniel ALISON
Pr Gilles BODY
Pr Jacques CHANDENIER
Pr Alain CHANTEPIE
Pr Philippe COLOMBAT
Pr Etienne DANQUECHIN-DORVAL
Pr Pascal DUMONT
Pr Dominique GOGA
Pr Gérard LORETTE
Pr Dominique PERROTIN
Pr Roland QUENTIN

PROFESSEURS HONORAIRES
P. ANTHONIOZ – P. ARBEILLE – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – P. BARDOS – C. BARTHELEMY – J.L. BAULIEU
– C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – C. BONNARD – P. BONNET – P. BOUGNOUX – P. BURDIN – L.
CASTELLANI – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – P. COSNAY – C. COUET – L. DE LA LANDE DE CALAN
– J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – A. GOUDEAU – J.L. GUILMOT – N. HUTEN
– M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – Y. LANSON – O. LE FLOCH – Y. LEBRANCHU – E. LECA – P. LECOMTE –
AM. LEHR-DRYLEWICZ – E. LEMARIE – G. LEROY – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C.
MORAINE – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – A. ROBIER –
J.C. ROLLAND – D. ROYERE – A. SAINDELLE – E. SALIBA – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – D. SIRINELLI – J. WEILL

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

ANDRES Christian.....	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis	Cardiologie
AUPART Michel.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique	Cardiologie
BAKHOS David.....	Oto-rhino-laryngologie
BALLON Nicolas.....	Psychiatrie ; addictologie
BARILLOT Isabelle.....	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe	Immunologie
BEJAN-ANGOULVANT Théodora	Pharmacologie clinique
BERHOUE Julien	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BERNARD Anne	Cardiologie
BERNARD Louis	Maladies infectieuses et maladies tropicales
BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle	Biologie cellulaire
BLASCO Hélène.....	Biochimie et biologie moléculaire
BONNET-BRILHAULT Frédérique	Physiologie
BOURGUIGNON Thierry	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BRILHAULT Jean.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent.....	Radiologie et imagerie médicale
BRUYERE Franck.....	Urologie
BUCHLER Matthias.....	Néphrologie
CALAIS Gilles.....	Cancérologie, radiothérapie
CAMUS Vincent.....	Psychiatrie d'adultes
CORCIA Philippe.....	Neurologie
COTTIER Jean-Philippe	Radiologie et imagerie médicale
DE TOFFOL Bertrand	Neurologie
DEQUIN Pierre-François.....	Thérapeutique
DESOUBEUX Guillaume.....	Parasitologie et mycologie
DESTRIEUX Christophe	Anatomie
DIOT Patrice.....	Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
EL HAGE Wissam.....	Psychiatrie adultes
EHRMANN Stephan	Médecine intensive – réanimation
FAUCHIER Laurent	Cardiologie
FAVARD Luc.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUGERE Bertrand	Gériatrie
FOUQUET Bernard.....	Médecine physique et de réadaptation
FRANCOIS Patrick.....	Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle	Anatomie & cytologie pathologiques
GAUDY-GRAFFIN Catherine.....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUPILLE Philippe	Rhumatologie
GRUEL Yves.....	Hématologie, transfusion
GUERIF Fabrice.....	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
GUILLON Antoine.....	Médecine intensive – réanimation
GUYETANT Serge	Anatomie et cytologie pathologiques
GYAN Emmanuel.....	Hématologie, transfusion
HAILLOT Olivier.....	Urologie
HALIMI Jean-Michel.....	Thérapeutique
HANKARD Régis.....	Pédiatrie
HERAULT Olivier	Hématologie, transfusion
HERBRETEAU Denis	Radiologie et imagerie médicale
HOURIOUX Christophe.....	Biologie cellulaire
LABARTHE François	Pédiatrie
LAFFON Marc	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LARDY Hubert.....	Chirurgie infantile
LARIBI Saïd.....	Médecine d'urgence
LARTIGUE Marie-Frédérique	Bactériologie-virologie
LAURE Boris.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LECOMTE Thierry.....	Gastroentérologie, hépatologie
LESCANNE Emmanuel.....	Oto-rhino-laryngologie
LINASSIER Claude	Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent	Dermato-vénéréologie
MAILLOT François	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain	Pneumologie

MARRET Henri	Gynécologie-obstétrique
MARUANI Annabel	Dermatologie-vénéréologie
MEREGHETTI Laurent	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MITANCHEZ Delphine	Pédiatrie
MORINIERE Sylvain	Oto-rhino-laryngologie
MOUSSATA Driffa	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis	Rhumatologie
ODENT Thierry	Chirurgie infantile
OUAISSI Mehdi	Chirurgie digestive
OULDAMER Lobna	Gynécologie-obstétrique
PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PATAT Frédéric	Biophysique et médecine nucléaire
PERROTIN Franck	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean	Ophtalmologie
PLANTIER Laurent	Physiologie
REMERAND Francis	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
ROSSET Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem	Chirurgie digestive
SAMIMI Mahtab	Dermatologie-vénéréologie
SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et médecine nucléaire
THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
TOUTAIN Annick	Génétique
VAILLANT Loïc	Dermato-vénéréologie
VELUT Stéphane	Anatomie
VOURC'H Patrick	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé	Immunologie
ZEMMOURA Ilyess	Neurochirurgie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

DIBAO-DINA Clarisse
LEBEAU Jean-Pierre

PROFESSEURS ASSOCIES

MALLET Donatien Soins palliatifs
POTIER Alain Médecine Générale
ROBERT Jean Médecine Générale

PROFESSEUR CERTIFIE DU 2ND DEGRE

MC CARTHY Catherine Anglais

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

AUDEMARD-VERGER Alexandra Médecine interne
BARBIER Louise Chirurgie digestive
BINET Aurélien Chirurgie infantile
BRUNAUT Paul Psychiatrie d'adultes, addictologie
CAILLE Agnès Biostat., informatique médical et technologies de communication
CLEMENTY Nicolas Cardiologie
DENIS Frédéric Odontologie
DOMELIER Anne-Sophie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DUFOUR Diane Biophysique et médecine nucléaire
ELKRIEF Laure Hépatologie – gastroentérologie
FAVRAIS Géraldine Pédiatrie
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie Anatomie et cytologie pathologiques
GATAULT Philippe Néphrologie
GOUILLEUX Valérie Immunologie
GUILLON-GRAMMATICO Leslie Epidémiologie, économie de la santé et prévention

HOARAU Cyrille	Immunologie
IVANES Fabrice	Physiologie
LE GUELLEC Chantal.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
LEFORT Bruno.....	Pédiatrie
LEGRAS Antoine.....	Chirurgie thoracique
LEMAIGNEN Adrien	Maladies infectieuses
MACHET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
MOREL Baptiste	Radiologie pédiatrique
PIVER Éric.....	Biochimie et biologie moléculaire
REROLLE Camille.....	Médecine légale
ROUMY Jérôme	Biophysique et médecine nucléaire
SAUTENET Bénédicte	Thérapeutique
TERNANT David.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
VUILLAUME-WINTER Marie-Laure.....	Génétique

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia.....	Neurosciences
NICOGLLOU Antonine	Philosophie – histoire des sciences et des techniques
PATIENT Romuald.....	Biologie cellulaire
RENOUX-JACQUET Cécile	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

BARBEAU Ludivine.....	Médecine Générale
RUIZ Christophe.....	Médecine Générale
SAMKO Boris.....	Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRA

BOUAKAZ Ayache	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
CHALON Sylvie	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
COURTY Yves	Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
DE ROCQUIGNY Hugues	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1259
ESCOFFRE Jean-Michel	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
GILOT Philippe.....	Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
GOUILLEUX Fabrice	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7001
GOMOT Marie.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
HEUZE-VOURCH Nathalie.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
KORKMAZ Brice.....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
LAUMONNIER Frédéric	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
MAZURIER Frédéric	Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7001
MEUNIER Jean-Christophe	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1259
PAGET Christophe	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
RAOUL William	Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7001
SI TAHAR Mustapha	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
WARDAK Claire.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'Ecole d'Orthophonie

DELORE Claire	Orthophoniste
GOUIN Jean-Marie.....	Praticien Hospitalier

Pour l'Ecole d'Orthoptie

MAJZOUB Samuel.....	Praticien Hospitalier
---------------------	-----------------------

Pour l'Ethique Médicale

BIRMELE Béatrice.....	Praticien Hospitalier
-----------------------	-----------------------

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas
à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

Remerciements

Aux membres du jury,

À Monsieur le **Professeur Claude Linassier**, pour m'avoir accueilli pour le DESC d'oncologie médical, dans votre service pendant 6 mois et sur les bancs de vos cours de master 2. J'y ai appris l'oncologie en dehors des champs du digestif et je retiens votre pédagogie, humanité et empathie.

À Monsieur le **Professeur Thierry Lecomte**, pour me permettre d'accéder au monde fascinant et essentiel de la transdisciplinarité entre cliniciens et chercheurs. Vous me guidez depuis mon second semestre dans votre service. Vous m'avez toujours soutenu dans mes projets. Vous alimentez sans cesse ma curiosité. Pour cela je vous en serai toujours reconnaissant.

À Monsieur le **Professeur Michel Ducreux**, pour m'avoir accepté dans votre service à l'Institut Gustave Roussy. Votre expertise a considérablement accéléré mon apprentissage en oncologie digestive. Vos qualités en relations humaines sont édifiantes. Ce fut un honneur d'avoir travaillé à vos côtés et de vous avoir en modèle.

À Madame le **Docteur Morgane Caulet**, pour m'avoir accompagné dès mes premiers jours de second semestre. Ton application consciencieuse professionnelle est exemplaire et me guidera tout au long de mon parcours.

À Monsieur le **Docteur William Raoul**, pour m'avoir reçu dans ton équipe au laboratoire. Ta bienveillance m'a soutenue pendant mon année de master 2 et ta disponibilité est irréprochable. C'est un bonheur de travailler avec toi et j'espère que l'avenir nous réserve une collaboration solide pour nos projets actuels et futurs.

À mes maîtres tourangeaux,

À Madame la **Professeure Driffa Moussata**, pour m'avoir ouvert au monde captivant de l'endoscopie digestive avec pédagogie et patience.

À Madame la **Docteur Laurence Picon**, pour m'avoir fait découvrir les mystères envoûtants des maladies inflammatoires chroniques intestinales avec une expertise immuable.

À Madame la **Docteur Laure Elkrief**, pour m'avoir enseigné les subtilités de la transplantation hépatique et m'avoir conseillé quand il le fallait vers le monde de la recherche.

À Madame la **Docteur Charlotte Nicolas**, pour me transmettre ton savoir et pour ta jovialité quotidienne qui embellie des journées parfois sombres.

À Monsieur le **Docteur Louis D'Alteroche**, que dire... Tu es un mentor indéniable. Ton humanité m'a bouleversée. Ton expertise voue le respect. Ta pédagogie est permanente. Partager son quotidien en ta compagnie est salutaire. Tu seras toujours un modèle pour moi.

À ceux que je côtoie moins fréquemment mais qui n'hésitent pas à transmettre leur savoir avec bienveillance. Je pense notamment à **Dr Barbieux** et au **Dr Godart**.

À mes co-internes devenus chefs, vous avoir vu progresser dans vos parcours professionnels sert de guide au quotidien. Je pense notamment à **Julie, Céline** et **Hortense** mes vieilles co-internes pendant mon second semestre ; à **Benjamin** et **David** la meilleure paire de chefs que Tours n'ait jamais eu ; à **Anaïs, Anna** et **Pauline** qui m'apprennent toujours au quotidien ; à **Mélodie** et **Jeremy** qui m'ont accompagné au 10ème étage ; à **Eva** et **Laura** les co-internes de promo les plus fêtardes ; à **Hortense, Olivia, Widad, Diane**, et **Clarisse** avec qui j'ai peu travaillé mais pour qui je souhaite bonheur et réussite.

À mes anciens chefs tourangeaux, **Dr Perray, Dr Duvivier** et **Dr Aubourg** qui m'ont accompagné au début de mon internat.

À l'équipe d'oncologie médicale de Kaplan, j'ai côtoyé votre quotidien pendant 6 mois et vous m'avez fait découvrir un monde différent avec une humanité déconcertante. Je pense tout particulièrement aux **Dr Narciso, Dr Vinceneux, Dr Vegas, Dr Stacoffe** et **Dr Barbe**. J'en profite également pour remercier **Cyriac** et **Kamel** qui m'ont beaucoup appris à ce moment de ma formation tant sur le plan professionnel que personnel.

À l'équipe de radiothérapie de Kaplan, vous m'avez embarqué pendant 6 mois dans un monde rayonnant que je connaissais peu. Merci au **Pr Calais, Dr Chapet** et **Dr Theron**.

À mes maîtres d'ailleurs,

À l'équipe de l'**Institut Gustave Roussy**, ces 6 mois passés en région parisienne m'ont été indiscutablement bénéfiques sur le plan professionnel et humain. Votre expertise est époustouflante. Ce fût un honneur d'avoir croisé votre chemin.

À l'équipe d'**hépatogastroentérologie blaise**, ce semestre passé dans votre maison a été formateur et réconfortant. Votre humanité associée à une jovialité permanente et expertise incontestable fait un cocktail détonnant de fraîcheur. Merci surtout à **Dr Assor** et **Dr Hallé**.

À l'équipe d'**hépatogastroentérologie orléanaise**, vous m'avez accueilli pour mon premier semestre. Balbutiant et arraché de ma région d'origine, votre bienveillance au quotidien m'a permis de me (re)construire. Merci plus particulièrement au **Dr Lagasse, Dr Dauvois, Dr Causse** et **Dr Herrmann**.

À l'équipe **hospitalière niçoise**, avec laquelle j'ai bâti les fondements de mes connaissances. Je pense notamment à Monsieur le Doyen le **Professeur Patrick Baqué** qui sans le savoir a laissé une trace indélébile sur mon appétence à la transmission du savoir.

À mes collègues chercheurs,

À l'ensemble des équipes avec lesquelles j'ai pu travailler. Notamment l'**équipe du N2C Inserm** avec laquelle je partage des projets actuels et l'**équipe du GICC CNRS** avec laquelle j'ai réalisé mon master 2. Votre profession est inhérente à la nôtre et vos travaux sont nécessaires. Je partage un profond respect pour votre curiosité incessante et votre détermination à dévoiler l'indiscernable avec minutie. Je remercie tout particulièrement **Maxime** et **Sajida**.

À Monsieur le **Professeur Olivier Sire** de l'Université Bretagne Sud, vous m'avez permis d'accomplir ce travail de thèse. Vous avez été disponible et pédagogue. J'espère que nous aurons d'autres travaux ensemble.

À mes collègues paramédicaux tourangeaux,

Vous êtes en première ligne face aux patients et souvent confrontés à des situations difficiles. Vous prodiguez des soins à longueur de journées. Vous m'avez souvent appris dans des moments de solitude. Vous êtes un rempart de bienveillance quotidienne qui protège des assauts répétés des contrariétés journalières. Merci à vous tous, notamment les **équipes d'hépatologie** et **d'hôpital de jour de Trousseau, d'oncologie médicale de Bretonneau** et **d'hépatogastroentérologie de Blois**. Je ne vous cite pas mais n'en pense pas moins. J'ai un profond respect pour votre formidable profession.

À mes amis,

De Tours, l'internat c'est des rencontres. Et quelles rencontres à la ce-sour !

Benito del fuego, Ambassadeur cachemaraie et **Gigi le méléna** des amis parfaits mais surtout des frères en or. Vous êtes dans mon cœur les potos. Les filles c'est pareil, **Wikipacaud, Astridounette** et **Sofia la berbère** vous êtes de très belles personnes et je suis heureux de vous avoir en amies. On a de belles années devant nous !

Les **internés**, Clémence, Marinex2, Ségolène, Hortense, Charlotte, Bettina, Laure, Camille, Pépit, Romain, Pierro, Gauth, Luc, Jibs, Gael, et Elias ; un sacré groupe de lascars ! Experts en chèvre et pince monseigneur, mais surtout en convivialité et générosité. De vrais amis.

Les Zinzins du bitume, **Nico, Pierre D'Haène et Victor le mental**, un sacré trio de vainqueurs. Que des bons moments passés avec vous aussi. Et pleins d'autres encore !

Les **co-internes de gastro**, une belle brochette ceux-là ! Aurélie, Céline, Coralie, Corentin, Cyprien, Ludovic, Manon, Mélanie, Théo, Vittoria, Thomas, et ceux que je connais moins mais qui m'ont l'air à bon potentiel, Léa, Diane, Clément, Juliette, Énora, Sophie. Ça a toujours été un plaisir de travailler (et surtout de boire des coups) avec vous. J'ai hâte que ça continue.

Les **bootcampers** tourangeaux je ne vous oublie pas ! Quelle bouffée d'oxygène c'est de vous voir à chaque fois. Vivement qu'on reprenne nos séances du mercredi pour des séries de marches de Saint-Cyr et les exercices du coach, et surtout les bières et planchettes.

De Nice, tout un externat c'est long et on y fait plusieurs de rencontres, mais des personnes comme vous on n'en rencontre pas beaucoup dans une vie. **Marion, Roxane, Marie-Eva, Antoine, Walid et Thomas**. On a passé de sacrés moments ensemble. Certains pas à écrire sur des remerciements de thèse. Mais qu'est-ce qu'on s'est marrés globalement ! Vous êtes à jamais inscrits dans ma peau. **Damien** mon fillot, j'ai une pensée pour toi aussi bien sûr ! Mais que dire de **Drifa, Yannis, Adrien et Paul**. Ma deuxième famille rue Cassini. C'est en grande partie grâce à vous que je suis ici aujourd'hui.

De Valbonne, amis de longue date, **Camille et Julia** que de bons souvenirs avec vous ! Je me rappellerai toujours ce premier jour de 5^{ème} au dernier rang du cours de Mme Minetti. Et depuis, beaucoup de péripéties : théâtre, balle de tennis, bleus, groupe de rock, Louis de Funès, escrime, voile, etc. puis votre départ à l'étranger et chacun trace sa route ! J'espère ne jamais perdre contact avec vous.

De Paris, il a fallu peu de temps pour se rendre compte que vous étiez de sincères bon gars : alors que **Cyril** masque sous une carapace serbe une âme sensible, **Paul** au contraire plus candide et tendre et **Henri** dévoué et généreux ; mais tous tellement humains. Vous avez été une belle rencontre. Vivement cette bonne bière en terrasse !

J'en oublie probablement certains, j'espère qu'ils ne m'en tiendront pas rigueur.

À ma famille,

À mes **cousin·e·s, oncles et tantes**, merci pour votre amour et votre soutien. Votre fraîcheur et spontanéité m'ont souvent réconfortées.

À ma **belle-famille**, merci de m'avoir accueilli chez vous avec tant de bienveillance et générosité. C'est un bonheur et un honneur de faire partie de votre monde.

À mes **grands-parents**, vous êtes mes piliers. Mamiline et Mamylvette votre douceur et amour m'accompagneront à jamais. Papidaniel, ton puit de curiosité et ta force de vie sont des exemples que je m'efforce à suivre. Papijo, ton humanité et ton dévouement sont pour moi des modèles au quotidien.

À mon **père**, tu es mon guide.

À ma **mère**, tu es ma force.

À ma **sœur**, tu es ma moitié.

À **Manon**, tu es mon âme.

Évaluation de la spectroscopie moyen-infrarouge sur sérum comme marqueur pronostique de patients traités en première ligne par chimiothérapie associée au bévacizumab dans le cancer colorectal métastatique

Introduction : Le bévacizumab associé à une chimiothérapie est un des traitements de référence du cancer colorectal métastatique (CCRm). Pourtant, certains patients ne bénéficient pas de cette combinaison. À ce jour, aucun biomarqueur pronostique ni prédictif robuste n'a été identifié. La spectroscopie moyen infra-rouge sur sérum (SMIRS) permet d'obtenir l'empreinte métabolique d'un individu. L'objectif principal de notre étude était d'évaluer le potentiel pronostique de la SMIRS chez des patients traités en première ligne d'un CCRm par chimiothérapie associée au bévacizumab.

Méthodes : 108 patients issus d'une étude prospective multicentrique (NCT00489697) ont été rétrospectivement étudiés. Leur sérum avant traitement a été analysé par réflexion totale atténuée puis interprété en composante principale et partitionnement en k-moyennes en aveugle des données cliniques. Les critères de jugement principal étaient la survie sans progression (SSP) et la survie globale (SG).

Résultats : Deux groupes ont été définis par la SMIRS. Les patients du groupe A (n=25) étaient plus dénutris ($p<0,001$). Leurs taux d'angiopoïétine-2, facteur de croissance de l'endothélium vasculaire, lactate déshydrogénase et antigène carcino-embryonnaire étaient plus élevés ($p<0,001$ pour tous). Leur signature spectrale variait selon 6 bandes d'absorption discriminantes correspondant à une carence lipidique et composition protéique et sucrée différente. Leur meilleur taux de réponse objective était diminué : 52,0% contre 73,5% ($p=0,043$). En analyse univariée, leur SG et SSP étaient diminuées avec des médianes respectives de 17,6 contre 27,9 mois ($p=0,02$) et 8,7 contre 11,3 mois ($p=0,03$). En analyse multivariée, la SSP était significativement raccourcie (HR : 1,74 ; IC95 [1,07-2,82] ; $p=0,025$) avec une tendance similaire pour la SG (HR : 1,69 ; IC95 [0,98-2,93] ; $p=0,061$).

Conclusion : La signature métabolomique par SMIRS s'avère être un outil pronostique prometteur pour les patients traités en première ligne par chimiothérapie associée au bévacizumab pour un CCRm.

Mots-clés : cancer colorectal métastatique, bévacizumab, spectroscopie moyen-infrarouge, biomarqueur

Evaluation of serum mid-infrared spectroscopy as new prognostic marker for bevacizumab-based chemotherapy in first-line treatment of metastatic colorectal cancer

Background: Bevacizumab-based chemotherapy is a recommended first-line therapeutic strategy for metastatic colorectal cancer (mCRC). Yet, some patients do not benefit from this association and until now robust predictive or prognostic biomarker with clinical practice applicability have not been identified. Serum analysis by mid-infrared spectroscopy (SMIRS) allows a rapid and non-invasive metabolomic profiling of an individual. Its prognostic value has never been assessed in mCRC. The aim of this study was to evaluate the prognostic yield of SMIRS in patients receiving first-line bevacizumab-based treatment for mCRC.

Methods: We conducted an ancillary analysis from a multicentre prospective study (NCT00489697). All baseline serums were screened by attenuated total reflection method. Principal component analysis and unsupervised k-mean partitioning methods were performed blinded to all patients' data. Endpoints were progression-free survival (PFS) and overall survival (OS).

Results: From the 108 included patients, two prognostic groups defined by spectral signatures were blindly discriminated by SMIRS. First group patients ($n = 25$) had lower body mass index ($p = 0.026$) and albumin levels ($p < 0.001$). They had higher levels of angiopoietin-2, vascular endothelial growth factor, lactate dehydrogenase and carcinoembryonic antigen ($p < 0.001$ for all). Their spectral signature differed according to six significative absorption bands corresponding to lipid deficiency and different sugar and protein composition. They had less grade 1-2 bevacizumab-related toxicity ($p = 0.041$). Their best objective response rate was worse: 52.0% vs 73.5% ($p = 0.043$). In univariate analysis, their OS and PFS were shorter with respective medians: 17.6 vs 27.9 months ($p = 0.02$) and 8.7 vs 11.3 months ($p = 0.03$). In multivariate analysis, PFS was significantly shorter (HR: 1.74, 95% CI [1.07-2.82], $p = 0.025$) with a similar trend for OS (HR: 1.69, 95% CI [0.98-2.93], $p = 0.061$).

Conclusions: By metabolomic fingerprinting, SMIRS on baseline serum proves to be a promising prognostic tool for patients receiving first-line bevacizumab-based chemotherapy for mCRC.

Keywords: metastatic colorectal cancer, bevacizumab, mid-infrared spectroscopy, biomarker

Table des matières

Préface.....	16
Abréviations.....	17
<u>Partie A</u> : Mise au point : Biomarqueurs pronostiques et prédictifs du bévacicumab dans le cancer colorectal métastatique : où en sommes-nous ?	18
I. Introduction.....	18
II. Marqueurs cliniques.....	19
1. État général.....	20
2. État nutritionnel.....	21
3. Effets secondaires liés au traitement.....	23
III. Marqueurs tumoraux.....	25
1. Marqueurs cliniques et histologiques.....	25
2. Marqueurs protéiques.....	28
IV. Marqueurs de l'angiogénèse et de l'inflammation.....	30
1. Protéines de l'angiogénèse.....	30
i. VEGF et VEGFR.....	30
ii. Axe Ang/Tie.....	34
iii. Autres.....	36
2. Protéines de l'inflammation.....	37
3. Approche combinée.....	41
V. Marqueurs cellulaires.....	43
VI. Marqueurs génétiques.....	47
1. Marqueurs génétiques tumoraux.....	47
2. Perte chromosomique.....	50
3. Marqueurs de régulation pré- et post-transcriptionnelle.....	51
4. Polymorphismes génétiques.....	55
VII. Pharmacocinétique-pharmacodynamie.....	57
VIII. Conclusion.....	58

Partie B : Article original : Evaluation of serum mid-infrared spectroscopy as new prognostic marker for bevacizumab-based chemotherapy in first-line treatment of metastatic colorectal cancer.....65

I.	Introduction.....	67
II.	Materials and method.....	68
	1. Study population.....	68
	2. Data extraction.....	68
	3. Mid-infrared spectroscopy.....	69
	i. Spectral acquisition.....	69
	ii. Spectral treatment.....	69
	4. Statistical analysis.....	70
III.	Results.....	71
	1. Population	71
	2. Spectral analysis.....	74
	i. Spectral comparisons of groups A and B.....	74
	ii. Clinical and biological comparisons of groups A and B.....	77
	3. Survival and response rate analysis.....	77
	i. Progression-free survival.....	77
	ii. Overall survival.....	78
	iii. Best objective response rate.....	80
	4. Bevacizumab safety profile.....	81
IV.	Discussion.....	83
V.	Conclusion	85
VI.	Appendix.....	86
Bibliographie		87
I.	Mise au point.....	87
II.	Article scientifique.....	101

La prise en charge du cancer colorectal métastatique sollicite l'administration de traitements systémiques à base de chimiothérapies le plus souvent associées à des thérapies ciblées. Ces dernières ont été développées depuis ces vingt dernières années. Elles permettent d'améliorer la réponse au traitement et la survie des patients. Cependant, certains sous-groupes de population ne bénéficient pas de l'ajout de ces médicaments. Ils sont ainsi exposés à une iatrogénie parfois sévère sans pour autant tirer parti du traitement. C'est pourquoi il est indispensable d'identifier des critères repérant ces patients non-répondeurs. Concernant les anticorps monoclonaux anti-EGFR (cétuximab et panitumumab), la présence d'une mutation sur le gène *KRAS* s'avère être une information prédictive de l'échec thérapeutique. Aussi, l'anticorps monoclonal anti-PD-1 (pembrolizumab) se montre particulièrement efficace chez les patients présentant une instabilité microsatellitaire. S'agissant du bévacizumab, alors qu'il est le premier anticorps monoclonal commercialisé pour la prise en charge du cancer colorectal métastatique, aucun biomarqueur robuste ne permet d'identifier les patients ne bénéficiant pas de la suppression angiogénique.

Ce travail de thèse est structuré en deux parties. La première est une mise au point sur l'état actuel des efforts entrepris pour identifier un biomarqueur pronostique et/ou prédictif du bévacizumab dans le cancer colorectal métastatique. Elle s'intéresse aux caractéristiques globales de l'individu, aux marqueurs biologiques de la tumeur et de son microenvironnement, et aux analyses pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de l'anticorps monoclonal. La seconde partie est un article scientifique original. Il est le fruit d'un travail multicentrique, transdisciplinaire et innovant dont l'objectif était d'évaluer le potentiel pronostique de l'analyse sérique par spectroscopie dans le domaine du moyen-infrarouge de patients traités en première ligne thérapeutique pour un cancer colorectal métastatique. Les résultats sont encourageants et permettent d'entrevoir un nouvel axe de recherche dans cette quête de biomarqueur si essentielle à notre pratique clinique.

Plus personnellement, ce travail a renforcé ma conviction de la nécessité du partenariat entre cliniciens et chercheurs. C'est par ce lien essentiel que nous arriverons à optimiser la prise en charge de nos patients d'oncologie digestive. J'ose croire que ce travail ajoute une pierre à l'édifice.

Bonne lecture.

Abréviations

AKT	<i>Protein kinase B</i>	MAPK	<i>Mitogen-activated protein kinases</i>
ALK	<i>Anaplastic lymphoma kinase</i>	MCP	<i>Monocyte chemotactic protein</i>
AUC	<i>Area under curve</i>	MMP	<i>Matrix metalloproteinase</i>
BRAF	<i>Proto-oncogene b-Raf</i>	MMR	<i>Mismatch repair</i>
BV-8	<i>Bombina variegata 8</i>	mTOR	<i>Mechanistic target of rapamycin</i>
EGF	<i>Epidermal growth factor</i>	OR	<i>Odd ratio</i>
EGFR	<i>EGF receptor</i>	PAI	<i>Plasminogene activator inhibitor</i>
ELISA	<i>Enzyme-like immunosorbent assay</i>	PDGF	<i>Platelet-derived growth factor</i>
EPHB4	<i>Ephrin type 4 receptor</i>	PI3K	<i>Phosphoinositide 3-kinase</i>
ERK	<i>Extracellular signal-regulated kinases</i>	PIGF	<i>Placenta growth factor</i>
FGF	<i>Fibroblaste growth factor</i>	PTEN	<i>Phosphatase and tensin homolog</i>
hERG	<i>Humén ether-à-go-go</i>	RAS	<i>Proto-oncogene Ras</i>
HGF	<i>Hepatocyte growth factor</i>	SDF	<i>Stroma cell-derived factor</i>
HIF	<i>Hypoxia-inducible factor</i>	STAT	<i>Signal transducers and activators of transcription</i>
HOX	<i>Homeobox</i>	TGF- β	<i>Transforming growth factor beta</i>
HR	<i>Hazard ratio</i>	TP53	<i>Tumor protein 53</i>
ICAM	<i>Intercellular adhesion molecule</i>	VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
JAK	<i>Janus kinase</i>		

Mise au point :

Biomarqueurs pronostiques et prédictifs du bévacizumab dans le cancer colorectal métastatique : où en sommes-nous ?

I. Introduction

Depuis ses premières évaluations cliniques au début des années 2000s, le bévacizumab est devenu un médicament incontournable de la stratégie thérapeutique du cancer colorectal métastatique (CCRm) [1,2]. Cependant, malgré son effet anti-angiogénique, cet anticorps monoclonal humanisé ciblant tous les isoformes du VEGF-A n'est bénéfique que pour une partie des patients atteints de CCRm [3,4]. De nombreuses sources de variabilités inter- et intra-individuelles de réponse aux traitements, en particulier anti-angiogéniques, ne sont pas encore élucidées. Elles sont à l'origine soit d'une inefficacité primaire soit de l'élaboration de mécanismes de résistance secondaire [5,6]. Ces différences mettent en exergue la complexité de l'angiogénèse tumorale. La plupart des essais cliniques ayant validé l'utilisation du bévacizumab ont surtout mis en avant une amélioration de la survie sans progression (SSP) alors que celle de la survie globale (SG) était moins évidente [7]. Certaines études de phase 3 randomisées vont même à l'encontre de son intérêt avec en tête de file l'étude ITACa dans laquelle la SSP en tant que critère de jugement principal n'était pas améliorée par l'ajout du bévacizumab à une chimiothérapie standard [8]. De plus, malgré un profil de tolérance connu et gérable, l'ajout du bévacizumab augmente les effets secondaires liés au traitement et altère la qualité de vie [9]. Plusieurs études médico-économiques suggèrent un surcoût largement déséquilibré par rapport au bénéfice clinique de l'utilisation du bévacizumab [10–12]. Ces études sont évidemment influencées par le système de soins relatif au pays concerné. La problématique est similaire dans d'autres néoplasies où le bévacizumab a également une place parfois non clairement établie dans la stratégie thérapeutique [13]. Une autre problématique

concernant le CCRm est la position du bévacizumab par rapport aux anticorps monoclonaux anti-EGFR. Certaines études suggèrent que le cétuximab [14] et le panitumumab améliorent davantage la SG que le bévacizumab lorsque associés à une chimiothérapie comparable. Pourtant, d'autres études mettent en évidence une différence d'amélioration de survie moins certaine [15,16]. Une méta-analyse de ces essais conclue à l'absence de données suffisantes pour trancher entre ces thérapies ciblées [17]. Deux éléments ont été retenus pour orienter le choix en faveur du cétuximab ou du panitumumab : l'absence de mutation du gène *RAS* [18] et, dans une moindre mesure, la localisation colique gauche [19].   l'inverse, aucun paramètre à ce jour permet de guider le choix du bévacizumab. Pourtant, d'intenses efforts ont été entrepris ces vingt dernières années afin d'identifier un ou plusieurs biomarqueurs pronostiques et/ou prédictifs de la réponse au bévacizumab chez les patients traités pour un CCRm. Mais la multiplicité des biomarqueurs analysés dans des études souvent de faible puissance et présentant des résultats souvent hétérogènes, associés à la complexité des mécanismes influençant l'angiogénèse, limitent l'utilisation en pratique clinique de critères décisifs. Certaines analyses rétrospectives de grandes cohortes issues d'essais prospectifs permettent d'obtenir des résultats encourageants la poursuite de ces efforts substantiels. Nous revoyons ici l'ensemble des biomarqueurs qui ont été explorés   visée pronostique et/ou prédictive de la réponse au bévacizumab dans le CCRm.

II. Marqueurs cliniques

Le patient est le témoin principal de l'interaction entre le bévacizumab et la tumeur colorectale métastatique. Son  tat général et nutritionnel impacte la réponse au traitement tout comme sa tolérance.

1. État général

De manière peu surprenante, l'état général altéré, mesuré habituellement par le score de performance selon l'Organisation Mondiale de la Santé (PS), et l'âge avancé, sont souvent des facteurs pronostiques indépendants péjoratifs dans les essais cliniques et en pratique clinique oncologique. Cela en est de même pour les patients traités pour un CCRm par bévacizumab associé à une chimiothérapie. Dans une étude observationnelle de cohorte de 1438 patients traités en 1^{ère} ligne par bévacizumab associé principalement au FOLFIRI (68%) ou au FOLFOX (19%), l'âge >75 ans et le PS >1 étaient de facteurs indépendants de mauvais pronostic en termes de SSP et/ou SG [20]. Dans une autre étude de cohorte de patients globalement similaires à l'étude précédente, Bennouna *et al* ont également montré qu'un PS >1 était un facteur pronostique indépendant pour la SSP, mais pas pour la SG [21]. La mesure du taux de globules blancs (GB) intégré au sein d'un score composite comprenant le PS, amplifie l'effet pronostique lié à l'état général. En effet, dans l'étude de Giessen *et al*, le risque de mortalité à 2 mois était décuplé chez les patients PS >1 avec une concentration sanguine de GB >8 G/l (OR à 30,5 ; IC[10,58-88,20] ; $p < 0,001$) [22]. Au contraire, l'étude de Mol *et al* qui a rétrospectivement analysé les cohortes issues des essais CAIRO et CAIRO-2, a mis en évidence que le PS n'était pas un facteur pronostique indépendant *a contrario* d'un score de qualité de vie et d'état général au diagnostic (EORTC QLQ-C30) [23]. Cela pose les limites de l'hétéro-évaluation par le clinicien par rapport à l'auto-évaluation par le patient qui est probablement plus proche de la réalité. Dans une méta-analyse sur plus de 20 000 patients issus de 24 essais cliniques (dont 9 qui ont évalué un traitement à base de bévacizumab), l'âge et le PS étaient des facteurs pronostiques indépendants de la SSP et de la SG [24]. Globalement ces études révèlent que les patients >75ans et/ou PS >1 sont de mauvais pronostic. Néanmoins, ces données ne sont pas spécifiques du bévacizumab et donc pas des facteurs prédictifs du bévacizumab.

Que retenir ? L'âge et l'état général sont des facteurs déterminants le pronostic des patients pris en charge pour un CCRm. Leur effet n'est cependant pas spécifique du traitement par bévacizumab.

2. État nutritionnel

L'état nutritionnel du patient est un facteur pronostique essentiel en cancérologie, non seulement en terme de diminution du risque de complications oncologiques au cours de la prise en charge globale (sepsis, iatrogénie, autonomie), mais aussi compte tenu de l'interaction entre la graisse viscérale et l'angiogénèse. Le tissu adipeux du sujet obèse présente des caractéristiques microenvironnementales favorisant l'inflammation et l'angiogénèse [25,26]. L'adipocyte sécrète des adipokines stimulant les cellules endothéliales et influençant l'orientation phénotypique des cellules du microenvironnement tumoral. Également, la sécrétion de leptine par les adipocytes aurait un effet pro-angiogénique par l'activation des voies PI3K, JAK et ERK à l'origine de la surexpression de VEGF. Sous l'influence des cellules tumorales, les adipocytes péri-tumoraux ont une activité de lipolyse soutenue permettant la libération d'acides gras libres servant de substrat énergétique aux cellules endothéliales à la pointe des bourgeonnements vasculaires. Plus globalement, l'obésité et notamment la graisse viscérale abdominale provoque des déséquilibres hormonaux, des modifications du microbiote intestinale et la chronicisation inflammatoire à l'origine de l'amplification de la prolifération et invasivité cellulaire tumorale ainsi qu'à l'entretien du processus d'angiogénèse.

De ce fait, l'obésité semble être un facteur pronostique négatif. C'est ce qu'ont mis en évidence Aykan *et al* et Artaç *et al* dans leurs études rétrospectives monocentriques de patients traités en 1^{ère} ligne thérapeutique d'un CCRm par bi-chimiothérapie associée au bévacizumab. Dans la première étude, les patients à l'indice de masse corporel (IMC) >25 présentaient une SSP diminuée de manière indépendante (HR : 4,37 ; p=0,01) [27]. Dans la seconde étude, qui regroupait 563 patients, l'impact pronostique favorable en SSP d'un IMC <30 était uniquement

valable pour ceux ayant un statut *KRAS* sauvage et/ou une tumeur colique gauche [28]. Cette influence n'était pas significative en analyse multivariée. A l'inverse de ces deux études, une équipe polonaise a récemment exposé dans un travail multicentrique rétrospectif sur 237 patients en 2nde ligne thérapeutique par FOLFOX associé au bévacizumab qu'un IMC <25 était un facteur de mauvais pronostic indépendant en analyse multivariée pour la SSP et la SG (HR : 1,79 ; p=0,047 et HR : 1,83 ; p=0,015 respectivement) [29]. Aparicio *et al* a réalisé une analyse poolée des données individuelles de 2085 patients traités en 1^{ère} ligne et issus de 8 études FFCD dont 4 chez qui ils recevaient du bévacizumab (n=688) [30]. Dans ce travail, alors que les résultats de l'analyse de l'ensemble des patients montraient qu'un IMC >30 était associé à une meilleure SG (HR : 0,88 ; p=0,02) et un meilleur taux de réponse objective (TRO) (OR : 1,23 ; p=0,04), l'IMC n'était pas significativement associé à la survie dans le sous-groupe des patients traités par bévacizumab. Il a été réalisé une étude similaire mais sur un plus grand nombre d'études internationales permettant d'inclure 21 149 patients dans l'analyse dont 9 114 traités par bévacizumab [31]. Il était mis en évidence que les patients à l'IMC <18,5 par rapport à ceux obèses présentaient 27% et 50% de risque supplémentaires de progression et de décès respectivement. Ces résultats étaient similaires dans une étude présentée à l'ESMO en 2015 [32]. Ces résultats n'étaient cependant pas interprétés en fonction de la thérapie ciblée associée à la chimiothérapie. D'ailleurs, en comparant les données de CAIRO et CAIRO-2, alors que l'IMC >30 était un facteur de meilleure SG dans la première étude, il n'était pas retrouvé de différence significative dans la seconde chez qui la moitié des patients étaient traités par bévacizumab [33]. Toutes ces études semblent contradictoires et l'interprétation est d'autant plus complexe qu'en termes physiopathologiques, l'obésité et la cachexie stimulent tous les deux l'angiogénèse. Le point essentiel est de constater que la mesure de l'IMC n'est probablement pas une bonne méthode pour évaluer la graisse viscérale. Des études ont calculé scannographiquement le volume de graisse viscérale en l'associant à la survie. Leurs résultats sont aussi contradictoires. Alors que Guiu *et al* dans une étude rétrospective monocentrique de

120 patients traités en 1^{ère} ligne par chimiothérapie dont 80 associés au bévacizumab, a mis en évidence qu'un volume de graisse viscéral élevé était un facteur de mauvais pronostic indépendant pour la SSP et SG (HR : 2,8 ; p=0,002 et HR : 2,88 ; p<0,05 respectivement) [34]. Au contraire, l'équipe de Miyamoto *et al* a plus récemment réalisé une analyse poolée de 5 études dont 2 prospectives et a mis en évidence qu'un volume de graisse viscéral faible était de mauvais pronostic pour la SG uniquement (HR : 1,85 ; p=0,01) et seulement chez les patients ayant reçu du bévacizumab [35]. De manière originale, Dolly *et al* a évalué par imagerie l'évolution des volumes adipeux, musculaire et osseux en cours de traitement de 1^{ère} ligne par chimiothérapie associée au bévacizumab [36]. Le caractère catabolique défini par la perte d'au moins deux tissus était associé au volume tumoral mais pas à la survie. L'évaluation chronologique de l'évolution de la masse adipeuse est un élément particulièrement intéressant à prendre en compte dans ces études.

Que retenir ? L'obésité devrait-être analysée en termes de volume de graisse viscérale plutôt que par la mesure de l'IMC car la répartition des volumes adipeux a une importance physiopathologique. Elle joue un rôle essentiel dans l'angiogénèse et par conséquent sur l'efficacité du traitement anti-VEGF. La traduction clinique en termes de valeurs prédictives et pronostiques n'est pas clairement établie à cause de résultats contradictoires. Son évaluation doit se poursuivre au moyen d'études prospectives.

3. Effets secondaires liés au traitement

Il a également été étudié si les effets secondaires liés au bévacizumab n'étaient pas corrélés au taux d'exposition au médicament et par conséquent à la survie et réponse tumorale. De nombreuses études se sont d'abord penchées sur l'hypertension artérielle (HTA) iatrogène à l'anti-VEGF. En prenant en compte l'ensemble des études cliniques évaluant le bévacizumab, le taux d'HTA liée au traitement grade 3-4 est d'environ 10%. Tous grades confondus, l'HTA

est l'effet secondaire le plus fréquent lié au bévacizumab. C'est un marqueur facilement mesurable en pratique clinique et objectif contrairement à d'autres effets secondaires (asthénie, syndrome main-pied). Sur des cohortes de patients traités par bévacizumab à 2,5 mg/kg par semaine, l'HTA précoce était un facteur indépendant pronostique de la SG [37] et du TRO [38]. Sur une autre analyse rétrospective, basée sur 315 patients traités pour un CCRm par bévacizumab, l'HTA, tous temps de traitement confondus, est un facteur pronostique associé à une meilleure SG [39]. Compte tenu du grand nombre d'études réalisées dans cette objectif, plusieurs méta-analyses ont été développées ces dernières années [40–42]. La plus récente a analysé les résultats de 14 études correspondant à 2292 patients [42]. Elle montre que l'HTA est pronostique sans hétérogénéité majeure avec une association positive sur la SSP et la SG (HR : 0,52 ; $p < 0,001$ et HR : 0,51 ; $p < 0,001$ respectivement). L'effet semble similaire pour le TRO mais il y était indiqué des biais de publication et une forte hétérogénéité entre études. La protéinurie basale avant initiation du traitement a également été évaluée. Dans une première étude analysant 36 patients, une protéinurie basale ≥ 14 mg/24h était un facteur de mauvaise SSP (HR : 1,7 ; $p = 0,01$) sans significativité sur la SG [43]. Dans une autre étude, 127 patients issus de deux essais de phase 2 étaient rétrospectivement examinés et tant l'HTA que la protéinurie basale étaient significativement associées au taux de contrôle tumoral [44]. Cela n'était cependant pas confirmé en analyse multivarié pour la protéinurie. Aucun autre effet secondaire lié au bévacizumab n'a été étudié en tant que biomarqueur pronostique ou prédictif.

Que retenir ? L'HTA induite par le bévacizumab semble être un bon critère pronostique. Elle est probablement représentative de l'imprégnation au médicament. Faute de plus de preuve scientifique solide, c'est un élément informatif mais qui à ce jour ne doit pas être un critère décisif dans la stratégie thérapeutique. Des études prospectives permettraient de confirmer son potentiel pronostique. Les autres effets secondaires liés au bévacizumab n'ont pas été suffisamment étudiés dans cet objectif.

III. Marqueurs tumoraux

1. Marqueurs cliniques et histologiques

Il existe des différences clinico-pathologiques entre tumeurs coliques droites et gauches. Les tumeurs coliques droites sont plus souvent mucineuses et peu différenciées, présentent plus de mutations génétiques somatiques, d'hyperméthylation CpG et de déficience du système MMR [45]. Selon la classification consensuelle des sous-types moléculaires (CMS), le type 1 est plus fréquemment caractéristique des tumeurs coliques droites alors que c'est l'inverse pour le type 2 et que les types 3 et 4 sont globalement uniformément réparties [46]. De ce fait, la latéralisation tumorale a probablement impact pronostique et prédictif de la réponse au traitement. Elle devrait nous permettre de guider nos choix thérapeutiques. A ce jour, les données rapportées sont basées principalement sur des analyses rétrospectives basées entre autres sur d'essais cliniques de phase II/III. Comparées aux CCRm d'autres localisations, il semblerait que les tumeurs coliques droites soient de moins bon pronostic en termes de SG et SSP [19]. Plus spécifiquement selon la thérapie ciblée utilisée et d'après les données d'une récente méta-analyse, la plupart des études montrent pour conclure que chez les patients *RAS* non mutés les tumeurs coliques gauches bénéficient plus des anti-EGFR que du bévacizumab en terme de SG (HR : 0,71 ; $p=0,0003$) alors que les tumeurs droites semblent plus sensibles au bévacizumab qu'à un anti-EGFR mais avec un effet moins important et non significatif (HR : 1,3 ; $p=0,081$) [19]. Une étude rétrospective plus récente indique les mêmes résultats mais avec une significativité en faveur de l'allongement de la survie des patients avec une tumeur colique droite traitée par bévacizumab plutôt qu'avec un anti-EGFR [47]. Dans une analyse post-hoc de l'essai ITACa comparant chimiothérapie seule ou associée au bévacizumab, les patient ayant une tumeur colique droite bénéficiaient plus de l'ajout de l'anti-angiogénique que ceux ayant une tumeur gauche et pour lesquels d'ailleurs le bénéfice du bévacizumab n'était pas évident [48]. La stratégie thérapeutique pour les tumeurs coliques droites métastatiques est par

conséquent plutôt en faveur d'une intensification de la chimiothérapie et d'un recours à un anti-VEGF en 1^{ère} intention. Chez les patients traités par bévacizumab, alors que deux études semblent indiquer que les tumeurs coliques gauches sont plus sensibles à un anti-angiogénique [49,50], une autre indique le contraire avec une explication physiopathologique relevant que les tumeurs droites sont moins inflammatoires et présentent plus de caractéristiques angiogéniques [48].

Un autre élément d'étude a été l'évaluation du potentiel pronostique et prédictif de la résection de la tumeur primitive. De nombreuses études montrent que l'exérèse du primitif améliore la survie des patients atteints de CCRm. Une méta-analyse récente s'est penchée sur cet impact mais en rapport avec l'utilisation du bévacizumab [51]. Sept études (3 rétrospectives et 2 prospectives) ont été analysées. Les patients étaient traités par chimiothérapie associée au bévacizumab à différentes lignes thérapeutiques. Les patients chez qui la tumeur avait été réséquée présentaient une SSP et SG allongées (HR : 0,65 ; $p < 0,01$ et HR : 0,50 ; $p < 0,01$ respectivement). Similairement, les patients chez qui la tumeur avait été réséquée bénéficiaient davantage de l'ajout du bévacizumab que de la chimiothérapie seule en terme de SG par rapport à ceux avec la tumeur en place. La résection du primitif malgré le stade métastatique est actuellement non recommandée. Cependant de récentes méta-analyses semblent indiquer que cela permettrait d'améliorer la survie [52–54]. D'autres essais prospectifs sont nécessaires afin de répondre à cette question fondamentale.

La classification CMS issue d'un consortium international d'expert a permis de dégager 4 sous-types de cancers colorectaux caractérisés par des facteurs moléculaires, biologiques et cliniques [55]. Cette classification a une valeur pronostique pour les CCR localisés mais moins étudiée pour les CCRm. En cas de CCRm, le type 1 présentent une moins bonne SG contrairement au type 2 qui présente le meilleur pronostic. Les autres sous-types n'ont, semble-t-il, pas de données de survie significativement différentes. Les tumeurs CMS-1 sont préférentiellement localisées au colon droit et sont caractérisées par une infiltration immunitaire

importante avec une instabilité microsatellitaire fréquente. Les patients traités par bévacyzumab pour un CCRm CMS-1 présentent une SG significativement supérieure à ceux traités par un anti-EGFR dans une analyse rétrospective de l'étude CALGB/SWOG [46]. Cela concorde avec les données moléculaires pronostiques et prédictives décrites ci-dessus et avec le principe d'interaction entre stabilisation vasculaire et infiltration immunitaire. C'est l'inverse pour les tumeurs CMS-3 et -4 qui bénéficient clairement plus des anti-EGFR que du bévacyzumab d'après les analyses rétrospectives des études CALGB/SWOG et FIRE-3 [46,56]. Les données sont moins évidentes pour le CCRm CMS-2 [56]. Cependant il existe de probables interactions avec les protocoles de chimiothérapie utilisés, les techniques utilisées pour classer les tumeurs en type CMS et les différences de répartition entre type CMS dans les études actuelles qui ne sont qu'uniquement rétrospectives. Concernant le bénéfice de l'ajout du bévacyzumab à la chimiothérapie, l'analyse rétrospective de l'essai MAX indique que ce sont les patients ayant une tumeur CMS-2 ou CMS-3 les plus avantagées en termes de SSP [57]. Cette étude comportant des patients *KRAS* mutés ou non, ses résultats sont difficilement comparables à ceux des analyses rétrospectives de CALGB/SWOG et FIRE-3 uniquement constituées de patients non mutés sur le gène *KRAS*.

Que retenir ? La latéralisation tumorale droite et le type 1 de la classification CMS sont des facteurs de mauvais pronostic en terme de SG. En termes prédictifs, la latéralisation tumorale n'est pas un critère robuste. Les tumeurs coliques gauche *RAS* sauvage bénéficient davantage des anti-EGFR que du bévacyzumab. La classification CMS est potentiellement utile pour guider le choix de la thérapie ciblée adéquate mais les données ne se sont pas suffisantes pour l'utiliser dans nos pratiques cliniques actuellement. La résection de la tumeur primitive semble être un facteur de meilleur pronostic, cependant son caractère prédictif n'est pas suffisamment étudié en rapport avec le bévacyzumab.

2. Marqueurs protéiques

L'antigène carcino-embryonnaire (ACE) et l'antigène 19.9 d'hydrate de carbone (CA19.9) sont deux marqueurs tumoraux utilisés en pratique clinique pour la surveillance post- ou per-thérapeutique d'un CCRm en cas de valeur informative au diagnostic. L'ACE est une glycoprotéine jouant un rôle dans l'adhésion et la reconnaissance cellulaire. Il est synthétisé essentiellement par les cellules épithéliales du tube digestif. Il est habituellement surexprimé en cas de CCR mais n'en est pas spécifique. Le CA19.9 est un ligand des E-sélectines et joue un rôle important dans l'adhésion des cellules cancéreuses à l'endothélium. Il est moins utilisé en pratique clinique que l'ACE compte tenu d'une plus faible spécificité et sensibilité de détection de progression tumorale.

Certaines études ont évalué le potentiel pronostique et prédictif de valeurs basales élevées de l'ACE et du CA19.9 par rapport à la réponse au bévacizumab dans le CCRm. Dans une étude monocentrique rétrospective de 87 patients traités par bi-chimiothérapie associée au bévacizumab pour 29 d'entre eux, Formica *et al* ont mis en évidence qu'une valeur basale élevée >35 UI/ml de CA19.9 était prédictive d'une plus courte SSP uniquement pour les patients traités par bévacizumab (HR : 2,22 ; $p=0,02$) [58]. Dans une étude plus récente, Jürgensmeier *et al* ont rétrospectivement analysé les cohortes issues des études HORIZON et HORIZON-3 [59]. Parmi les 1254 patients concernés, 713 étaient traités par bévacizumab associés à une chimiothérapie par FOLFOX6. Il était mis en évidence qu'une valeur basale élevée >50 ng/ml d'ACE était prédictive de plus courte SSP et SG pour les patients traités par bévacizumab. Cela était particulièrement valable pour les valeurs d'ACE dans les hauts quartiles. Similairement, Quidde *et al* ont réalisé une analyse observationnelle sur 1438 patients traités pour un CCRm par chimiothérapie associée au bévacizumab [20]. Une valeur basale d'ACE >20 ng/ml était significativement associée de manière indépendante à de plus courtes SSP et SG (HR : 1,35 ; $p<0,001$ et HR : 1,65 ; $p<0,001$ respectivement). Le potentiel pronostique et prédictif du dosage de l'ACE basal a été confirmé comme étant plus spécifique

chez les patients traités par bévacicumab que cétuximab en prenant une valeur charnière à 26,8 ng/ml [60]. Plus récemment en 2019, en réalisant une analyse rétrospective sur la cohorte de l'étude FIRE-3, Holch *et al* ont montré que les patients traités par bévacicumab et présentant une valeur basale d'ACE >10 ng/ml avaient une SG réduite (HR : 1,5 ; p=0,036) [61]. Cela n'était pas le cas pour les patients traités par cétuximab. D'ailleurs, les patients présentant une valeur basale d'ACE >10 ng/ml bénéficiaient plus du cétuximab que du bévacicumab en termes de SG (HR : 0,56 ; p<0,001). Le monitoring des taux concentrations sanguines des marqueurs ACE et CA19.9 s'avère également intéressant pour les patients traités par chimiothérapie-bévacicumab. Dans trois études il a été observé une corrélation significative entre de meilleures SSP ou SG et la diminution du taux d'ACE [20,62,63] ou de CA19.9 [63] après 2 mois de traitement. Parallèlement, une élévation combinée de >25% d'ACE et CA19.9 permettait de détecter une progression tumorale avec une forte sensibilité (84,8%) et spécificité (98,6%) dans une étude prospective d'une petite cohorte de 72 patients atteints de CCRm traités par bi-chimiothérapie à base de fluoropyrimidines et oxaliplatine associées au bévacicumab [63].

Les lactates déshydrogénases (LDH) sont des enzymes qui catalysent la conversion du pyruvate lactate et vice-versa. Leurs valeurs sériques sont représentatives d'une activité de glycolyse anaérobie intense. Cette voie métabolique est habituelle pour les cellules tumorales en général mais aussi les cellules endothéliales participant à l'angiogénèse. Par ailleurs, les LDH sont régulées principalement par la voie PI3K/AKT/mTOR, le facteur transcriptionnel MYC, l'hypoxie tumorale et la nécrose. Leurs valeurs sériques sont donc représentatives du volume, de la croissance et de l'agressivité tumorale. Il a été signalé qu'un taux élevé de LDH a une valeur pronostique dans le CCRm [64]. Concernant les patients traités par bévacicumab, le potentiel pronostique et/ou prédictif du taux de LDH n'est pas certain car les données actuelles sont contradictoires. Dans une étude récente et sur une cohorte de 210 patients dont 82 traités par chimiothérapie associée au bévacicumab, il a été affiché que ceux ayant un taux basal de LDH >588 UI/ml avaient de moins bonnes SSP (p=0,003) et SG (p=0,001) [65]. Cela

n'était cependant pas valable pour les patients traités par bévacizumab chez qui ce taux élevé étaient uniquement prédictif d'un TRO diminué ($p=0,02$). Similairement, dans une analyse post-hoc de l'essai ITACa, Passardi *et al* ont indiqué qu'un taux basal supérieur à la limite normale supérieure de LDH était pronostique des SSP et SG pour la cohorte globale mais pas pour le sous-groupe des patients traités par bévacizumab [66]. Par contre, chez les patients à LDH élevés, l'ajout du bévacizumab permettait d'améliorer la SSP par rapport au traitement par chimiothérapie seule ($p=0,028$). Inversement dans l'analyse post-hoc par Marmorino *et al* de l'essai BEBYP, les patients présentant un taux de LDH >300 UI/ml ne bénéficiaient pas de la poursuite du bévacizumab après progression d'une 1^{ère} ligne de chimiothérapie associée au bévacizumab [67]. Finalement, une méta-analyse de 29 études concernant les facteurs pronostiques du bévacizumab, dont 3 seulement s'intéressant au taux de LDH, a révélé qu'un taux élevé de LDH était significativement de mauvais pronostic en termes de SG (HR : 2,08 ; $p<0,001$; sans hétérogénéité) [68]. Cependant, dans les études concernées, les valeurs charnières du taux de LDH étaient disparates. Les résultats d'une étude prospective récente de 2017, vont dans ce même sens [69].

Que retenir ? Les données actuelles semblent plutôt en faveur d'un intérêt pour le dosage de l'ACE basal et son monitoring à but pronostique et prédictif. Elles sont au contraire trop maigres pour le dosage du CA19.9 et contradictoires pour celle des LDH. La spécificité de ces dosages par rapport au bévacizumab doit être confirmée dans des études à puissance statistique supérieure. Les valeurs « cut-off » de ces marqueurs sont hétérogènes dans les études et un effort d'homogénéisation doit être entrepris afin d'éclaircir l'interprétation des résultats.

IV. Marqueurs de l'angiogénèse et l'inflammation

1. Protéines angiogéniques

i. VEGF et VEGFR

Le VEGF est le facteur pro-angiogénique principal régulateur clef de l'angiogénèse tumorale. Il est composé de plusieurs isoformes dont le VEGF-A qui est le ligand du bévacizumab. Les VEGFs se lient aux récepteurs tyrosine kinase VEGFR dont il existe 3 isoformes VEGFR-1, -2 et -3 et deux corécepteurs neuropilines NRP-1 et -2. Les VEGFR sont exprimés dans les cellules endothéliales mais aussi dans les macrophages et monocytes. Suite à la liaison des ligands à leur récepteur, des voies de signalisation d'aval s'activent favorisant l'angiogénèse et la progression tumorale. Chaque récepteur a une implication spécifique. La liaison VEGF-A/VEGFR-2 semble être la plus inductrice de l'angiogénèse. Majoritairement médiée par la voie des MAPK, elle entraîne la prolifération, survie et migration des cellules endothéliales, augmente la perméabilité vasculaire et altère l'expression génique des cellules endothéliales.

Son potentiel pronostique et prédictif de la réponse au bévacizumab a été exploré dans de nombreuses études depuis la mise sur le marché de l'anticorps monoclonal. La première étude réalisée sur la cohorte de l'étude AVF-2107G a mesuré les niveaux tissulaires de la thrombospondine-2, du VEGF et de marqueurs de densité vasculaire [70]. Aucun de ces éléments n'était pronostique ni prédictif. Plus récemment mais sur une cohorte de plus petite taille, Tsai *et al* ont mesuré sur échantillons tissulaires tumoraux l'expression pré- et per-thérapeutique du VEGF chez des patients traités par FOLFIRI et bévacizumab [71]. Un niveau bas avant traitement et la décroissance pendant traitement du VEGF tissulaire était prédictif de réponse avec un taux de SSP à 6 mois significativement supérieur ($p=0,033$). Mais l'analyse tissulaire par immunohistochimie est inadaptée à la pratique clinique courante. C'est pour cela que Jürgensmeier *et al* ont mesuré le VEGF circulant sur les cohortes des études HORIZON-2

et -3 [59]. Des concentrations sanguines élevées de VEGF (>98 pg/ml) à l'état basal étaient associées à de plus courtes SSP et SG quel que soit le traitement reçu. La significativité de la corrélation était d'autant plus forte que le quartile des concentrations plasmatiques en VEGF était élevé. Dans une autre étude, sur une cohorte de 20 patients traités en 1^{ère} ou 2^{nde} ligne thérapeutique par une chimiothérapie à base d'oxaliplatine associée au bévacizumab, le rapport du VEGF-libre/total était mesuré à l'état basal et pendant le traitement [72]. Ce rapport permet de prendre en compte le taux de VEGF lié au bévacizumab. Il était mis en évidence que le ratio VEGF-libre/total variait inversement au cours du traitement entre les patients répondeurs ou stables et ceux avec un CCRm en progression. Les patients répondeurs ou stables avaient un ratio en diminution entre le 2^{ème} et 5^{ème} cycle de traitement. Ce monitoring plasmatique permet d'avoir une information prédictive de la réponse sous bévacizumab. Enfin, une revue systématique de 49 études à la recherche de biomarqueur sérique prédictif ou pronostique du bévacizumab dans le CCRm a identifié 9 études s'intéressant au VEGF [73]. Six présentent des résultats clairs avec une faible hétérogénéité en faveur d'un fort potentiel pronostique du taux circulant de VEGF. Cependant les études concernées utilisent des valeurs charnière variables et les résultats restent difficilement comparables et reproductibles.

Le VEGF étant composé de plusieurs isoformes, et le bévacizumab se liant spécifiquement au VEGF-A, d'autres études ont évalué le potentiel pronostique et prédictif du VEGF-A. La plupart d'entre elles ont décrit le VEGF-A comme un bon facteur pronostique mais sa capacité prédictive de l'efficacité de l'anti-angiogénique reste contradictoire. En effet, Zhao *et al* ont réalisé une méta-analyse poolée de 11 études mélangeant des données issues de taux tissulaires et circulants du VEGF-A [74]. Alors que des taux élevés du biomarqueur étaient corrélés significativement à une SSP (HR : 1,26 ; $p=0,0001$) et SG (HR : 1,3 ; $p<0,0001$) diminuées, on n'observait pas de différence en termes de TRO ($p=0,87$). Il y avait cependant une forte hétérogénéité entre les études. En analysant rétrospectivement les patients de la cohorte de l'essai MAX, le taux de VEGF-A a été mesuré sur 196 tissus tumoraux exposés à

différents traitements (chimiothérapie seule, associée au bévacicumab ou au bévacicumab et à la mitomycine) [75]. En analyse multivariée, les taux de VEGF-A supérieurs à la médiane étaient significativement associés à la SG (HR : 1,55 ; $p=0,008$) avec une tendance similaire pour la SSP (HR : 1,34 ; $p=0,06$), uniquement chez les patients traités par bévacicumab. Plus récemment, dans une analyse post-hoc de l'essai ITACa regroupant 129 patients atteints de CCRm traités par bi-chimiothérapie associée ou non au bévacicumab, les taux circulants de différents biomarqueurs d'angiogénèse dont le VEGF-A étaient mesurés avant et pendant traitement [76]. Parmi les patients traités par bévacicumab ($n=64$), une diminution de $>30\%$ des taux de VEGF-A circulant était associée à une SSP significativement améliorée ($p=0,008$). Cela n'était pas le cas pour les patients traités par chimiothérapie seule. Le VEGF-D est un autre élément de la famille des VEGF qui a été étudié dans cette optique. L'étude de Weickhardt *et al* basée sur les cohortes des études MAX et CAIRO-2, a consisté à mesurer le niveau d'expression tissulaire du VEGF-D sur 268 patients [77]. Un faible niveau d'expression était associé à une SSP diminuée uniquement dans le groupe des patients traités par bévacicumab. On observait cependant une forte interaction avec le schéma de chimiothérapie associée.

Suite à la transcription du gène *VEGF-A*, il peut exister différents isoformes par épissage alternatif. Les deux principaux étudiés sont les isoformes VEGF-165b et -145b. D'après Bates *et al*, un ratio VEGF-165b/total inférieur à la médiane en expression tissulaire avant l'initiation du traitement était prédictif de la réponse au bévacicumab (HR : 0,49 ; $p=0,029$) sans différence pour la SG [78]. De manière intéressante il a été indiqué qu'un niveau d'expression tissulaire élevé du VEGF-165b était de mauvais pronostic en SG pour les tumeurs coliques droite (HR : 1,87 ; $p=0,021$) et inversement pour les tumeurs coliques gauches (HR : 0,68 ; $p=0,005$) [79]. Également dans cette étude, un niveau d'expression tissulaire élevé du VEGF-145b était un facteur de risque de progression uniquement chez les patients traités par bévacicumab (HR : 1,66 ; $p=0,009$) et particulièrement en cas de tumeurs colique droite.

Il existe trois isoformes des récepteurs VEGFR. Alors que le VEGFR-2 est impliqué dans la survie, prolifération et migration des cellules endothéliales, le VEGFR-1 stimule la migration des monocytes et macrophages et favorise la progression et métastase des cellules tumorales colorectales. Le taux du VEGFR-1 circulant a également été analysé. Chez 46 patients atteints de CCRm et tous traités par FOLFOX4 associé au bévacizumab, un taux plasmatique bas de VEGFR-1 était mesuré chez les répondeurs au traitement [80]. Inversement, un taux élevé de VEGFR-1 est associé à des SSP et SG diminuées (HR : 3,06 $p=0,021$ et HR : 1,8 ; $p=0,04$ respectivement). Cette corrélation était également identifiée dans l'étude de Weickhardt *et al* même après ajustement sur le traitement des 268 patients analysés [77].

Que retenir ? Les VEGF sont de potentiels facteurs pronostiques et prédictifs du bévacizumab dans le CCRm mais les études actuelles sont parfois contradictoires, souvent difficilement reproductibles et toutes rétrospectives avec une faible puissance statistique. Cela limite l'utilisation de ce biomarqueur en pratique clinique mais des études prospectives doivent être menées dans ce but.

ii. Axe Ang/Tie

D'autres protéines sont essentielles au processus d'angiogénèse tumorale colorectale. Parmi celles-ci, les angiopoïétines (Ang) sont les molécules stimulant le plus l'angiogénèse. Elles participent à la réparation tissulaire et à l'homéostasie vasculaire. Les plus étudiées sont Ang-1 qui est exprimée par les fibroblastes, les cellules tumorales et les péricytes, et Ang-2 qui est exprimée par les cellules endothéliales. Ce sont les ligands des récepteurs tyrosine kinase Tie-1 et Tie-2 des cellules endothéliales. Alors que Ang-1 active Tie-2 et permet de stabiliser les vaisseaux matures, Ang-2 est associé au remodelage vasculaire en antagonisant l'activité d'Ang-1 par inhibition de Tie-2. Ang-2 entraîne la dissociation péricytaire et endothéliale et rend les vaisseaux plus sensibles aux signaux pro-angiogéniques. Son expression est favorisée

par les facteurs de croissance VEGF-A, PDGFb et IGF1. Sous l'influence d'autres facteurs angiogéniques, l'axe Ang/Tie a ainsi un rôle fondamental dans l'angiogénèse tumorale, le phénomène métastatique, et la perméabilité vasculaire [81]. D'ailleurs l'hyper-régulation d'Ang-2 est suspectée d'être un mécanisme de résistance aux traitements anti-VEGF. De ce fait, de nombreuses molécules inhibant ce système Ang/Tie sont en cours de développement [81].

L'angiopoïétine-2 (Ang-2) a été évaluée en tant que biomarqueur circulant pronostique et prédictif de la réponse au bévacizumab dans le CCRm. Globalement les études réalisées à ce jour mettent en évidence un potentiel pronostique du dosage de cette protéine. Dans une étude regroupant 33 individus sains et 90 patients atteints de CCR, il était indiqué que les concentrations sériques d'Ang-2 étaient significativement différentes entre : individus sains et atteints de CCRm ; ainsi qu'entre les CCR localisés et métastatiques [82]. Chez les 34 patients traités par bévacizumab, ceux ayant une concentration sérique basse d'Ang-2 avaient une SSP et SG allongées en analyse multivariée (HR : 0,37 ; $p=0,005$ et HR : 0,09 ; $p=0,003$) ainsi que de meilleurs TRO (82% vs 31% ; $p=0,003$). Dans une étude récente présentant une puissance statistique également faible, Munakata *et al* ont aussi associé la faible concentration sérique d'Ang-2 à une meilleure SG ($p=0,0004$) [83]. Les valeurs charnières définissant des taux bas ou élevés d'Ang-2 étaient certes proches mais différents entre ces deux études, respectivement de 3,5 ng/ml et 1,8 ng/ml. Dans une étude regroupant 109 patients atteints de CCRm issus de 2 essais de phase 2 et traités en 1^{ère} ligne principalement par du FOLFIRI, Jary *et al* ont utilisé la médiane des concentrations comme valeur charnière [84]. Dans cette étude, les concentrations d'Ang-2 supérieures à 5 ng/ml étaient significativement associées de manière indépendante à des SG et SSP raccourcies. De manière intéressante, cette équipe a ajouté le critère de concentrations sériques en Ang-2 au score GERCOR et a indiqué que cela améliorait le pouvoir discriminatif de ce score, permettant ainsi de reclasser correctement 41% des patients. Récemment, une étude passionnante chez 70 patients atteints de CCRm a mis en corrélation les

concentrations circulantes de Tie-2 et ses modifications sous traitement par bévacizumab, avec les modifications vasculaires tumorales évaluées par une méthode d'imagerie [85]. Également, une diminution supérieure à 30 % des concentrations sériques de Tie-2 sous traitement était associée à une SSP significativement allongée et inversement, une augmentation de plus de 40 % était associée à la progression tumorale. Le monitoring de Tie-2 semble être une méthode innovante spécifique de la vascularisation tumorale et de la réponse au bévacizumab.

Que retenir ? La voie Ang/Tie est un axe à explorer tant sur le point de la recherche de biomarqueurs pronostiques ou prédictifs pour lesquels les résultats sont particulièrement encourageants, que pour la compréhension des mécanismes de résistance au bévacizumab et au développement de nouvelles cibles thérapeutiques.

iii. Autres protéines angiogéniques :

D'autres biomarqueurs ont été étudiés car en lien avec le processus d'angiogénèse. La voie Dll4/Notch influence l'activité transcriptomique endothéliale en faveur d'une activité proliférative et migratoire. En 2015, Paiva *et al* ont analysé rétrospectivement les tissus tumoraux de 105 patients traités par chimiothérapie associée au bévacizumab [86]. Parmi les différentes protéines mesurées par immunohistochimie, le taux d'expression de la protéine Notch était associé significativement au taux d'extension ganglionnaire ($p=0,04$). Également, la faible expression de Notch était associée à une SG allongée ($p=0,029$) en analyse multivariée. Aussi en lien avec la voie Notch, la mesure des concentrations en ARNm circulant du gène *ACVRL1* codant pour la protéine ALK1 a été évaluée. La protéine ALK1 est un récepteur au TGF- β qui inhibe l'angiogénèse en interagissant avec la voie Notch. Dans une étude post-hoc de l'étude TRIBE regroupant 228 patients traités par chimiothérapie associée au bévacizumab, le taux circulant élevé d'ARNm de *ACVRL1* était significativement associé à une SG et SSP allongées [87]. D'autres études ont mis en évidence différents biomarqueurs tissulaires ou

sériques potentiellement prédictifs du bévacicumab mais avec de faible puissance statistique (EPHB4, PAI-1, hERG1, HIF-2 α , et FGF2) [69,88–90]. Une approche particulièrement intéressante a été entreprise par l'équipe de Zuurbier *et al* en 2017 [91]. A partir de tissus coliques sains et tumoraux de 30 individus, les cellules endothéliales normales et tumorales ont été isolées des tissus. Un screening transcriptomique a été réalisé sur ces cellules. Les gènes les plus différentiellement exprimés entre les deux populations endothéliales et participant particulièrement à l'angiogénèse ou à la transition épithélio-mésenchymateuse ont été identifiés. Parmi ceux-là, les gènes *APLN* et *MMP12* étaient significativement surexprimés chez les patients non répondeurs au bévacicumab ($p < 0,001$ et $p = 0,014$). Parallèlement, la surexpression de la protéine Apeline sur le tissu tumoral était significativement corrélée à une moins bonne réponse au traitement ($p = 0,01$). Curieusement, ce n'était pas le cas pour la protéine MMP12. Cette étude est particulièrement intéressante par son approche transcriptomique endothéliale. Cependant, les effectifs pour l'analyse statistique finale étaient très faibles. Également, le dosage sérique de la protéine Apeline est limité par sa faible concentration et sa variabilité importante selon l'adiposité des patients.

Que retenir ? Les études actuelles recherchant des biomarqueurs autres que les VEGF et l'axe Ang/Tie sont également trop limitées statistiquement pour solliciter des essais prospectifs et modifier nos pratiques. Des efforts substantiels sont nécessaires afin de recruter de plus grandes cohortes et réaliser des techniques performantes au sein de protocoles scrupuleux.

2. Protéines de l'inflammation

L'inflammation chronique participe à la carcinogénèse colorectale et participe activement au développement tumoral. De nombreux éléments contribuant à l'inflammation, potentialisent également l'angiogénèse. De ce fait, de nombreuses protéines inflammatoires ont été évaluées

en tant que biomarqueurs de survie et de réponse au bévacicumab chez des patients atteints de CCRm.

La protéine C réactive (CRP) est une protéine dont les concentrations augmentent dès la phase aigüe du phénomène inflammatoire. Elle est utilisée en pratique clinique courante pour évaluer le niveau d'inflammation d'un organisme. L'étude rétrospective de 90 patients atteints de CCRm traités en 1^{ère} ligne par FOLFIRI-bévacicumab a repéré qu'un niveau pré-thérapeutique de CRP supérieur à la normale était significativement associé à la SSP de manière indépendante (HR : 1,34 ; $p=0,001$) [92]. Sur une plus grande cohorte de 132 patients issus de l'étude ITACa, il a été mesuré la cinétique d'évolution du taux de concentration de la CRP hypersensible dans les deux premiers mois de traitement [93]. Dans le groupe de patients traités par bévacicumab associé à une chimiothérapie ($n=37$), l'élévation $>13,1\%$ du taux de CRP hypersensible dans les 2 premiers mois de traitement était associée significativement à des SSP (HR : 2,09 ; $p=0,007$) et SG (HR : 2,58 ; $p=0,002$) diminuées. Ces résultats étaient semblables pour les patients traités uniquement par chimiothérapie. Ceci témoigne de l'absence de potentiel prédictif de ce biomarqueur mais de son caractère pronostique. D'autres études ont évalué un score pronostique associant le taux de CRP et celui de l'albumine (score de Glasgow). L'étude rétrospective de 80 patients atteints de CCRm traités par chimiothérapie et bévacicumab a indiqué que les patients au score de Glasgow ≤ 1 avaient une SG significativement supérieure à ceux au score >1 en analyse multivariée ($p=0,03$) [94]. Une étude plus récente a rétrospectivement analysée les données de 294 patients atteints de CCRm [95]. Il y était indiqué que l'ajout du bévacicumab à une chimiothérapie standard n'était bénéfique qu'uniquement chez les patients au score de Glasgow nul en termes de SSP et SG.

D'autres protéines inflammatoires ont été étudiées dans cette optique d'identifier un biomarqueur pronostique ou prédictif de la réponse au bévacicumab dans le CCRm. Après liaison à son récepteur, l'interleukine (IL) IL-6 active de nombreuses voies de signalisation pro-prolifératives notamment la voie JAK/STAT qui entraîne la surexpression de STAT3. Ce

dernier a un effet pro-angiogénique en favorisant la sécrétion de VEGF, VEGFR2 et HIF1a. Dans une étude rétrospective de 113 patients atteints de CCRm, Hara *et al* ont mesuré le taux d'IL-6 basal et recherché à le corrélér à la survie [96]. Chez les 53 patients traités par bévacizumab associé à une chimiothérapie, un taux d'IL-6 >4,3pg/ml était significativement corrélé à des SSP et SG diminuées ($p=0,02$ et $p=0,002$ en analyse multivariée). Ces résultats étaient similaires dans le groupe de patients traités par chimiothérapie uniquement. Une autre interleukine a un effet pro-angiogénique. L'IL-8 qui est produit en excès par les cellules endothéliales, les fibroblastes associés au cancer et certains leucocytes infiltrants, a un effet chémoattractif pour les polynucléaires neutrophiles, module les liaisons entre cellules tumorales et endothéliales, influence la transition endothélio-mésenchymateuse et a un effet pro-prolifératif pour les cellules endothéliales. Une étude publiée par Kopetz *et al* en 2010 examinant une petite cohorte de 43 patients atteints de CCRm traités en 1^{ère} ligne par FOLFIRI-bévacizumab a mis en évidence que le taux élevé d'IL-8 avant initiation du traitement était significativement associé à une SSP diminuée (HR : 2,05 ; $p=0,03$) et à un volume tumoral élevé ($p<0,001$) [97]. De manière intéressante dans cette étude, l'élévation sérique de différents biomarqueurs angiogéniques (bFGF, HGF, PIGF) et de recrutement de cellules myéloïdes (SDF-1, MCP-3) était observée juste avant la progression radiologique tumorale suggérant un potentiel prédictif de ces derniers. Dans une étude plus récente mais chez des patients traités en 1^{ère} ligne par chimiothérapie à base d'oxaliplatine associée au bévacizumab, Yamamoto *et al* ont mis en évidence qu'un taux sérique élevé (>311 pg/ml) d'IL-8 avant traitement était significativement associé à des SSP et SG diminuées (HR : 1,63 ; $p=0,048$, et HR : 3,42 ; $p=0,002$ respectivement) [98]. De manière semblable, la concentration sérique élevée (>190 pg/ml) de la protéine inflammatoire ICAM, qui permet entre autres la migration trans-endothéliale des leucocytes, était également significativement associée à une SSP diminuée (HR : 2,08 ; $p=0,003$). Une autre protéine inflammatoire participant aux interactions intercellulaires et servant de piège à cytokines a été évaluée : le Syndecan-1 (CD138). Sur une

population constituée de deux cohortes issues de deux essais de phase 2, Jary *et al* a indiqué qu'un taux élevé de Syndecan-1 était associé à une SSP diminuée (HR : 1,71 ; $p=0,02$) [99]. De manière intéressante, associer cette valeur à celle des concentrations en LDH a permis aux 177 patients d'être reclassés plus précisément que par le score GERCOR. Une approche originale de l'inflammation a récemment été apportée par Nissen *et al*. Ils ont mesuré la fibrose excessive liée à l'activité des fibroblastes associés au cancer par la mesure des concentrations sériques de fragments de collagènes 3, 4, et 6 [100]. Chez les 252 patients suivis pour un CCRm et traités par chimiothérapie associée au bévacizumab, les concentrations sériques élevées des fragments de collagènes 3 et 6 étaient significativement associées à des SG diminuées ($p=0,06$ et $p=0,004$ respectivement). Le cumul de ces deux concentrations augmentait le potentiel pronostique de ces biomarqueurs (HR : 2,21 ; $p<0,0001$). La présence de collagène synonyme de fibrose correspond à l'inflammation tumorale excessive par l'activité des fibroblastes pathologiques. Ceci participe probablement à la résistance au traitement par la limitation de la délivrance médicamenteuse sur le site tumoral, plus qu'à un mécanisme spécifique d'angiogénèse liée au bévacizumab.

Dans une approche protéomique couplée à un travail bio-informatique, Martin *et al* ont mesuré en tissulaire et circulant les taux de trois protéines distinctes des précédentes à visée pronostique et prédictive de la réponse au bévacizumab dans le CCRm [101]. Alors que le taux sérique élevé d'angiotensinogène était associé à une SG diminuée (HR : 1,12 ; $p=0,009$), sa mesure tissulaire épithéliale tumorale élevée était associée à une SSP allongée (HR : 0,9 ; $p=0,006$). Également de manière intéressante, alors que le taux stromal élevé d'Apolipoprotéine-E est associé à une SSP courte (HR : 1,48 ; $p=0,0001$), l'effet était inversé pour les concentrations épithéliales (HR : 0,82 ; $p=0,0007$). Par ailleurs, l'hyperexpression stromale de la protéine de liaison de la vitamine D était associée à une SG diminuée (HR : 1,22 ; $p=0,0370$). Ces différences entre stroma/épithélium suggère une interruption homéostatique à

l'origine de la carcinogénèse. Ces trois protéines participent à la régulation de l'inflammation et de l'angiogénèse mais les mécanismes précis d'influence sont encore mal connus.

Que retenir ? L'interaction entre mécanismes inflammatoires et angiogénèse est certaine. Cependant, les données des études actuelles recherchant à identifier un biomarqueur inflammatoire prédictif de la réponse au bévacizumab dans le CCR, sont très largement insuffisantes. Il semblerait cependant qu'un état pro-inflammatoire à l'initiation du traitement soit de mauvais pronostic.

3. Approche combinée

La complexité des mécanismes participant à l'angiogénèse tumorale dans le cancer colorectal ainsi que les variabilité inter- et intra-individuelles mettent en exergue l'idée que l'identification d'un biomarqueur unique à visée pronostique et prédictive est peu probable. L'intérêt de combiner la mesure de plusieurs facteurs attribués à différents axes du mécanisme d'angiogénèse semble plus approprié. Une étude rétrospective d'une cohorte de 32 patients atteints de CCRm en progression après une 1^{ère} ligne thérapeutique à base d'oxaliplatine et traités en 2^{nde} ligne par FOLFIRI-bévacizumab, a évalué un score inflammatoire composé d'interleukines (IL-6, IL-8, IL-10), de cytokines issues de macrophages (CIM) et d'un facteur de croissance (EGF) [102]. Les patients répondeurs présentaient des taux avant traitement élevés d'EGF et de CIM, et bas d'interleukines. Un score pronostique a été établi en fonction de ces résultats. Les patients présentant un score <3 avant le début de la 2^{nde} ligne thérapeutique affichaient des SSP et SG significativement plus longues ainsi qu'un taux de contrôle tumoral plus élevé ($p < 0,001$). Malgré la puissance statistique faible de cette étude, cette approche combinatoire de plusieurs acteurs de l'inflammation et angiogénèse est originale et indique un potentiel pronostique. En 2015, Bai *et al* ont mesuré les taux de 36 cytokines et facteurs

angiogéniques d'abord par puce-ADN sur une cohorte exploratoire de 64 patients puis par ELISA à partir d'échantillons sériques de 186 patients dont 91 traités par bévacizumab et 95 par chimiothérapie uniquement [103]. Les patients ayant des taux sériques bas avant traitement de l'isoforme 121 du VEGF-A et de l'HGF présentaient de meilleures SSP (HR : 0,52 ; $p=0,028$ et HR : 0,52 ; $p=0,039$ respectivement) et SG (HR : 0,42 ; $p=0,032$ et HR : 0,42 ; $p=0,026$ respectivement) en cas de traitement par bévacizumab plutôt que chimiothérapie seule. Similairement, le taux sérique bas avant traitement de l'Angiopoïétine-like-4 (ANGPTL4) était associée à une meilleure SSP (HR : 0,58 ; $p=0,023$) et un meilleur TRO (OR : 8,0 ; $p=0,002$) chez les patients traités par bévacizumab plutôt que chimiothérapie seule. Un score composé de ces trois éléments a été construit de telle sorte qu'un point était attribué en cas de concentration sérique basse pour chaque facteur VEGF-A¹²¹, HGF, ANGPTL4. Les patients présentant un score >1 bénéficiaient significativement de l'ajout du bévacizumab à la chimiothérapie en termes de SSP et SG (HR : 0,52 et HR : 0,67 respectivement). Le rationnel physiopathologique en rapport avec ces trois facteurs est solide. L'HGF a une action pro-angiogénique de par son activation des signaux c-Met favorisant la production excessive de VEGF. L'ANGPTL4 est une protéine proche de la famille des angiopoïétines. Elle a une action pro-angiogénique court-circuitant l'angiogénèse VEGF-induite et pouvant ainsi participer aux mécanismes de résistance au bévacizumab. Ce score angiogénique semble avoir un potentiel prédictif et pronostique particulièrement intéressant et mérite d'être évalué au sein d'une étude prospective. Plus récemment, Noonan *et al* ont rétrospectivement évalué par une approche combinée explorant l'inflammation, le niveau de stress oxydatif et l'immaturité vasculaire chez 75 patients traités par chimiothérapie et bévacizumab pour un CCRm [104]. Le niveau de stress oxydatif et d'immaturité vasculaire était mesuré par immunohistochimie alors que l'inflammation était évaluée par la mesure des taux circulants d'IL-6 et IL-8. Les niveaux tissulaires élevés d'immaturité vasculaire et de stress oxydatif étaient associés à des taux de

survie à 60 mois significativement supérieurs. Similairement, la faible concentration sérique circulante des IL-6 et IL-8 était aussi associée à une meilleure survie.

Que retenir ? L'évaluation combinée et simultanée de différents axes jouant un rôle principal dans l'angiogénèse et les mécanismes de résistance au traitement par anti-VEGF est très certainement plus appropriée que l'utilisation d'un biomarqueur unique. Malgré des résultats préliminaires originaux et encourageants, peu d'équipes se sont investies dans cette optique. Des travaux prospectifs ou rétrospectifs sur de plus grandes cohortes avec des populations contrôles sont nécessaires afin d'évaluer le potentiel pronostique et prédictif de ces scores.

V. Marqueurs cellulaires

De nombreux signaux émanant des cellules du microenvironnement tumoral influencent l'évolution de l'angiogénèse [105]. L'inflammation tumorale et la production de facteurs chimotactiques par les cellules tumorales entraînent une infiltration tissulaire de cellules stromales. Certaines de ces cellules sont physiologiquement équipées d'outils sécrétant des protéines pro-angiogéniques et par leur rôle pro- ou anti-inflammatoire et réparateur tissulaire. Il existe de ce fait une étroite interaction entre les cellules du microenvironnement tumoral et le processus d'angiogénèse.

Les neutrophiles associés au cancer ont un phénotype caractérisé par la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, de facteurs pro-angiogéniques (VEGF, bFGF, BV-8) et de protéases modulant la matrice extracellulaire (MEC) (MMP-9, élastases) [105]. Leur forte infiltration dans le tissu tumoral se corrèle donc aux processus d'inflammation et d'angiogénèse accrus. Le rapport neutrophile/lymphocyte (RNL) a été évalué dans plusieurs études dans l'optique d'identifier une valeur pronostique ou prédictive de l'efficacité du bévacizumab dans

le CCRm. Au sein de deux études rétrospectives de cohortes de patients atteints de CCRm et traités par chimiothérapie associée au bévacizumab, un RNL bas était significativement associé à de meilleures SG et SSP [106,107]. Cela n'était pas spécifique du bévacizumab donc non prédictif d'une part et d'autre part, l'évolution sous traitement du RNL n'était pas informatif sur la réponse tumorale ni sur la survie. Dans une étude plus récente, Dogan *et al* ont confirmé qu'une valeur faible du RNL était corrélée à une SSP allongée ($p=0,013$) [108]. Cela n'était valable que chez les patients traités par bévacizumab et pas pour ceux traités par anti-EGFR. Pour les deux groupes, le RNL n'était pas pronostique pour la SG. Le RNL semble ainsi être un facteur prédictif pour le bévacizumab. Cette information a été également identifiée dans une étude rétrospective de cohortes issues de l'essai ITACa [93]. Il y est indiqué qu'une valeur avant traitement du RNL >3 est associée en analyse multivariée à des SSP et SG significativement diminuées (HR : 1,52 ; $p=0,02$ et HR : 1,78 ; $p=0,007$ respectivement) uniquement chez les patients traités par bévacizumab ($n=141$) et pas ceux uniquement sous chimiothérapie ($n=148$). Cependant, récemment une analyse issue de l'étude prospective ASCENT visant à évaluer le potentiel pronostique de marqueurs inflammatoires chez 128 patients atteints de CCRm et traités par bévacizumab, n'a pas confirmé l'utilité du RNL [109]. En analyse multivariée, on observait uniquement une tendance pour une SG diminuée chez les patients au RNL >5 (HR : 1,6 ; $p=0,052$). Les résultats étaient également décevants dans une analyse rétrospective où le RNL procurait une information pronostique mais pas de manière indépendante en analyse multivariée [92]. Les données sont donc contradictoires. De manière plus intéressante, l'utilisation d'un score inflammatoire composé du taux de CRP hypersensible et du RNL a été évaluée sur une cohorte également issue de l'essai ITACa [110]. Il y est indiqué qu'un score inflammatoire élevé ≥ 25 est associé à des SSP et SG allongées (HR : 1,83 ; $p=0,002$ et HR : 2,17 ; $p=0,0003$ respectivement) peu importe le traitement reçu. L'utilisation de ce score s'avérait plus sensible et spécifique de celle des scores de Köhne et de Glasgow. Il n'était cependant pas spécifique du bévacizumab.

Les macrophages associés au cancer ont globalement des effets pro-tumoraux par la suppression de l'immunité anti-tumorale, pro-angiogéniques par la sécrétion de VEGF, bFGF, PDGF, et modulateurs de la MEC par la sécrétion de protéases (MMP-2, MMP-9, MMP-12, cathepsines, collagénases) ceci facilitant notamment le bourgeonnement vasculaire et la libération de facteurs pro-angiogéniques supplémentaires séquestrés dans le milieu [105]. Il a également été démontré que les voies Ang/Tie et Notch potentialisent l'interaction des macrophages associés au cancer avec les cellules endothéliales. Ce sont donc des acteurs essentiels au processus d'angiogénèse. Une étude prospective de 123 patients atteints de CCRm et traités par chimiothérapie, majoritairement du FOLFIRI, et bévacizumab, a recherché à évaluer la corrélation entre le taux d'infiltration macrophagique dans le tissu tumoral et la survie [111]. Il y est indiqué que la faible infiltration macrophagique est associée à une SG significativement améliorée (HR : 0,30 ; p=0,0076).

L'influence des lymphocytes CD4⁺ et CD8⁺ sur l'immunité anti-tumorale est maintenant bien connue. Cependant, leur impact sur l'angiogénèse est moins clair. Ils conditionnent de manière indirecte ce processus par la sécrétion de cytokines et la modulation de l'activation de cellules myéloïdes [105]. Ils ont également une influence notable sur la plasticité phénotypique des macrophages associés au cancer [105]. Les lymphocytes T régulateurs facilitent l'angiogénèse en inhibant les LTh1 et en sécrétant du VEGF [105]. Une étude prospective sur 36 patients atteints de CCRm et traités en 1^{ère} ligne par chimiothérapie associée au bévacizumab, a analysé la relation entre les lymphocytes T circulants et la survie [112]. Il y était indiqué que les patients ayant, avant l'initiation du traitement, un taux de lymphocytes T régulateurs bas ($\leq 6\%$ du taux de lymphocytes T CD4⁺ total ou un ratio ≥ 10 du taux de lymphocytes T CD8⁺ par rapport au taux de lymphocytes T régulateurs) présentaient une SSP et SG allongées. De manière intéressante, les patients au statut *KRAS* non muté avaient significativement plus de lymphocytes T CD8⁺ et T régulateurs que ceux mutés.

Les cellules endothéliales progénitrices (CEP) servent de substrat pour la formation de néo-vaisseaux. Elles ont un potentiel prolifératif majeur et peuvent se différencier en monocytes, cellules endothéliales circulantes (CEC), matures ou de croissance. Ces dernières sont celles participant au processus d'angiogénèse. Trois étapes sont nécessaires afin d'assurer l'action des CEP dans l'angiogénèse. Premièrement, elles sont recrutées à partir de la moelle osseuse par le VEGF-A, la protéase MMP-9 et la cytokine CXCL12. Puis les CEP sont attirées sur le site tumoral par un gradient de chémokines et de facteurs pro-angiogéniques, qu'elles envahissent par interaction avec des sélectines, intégrines et autres molécules d'adhésions. Enfin, elles se différencient en cellules endothéliales par interaction étroite avec la MEC. Ainsi, les CEP sont des actrices essentielles permettant la maintenance du processus d'angiogénèse sous l'effet de divers éléments. Leur corrélation avec la réponse au traitement et la survie des patients atteints de CCRm et traités par bévacizumab a été évaluée sur de petites cohortes. L'étude de Ronzoni *et al* ne mettait pas en évidence d'association entre le taux de CEP circulantes et la survie [113]. Par contre, les patients ayant des taux faibles de CEC (<40 cellules/ml) avaient une SSP significativement allongée. Dans une analyse rétrospective de 23 patients issus d'un essai de phase 2, Pohl *et al* ont indiqué que les patients répondeurs après 6 mois de traitement par chimiothérapie et bévacizumab présentaient une diminution significative du taux de CEP circulantes dès les 3 premières semaines de traitement [114]. Ces CEP étaient identifiées par leur marquage CD34 négatif et VEGFR-2 positif. Le potentiel pronostique de ces mesures a été également exposé dans une étude prospective de 69 patients traités par FOLFOX et bévacizumab [115]. D'une part, les patients présentant des taux de CEP circulantes <0,04% dès le 4^{ème} jour du traitement avaient une SSP et SG allongées en analyse multivariée ($p < 0,001$ et $p = 0,002$ respectivement). D'autre part, les données de survie étaient semblables pour les patients présentant un taux avant traitement de CEC <20%. Une étude plus récente et sur une cohorte de 89 patients traités par chimiothérapie à base d'irinotécan associée au bévacizumab a également indiqué qu'un taux élevé de CEC était associé à une progression tumorale plus

rapide [116]. Inversement, les patients ayant moins de CEC avant traitement (≤ 23 cellules/ml) et après le premier cycle de traitement (≤ 32 cellules/ml) avaient un meilleur contrôle tumoral à 6 mois.

Que retenir ? Les cellules du microenvironnement tumoral jouent un rôle primordial dans la modulation du phénomène d'angiogénèse. Cependant, les données actuelles des études réalisées ne sont pas suffisantes pour apporter une information pronostique ou prédictive de la réponse au bévacizumab. Leurs résultats sont souvent contradictoires, leur puissance statistique souvent limitée et leur population et valeurs charnières de biomarqueurs hétérogènes. Également, la variabilité des phénotypes cellulaires et l'hétérogénéité des marquages cellulaires dans les études concernées rendent flous les résultats renseignés. Des efforts d'homogénéisation et collaboration sont nécessaires afin de constituer de puissantes études prospectives répondant à cette problématique.

VI. Marqueurs génétiques

1. Marqueurs génétiques tumoraux

Alors qu'il est maintenant communément admis que les patients présentant un CCRm avec mutation sur le gène *RAS* ne bénéficient pas de l'ajout d'un traitement anti-EGFR, l'influence pronostique et prédictive d'une telle mutation sur la réponse au bévacizumab est bien moins évidente. En 2013, une analyse poolée de 12 essais cliniques regroupant 2 266 patients traités par bévacizumab dont 54% sans mutation *KRAS* a mis en évidence que l'absence de mutation *KRAS* était associée significativement à un allongement de la SSP (HR : 0,85 ; $p=0,02$) et SG (HR : 0,65 ; $p=0,01$) avec respectivement une hétérogénéité intermédiaire et faible entre les études [117]. Similairement, Diaz-Rubio *et al* ont réalisé une analyse rétrospective sur la

cohorte issue de l'essai MACRO et les patients présentant une mutation *KRAS* avaient significativement des SSP et SG diminuées et un moins bon TRO [118]. Au contraire, la grande majorité des études post-hoc d'essais cliniques de phase 3 randomisés n'associent pas le statut mutationnel du gène *RAS* avec un effet pronostique ni prédictif significatif en rapport avec le bévacizumab [119–124]. D'autres études rétrospectives récentes et sur de grandes populations n'ont pas non plus associées la mutation *KRAS* avec une corrélation pronostique ou réponse tumorale après traitement par chimiothérapie associée au bévacizumab [50,125]. Une seule étude rétrospective monocentrique sur uniquement 90 patients traités en 1^{ère} ligne de CCRm par chimiothérapie associée au bévacizumab a corrélé avec significativité l'altération de la SG avec la mutation *RAS* ($p=0,03$) [126]. Un point limitant l'interprétation de ces résultats est l'évolution de nos connaissances sur les différentes mutations possible sur le gène *RAS*. La majorité des études citées ont évalué la mutation *KRAS* sur l'exon 2, or d'autres mutations *RAS* peuvent impacter le pronostic et potentiellement être prédictives du bévacizumab [127].

La mutation *BRAF* V600E entraîne l'augmentation dix fois plus importante de la protéine *BRAF* entraînant alors la sur-activation d'aval de MEK/ERK et de facteurs transcriptionnels pro-tumoraux [128]. Il a été démontré dans de nombreuses études que cette mutation réduit significativement le pronostic des patients atteints de CCRm [128]. Pour cela, il convient de recommander un traitement agressif si l'état général le permet. Ce traitement est constitué de l'association FOLFOXIRI-bévacizumab [2], même si certaines données récentes remettent en cause ce principe et vont probablement changer nos pratiques [129]. Les études ayant voulu déterminer si la mutation *BRAF* V600E était pronostique ou prédictive de la réponse au bévacizumab s'accordent globalement pour dire que l'influence de cette mutation sur la survie des patients est indépendante du type de traitement [128]. Cependant, l'évaluation de cette mutation est limitée par le faible nombre de patients la portant dans les études.

D'autres mutations ont été explorées en tant que biomarqueur prédictif de la réponse au bévacizumab. La mutation du gène *PTEN* n'était ni pronostique ni prédictive des bénéfices du

bévacizumab dans une analyse rétrospective de l'essai de phase 3 randomisée AGITG-MAX [130]. Une étude originale a analysé par biologie moléculaire le tissu de métastases colorectales chez 71 patients traités par chimiothérapie et bévacizumab [131]. La perte d'expression de *PTEN* était associée significativement à la réponse au traitement en analyse multivariée mais sans association avec la survie. On observait tout de même une hétérogénéité intra-tumorale mutationnelle avec uniquement 63% de concordance d'expression de *PTEN* entre lésion primitive et métastase. Une étude à faible puissance statistique a exploré l'influence de la mutation *PI3KCA* sur le pronostic et le taux de réponse des patients traités par chimiothérapie et bévacizumab [126]. Cette association n'était pas significative. Dans une étude récente, Huemer *et al* ont analysé le taux de réponse et survie en fonction de données mutationnelles chez 161 patients atteints de CCRm traités en 1^{ère} ligne par chimiothérapie associée à une thérapie ciblée [47]. Ils ont mis en évidence, chez des patients avec mutation *TP53*, une tendance à une meilleure SG en cas de traitement par bévacizumab comparativement à un traitement par anti-EGFR ($p=0,066$). Cette différence de survie entre les deux groupes de traitement n'était pas observée chez les patients sans mutation *TP53*. Cependant, dans le groupe de patients traités par bévacizumab, aucune mutation *RAS* ni *PI3KCA* ni *TP53* n'était pronostique ni prédictive. Cela suggère que la mutation *TP53* permettrait de guider le choix entre thérapie ciblée à l'encontre des anti-EGFR. De manière plus originale, une étude de Hsu *et al* a identifié sur une petite cohorte une mutation faux-sens du domaine de liaison de *TP53* comme pronostique d'une SSP allongée (HR : 0,31 ; $p=0,011$) [132]. La même équipe sur une cohorte similaire a réalisé un séquençage génétique nouvelle génération sur 409 gènes et a repéré, après une interprétation bio-informatique, que les mutations délétères ou la perte du nombre de copie sur les gènes *PTRT/PTRD* sont associées au risque d'échec du bévacizumab (RR : 3,25 ; $p=0,0003$) et à une SSP raccourcie (HR : 3,33 ; $p=0,0038$) [133].

L'instabilité microsatellitaire par déficience du système de réparation de mésappariements de l'ADN (dMMR) dans le CCRm concerne qu'environ 5% des patients. Ces patients sont de

bons candidats à l'immunothérapie. Cependant l'influence pronostique et prédictive de ce statut dMMR par rapport au traitement par bévacizumab n'a été que très peu étudié. Une étude récente de 2019, post-hoc de l'essai de phase 3 randomisé CALGB/SWOG, a récupéré des données de biologie moléculaire chez 843 patients [124]. De manière intéressante, il était montré que les patients dMMR (n=21) présentaient un meilleur pronostic en termes de SSP (HR 0,16 ; p<0,01) et SG (HR : 0,13 ; p<0,01) lorsque traités par bévacizumab plutôt que cétuximab. L'explication est probablement liée au fait que les tumeurs dMMR expriment moins l'EGFR d'une part et d'autre part que la stabilisation vasculaire induite par le bévacizumab potentialise la réponse immunitaire par recrutement de cellules anti-tumorales [124]. Il est également renseigné dans cette étude que la charge mutationnelle élevée (>8 mutations/Mpb) était significativement un facteur de meilleur pronostic en terme de SG (p=0,02) pour l'ensemble de la cohorte indépendamment du traitement. De manière concordante, il a récemment été montré que le nombre élevé d'altérations de copies de gènes, représentatif d'une instabilité chromosomique, était pronostique et prédictif d'un meilleur bénéfice du bévacizumab [134]. Au contraire, les patients à faible instabilité chromosomique ne bénéficient pas du bévacizumab. Également, ces différences n'étaient pas observées chez les patients traités par chimiothérapie seule.

Que retenir ? Alors que la mutation *BRAF* V600E est un marqueur de mauvais pronostic mais non spécifique du bévacizumab, les mutations *RAS* sont plus difficilement interprétables compte tenu de leurs variétés et des résultats contradictoires de différentes études en termes pronostiques et prédictifs. D'autres mutations bien plus rares semblent être associées au pronostic et à la réponse tumorale des patients traités par bévacizumab mais sans certitude compte tenu des faibles données actuelles (*PTEN*, *TP53* et *PTPRT/PTPRD*). Les instabilités microsatellitaires et chromosomiques sont des marqueurs moléculaires de bon pronostic et réponse au bévacizumab.

2. Perte chromosomique

La perte du chromosome 18q est une autre caractéristique tumorale moléculaire associée à la survie des patients atteints de CCRm traités par bévacizumab. Suite à des études préliminaires, il avait été suggéré que la perte de certains chromosomes dont le 18q notamment en région 11.2-12.1 serait un facteur de mauvais pronostic chez des patients issus de l'étude CAIRO2 [135]. Récemment, Van Dijk *et al* ont voulu évaluer plus précisément cette relation [136]. Trois cohortes ont été évaluées, la première constituée de 96 patients traités en 1^{ère} ligne par chimiothérapie et bévacizumab, la seconde de 81 patients issus de l'essai MOMA servant de cohorte validation, et la troisième de 90 patients issus de l'essai NoBEV traités par chimiothérapie seule, servant de cohorte contrôle. L'évaluation génomique était réalisée par séquençage nouvelle génération et puce d'hybridation comparative. L'étude a montré que la perte du chromosome 18q11.2-12.1 était associée à une SSP significativement allongée pour les patients traités par bévacizumab uniquement (HR : 0,54 ; p=0,01 dans la cohorte exploratoire et HR : 0,55 ; p=0,019 dans la cohorte de validation). La tendance était similaire pour la SG sans significativité mais avec une forte hétérogénéité.

Que retenir ? La perte du chromosome 18q11.2-12.1 est un potentiel marqueur prédictif de la réponse au bévacizumab. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires et des explications physiopathologiques plus précises sont requises avant de valider ce biomarqueur pour la pratique clinique.

3. Marqueurs de régulation pré- et post-transcriptionnelle :

Les micro-ARN (miR) sont de petites molécules d'ARN non-codant impliquées dans la régulation post-transcriptionnelle des gènes. Par l'intermédiaire d'une machinerie enzymatique complexe, les miR inhibent la traduction d'un ARNm cible par répression, déstabilisation ou dégradation. De ce fait, ils sont impliqués dans de grands nombres de fonctions cellulaires

physiologiques [137]. La dérégulation de certains miR participe à la carcinogénèse et au développement du CCR [137]. Plusieurs miR ont été évalués en tant que biomarqueurs pronostiques ou prédictifs de la réponse au bévacicumab dans le CCRm. Le miR-126 a une influence directement pro-angiogénique sur les cellules du microenvironnement tumoral [138]. Les cellules endothéliales sécrètent via des microvésicules le micro-ARN qui agit de manière paracrine en favorisant la sécrétion de VEGF. L'équipe de Hansen *et al* a établi une corrélation entre les concentrations circulantes et tissulaires du miR-126 avec la survie [139,140]. Chez 230 patients atteints de CCRm traités en 1^{ère} ligne par chimiothérapie associée au bévacicumab, la surexpression tissulaire tumorale du mir-126 était associée à une SSP significativement allongée (HR :0,49 ; p=0,009) [141]. Similairement, chez 68 patients aux caractéristiques semblables, la décroissance en cours de traitement des taux de miR-126 circulant était associée à une SSP allongée mais pas de manière significative (HR : 0,6 ; p=0,07) [142]. Le rôle prédictif des miR-664-3p et miR-455-5p a été évalué dans l'étude de Boisen *et al* [143]. Après une sélection à partir d'un panel de 754 miR sur une cohorte exploratoire constituée de 212 patients, l'expression tissulaire de ces deux miR a été mesurée sur une cohorte de validation (n=155) comparée à une cohorte contrôle sans bévacicumab (n=127). La surexpression du miR-664-3p et la sous-expression du miR-455-5p étaient associées à des SSP et SG allongées uniquement chez les patients traités par chimiothérapie associée au bévacicumab. Cela suggère un potentiel prédictif de ces deux miR. Dans une étude plus récente réalisée à partir d'une cohorte de 52 patients issus de l'essai ITACa, Ulivi *et al* ont indiqué que des taux élevés des miR-20b-5p, miR-29b-3p et miR-155-5p circulants étaient associés avec des SSP et SG significativement allongées [144]. Également, l'augmentation $\geq 30\%$ des concentrations du miR-155-5p circulant après 1 mois de traitement était associée à des SSP et SG diminuées (HR : 3,03 ; p=0,04 et HR : 3,45 ; p=0,024 respectivement). Ces trois miR influencent l'angiogénèse : le miR-29b inhibe l'expression d'Akt3 [145], le miR-20 régule la prolifération et la sénescence des cellules endothéliales [146] et le miR-155 régule l'expression du HIF-1 α de telle sorte qu'il favorise

l'angiogénèse en condition hypoxique [147]. Dans une autre étude rétrospective chez des patients atteints de CCRm et traités par FOLFOX et bévacicumab, Kiss *et al* ont proposé l'utilisation d'un score combinant la mesure de l'expression tissulaire tumorale de 4 micro-ARN : miR-92b-3p, miR-3156-5p, miR-10a-5p et le miR-125a-5p [148]. Ce score permettait d'identifier les patients répondeurs des non-répondeurs avec une sensibilité de 82% et une spécificité de 64% (AUC=0,802). Afin de guider le choix entre anti-EGFR et anti-VEGF chez les patients atteints de CCRm et sans mutation *RAS*, Laurent-Puig *et al* ont mesuré l'expression tissulaire tumorale du miR-31-3p dans une cohorte issue de l'étude FIRE-3 [149]. Chez les patients présentant une sous-expression tissulaire de ce miR, la SSP et la SG étaient allongées (HR : 0,74 ; p=0,05 et HR : 0,61 ; p<0,01 respectivement) lorsque le cétuximab était associé à la chimiothérapie comparativement au bévacicumab. Il était également noté de meilleurs TRO (OR : 4,9 ; p<0,01) et une réduction précoce du volume tumorale dans les 6 semaines de traitement (OR : 0,4 ; p<0,01). Ce biomarqueur permettrait donc de guider le choix de la biothérapie la plus bénéfique en faveur du cétuximab. Enfin, une étude prospective récente réalisée chez 44 patients atteints de CCRm et analysant l'expression de 23 micro-ARN circulants contenus dans des vésicules extracellulaires, a mis en évidence que la surexpression du miR-222 à 6 mois de traitement était associée à un mauvais pronostic de SG (HR : 2,65 ; p=0,023) [150]. Cela corrobore les résultats d'une étude antérieure [151]. De manière intéressante, il existait une corrélation significative entre le taux de cellules tumorales circulantes à 3 et 6 mois de traitement avec les concentrations des miR-92a et miR-21 respectivement. Une étude approchant cet axe de recherche différemment a évalué l'expression tissulaire de certaines enzymes participant à la maturation des micro-ARN : Dicer et Drosha [152]. Les 166 patients atteints de CCRm étaient traités par chimiothérapie seule (n=50) ou associée au bévacicumab (n=116). La sous-expression tissulaire de l'enzyme Dicer était associée à des SSP et SG allongées ainsi qu'à des TRO favorables, uniquement chez les patients traités par bévacicumab.

Que retenir ? Les miR sont des éléments influençant l'angiogénèse et ses mécanismes de résistance par régulation post-transcriptionnelle. Ce sont certainement de biomarqueurs intéressants pour améliorer la sélection des patients bénéficiant du bévacicumab. Cependant, la complexité des mécanismes régulateurs des miR, l'absence de reproductibilité des résultats des études actuelles et les limites techniques de sensibilité et spécificité de détection des miR circulants limitent leur utilisation en pratique clinique.

Le facteur transcriptionnel *HOXB9*, un autre régulateur de la transcription génique, a été étudié en rapport avec le pronostic et la réponse au traitement des patients atteints de CCRm traités par bévacicumab. Les gènes *HOX* codent pour des facteurs transcriptionnels contenant un homéo-domaine et régulant le développement vasculaire embryonnaire mais aussi l'angiogénèse. Le facteur transcriptionnel *HOXB9* est un membre du cluster génétique *HOXB*. Sa dérégulation induite par divers mécanismes active des voies de signalisations promouvant la survie, prolifération, mobilité et invasivité cellulaire ainsi que la sécrétions de facteurs pro-angiogéniques [153]. Cela confère aux tumeurs concernées un phénotype pro-angiogénique et particulièrement invasif. Par l'activation d'une angiogénèse VEGF-indépendante, la surexpression de *HOXB9* serait une cause de résistance au bévacicumab. À partir d'un modèle cellulaire puis murin, Carbone *et al* ont mis en évidence que les souris portant une tumeur colorectale ou pancréatique surexprimant *HOXB9* étaient résistantes au bévacicumab et présentaient une forte infiltration de cellules myéloïdes pro-angiogéniques [154]. Le knock-down du *HOXB9* chez les souris portant une tumeur surexprimant *HOXB9* induisait une diminution de la sécrétion de facteurs pro-inflammatoires et pro-angiogéniques (Angiopoïétine-like 2, CXCL1, IL-8, TGFβ). En analyse post-mortem les tumeurs étaient moins vascularisées. L'étude a été poursuivie sur une cohorte de 81 patients atteints de CCRm traités en 1^{ère} ligne par chimiothérapie dont 58 avec bévacicumab. Plus des trois-quarts des tumeurs primitives colorectales présentaient une surexpression de *HOXB9*. Celle-ci était significativement associée

à une SSP diminuée en analyse multivariée (HR : 2,55 ; $p=0,017$) uniquement chez les patients traités au bévacicumab [154].

Que retenir ? La surexpression de *HOXB9* semble être une information prédictive de la résistance au bévacicumab. Des études sur de plus grandes cohortes et de préférence prospectives doivent être développées afin de confirmer ces données.

4. Polymorphismes génétiques

Il existe de substantielles variabilités génétiques concernant les gènes influençant l'angiogénèse. Cela induit des différences interindividuelles en capacités angiogéniques et dans la résistance aux traitements anti-angiogéniques. D'innombrables études fleurissent sur cet axe de recherche depuis ces dix dernières années. De nombreuses équipes ont évalué le potentiel pronostique et/ou prédictif de certains polymorphismes génétiques dans le CCRm [155–180] (**Tableau 1**). Ces polymorphismes concernent principalement la modification d'un nucléotide d'une seule paire de base (PSN). Les avantages d'utiliser cette méthode pour identifier les patients bénéficiant le plus du bévacicumab dans le CCRm sont multiples. Par rapport au dosage sérique ou à la mesure de l'expression tissulaire de biomarqueurs précédemment évoqués, la détection de PSN permet d'identifier une caractéristique stable chez un patient. En conséquence, cette méthode permet de distinctement ségréguer les patients. En effet, les études énumérées dans le **Tableau 1** révèlent toute une influence statistiquement significative en analyse multivariée sur la survie et/ou la réponse au traitement. Mais la translation en pratique clinique de ces résultats se heurte à de nombreuses problématiques. La fréquence des polymorphismes étudiés doit être $>10\%$ pour être utile significativement. Ce critère est le plus souvent utilisé dans les études énumérées mais n'est pas forcément représentatif de la vie réelle. Également, il existe des variations ethniques à ces polymorphismes limitant la généralisation de ces découvertes. Ce d'autant plus que la plupart des études actuelles sont exceptionnellement

multicentriques internationales. D'ailleurs, une partie non négligeable d'entre elles concerne des cohortes de petite taille, ceci leur rendant une faible puissance statistique. Les études certes rétrospectives mais basées sur des cohortes d'essais de phase 3, notamment les essais FIRE-3 et TRIBE particulièrement sollicités, permettent d'obtenir une puissance statistique plus solide avec notamment des cohortes servant de contrôle et objectivant parfois un potentiel prédictif de certains PSN. Malgré tout, les résultats sont souvent hétérogènes et rarement reproductibles d'une étude à l'autre. En guise d'exemple, alors que l'homozygotie T/T du *VEGF-A* rs833061 semblait être associée à une mauvaise réponse au traitement par chimiothérapie associée au bévacizumab [155,157], l'étude prospective de Loupakis *et al* n'a pas mis en évidence de corrélation entre ce polymorphisme et la survie ni la réponse au traitement [156]. Également, alors que l'homozygotie G/G du *VEGF-A* rs1570360 est associée à une SG significativement allongée et de meilleurs TRO dans l'étude prospective de Koutras *et al* [158], des résultats contradictoires étaient rapportés dans le travail également prospectif de Formica *et al* [160]. Aussi, on remarque que le nombre de polymorphismes différents est supérieur à la reproductibilité d'un même polymorphisme entre chaque étude. Cette variabilité de résultats témoigne d'une hétérogénéité des populations étudiées mais également de l'influence potentielle des différents protocoles de chimiothérapie utilisés en association avec le bévacizumab. Ces différences peuvent également être la conséquence de la méthode utilisée pour identifier les polymorphismes génétiques en prenant en compte que la technologie est rapidement évolutive et que les études rapportées s'étendent sur un délai de 10 ans. Finalement, l'étude récente de Barat *et al*, utilisant une approche de bioinformatique et d'apprentissage informatique sur trois cohortes issues d'essais multicentriques de phase 2 ou 3 englobant au total 557 patients pour plus des trois-quarts traités par le même protocole sur la même ligne thérapeutique, est une des seules à obtenir des résultats similaires à des études antérieures [163]. De manière équivalente, à partir de cohortes issues des essais TRIBE et FIRE-3, Tokunaga *et al* ont confirmé que porter le nucléotide C sur le gène *ENTPI* rs11188513 était prédictif d'une

moins bonne survie en cas de traitement par bévacizumab avec une tendance pour un effet inverse en cas de traitement par cétuximab chez les patients sans mutation *KRAS* [172]. Cet axe de recherche est donc prometteur mais nécessite certains ajustements afin d'homogénéiser les études et comparer les résultats sans biais.

VII. Pharmacocinétique-Pharmacodynamie

Comme la plupart des anticorps monoclonaux, le bévacizumab présente des caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques complexes et multifactorielles. Cela est responsable de variabilités inter- et intra-individuelles importantes ayant un impact certain sur la réponse au traitement et la survie des patients atteints de CCRm. Une première étude réalisée sur 20 patients traités en 1^{ère} ou 2^{nde} ligne par chimiothérapie à base d'oxaliplatine associée au bévacizumab a mis en relation les variations de bévacizumabémie résiduelle au cours du traitement avec la survie [72]. Les patients répondeurs avaient des taux résiduels toujours élevés de bévacizumab entre le 2^{ème} et 5^{ème} cycles contrairement aux patients non-répondeurs. Une seconde étude menée rétrospectivement sur 122 patients atteints de CCRm traités par chimiothérapie associée au bévacizumab a analysé la relation entre bévacizumabémie résiduelle et survie en évaluant les facteurs individuels influençant cette relation [181]. Les taux d'élimination du bévacizumab étaient significativement plus importants chez les patients présentant des taux élevés de VEGF ($p=0,011$) et ACE ($p<0,001$) et ayant des métastases extra-hépatiques ($p=0,014$). L'analyse multivariée indiquait que les patients avec une bévacizumabémie résiduelle $<15,5$ mg/l avaient une SSP et SG diminuées (HR : 1,76 ; $p=0,0039$ et HR : 1,9 ; $p=0,006$ respectivement). Ces résultats suggèrent que la masse antigénique élevée est un facteur de mauvais pronostic par l'augmentation de la clairance spécifique du bévacizumab. Plus récemment, Papachristos *et al* ont réalisé une étude prospective chez 46 patients atteints de CCRm traités par chimiothérapie et bévacizumab afin

de confirmer ces données pharmacocinétiques et pharmacodynamiques [182]. La cohorte était dichotomisée en deux groupes : sous-exposés au traitement (bévacizumabémie résiduelle $\leq 87,2$ mg/l) et surexposés au traitement (bévacizumabémie résiduelle $\geq 87,9$ mg/l). Ces patients présentaient des caractéristiques globalement semblables. Par contre, la SG était significativement allongée chez les patients les plus exposés au bévacizumab ($p=0,003$). Il n'était pas renseigné d'information concernant la tolérance au traitement dans cette étude.

Que retenir ? La mesure des concentrations résiduelles du bévacizumab en cours de traitement semble être un élément informatif pronostique. Des études de pharmacocinétique et pharmacodynamie doivent être développées afin d'identifier plus précisément les facteurs influençant l'efficacité du bévacizumab, même s'il semble clair qu'une masse antigénique élevée accélère la clairance de l'anticorps monoclonal. L'avenir est peut-être à l'adaptation posologique selon les caractéristiques tumorales plutôt qu'uniquement celles du patient.

VIII. Conclusion :

L'angiogénèse est un processus complexe essentiel au développement tumoral. Son évolution est influencée par un déséquilibre permanent mais fluctuant entre facteur pro- et anti-angiogéniques. Ce dérèglement homéostatique est principalement sous l'impulsion de l'hypoxie tumorale mais la dérégulation de voies de signalisations oncogéniques cardinales, les cellules et structures du microenvironnement tumoral et l'inflammation chronique entretiennent l'angiogénèse. De ce fait, de nombreuses voies de signalisation distinctes sont sollicitées et parfois indépendamment du VEGF. Dans ce cas, le bévacizumab s'avère moins efficace. Cela se traduit cliniquement dans certains essais cliniques où l'anticorps anti-VEGF n'est pas

toujours efficace. D'innombrables équipes ont étudié des facteurs potentiellement pronostiques et/ou prédictifs de la réponse au bévacyzumab afin d'optimiser la sélection des patients et de personnaliser la prise en charge. Malgré tout, les résultats issus principalement d'études à faible puissance statistique sont hétérogènes et non reproductibles voire parfois discordants sur la majorité des axes explorés. Seuls les projets sollicitant des cohortes de validation et de contrôle issues d'essais cliniques de phase 2 ou 3, ainsi que des travaux prospectifs de grande ampleur, permettent de clarifier la problématique. En fin de compte, deux stratégies semblent prometteuses pour améliorer la sélection des patients avant l'initiation du traitement. D'une part l'axe de recherche visant à identifier un ou des polymorphismes nucléotidiques s'avère particulièrement utile compte tenu de la stabilité et de la catégorique ségrégation de population. Mais l'homogénéisation des techniques d'analyse et des populations d'études sont nécessaires afin d'améliorer la comparabilité des résultats. D'autre part, les études visant à identifier un seul biomarqueur unique ont buté sur un point essentiel : l'imbrication multifactorielle de l'angiogénèse. Il semble plus adapté d'identifier un score composé de différents acteurs principaux du processus pathologique et traduisant la sensibilité de la tumeur et/ou du patient au bévacyzumab. Malgré des résultats encourageants de tels scores, il est nécessaire de les optimiser et reproduire au sein d'études à meilleure puissance statistique. Nous devons poursuivre nos efforts car la nécessité d'optimisation thérapeutique est essentielle à l'ère des thérapies ciblées. Le bévacyzumab est un médicament efficace, chez les bons patients. À nous de les repérer.

Tableau 1. Études corrélant significativement un polymorphisme mono-nucléotidique à un effet pronostique et/ou prédictif du bévacicumab dans le CCRm.

Gène	PSN et nombre-rs	Référence	Échantillon	Design de l'étude	Effet pronostique ou prédictif
VEGF-A	T/T (rs833061)	Loupakis <i>et al</i> , 2011 [155]	Sanguin	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> : FOLFIRI + BV (n=11) <u>Cohorte contrôle</u> : FOLFIRI (n=107)	SSP diminuée uniquement chez les patients traités par BV (HR 2,28, p=0,018)
	T/T (rs833061)	Loupakis <i>et al</i> , 2013 [156]	Sanguin	Prospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> : FOLFIRI + BV (n=424)	Pas d'effet significatif ni sur la survie ni la réponse
	T/T (rs833061)	Sohn <i>et al</i> , 2014 [157]	Sanguin	Ancillaire de 2 essais prospectifs de phase 2 <u>Cohorte</u> : bCT + BV en 1 ^{ère} ligne (n=125)	TRO diminué (OR 0,34, p=0,008)
	G/G (rs1570360)	Koutras <i>et al</i> , 2012 [158]	Sanguin	Prospective ; <u>Cohorte</u> : bCT (irinotécan) + BV (n=173)	TRO augmenté (60% vs 40%, p=0,032) SG allongée (HR 0,50, p=0,001)
	C/C (rs25648)	Bécouarn <i>et al</i> , 2014 [159]	Sanguin	Prospective ; <u>Cohorte</u> : FOLFIRI + BV en 1 ^{ère} ligne (n=62)	SG diminuée (HR 3,58, p=0,004)
	G/G (rs1570360)	Formica <i>et al</i> , 2011 [160]	Sanguin	Prospective ; <u>Cohorte</u> : FOLFIRI + BV en 1 ^{ère} ligne (n=40)	SSP diminuée (HR 4,43, p=0,02)
	G/G (rs2010963)				TRO diminué (OR 10,5, p=0,03)
	A/A (rs699947)	Papachristos <i>et al</i> , 2019 [161]	Sanguin	Prospective ; <u>Cohorte</u> : bCT + BV en 1 ^{ère} ligne (n=46)	SSP et SG allongées (log-rank p=0,006 et p=0,043 respectif)
	C/C (rs3025039)	Sibertin-Blanc <i>et al</i> , 2015 [162]	Sanguin ou tissulaire	Rétrospective ; <u>Cohorte</u> : CT + BV à différentes lignes (n=89)	Échec de traitement diminué (HR 0,57 ; p=0,022) HTA grade 2-3 fréquente (OR 0,15 p=0,022)
KDR (VEGFR2)	C/- (rs12505758)	Loupakis <i>et al</i> , 2013 [156]	Sanguin	Prospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> : FOLFIRI + BV (n=424)	SSP diminuée (HR 1,41, p=0,012)
	C/T (rs11133360)	Barat <i>et al</i> , 2020 [163]	Sanguin et tissulaire	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> : CT + BV (n=180) et CT (n=16) <u>Cohorte validation n°1</u> (issue de MAVERIC) : FOLFIRI + BV (n=163) <u>Cohorte de validation n°2</u> (issue de TRIBE) : FOLFIRI + BV (n=215)	SG allongée (HR 0,63, p=0,045)

FLT1 (VEGFR1)	A/A (rs9513070)	Sohn <i>et al</i> , 2014 [157]	Sanguin	Ancillaire de 2 essais prospectifs de phase 2 <u>Cohorte</u> : bCT + BV en 1 ^{ère} ligne (n=125)	SSP (HR 0,50 p=0,012) et SG (0,64 p=0,072) allongées
	A/C (rs9582036)	Hansen <i>et al</i> , 2012 [164]	Sanguin	Prospective ; <u>Cohorte</u> : bCT + BV en 1 ^{ère} ligne (n=218)	TRO diminué (OR 39% vs 56% p=0,015)
	A/C (rs9582036)	Barat <i>et al</i> , 2020 [163]	Sanguin et tissulaire	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> : CT + BV (n=180) et CT seul (n=16) <u>Cohorte validation n°1</u> (issue de MAVERIC) : FOLFIRI + BV (n=163) <u>Cohorte de validation</u> <u>n°2</u> (issue de TRIBE) : FOLFIRI + BV (n=215)	SSP longue (HR 0,58 p=0,007)
ICAM-1	G/G (rs179996)	Papachristos <i>et al</i> , 2019 [161]	Sanguin	Prospective ; <u>Cohorte</u> : bCT + BV en 1 ^{ère} ligne (n=46)	SG diminuée (log-rank p=0,036)
PDGFR-β	T/- (rs2302273)				SSP allongée (HR 0,76, p=0,016)
RALBP1	A/A (rs329007)	Volz <i>et al</i> , 2015 [165]	Sanguin ou tissulaire	Rétrospective ; <u>Cohortes</u> (issues de TRIBE n=204 et PROVETTA n=220) : FOLFIRI + BV en 1 ^{ère} ligne	TRO augmenté (68% vs 53% (A/G) ou 33% (G/G) p=0,008) si tumeur colique droite
RGS5	G/G (rs1056515)				TRO diminué (35% vs 62% (G/T) ou 75% (T/T) p=0,012) si tumeur colique droite
EGF	G/- (rs444903)				SG allongée (HR 0,52 p=0,012)
IGF-1	G/- (rs6220)				SG allongée (HR 0,60 p=0,046)
HIF-1A	T/- (rs11549465)	Gerger <i>et al</i> , 2011 [166]	Sanguin	Prospective ; <u>Cohorte</u> : bCT (oxali) + BV (n=132)	SSP allongée (HR 0,55 p=0,038) en univariée uniquement
CXCR-1	G/C rs2234671				TRO augmenté (71% vs 17% p=0,003)
PROM1	C/C (rs3130) + C/C (rs2286455)	Pohl <i>et al</i> , 2013 [167]	Sanguin	Prospective ; <u>Cohorte</u> : FOLFOX + BV (n=91) en 1 ^{ère} ligne	SSP allongée (p=0,002)
	C/T (rs2286455)	Barat <i>et al</i> , 2020 [163]	Sanguin et tissulaire	Étude rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> : CT + BV (n=180) et CT seul (n=16) <u>Cohorte validation n°1</u> (issue de MAVERIC) : FOLFIRI + BV (n=163) <u>Cohorte de validation</u> <u>n°2</u> (issue de TRIBE) : FOLFIRI + BV (n=215)	SSP diminuée (HR 1,93 ; p=0,006)
CCL5	G/- (rs2280789)	Suenaga <i>et al</i> , 2019 [168]	Tissulaire	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> : FOLFOX + BV (n=61) <u>Cohorte validation</u> : bCT (oxali) + BV (n=48) <u>Cohorte contrôle</u> : FOLFOX seul (n=83)	SSP (HR 0,44 ; p=0,004) et SG (HR 0,5 ; p=0,024) allongées seulement avec BV

<i>TWIST1</i>	G/- (rs2285682)	Matsusaka <i>et al</i> , 2016 [169]	Tissulaire	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> : bCT (oxali) + BV (n=143) <u>Cohorte contrôle</u> : bCT (oxali) + cétuximab (n=77)	SSP (HR 0,57 p=0,003) et SG (HR 0,53 p=0,001) allongées seulement avec BV
<i>IL-6</i>	G/- (rs2069837)	Matsusaka <i>et al</i> , 2016 [170]	Sanguin	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> (issue de TRIBE) : FOLFIRI + BV (n=223) <u>Cohorte validation</u> (issue de FIRE-3) : FOLFIRI + BV (n=288) <u>Cohorte contrôle</u> (issue de FIRE-3) : FOLFIRI + cétuximab (n=264)	SSP (HR 1,53 p=0,004) et SG (HR 1,4 p=0,015) diminuées seulement avec BV
<i>ANG-1</i>	A/- (rs2445365)	Gaibar <i>et al</i> , 2021 [171]	Tissulaire	Rétrospective ; <u>Cohorte</u> : CT + BV en 1 ^{ère} ligne (n=57)	SG diminuée (HR 1,91 p=0,034)
<i>ENTPD1</i> (CD-39)	T/T (rs11188513)				TRO augmenté (p=0,024)
	C/- (rs11188513)	Tokunaga <i>et al</i> , 2019 [172]	Sanguin	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> (issue de FIRE-3) : FOLFIRI + BV (n=107) <u>Cohorte validation</u> (issue de TRIBE) : FOLFIRI + BV (n=215) <u>Cohorte contrôle</u> (issue de FIRE-3) : FOLFIRI + cétuximab (n=129)	SG diminuée (HR 2,1 p=0,031) seulement avec BV et effet opposé avec le cétuximab (HR 0,59 p=0,12)
	G/G (rs2226163)				SG allongée (HR 0,63 ; p=0,024) seulement dans la cohorte de validation
<i>NT5E</i>	A/- (rs2229523)				SG allongée seulement sur la cohorte exploratoire (HR 0,49 p=0,026)
<i>ADORA2</i>	T/T (rs2015353)				SG allongée seulement sur la cohorte exploratoire (HR 0,24 p=0,004)
<i>BFGF</i>	A/- (rs1960669)	Gaibar <i>et al</i> , 2021 [171]	Tissulaire	Rétrospective ; <u>Cohorte</u> : CT + BV en 1 ^{ère} ligne (n=57)	SSP diminuée (HR 3,3 p=0,001)
<i>MMP9</i>	A/A (rs2236416)				SSP diminuée (HR 2,04 p=0,022)
	G/G (rs2274755)				SSP diminuée (HR 1,91 p=0,043)
<i>MNK1</i>	A/A (rs8602)	Berger <i>et al</i> , 2017 [173]	Tissulaire	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> (issue de FIRE-3): FOLFIRI + BV (n=247) <u>Cohorte validation</u> (issue de TRIBE) : FOLFIRI + BV (n=94) <u>Cohorte contrôle</u> (issue de FIRE-3) : FOLFIRI + cétuximab (n=226)	SSP (HR 1,76 p=0,022) et TRO (36% vs 65% ; p=0,005) diminués seulement en cas de BV

RSPO2	G/- (rs555008)	Berger <i>et al</i> , 2020 [174]	Tissulaire	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> (issue de FIRE-3) : FOLFIRI + BV (n=292) <u>Cohorte validation</u> (issue de TRIBE) : FOLFIRI + BV (n=210) <u>Cohorte contrôle</u> (issue de FIRE-3) : FOLFIRI + cétuximab (n=271)	SG allongée (HR 0,49 p=0,021) RAS non muté, SSP diminuée (HR 2,01 p=0,02) si RAS muté
VDBP	A/A (rs4588)	Berger <i>et al</i> , 2018 [175]	Tissulaire	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> (issue de FIRE-3) : FOLFIRI + BV (n=295) <u>Cohorte validation</u> (issue de TRIBE) : FOLFIRI + BV (n=227) <u>Cohorte contrôle</u> (issue de FIRE-3 et IMCL-0144) : FOLFIRI + cétuximab (n=278) et Irinotécan + cétuximab (n=93)	SG diminuée (HR 1,66 p=0,019) seulement en cas de BV et tendance inverse pour le cétuximab (HR 0,52 p=0,10)
TLR1	T/T (rs5743618)	Okazaki <i>et al</i> , 2016 [176]	Tissulaire	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> (issue de TRIBE) : FOLFIRI + BV (n=228) <u>Cohorte validation</u> (issue de FIRE-3) : FOLFIRI + BV (n=297)	TRO (43% vs 62% ; p=0,025 TRIBE et 46% vs 65% ; p=0,021 FIRE-3), SSP (HR 1,5 p=0,046 TRIBE) et SG (HR 1,53 p=0,025 TRIBE) diminués
EZH2	T/- (rs3757441)	Crea <i>et al</i> , 2012 [177]	Sanguin	Rétrospective ; <u>Cohorte</u> : FOLFIRI + BV (n=110) en 1 ^{ère} ligne	SSP (HR : 0,27 p=0,008) et SG (HR 0,33 p=0,049) diminuées
IRS-1	C/- (rs1801123)	Schirripa <i>et al</i> , 2017 [178]	Tissulaire	Rétrospective ; Cohortes issues de FIRE-3 :	SG diminuée (HR 1,28 p=0,054) pour les deux cohortes et si RAS non muté (HR 1,48 p=0,019)
IGF-1	T/- (rs2946834)			<u>Cohorte exploratoire</u> : FOLFIRI + BV (n=295) <u>Cohorte contrôle</u> : FOLFIRI + cétuximab (n=305)	SSP allongée (HR 0,78 p=0,01) Si RAS non muté : SSP (HR 0,63 p=0,002) et SG (HR 0,65 p=0,024) allongées
NLRP1	T/T (rs12150220)	Barat <i>et al</i> , 2020 [163]	Sanguin et tissulaire	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> : CT + BV (n=180) et CT seul (n=16) <u>Cohorte validation n°1</u> (issue de MAVERICC) : FOLFIRI + BV (n=163) <u>Cohorte de validation</u> n°2 (issue de TRIBE) : FOLFIRI + BV (n=215)	SSP allongée dans les cohortes exploratoire et validation n°1 (HR 0,52 p=0,006)
SRL	A/A (rs13334970)				SSP diminuée dans les cohortes exploratoire et validation n°1 (HR 2,3 p=0,014)
TBK1	A/T (rs7486100)				SG diminuée (HR 1,63 p=0,034) Si KRAS non muté : SSP diminuée (HR 1,94 p=0,037)

	T/- (rs7486100)	Sunakawa <i>et al</i> , 2015 [179]	Sanguin	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> (issue de FIRE-3) : FOLFIRI + BV (n=248) <u>Cohorte validation</u> (issue de TRIBE) : FOLFIRI + BV (n=228) <u>Cohorte contrôle</u> (issue de FIRE-3) : FOLFIRI + cétuximab (n=248)	SSP diminuée uniquement dans la cohorte exploratoire (HR 1,46 p=0,028)
IL-8	T/A (rs4073)	Barat <i>et al</i> , 2020 [163]	Sanguin et tissulaire	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> : CT + BV (n=180) et CT seul (n=16) <u>Cohorte validation n°1</u> (issue de MAVERIC) : FOLFIRI + BV (n=163) <u>Cohorte de validation</u> n°2 (issue de TRIBE) : FOLFIRI + BV (n=215)	SSP diminuée (HR 1,51 ; p=0,037)
	A/- (rs4073)	Di Salvatore <i>et al</i> , 2017 [180]	Sanguin	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> : FOLFOX + BV (n=120) <u>Cohorte contrôle</u> : FOLFOX (n=112)	SSP diminuée uniquement en cas de BV (HR 1,8 ; p=0,015)
CCL2	C/- (rs4586)				SSP allongée uniquement en cas de mutation <i>KRAS</i> dans la cohorte de validation (HR 0,51 ; p=0,026)
CCL18	T/T (rs14304)	Sunakawa <i>et al</i> , 2015 [179]	Sanguin	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> (issue de FIRE-3): FOLFIRI + BV (n=248) <u>Cohorte validation</u> (issue de TRIBE) : FOLFIRI + BV (n=228) <u>Cohorte contrôle</u> (issue de FIRE-3) : FOLFIRI + cétuximab (n=248)	SSP diminuée uniquement en cas de mutation <i>KRAS</i> dans la cohorte de validation (HR 1,24 ; p=0,007)
IRF3	C/- (rs2304205)				TRO augmenté (p=0,0056) et SSP allongée (HR 0,56 ; p=0,039) uniquement en cas de mutation <i>KRAS</i> dans la cohorte de validation
NOS3	G/- (rs1799983)	Di Salvatore <i>et al</i> , 2017 [180]	Sanguin	Rétrospective ; <u>Cohorte exploratoire</u> : FOLFOX + BV (n=120) <u>Cohorte contrôle</u> : FOLFOX (n=112)	SSP diminuée uniquement en cas de BV et en analyse univariée (HR 1,78 ; p=0,049)

BV : bévacicumab ; **bCT** : bi-chimiothérapie ; **CT** : chimiothérapie ; **FOLFIRI** : irinotécan, acide folinique, 5-fluorouracile ; **FOLFOX** : oxaliplatine, acide folinique, 5-fluorouracile ; **HTA** : hypertension artérielle ; **HR** : hazard ratio ; **OR** : odd-ratio ; **oxali** : oxaliplatine ; **PSN** : polymorphisme à simple nucléotide ; **SSP** : survie sans progression ; **SG** : survie globale ; **TRO** : taux de réponse objective

[Article original](#) :

Evaluation of serum mid-infrared spectroscopy as new prognostic marker for bevacizumab-based chemotherapy in first-line treatment of metastatic colorectal cancer

Authors: Romain Chautard ^{1,10}, Julie Léger ², Olivier Bouché ³, Christophe Borg ⁴, Jean-Yves Douillard ⁵, Sylvain Manfredi ⁶, Eric Terrebbonne ⁷, Olivier Capitain ⁸, Jean-Philippe Spano ⁹, Morgane Caulet ¹, William Raoul ¹⁰, Maxime Guéguinou ¹⁰, Olivier Herault ¹¹, Aurélie Ferru ¹², Cédric Pobel ¹³, Olivier Sire ¹⁴, Thierry Lecomte ^{1,10}

Affiliations:

¹ Department of Hepato-Gastroenterology and Digestive Oncology, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Tours, Université François Rabelais, Tours, France;

² INSERM CIC 1415, CHRU de Tours, CHRU de Tours, 37044, Tours, Cedex 09, France;

³ Department of Digestive Oncology, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims, Avenue Général Koenig, 51092, Reims, Cedex, France;

⁴ Department of Medical Oncology, Hôpital Jean Minjoz, CHRU de Besançon, 3 Boulevard Alexandre Fleming, 25000, Besançon, France;

⁵ Integrated Centres for Oncology, Department of Medical Oncology René Gauducheau, Nantes St-Herblain, France;

⁶ Department of Gastroenterology, CHU Dijon, University of Bourgogne-Franche Comté, INSERM U1231, Dijon, France;

⁷ Department of Hepato-Gastroenterology and Digestive Oncology, Hôpital du Haut Lévêque, CHU de Bordeaux, Avenue Magellan, 33604, Pessac Cedex, France;

⁸ Department of Medical Oncology, Institut de Cancérologie de l'Ouest Paul Papin, Angers, France;

⁹ Oncology Department, Sorbonne University, Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France;

¹⁰ Université de Tours, Inserm, UMR 1069, Nutrition Croissance et Cancer (N2C), Faculté de Médecine, Tours, France;

¹¹ CNRS ERL7001 LNOX, EA7501, Tours University, 37000 Tours, France;

¹² Medical Oncology Department, Poitiers University Hospital, Poitiers, France;

¹³ Department of Medical Oncology, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Tours, Université François Rabelais, Tours, France;

¹⁴ IRDL UMR CNRS 6027, Vannes, France;

Corresponding author: Romain Chautard, Department of Hepato-Gastroenterology and Digestive Oncology, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Tours 37044 Tours Cedex 09, Université François Rabelais, Tours, France. Phone: [REDACTED] E-mail:

[REDACTED]

Funding: This work was supported by INCa (Institut National du Cancer). It also received funding from a Research Program grant from the Cancéropôle Grand-Ouest and a grant from the French National Society of Gastroenterology (SNFGE). This study was also supported by French Higher Education and Research Ministry under the program “Investissements d’avenir” Grant Agreement: LabEx MAbImprove ANR-10-LABX-53-01.

Declaration of interest: Authors have declared no conflicts of interest regarding this study.

Highlights:

- Biomarkers to predict bevacizumab efficacy in metastatic colorectal cancer are lacking
- Mid-infrared spectroscopy (MIRS) is a metabolomic fingerprinting method
- Serum analysis by MIRS is a promising and insufficiently investigated approach
- We analysed baseline serum of patients treated by bevacizumab-based chemotherapy
- Patients at high risk of progression were identified

I. Introduction

Colorectal cancer (CRC) is the third most frequent cancer worldwide and the second most frequent cause of death by cancer in 2018 [1]. Its metastatic evolution (mCRC) is a major shift in tumour development and survival rates [2]. Sustained neo-vascularisation promotes tumoral development and stimulates metastatic evolution by specific cell dissemination and pre-metastatic nests establishment [3]. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is the principal trigger of the pro-angiogenic switch [4]. Anti-angiogenic treatments are part of the therapeutic arsenal for mCRC. Bevacizumab is a humanised monoclonal antibody binding with all VEGF-A isoforms limiting interaction with VEGF receptors [5]. Its association with a 5-fluorouracile based bi-chemotherapy in first-line mCRC treatment allows prolonged progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) and such combination is the standard of care [6]. Yet, a certain proportion of patients do not benefit from bevacizumab, either due to primary inefficiency or by secondary tumoral resistance mechanisms [7,8]. For the last decade, substantial efforts have been conducted in order to identify predictive and prognostic biomarkers for bevacizumab. Despite encouraging results, studies with contradictory conclusions and the lack of randomized prospective trials limit the validation in clinical practice of these biomarkers [9,10]. The multiplication of potential candidates highlights the complexity of tumoral angiogenic mechanisms and their inter- and intra-individual heterogeneity. Combining several biomarkers seems a more appropriate approach [11,12]. Taking into account the risk of therapeutic failure associated with the cost of monoclonal antibodies, the identification of a method detecting bevacizumab non-responders has become a clinical necessity with an economical requirement [13,14].

Mid-infrared spectroscopy (MIRS) renders the metabolic fingerprint of a sample by detecting prominent biomolecules absorbing infrared radiation [15]. MIRS on serum allows a rapid non-invasive profiling of an individual at low cost and high sensitivity from small samples [16]. It could therefore have a substantial value in diagnostic, prognostic and predictive

medicine especially in oncology [15]. This makes it a promising yet barely explored method for mCRC treatment optimisation [15,17].

Our study aimed to evaluate the prognostic potential of MIRS on baseline serum of patients treated by chemotherapy associated with bevacizumab in first line treatment for mCRC.

II. Materials and method

1. Study population:

This ancillary study was part of a multicentric prospective study financed by the French National Cancer Institute (INCa) and registered on ClinicalTrials.gov (study NCT00489697; INCA06-FT/STIC-AVASTIN) [18]. It was designed according to the Helsinki Declaration and approved by the French Ethical Committee of Tours University on November 11, 2006. Patients were recruited from January 2007 to January 2011. They all gave their written consent to participate. Eligible and exclusion criteria were described in the original study protocol. Every 2 weeks, patients received intravenously 5 mg/kg of bevacizumab associated with a fluoropyrimidine-based chemotherapy. Tumour assessment was done according RECIST v1.1 on CT scans every 12 weeks until progression. End of follow-up was in December 2012.

2. Data extraction:

Clinical data and bevacizumab-related adverse events (BRAE) were collected for each patient. Biological data were obtained when possible and included: *KRAS* (codons 12, 13, 61, and 146) and *BRAF* (Val600Glu) mutational status, carcinoembryonic antigen (CEA), albumin, lactate dehydrogenase (LDH), vascular endothelial growth factor (VEGF) and angiopoietin-2 (Ang-2) concentrations. Blood samples were collected in the eight days preceding bevacizumab first infusion. Cut-off values of CEA, albumin, LDH and Ang-2 were respectively fixed at 100 µg/L, 35 g/L, 300 U/L and 5 µg/L as in previous studies [19–22]. Median VEGF level (200 µg/mL) was fixed as cut-off value.

3. Mid-infrared spectroscopy:

i. Spectral acquisition:

All spectral measures were recorded using a LUMOS microspectroscope with a RockSolid™ interferometer (Bruker®). Attenuated total reflection (ATR) technique was carried out on a germanium single reflexion crystal ($n = 4$). Absorption wavenumbers were circumscribed within 4000-400 cm^{-1} . Spectral resolution was set to 4 cm^{-1} with a zero-filing factor of 2 yielding a discrete spectral point spacing of 2 cm^{-1} . For each measure, a 5 μl serum sample was dropped on a single-used microscope slide and at least 5 spectral acquisitions were completed in different zones. Serums were preliminarily dried at 30°C for 15 minutes to decrease the water contribution to the signal (dried droplet method).

ii. Spectral treatment:

Spectral data were analysed within the 3800-800 cm^{-1} frequency range. Analyses were blinded to patient data. There was no spectral domain eliminated during analysis. Second derivatives were calculated, then smoothed using a Savitzky-Golay moving filter algorithm (width = 11). Spectral data were then processed by vector normalisation. Quality assessment and data homogeneity by outlier identification was investigated by principal component analysis (PCA). Unsupervised k-mean partitioning method was performed to separate individuals in N groups according to the highest inter-/intra-group variance ratio (silhouette function). Visual comparison and mathematical verification for each group spectral means were done to identify discriminative spectral variables. A correlation analysis of these discriminative spectral variables was performed using PCA data. It was graphically represented in a correlation circle.

4. Statistical analysis:

Continuous variables were described by medians and interquartile range. Categorical variables were described by frequency. Means were compared using parametrical Student *t* test in case of normal distribution and non-parametrical Mann-Whitney test otherwise. Continuous variables were tested for normal distribution with the Shapiro-Wilk test. Categorical variables were compared by the Chi-squared (χ^2) test or Fisher exact test according to sample size.

Primary endpoints were overall survival (OS) and progression-free survival (PFS). They were defined as the time from the first bevacizumab infusion to death from any cause and to disease progression according to RECIST v1.1 respectively. Time was censored at the time of the last known follow-up visit if a patient had no event. Actuarial survival curves were calculated by Kaplan-Meier method and compared by log-rank test. Hazard ratios (HR) and their 95% confidence intervals (CI) were estimated by univariate and multivariate Cox proportional hazards regression models. All variables related to OS and/or PFS in univariate analysis with a p-value <0.2 were integrated in the multivariate analysis by ascending selection. Best objective response rate (bORR) was defined as the percentage of patients who experienced partial or complete response as their best response according to RECIST v1.1 during their follow-up.

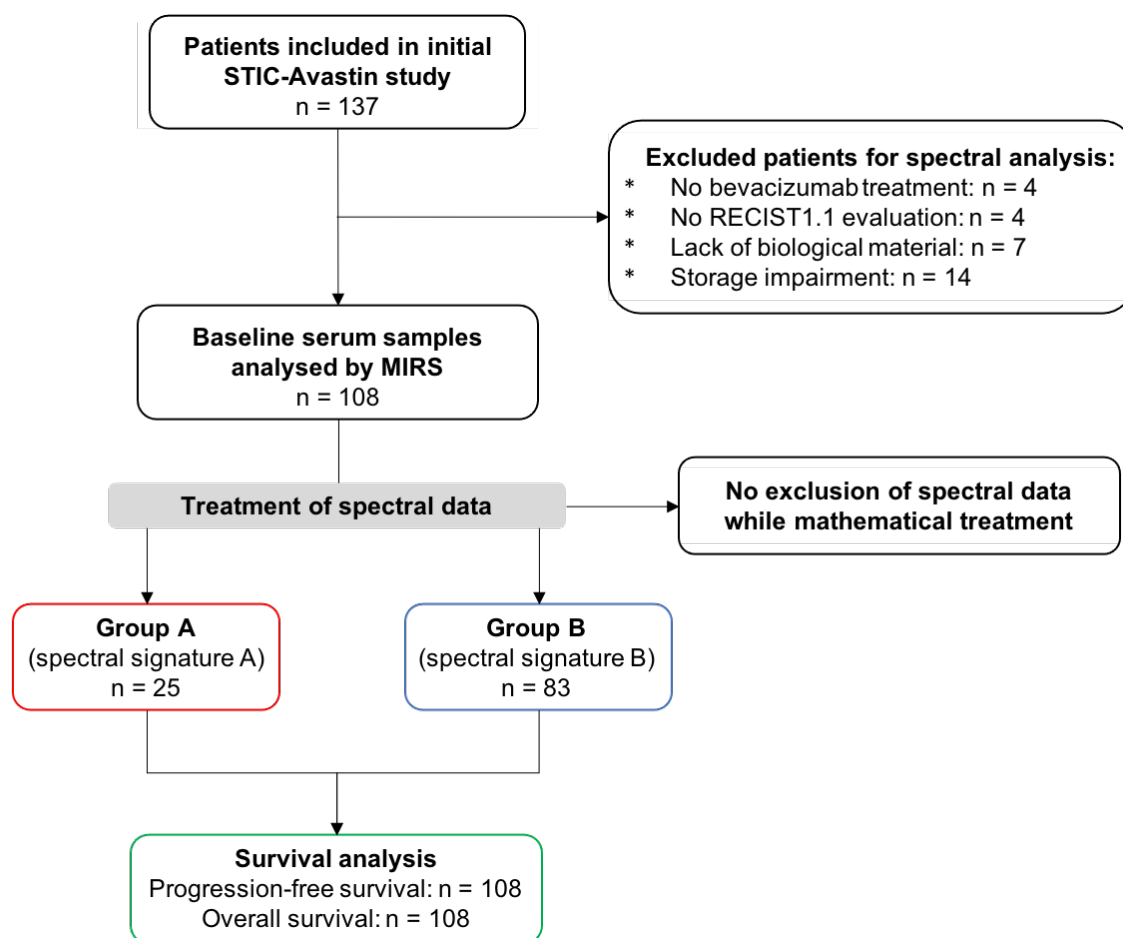
For all analyses, p-values were two-sided and considered significant when <0.05. Statistical analysis was performed using R[®] software version 3.6.1 (R foundation for statistical computing, Vienna, Austria).

III. Results

1. Population:

Out of the 137 patients included in STIC-Avastin study, 108 were analysed in our ancillary study. Principal reasons for exclusion are mentioned in **Figure 1**. Their characteristics are described in **Table 1**. Median follow-up was 24 months.

Figure 1: Flow-chart.



STIC-Avastin study was a multicentred, non-comparative, prospective, open-labelled study registered on ClinicalTrials.gov (study NCT00489697; INCA06-FT/STIC-AVASTIN) [18]. Mid-infrared spectroscopy (MIRS) on baseline serum samples was done on all patients except those not treated with bevacizumab (n = 4), not evaluated by RECIST v1.1 criterion (n = 4), with insufficient biological material (n = 7) or sample storage impairment (n = 14). All spectral data were mathematically processed. Two groups of patients were dichotomised, and each defined by a specific spectral signature: group A (n = 25) and B (n = 83) with respective spectral signature A and B. Survival analysis was carried out on all patients (n = 108). Primary endpoints were progression-free survival and overall survival.

Table 1: Description of patients' characteristics.

Characteristics	Global: n = 108 Median (IQ) Number (%)	Group A: n = 25; 23.1% Median (IQ) Number (%)	Group B: n = 83; 76.9% Median (IQ) Number (%)	p value
Age (years)	65 (13.8)	63 (12.0)	66 (12.5)	0.19
≤ 70	73 (67.6)	19 (76.0)	54 (65.1)	
> 70	35 (32.4)	6 (24.0)	29 (34.9)	
Gender				0.63
Male	69 (63.9)	17 (68.0)	52 (62.7)	
Female	39 (36.1)	8 (32.0)	31 (37.4)	
BMI (kg/m²)	24.1 (4.97)	23.2 (4.44)	24.5 (5.44)	0.026*
< 25	66 (61.1)	18 (72.0)	48 (57.8)	
≥ 25	42 (38.9)	7 (28.0)	35 (42.2)	
Performance Status (WHO)				0.054
0	56 (54.4)	8 (34.8)	48 (60.0)	
1	47 (45.6)	15 (65.2)	32 (40.0)	
Primary tumour location				0.96
Colon	73 (67.6)	17 (68.0)	56 (67.5)	
Rectum	35 (32.4)	8 (32.0)	27 (32.5)	
Primary tumour resection				0.002*
Yes	41 (38.0)	16 (64.0)	25 (30.1)	
No	67 (62.0)	9 (36.0)	58 (69.9)	
Number of EH metastatic sites				0.24
0	67 (62.0)	13 (52.0)	54 (65.1)	
1	23 (21.3)	8 (32.0)	15 (18.1)	
2	5 (4.63)	0 (0)	5 (6.02)	
>2	13 (12.0)	4 (16.0)	9 (10.8)	
Chemotherapy protocol				0.54
FOLFIRI	78 (72.2)	20 (80.0)	58 (69.9)	
FOLFOX	21 (19.4)	3 (12.0)	18 (21.7)	
LV5FU2	6 (5.56)	2 (8.00)	4 (4.82)	
Other**	3 (2.78)	0 (0)	3 (3.61)	

***KRAS* and *BRAF*
mutational status**

<i>KRAS</i> mutated	24 (22.2)	4 (16.0)	20 (24.1)	0.59
<i>KRAS</i> wild-type	24 (22.2)	5 (20.0)	19 (22.9)	
<i>BRAF</i> mutated	2 (1.85)	0 (0)	2 (2.41)	0.70
Missing data	60 (55.6)	16 (64.0)	44 (53.0)	
Ang-2 (µg/L)	4.57 (4.23)	9.23 (5.61)	4.15 (2.40)	<0.001[*]
< 5	60 (57.7)	3 (12.0)	57 (72.1)	
≥ 5	44 (42.3)	22 (88.0)	22 (27.9)	
VEGF (µg/mL)	192 (265)	336 (600)	132 (227)	<0.001[*]
< 200	55 (51.9)	8 (32.0)	47 (58.0)	
≥ 200	51 (48.1)	17 (68.0)	34 (42.0)	
Albumin (g/L)	38.0 (6.00)	34.5 (3.35)	39.3 (5.6)	<0.001[*]
≥ 35	46 (70.8)	7 (36.8)	29 (86.7)	
< 35	19 (29.2)	12 (63.2)	7 (15.6)	
LDH (U/L)	380 (333)	630 (899)	314 (224)	<0.001[*]
< 300	24 (34.3)	2 (10.5)	22 (43.1)	
≥ 300	46 (65.7)	17 (89.5)	29 (56.7)	
CEA (µg/L)	59 (186)	222 (1266)	55.9 (128)	<0.001[*]
< 100	66 (61.1)	8 (32.0)	58 (69.9)	
≥ 100	42 (38.9)	17 (68.0)	25 (30.1)	

IQ: interquartile range; **EH:** extra-hepatic; **FOLFIRI:** irinotecan, leucovorin, 5-fluorouracil; **FOLFOX:** oxaliplatin, leucovorin, 5-fluorouracil; **LV5FU2:** leucovorin, 5-fluorouracil; **KRAS:** *Kirsten RAt Sarcoma* gene mutations on codons 12, 13, 61 or 146 of respective exons 2, 2, 3 and 4; **BRAF:** *B-Raf* gene mutation on V600E (p.Val600Glu) of exon 15; **Ang-2:** angiopoietin-2; **VEGF:** vascular endothelial growth factor; **LDH:** lactate dehydrogenase; **CEA:** carcinoembryonic antigen.

*p < 0.05; **other chemotherapy protocols included: FOLFOXIRI (oxaliplatin, irinotecan, leucovorin, fluorouracil) for n = 1, irinotecan and raltitrexed for n = 1, and irinotecan monotherapy for n = 1.

2. Spectral analysis:

Serum MIRS analysis was conducted homogeneously on samples of all 108 patients. All spectra were validated for follow-up treatment. Unsupervised k-mean method separated patients in two groups (A and B) each with a specific spectral signature.

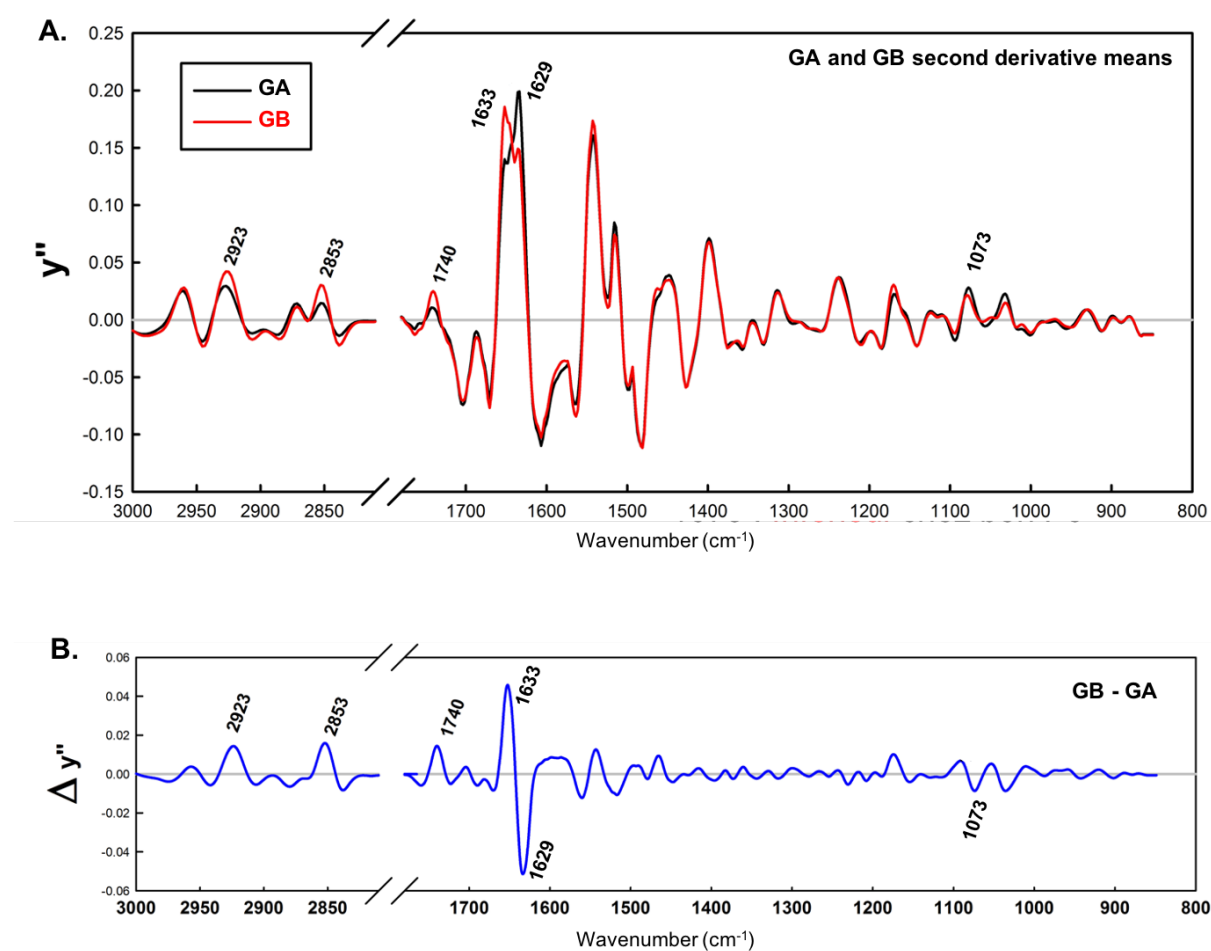
i. Spectral comparisons of groups A and B:

Both group spectral discrimination allowed to identify six significative absorption bands (**Figures 2**). Biochemical assignments of theses discriminative spectral variables are described in **Table 2**. Taking into account the precision limits of MIRS for millimolar concentrations in serum, it is most likely that the 1073 cm^{-1} band features saccharides rather than less represented circulating nucleic acids.

Table 2: Biochemical assignments for discriminative spectral differences between studied population groups.

Discriminative spectral bands wavenumber (cm^{-1})	Biochemical affiliations		
	Functional group	Infrared induced variations	Macromolecule
2923	Methylene ($=\text{CH}_2$)	C-H asymmetric stretching	Lipid
2853	Methylene ($=\text{CH}_2$)	C-H symmetric stretching	Lipid
1740	Ester (R-COO-R')	C=O stretching	Lipid
1623, 1629	Primary amid (RCONHR)	C=O stretching or C-N and N-H bending	Protein
1073	Phosphodiester (PO_4) or sugar cycle	PO_2^- symmetrical stretching, or C-C/C-O ring vibrations	Nucleic acid, or Saccharide

Figures 2: Mid-infrared spectroscopy (MIRS) signatures.

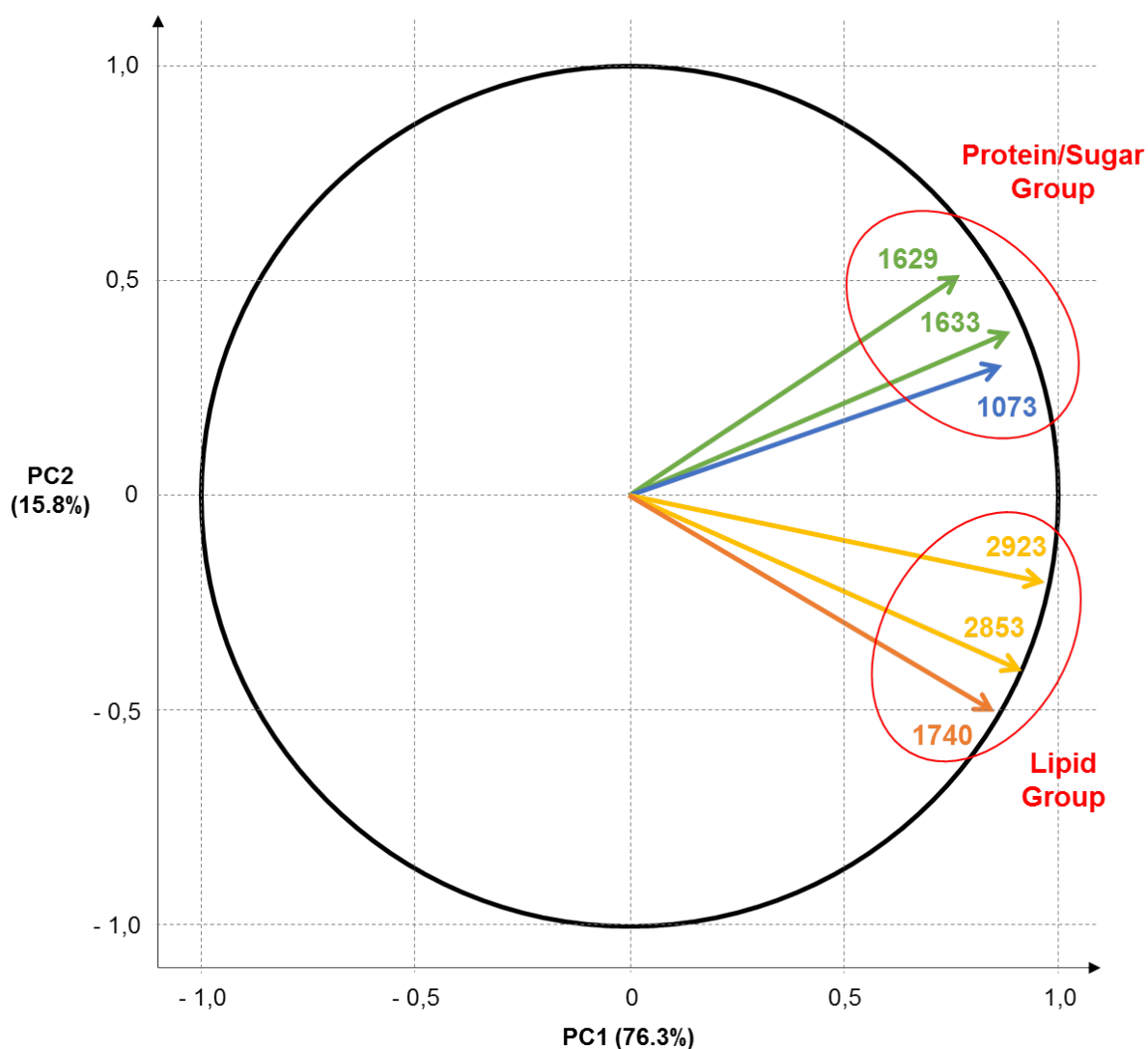


A: mean of spectral signatures in second derivative from patients of group A (GA, black curve) superposed with the respective mean from patients of group B (GB, red curve). Identification of six discriminative spectral bands (2923 cm^{-1} , 2853 cm^{-1} , 1740 cm^{-1} , 1633 cm^{-1} , 1629 cm^{-1} , 1073 cm^{-1}).

B: spectral subtraction of second derivative means of patients from group B minus group A. Bands at 2923 cm^{-1} , 2853 cm^{-1} and 1740 cm^{-1} are less present in signature A. There is a spectral peak shift in the Amide I protein from 1629 cm^{-1} (group A) to 1633 cm^{-1} (group B).

Correlation analysis of these six variables is represented in **Figure 3**. Two groups of variables are isolated: proteins/sugar (1629, 1633 and 1073 cm^{-1}) and lipids (2923, 2853 and 1740 cm^{-1}). Variables of each group are strongly correlated. Comparing spectral means of groups A and B (**Figures 2**), lipid variables are more present in patients with signature B. Also, there is an inversion of protein population characterised by a spectral peak shift reflecting global changes in protein's secondary structures suggesting variations in the prominent circulating protein pool. Variations in the sugar spectral domains are less clearly interpretable.

Figure 3: Correlation circle of discriminative spectral bands.



Correlation circle representing coordinates of the six discriminative spectral differences according to major principal components (PC) n°1 and n°2 from principal component analysis. Using both PCs, 92.1% of population variance was characterised. Variables closest to the circle are the most discriminative. Linear correlation coefficient is defined by square cosine of separating angle between variables. Two groups are identified: protein/sugar group (1629, 1633 and 1073 cm^{-1}) and lipid group (2923, 2853 and 1740 cm^{-1}). Intra-group variables are highly correlated whereas both groups are poorly correlated.

ii. *Clinical and biological comparisons of groups A and B:*

Characteristics of each group are described in **Table 1**. There was less patients in group A ($n = 25$) than B ($n = 83$). Patients in group A were less overweight ($p = 0.026$), more nutritionally deficient ($p < 0.001$), less fit ($p = 0.054$) and had more frequent surgical tumoural removal ($p = 0.002$). They also had higher baseline concentrations of Ang-2, VEGF, LDH and CEA ($p < 0.001$, for all).

3. Survival analysis and response rate:

i. *Progression-free survival:*

PFS data was available for all 108 patients (**Figure 4A**). At the data cut-off point, 100 patients progressed (92.6%) and the median PFS time was 10.6 months. Patients from group A had a shorter PFS median of 8.7 months (vs 11.3 months for group B). Kaplan-Meier estimator revealed a significantly shorter PFS time in patients from group A (HR: 1.64, 95% CI [1.03-2.61], log-rank $p = 0.03$).

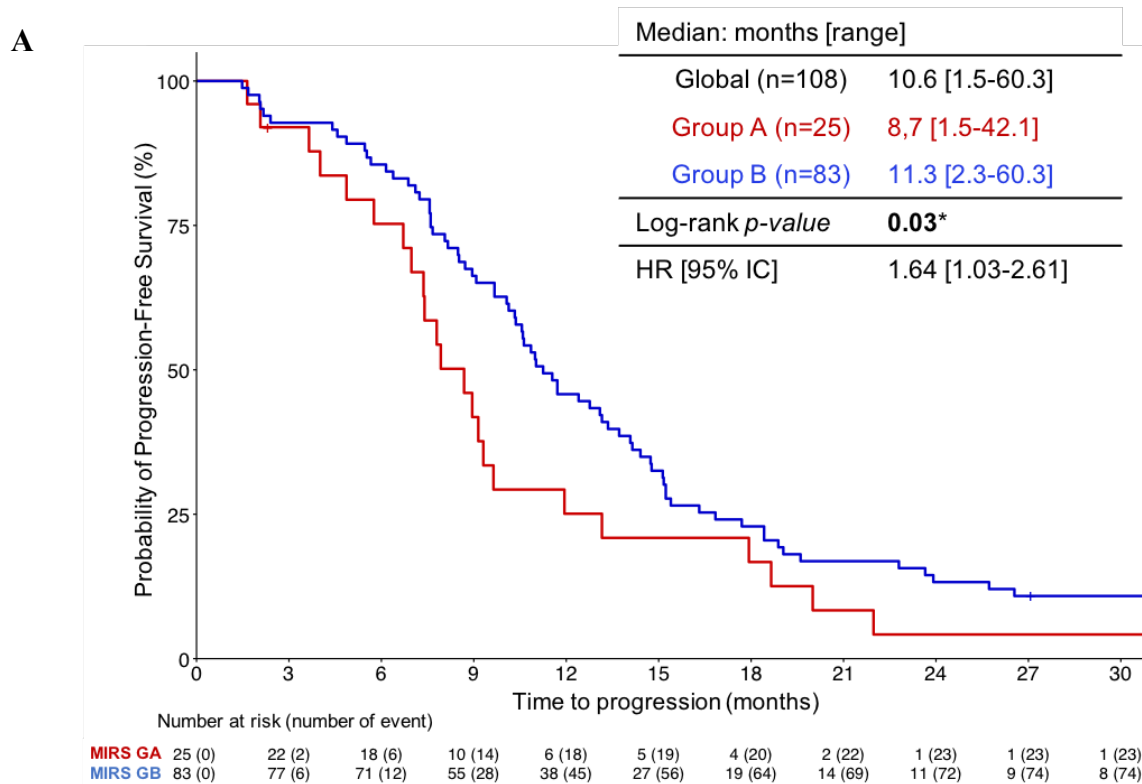
As shown in **Table 3B**, multivariate Cox regression model identified serum MIRS signature A as independently associated with shorter PFS (HR: 1.74, 95% CI [1.07-2.82], $p = 0.025$) when adjusted with age, gender and extra-hepatic metastasis. Age >70 years was also an independent factor of shorter PFS.

ii. Overall survival:

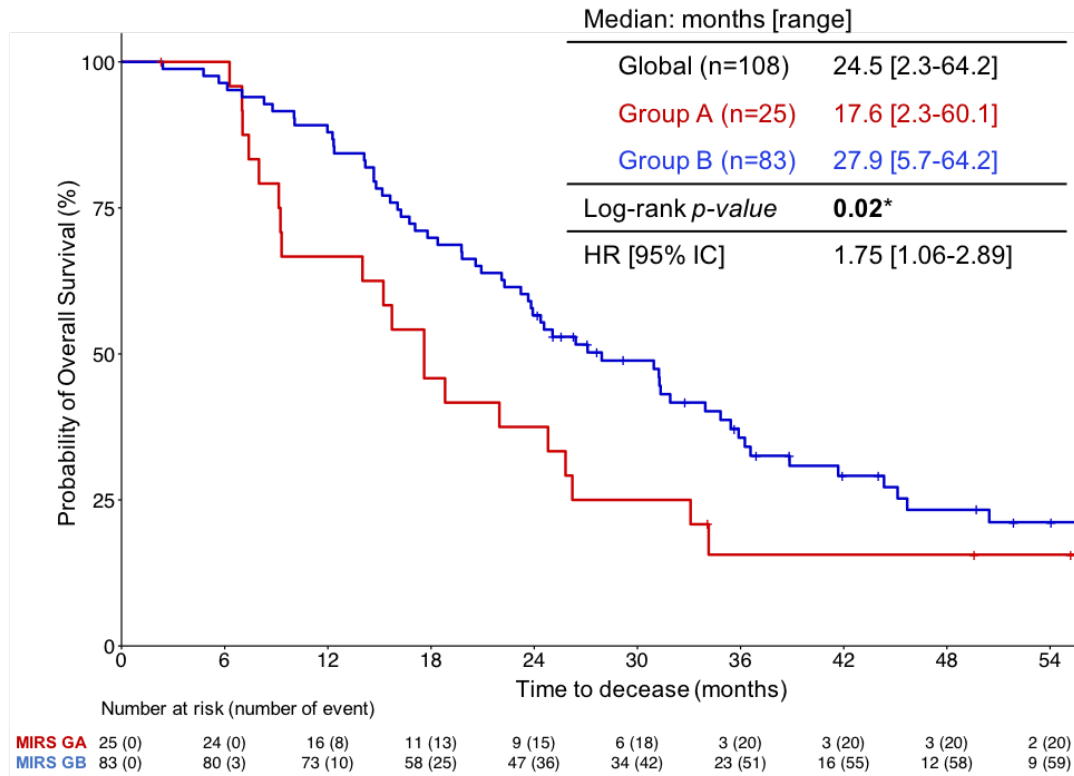
OS data was available for all 108 patients (**Figure 4B**). At the data cut-off point, 81 patients were deceased (75.0%) and the median OS time was 24.5 months. Patients from group A had a shorter OS median of 17.6 months (vs 27.9 months for group B). Kaplan-Meier estimator revealed a significantly shorter OS time in patients from group A (HR: 1.75, 95% CI [1.06-2.89], log-rank $p = 0.02$).

As shown in **Table 3A**, multivariate Cox regression model identified age and surgical resection of the colorectal tumour as independent factors influencing OS. Serum MIRS signature A showed a trend for independent association with shorter OS (HR: 1.69, 95% CI [0.98-2.93], $p = 0.061$) when adjusted on age, gender, tumour resection and extra-hepatic metastasis.

Figures 4: Survival Kaplan-Meier curves concerning progression-free survival (**A**) and overall survival (**B**) of patients from groups A (red curves) and B (blue curves) defined by two different serum spectral signatures.



B



Tables 3: Univariate and multivariate analysis by Cox regression model for:

A: Overall survival. **p* < 0.2; ***p* < 0.05

Co-variables	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	HR	95% IC	<i>p</i> value	HR	95% IC	<i>p</i> value
Age: >70 vs <70 years	1.37	0.86-2.18	0.18*	1.71	1.02-2.87	0.042**
Gender: M vs F	1.46	0.91-2.32	0.11*	1.51	0.93-2.47	0.097
BMI: <25 vs ≥ 25 kg/m ²	1.14	0.73-1.79	0.56			
PS: 1 vs 0	1.10	0.70-1.72	0.68			
Resection: Yes vs No	1.88	1.20-2.95	0.0059**	1.69	1.04-2.75	0.034**
Localisation: Colon vs Rectum	1.24	0.78-1.98	0.37			
EH metastases: Yes vs No	1.53	0.98-2.39	0.059*	1.51	0.92-2.47	0.095
FOLFOX/IRI vs others	1.15	0.53-2.50	0.73			
KRAS: mutation vs wild type	1.39	0.74-2.59	0.31			
BRAF: mutation vs wild type	2.32	0.55-9.84	0.25			
MIRS signatures: A vs B	1.75	1.06-2.89	0.028**	1.69	0.98-2.93	0.061

B: Progression-free survival. * $p < 0.2$; ** $p < 0.05$

Co-variables	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	HR	95% IC	<i>p</i> value	HR	95% IC	<i>p</i> value
Age: >70 vs <70 years	1.45	0.95-2.21	0.082*	1.64	1.04-2.60	0.034**
Gender: M vs F	1.41	0.93-2.13	0.11*	1.21	0.78-1.89	0.39
BMI: <25 vs ≥ 25 kg/m ²	1.05	0.70-1.57	0.81			
PS: 1 vs 0	0.972	0.65-1.46	0.89			
Resection: Yes vs No	1.27	0.84-1.90	0.25			
Localisation: Colon vs Rectum	1.07	0.70-1.64	0.75			
EH metastases: Yes vs No	1.36	0.91-2.04	0.13*	1.33	0.85-2.07	0.21
FOLFOX/IRI vs others	1.21	0.59-2.49	0.61			
KRAS: mutation vs wild type	1.36	0.75-2.47	0.32			
BRAF: mutation vs wild type	1.36	0.33-5.71	0.67			
MIRS signatures: A vs B	1.64	1.03-2.61	0.036**	1.74	1.07-2.82	0.025**

BMI: body mass index; **M:** male; **F:** female; **PS:** performance status; **EH:** extra-hepatic; **FOLFOX:** oxaliplatin, leucovorin and 5-fluorouracil; **FOLFIRI:** irinotecan, leucovorin and 5-fluorouracil; **MIRS:** mid-infrared spectroscopy; **HR:** hazard ratio; **CI:** confidence interval.

iii. Objective response rate:

Overall response rates were available for all 108 patients. During follow-up, 74 (68.5%) patients achieved an objective response at best (**Table 4**). Patients from group A had a significantly lower bORR ($n = 13$, 52.0%) than in group B ($n = 61$, 73.5%) with $p = 0.04$. No complete response was observed in group A.

Table 4: Best objective response rates during study follow-up. * $p < 0.05$

	Global: n (%)	Group A: n (%)	Group B: n (%)	Comparison A vs B: p-value
Objective response rate	74 (68.5%)	13 (52.0%)	61 (73.5%)	0.043*
Complete Response	23 (21.3%)	0	23 (27.7%)	
Partial Response	51 (47.2%)	13 (52.0%)	38 (45.8%)	
Stable Disease	25 (23.2%)	10 (40.0%)	15 (18.1%)	
Progressive Disease	9 (8.33%)	2 (8.00%)	7 (8.43%)	

4. Bevacizumab safety profile:

BRAE were reported in 62 (57%) patients overall, including 45 (42%) and 17 (16%) with grades 1-2 and 3-4 respectively (**Table 5**). Patients from group A had significantly less grade 1-2 BRAE than in group B: 6 (24%) vs 39 (47%), $p = 0.041$. This difference was only observed for grade 1-2 hypertension: 2 (8.0%) vs 23 (28%), $p = 0.041$.

Table 5: Bevacizumab-related adverse events during study follow-up. * $p < 0.05$

Bevacizumab-related adverse events	Global: n (%)			Group A: n (%)			Group B: n (%)			Group A vs B: p-value		
	Any G	G 1-2	G 3-4	Any G	G 1-2	G 3-4	Any G	G 1-2	G 3-4	Any G	G 1-2	G 3-4
All	62 (57%)	45 (42%)	17 (16%)	11 (44%)	6 (24%)	5 (20%)	51 (61%)	39 (47%)	12 (14%)	0.122	0.041*	0.54
HTA	34 (32%)	25 (23%)	9 (8.3%)	5 (20%)	2 (8.0%)	3 (12%)	29 (35%)	23 (28%)	6 (7.2%)	0.16	0.041*	0.43
Epistaxis	28 (26%)	28 (26%)	0	3 (12.0)	3 (12.0%)	0	25 (30%)	25 (30%)	0	0.1	0.12	-
Proteinuria	13 (12%)	13 (12%)	0	5 (20%)	5 (20%)	0	8 (9.6%)	8 (9.6%)	0	0.17	0.17	-
Bleeding	8 (7.4%)	8 (7.4%)	0	1 (4.0%)	1 (4.0%)	0	7 (8.4%)	7 (8.4%)	0	0.6	0.68	-
Wound healing complications	6 (5.6%)	6 (5.6%)	0	1 (4.0%)	1 (4.0%)	0	5 (6.0%)	5 (6.0%)	0	1	1	-
TE events	5 (4.6%)	3 (2.7%)	2 (1.9%)	2 (8.0%)	2 (8.0%)	0	3 (3.6%)	1 (1.2%)	2 (2.4%)	1	0.41	1
Cerebral Isch	3 (2.8%)	0	3 (2.8%)	1 (4.0%)	0	1 (4.0%)	2 (2.4%)	0	2 (2.4%)	0.55	-	0.55
GI perforation	2 (1.9%)	0	2 (1.9%)	0	0	2 (2.4%)	0	0	2 (2.4%)	1	-	1
Cardiac Isch or insufficiency	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-

G: grades according to the CTCAE v4.02; HTA: hypertension; TE: thrombo-embolic; GI: gastro-intestinal; Isch: ischemia

IV. Discussion

Bevacizumab associated with chemotherapy is the recommended first-line treatment of mCRC [6]. Yet, a non negligible part of patients do not benefit from this strategy and has a reduced survival [7,8]. With a promising new technique of metabolomic fingerprinting, we have detected patients at significant risk of progression.

Until now, substantial efforts have been made to identify a bevacizumab prognostic biomarker but without changing our clinical practice [9,10]. Some biomarkers of tumoral aggressiveness and angiogenic potential have been well explored including LDH, CEA, VEGF-A and Ang-2 [23–26]. Yet, discording results categorising patients with heterogeneity in small retrospective studies with poor statistical impact explains the lack of clinical applicability. The complex landscape of all these studies confirms that prognostic evaluation of anti-angiogenic treatment cannot be done with a unique biomarker. Indeed, bevacizumab action mechanisms are not all elucidated [27] and angiogenesis is a complex machinery with an adaptative evolution soliciting diverse biological processes [28]. The combination strategy of associating a panel of biomarkers seems more appropriate [11,12, 29]. It is from this assumption that MIRS takes its interest.

Mid-infrared spectroscopy provides the metabolic fingerprint of an analysed sample [15,16]. Various neoplastic conditions have been explored by MIRS [15,30]. Most of these studies analysed tissular samples. Concerning CRC, MIRS is shown to be an interesting method for diagnosis, chemotherapy monitoring and evaluation of post-surgical relapse risk [31–33]. Yet, tissular analysis needs an invasive and restrictive endoscopic or surgical sampling. Compared to tissue analysis, biofluids require very few material and processing [16]. MIRS analysis of serum is a simple, rapid, reproducible, non-destructive, non-invasive metabolomic method at accessible cost and with a high sensitivity from few material quantity [15,17,34]. It therefore appears to be an ideal medical bedside tool with vast applicability. It has been evaluated for diagnosis and classifying different neoplasia including digestive cancers [35,36].

Results are encouraging and prospective trials are emerging [37]. Concerning CRC, only two studies from blood samples, including one on serum, have been published [38,39]. The method proves to be feasible and shows a 81% sensibility for early diagnostic but with a limited specificity of 71% [38]. Until now, no study has explored the prognostic potential of serum MIRS analysis in oncology. It is therefore a promising and insufficiently investigated method.

Our study is the first to explore the survival of patients treated in first-line by bevacizumab-based chemotherapy for mCRC with serum MIRS. We blindly dichotomised from baseline two groups of patients with significantly different survival patterns and baseline levels of tumour aggressiveness. They also had opposed PS and nutritional characteristics. The aim being to identify patients not benefiting from bevacizumab in order to optimise mCRC treatment, serum MIRS seems to be an interesting tool by distinguishing patients at significantly high risk of progression. Interestingly, more frequent grade 1-2 BRAE were reported in patients of better prognostic and tumoral response. Bevacizumab-induced hypertension has been correlated with survival in a recent meta-analysis [40]. This suggests a more bevacizumab-specific predictive potential for MIRS.

Spectral discrimination was established from 6 spectral variables. Since it is a pilot study, no comparison with previous results is possible. The asset of MIRS on serum is taking the global metabolomic into account and not only tissular tumoral activity. We have shown that patients with better survival have a richer lipid composition and an inversion of protein population. Variations on the 1100-1000 cm^{-1} spectral domain are less explicit. It was not possible to link these spectral bands with more precise biochemical elements. Yet, these spectral variables were correlated in a system composed of two groups, one of lipids and one of proteins/sugar. It is fundamental to emphasise that it is the network which structures the spectrum and its fluctuation which holds the prognostic information. The goal of this study is less to specifically identify biomarkers, than to pinpoint a prognostic metabolic fingerprint.

In spite of promising results, development of MIRS in clinical practice is limited by numerous obstacles. A major hurdle is the lack of reproducibility due to absence of standardisation procedures for sampling, storage and conditioning [30]. These are crucial steps since spectral analysis depends on the biological state of elements. In our study, sampling was centre dependent, storage was centralised and standardised, and conditioning was identically reproduced for each patient. Another obstacle is the lack of studies with sufficient statistical power [30,34]. Most of the studies evaluating serum MIRS are retrospective on small cohorts. Our study does not avoid this drawback. We also lacked clinical and biological data on patients, notably tumour laterality and molecular markers as *NRAS* mutations and microsatellite instability. Another limitation is the absence of a control group composed of patients treated by chemotherapy without bevacizumab. Yet, the feasibility of such group might have been ethically arguable.

V. Conclusion

Rapid non-invasive metabolomic fingerprinting is possible by MIRS on serum. This method identified patients at significantly high risk of progression in spite of first-line bevacizumab-based chemotherapy for mCRC. Taking into account this innovating work, MIRS on serum is a promising tool which applicability in clinical practice must be mentored. Large prospective trials are needed to evaluate in a standardised manner how MIRS can optimise mCRC treatment.

VI. Appendix:

Acknowledgments: Authors thank François Tranquart (R&D Pharmaceutical Diagnostics, General Electric Healthcare, Amersham, UK); Frédéric Patat, Catherine Roussel, Paul-Armand. Dujardin, A. Fourmy, Alexandra Fayault (INSERM CIC 1415, CHRU de Tours); Laurent Brunereau (Department of Radiology, University François Rabelais, Tours, France); Catherine Labbe-Devilliers (Department of Radiology, ICO René Gauducheau, Saint-Herblain, France); Olivier Lucidarme (Department of Radiology, Hôpital Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France); Jean- Pierre Tasu (Department of Radiology, CHU de Poitiers, France); Christophe Aubé (Department of Radiology, CHU d'Angers, France); Hervé Trillaud (Department of Diagnostic and Interventional Imaging, CHU de Bordeaux, France); Philippe Manzoni (Department of Radiology, CHRU de Besançon, France); and Claude Marcus (Department of Radiology, CHU de Reims, France).

Author contributions:

R.C: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Validation, Visualization, Writing - original draft

J.L., M.C.: Data curation, Resources, Writing - review & editing.

O.B., C.B., JY.D., S.M., E.T., O.C., SP.S., A.F.: Resources, Writing - review & editing

W.R.: Conceptualization, Formal analysis, Funding acquisition, Methodology, Writing - review & editing

M.G., O.H.: Writing - review & editing

C.P.: Formal analysis, Software, Writing - review & editing

O.S.: Conceptualization, Formal analysis, Investigation, Methodology, Software, Resources, Validation, Writing - review & editing

T.L.: Conceptualization, Funding acquisition, Investigation, Methodology, Project administration, Resources, Supervision, Validation, Writing - review & editing

Bibliographie : Références de la mise au point

- [1] Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;350:2335–42. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa032691>.
- [2] Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, Sobrero A, Van Krieken JH, Aderka D, et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2016;27:1386–422. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw235>.
- [3] Macedo LT, da Costa Lima AB, Sasse AD. Addition of bevacizumab to first-line chemotherapy in advanced colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis, with emphasis on chemotherapy subgroups. *BMC Cancer* 2012;12:89. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-89>.
- [4] Baraniskin A, Buchberger B, Pox C, Graeven U, Holch JW, Schmiegel W, et al. Efficacy of bevacizumab in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 2019;106:37–44. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.10.009>.
- [5] Montemagno C, Pagès G. Resistance to Anti-angiogenic Therapies: A Mechanism Depending on the Time of Exposure to the Drugs. *Front Cell Dev Biol* 2020;8:584. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00584>.
- [6] Itatani Y, Kawada K, Yamamoto T, Sakai Y. Resistance to Anti-Angiogenic Therapy in Cancer—Alterations to Anti-VEGF Pathway. *Int J Mol Sci* 2018;19. <https://doi.org/10.3390/ijms19041232>.
- [7] Loupakis F, Bria E, Vaccaro V, Cuppone F, Milella M, Carlini P, et al. Magnitude of benefit of the addition of bevacizumab to first-line chemotherapy for metastatic colorectal cancer: meta-analysis of randomized clinical trials. *J Exp Clin Cancer Res* 2010;29:58. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-29-58>.
- [8] Passardi A, Nanni O, Tassinari D, Turci D, Cavanna L, Fontana A, et al. Effectiveness of bevacizumab added to standard chemotherapy in metastatic colorectal cancer: final results for first-line treatment from the ITACa randomized clinical trial. *Ann Oncol* 2015;26:1201–7. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv130>.
- [9] Welch S, Spithoff K, Rumble RB, Maroun J, Gastrointestinal Cancer Disease Site Group. Bevacizumab combined with chemotherapy for patients with advanced colorectal cancer: a systematic review. *Ann Oncol* 2010;21:1152–62. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdp533>.
- [10] Sherman SK, Lange JJ, Dahdaleh FS, Rajeev R, Gamblin TC, Polite BN, et al. Cost-effectiveness of Maintenance Capecitabine and Bevacizumab for Metastatic Colorectal Cancer. *JAMA Oncol* 2019;5:236–42. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.5070>.
- [11] Lange A, Prenzler A, Frank M, Kirstein M, Vogel A, von der Schulenburg JM. A systematic review of cost-effectiveness of monoclonal antibodies for metastatic colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2014;50:40–9. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2013.08.008>.
- [12] Tappenden P, Jones R, Paisley S, Carroll C. The cost-effectiveness of bevacizumab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer in England and Wales. *Eur J Cancer* 2007;43:2487–94. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2007.08.017>.
- [13] Roviello G, Bachelot T, Hudis CA, Curigliano G, Reynolds AR, Petrioli R, et al. The role of bevacizumab in solid tumours: A literature based meta-analysis of randomised trials. *Eur J Cancer* 2017;75:245–58. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.01.026>.
- [14] Heinemann V, von Weikersthal LF, Decker T, Kiani A, Vehling-Kaiser U, Al-Batran S-E, et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line

- treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014;15:1065–75. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70330-4](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70330-4).
- [15] Venook AP, Niedzwiecki D, Lenz H-J, Innocenti F, Fruth B, Meyerhardt JA, et al. Effect of First-Line Chemotherapy Combined With Cetuximab or Bevacizumab on Overall Survival in Patients With KRAS Wild-Type Advanced or Metastatic Colorectal Cancer: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2017;317:2392–401. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.7105>.
 - [16] Oki E, Emi Y, Yamanaka T, Uetake H, Muro K, Takahashi T, et al. Randomised phase II trial of mFOLFOX6 plus bevacizumab versus mFOLFOX6 plus cetuximab as first-line treatment for colorectal liver metastasis (ATOM trial). *Br J Cancer* 2019;121:222–9. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0518-2>.
 - [17] Khattak MA, Martin H, Davidson A, Phillips M. Role of first-line anti-epidermal growth factor receptor therapy compared with anti-vascular endothelial growth factor therapy in advanced colorectal cancer: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Clin Colorectal Cancer* 2015;14:81–90. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2014.12.011>.
 - [18] Lièvre A, Bachet J-B, Le Corre D, Boige V, Landi B, Emile J-F, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res* 2006;66:3992–5. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-0191>.
 - [19] Holch JW, Ricard I, Stintzing S, Modest DP, Heinemann V. The relevance of primary tumour location in patients with metastatic colorectal cancer: A meta-analysis of first-line clinical trials. *Eur J Cancer* 2017;70:87–98. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2016.10.007>.
 - [20] Quidde J, Denne L, Kutscheidt A, Kindler M, Kirsch A, Kripp M, et al. Baseline and On-Treatment Markers Determining Prognosis of First-Line Chemotherapy in Combination with Bevacizumab in Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Oncol Res Treat* 2017;40:21–6. <https://doi.org/10.1159/000454774>.
 - [21] Bennouna J, Phelip J-M, André T, Asselain B, Sébastien Koné, Ducreux M. Observational Cohort Study of Patients With Metastatic Colorectal Cancer Initiating Chemotherapy in Combination With Bevacizumab (CONCERT). *Clinical Colorectal Cancer* 2017;16:129-140.e4. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2016.07.013>.
 - [22] Giessen C, Graeven U, Laubender RP, Modest DP, Schulz C, Porschen R, et al. Prognostic factors for 60-day mortality in first-line treatment of metastatic colorectal cancer (mCRC): individual patient analysis of four randomised, controlled trials by the AIO colorectal cancer study group. *Annals of Oncology* 2013;24:3051–5. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt402>.
 - [23] Mol L, Ottevanger PB, Koopman M, Punt CJA. The prognostic value of WHO performance status in relation to quality of life in advanced colorectal cancer patients. *European Journal of Cancer* 2016;66:138–43. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2016.07.013>.
 - [24] Lieu CH, Renfro LA, de Gramont A, Meyers JP, Maughan TS, Seymour MT, et al. Association of Age With Survival in Patients With Metastatic Colorectal Cancer: Analysis From the ARCAD Clinical Trials Program. *JCO* 2014;32:2975–82. <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.54.9329>.
 - [25] Quénéhervé L, Reboux N, Noël C, Robaszkiewicz M. Obesity and colorectal cancer. *Hépatogastro & Oncologie Digestive* 2021;28:46–53. <https://doi.org/10.1684/hpg.2020.2101>.
 - [26] Riondino S, Roselli M, Palmirotta R, Della-Morte D, Ferroni P, Guadagni F. Obesity and colorectal cancer: role of adipokines in tumor initiation and progression. *World J Gastroenterol* 2014;20:5177–90. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i18.5177>.
 - [27] Faruk Aykan N, Yildiz I, Sen F, Kilic L, Keskin S, Ciftci R, et al. Effect of increased body mass index (BMI) on time to tumour progression (TTP) in unresectable metastatic

- colorectal cancer (mCRC) patients treated with bevacizumab-based therapy. *Med Oncol* 2013;30:679. <https://doi.org/10.1007/s12032-013-0679-4>.
- [28] Artaç M, Korkmaz L, Coşkun HŞ, Dane F, Karabulut B, Karaağaç M, et al. Bevacuzimab May Be Less Effective in Obese Metastatic Colorectal Cancer Patients. *J Gastrointest Canc* 2019;50:214–20. <https://doi.org/10.1007/s12029-017-0047-2>.
- [29] Cybulska-Stopa B, Ługowska I, Wiśniowski R, Domagała-Haduch M, Rajczykowski M, Piejko K, et al. Overweight is associated with better prognosis in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab plus FOLFOX chemotherapy. *Wo* 2020;24:34–41. <https://doi.org/10.5114/wo.2020.94728>.
- [30] Aparicio T, Bouché O, Francois E, Retornaz F, Barbier E, Taieb J, et al. Geriatric analysis from PRODIGE 20 randomized phase II trial evaluating bevacizumab + chemotherapy versus chemotherapy alone in older patients with untreated metastatic colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2018;97:16–24. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.03.030>.
- [31] Renfro LA, Loupakis F, Adams RA, Seymour MT, Heinemann V, Schmoll H-J, et al. Body Mass Index Is Prognostic in Metastatic Colorectal Cancer: Pooled Analysis of Patients From First-Line Clinical Trials in the ARCAD Database. *J Clin Oncol* 2016;34:144–50. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.61.6441>.
- [32] ESMO. World GI 2015 Press Release: Patients with Lowest BMI Have Shortest Survival in Pooled Analysis of Bevacizumab in Metastatic Colorectal Cancer n.d. <https://www.esmo.org/newsroom/press-office/Patients-with-Lowest-BMI-Have-Shortest-Survival-in-Pooled-Analysis-of-Bevacizumab-in-Metastatic-Colorectal-Cancer> (accessed May 2, 2021).
- [33] Simkens LHJ, Koopman M, Mol L, Veldhuis GJ, Ten Bokkel Huinink D, Muller EW, et al. Influence of body mass index on outcome in advanced colorectal cancer patients receiving chemotherapy with or without targeted therapy. *Eur J Cancer* 2011;47:2560–7. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2011.06.038>.
- [34] Guiu B, Petit JM, Bonnetain F, Ladoire S, Guiu S, Cercueil J-P, et al. Visceral fat area is an independent predictive biomarker of outcome after first-line bevacizumab-based treatment in metastatic colorectal cancer. *Gut* 2010;59:341–7. <https://doi.org/10.1136/gut.2009.188946>.
- [35] Miyamoto Y, Oki E, Emi Y, Tokunaga S, Shimokawa M, Ogata Y, et al. Low Visceral Fat Content Is a Negative Predictive Marker for Bevacizumab in Metastatic Colorectal Cancer. *Anticancer Res* 2018;38:491–9. <https://doi.org/10.21873/anticancer.12249>.
- [36] Dolly A, Lecomte T, Bouché O, Borg C, Terrebbonne E, Douillard J-Y, et al. Concurrent losses of skeletal muscle mass, adipose tissue and bone mineral density during bevacizumab / cytotoxic chemotherapy treatment for metastatic colorectal cancer. *Clinical Nutrition* 2020;39:3319–30. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.02.017>.
- [37] Österlund P, Soveri L-M, Isoniemi H, Poussa T, Alanko T, Bono P. Hypertension and overall survival in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab-containing chemotherapy. *Br J Cancer* 2011;104:599–604. <https://doi.org/10.1038/bjc.2011.2>.
- [38] Mir O, Coriat R, Cabanes L, Ropert S, Billemont B, Alexandre J, et al. An Observational Study of Bevacizumab-Induced Hypertension as a Clinical Biomarker of Antitumor Activity. *The Oncologist* 2011;16:1325–32. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2010-0002>.
- [39] Nakaya A, Kurata T, Yokoi T, Iwamoto S, Torii Y, Katashiba Y, et al. Retrospective analysis of bevacizumab-induced hypertension and clinical outcome in patients with colorectal cancer and lung cancer. *Cancer Med* 2016;5:1381–7. <https://doi.org/10.1002/cam4.701>.
- [40] Cai J, Ma H, Huang F, Zhu D, Bi J, Ke Y, et al. Correlation of bevacizumab-induced hypertension and outcomes of metastatic colorectal cancer patients treated with

- bevacizumab: a systematic review and meta-analysis. *World J Surg Onc* 2013;11:306. <https://doi.org/10.1186/1477-7819-11-306>.
- [41] Chen C, Sun P, Ye S, Weng H-W, Dai Q-S. Hypertension as a predictive biomarker for efficacy of bevacizumab treatment in metastatic colorectal cancer: a meta-analysis. *J BUON* 2014;19:917–24.
 - [42] Zhang C-J, Zhang S-Y, Zhang C-D, Lin C-R, Li X-Y, Li Q-Y, et al. Usefulness of bevacizumab-induced hypertension in patients with metastatic colorectal cancer: an updated meta-analysis. *Aging* 2018;10:1424–41. <https://doi.org/10.18632/aging.101478>.
 - [43] Uysal M, Bozcuk H, Sezgin Göksu S, Murat Tatlı A, Arslan D, Gündüz S, et al. Basal proteinuria as a prognostic factor in patients with metastatic colorectal cancer treated with bevacizumab. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2014;68:409–12. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2014.03.002>.
 - [44] Feliu J, Salud A, Safont MJ, García-Girón C, Aparicio J, Losa F, et al. Correlation of hypertension and proteinuria with outcome in elderly bevacizumab-treated patients with metastatic colorectal cancer. *PLoS One* 2015;10:e0116527. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116527>.
 - [45] Bahl A, Talwar V, Sirohi B, Mehta P, Arya D, Shrivastava G, et al. Primary Tumor Location as a Prognostic and Predictive Marker in Metastatic Colorectal Cancer (mCRC). *Front Oncol* 2020;10:964. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00964>.
 - [46] Lenz H-J, Ou F-S, Venook AP, Hochster HS, Niedzwiecki D, Goldberg RM, et al. Impact of Consensus Molecular Subtype on Survival in Patients With Metastatic Colorectal Cancer: Results From CALGB/SWOG 80405 (Alliance). *JCO* 2019;37:1876–85. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.02258>.
 - [47] Huemer F, Thaler J, Piringer G, Hackl H, Pleyer L, Hufnagl C, et al. Sidedness and TP53 mutations impact OS in anti-EGFR but not anti-VEGF treated mCRC - an analysis of the KRAS registry of the AGMT (Arbeitsgemeinschaft Medikamentöse Tumortherapie). *BMC Cancer* 2018;18:11. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3955-4>.
 - [48] Ulivi P, Scarpi E, Chiadini E, Marisi G, Valgiusti M, Capelli L, et al. Right- vs. Left-Sided Metastatic Colorectal Cancer: Differences in Tumor Biology and Bevacizumab Efficacy. *IJMS* 2017;18:1240. <https://doi.org/10.3390/ijms18061240>.
 - [49] You X-H, Wen C, Xia Z-J, Sun F, Li Y, Wang W, et al. Primary Tumor Sidedness Predicts Bevacizumab Benefit in Metastatic Colorectal Cancer Patients. *Front Oncol* 2019;9:723. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00723>.
 - [50] Demircan N, Dane F, Ozturk MA, Babacan NA, Besiroglu M, Kaya S, et al. Assessment of survival and prognostic factors in metastatic colorectal cancer patients treated with first-line bevacizumab-based therapy. *J BUON* 2019;24:1494–500.
 - [51] Cao D, Zheng Y, Xu H, Ge W, Xu X. Bevacizumab improves survival in metastatic colorectal cancer patients with primary tumor resection: A meta-analysis. *Sci Rep* 2019;9:20326. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56528-2>.
 - [52] Clancy C, Burke JP, Barry M, Kalady MF, Calvin Coffey J. A meta-analysis to determine the effect of primary tumor resection for stage IV colorectal cancer with unresectable metastases on patient survival. *Ann Surg Oncol* 2014;21:3900–8. <https://doi.org/10.1245/s10434-014-3805-4>.
 - [53] Tarantino I, Warschkow R, Worni M, Cerny T, Ulrich A, Schmied BM, et al. Prognostic Relevance of Palliative Primary Tumor Removal in 37,793 Metastatic Colorectal Cancer Patients: A Population-Based, Propensity Score-Adjusted Trend Analysis. *Ann Surg* 2015;262:112–20. <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000000860>.
 - [54] Faron M, Pignon J-P, Malka D, Bourredjem A, Douillard J-Y, Adenis A, et al. Is primary tumour resection associated with survival improvement in patients with colorectal cancer and unresectable synchronous metastases? A pooled analysis of individual data from four randomised trials. *Eur J Cancer* 2015;51:166–76. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2014.10.023>.

- [55] Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med* 2015;21:1350–6. <https://doi.org/10.1038/nm.3967>.
- [56] Stintzing S, Wirapati P, Lenz H-J, Neureiter D, Fischer von Weikersthal L, Decker T, et al. Consensus molecular subgroups (CMS) of colorectal cancer (CRC) and first-line efficacy of FOLFIRI plus cetuximab or bevacizumab in the FIRE3 (AIO KRK-0306) trial. *Annals of Oncology* 2019;30:1796–803. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz387>.
- [57] Mooi JK, Wirapati P, Asher R, Lee CK, Savas P, Price TJ, et al. The prognostic impact of consensus molecular subtypes (CMS) and its predictive effects for bevacizumab benefit in metastatic colorectal cancer: molecular analysis of the AGITG MAX clinical trial. *Annals of Oncology* 2018;29:2240–6. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy410>.
- [58] Formica V, Massara MC, Portarena I, Fiaschetti V, Grenga I, Del Vecchio Blanco G, et al. Role of CA19.9 in predicting bevacizumab efficacy for metastatic colorectal cancer patients. *CBM* 2009;5:167–75. <https://doi.org/10.3233/CBM-2009-0101>.
- [59] Jürgensmeier JM, Schmoll H-J, Robertson JD, Brooks L, Taboada M, Morgan SR, et al. Prognostic and predictive value of VEGF, sVEGFR-2 and CEA in mCRC studies comparing cediranib, bevacizumab and chemotherapy. *Br J Cancer* 2013;108:1316–23. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.79>.
- [60] Prager GW, Braemswig KH, Martel A, Unseld M, Heinze G, Brodowicz T, et al. Baseline carcinoembryonic antigen (CEA) serum levels predict bevacizumab-based treatment response in metastatic colorectal cancer. *Cancer Sci* 2014;105:996–1001. <https://doi.org/10.1111/cas.12451>.
- [61] Holch JW, Ricard I, Stintzing S, Fischer von Weikersthal L, Decker T, Kiani A, et al. Relevance of baseline carcinoembryonic antigen for first-line treatment against metastatic colorectal cancer with FOLFIRI plus cetuximab or bevacizumab (FIRE-3 trial). *European Journal of Cancer* 2019;106:115–25. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.10.001>.
- [62] Ghiringhelli F, Vincent J, Guiu B, Chauffert B, Ladoire S. Bevacizumab plus FOLFIRI-3 in chemotherapy-refractory patients with metastatic colorectal cancer in the era of biotherapies. *Invest New Drugs* 2012;30:758–64. <https://doi.org/10.1007/s10637-010-9575-3>.
- [63] Petrioli R, Licchetta A, Roviello G, Pascucci A, Francini E, Bargagli G, et al. CEA and CA19.9 as Early Predictors of Progression in Advanced/Metastatic Colorectal Cancer Patients Receiving Oxaliplatin-Based Chemotherapy and Bevacizumab. *Cancer Investigation* 2012;30:65–71. <https://doi.org/10.3109/07357907.2011.629380>.
- [64] Wei Y, Xu H, Dai J, Peng J, Wang W, Xia L, et al. Prognostic Significance of Serum Lactic Acid, Lactate Dehydrogenase, and Albumin Levels in Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Biomed Res Int* 2018;2018:1804086. <https://doi.org/10.1155/2018/1804086>.
- [65] Scartozzi M, Giampieri R, Maccaroni E, Del Prete M, Faloppi L, Bianconi M, et al. Pre-treatment lactate dehydrogenase levels as predictor of efficacy of first-line bevacizumab-based therapy in metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2012;106:799–804. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.17>.
- [66] Passardi A, Scarpi E, Tamberi S, Cavanna L, Tassinari D, Fontana A, et al. Impact of Pre-Treatment Lactate Dehydrogenase Levels on Prognosis and Bevacizumab Efficacy in Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *PLoS ONE* 2015;10:e0134732. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134732>.
- [67] Marmorino F, Salvatore L, Barbara C, Allegrini G, Antonuzzo L, Masi G, et al. Serum LDH predicts benefit from bevacizumab beyond progression in metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2017;116:318–23. <https://doi.org/10.1038/bjc.2016.413>.
- [68] Petrelli F, Coinu A, Cabiddu M, Borgonovo K, Lonati V, Ghilardi M, et al. Prognostic factors for survival with bevacizumab-based therapy in colorectal cancer patients: a

- systematic review and pooled analysis of 11,585 patients. *Med Oncol* 2015;32:15. <https://doi.org/10.1007/s12032-014-0456-z>.
- [69] Giampieri R, Puzzoni M, Daniele B, Ferrari D, Lonardi S, Zaniboni A, et al. First-line FOLFIRI and bevacizumab in patients with advanced colorectal cancer prospectively stratified according to serum LDH: final results of the GISCAD (Italian Group for the Study of Digestive Tract Cancers) CENTRAL (ColorEctalavastiNTRiAlLdh) trial. *Br J Cancer* 2017;117:1099–104. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.234>.
 - [70] Jubb AM, Hurwitz HI, Bai W, Holmgren EB, Tobin P, Guerrero AS, et al. Impact of Vascular Endothelial Growth Factor-A Expression, Thrombospondin-2 Expression, and Microvessel Density on the Treatment Effect of Bevacizumab in Metastatic Colorectal Cancer. *JCO* 2006;24:217–27. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.01.5388>.
 - [71] Tsai H-L, Lin C-H, Huang C-W, Yang I-P, Yeh Y-S, Hsu W-H, et al. Decreased peritherapeutic VEGF expression could be a predictor of responsiveness to first-line FOLFIRI plus bevacizumab in mCRC patients. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8:1900–10.
 - [72] Azzariti A, Porcelli L, Brunetti O, Del Re M, Longo V, Nardulli P, et al. Total and not bevacizumab-bound vascular endothelial growth factor as potential predictive factors to bevacizumab-based chemotherapy in colorectal cancer. *WJG* 2016;22:6287. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i27.6287>.
 - [73] Liu Z, Zhang Y, Niu Y, Li K, Liu X, Chen H, et al. A Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic and Prognostic Serum Biomarkers of Colorectal Cancer. *PLoS ONE* 2014;9:e103910. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103910>.
 - [74] Zhao L, Zhang D, Ma H, Jin M, Huang F, Zhang T. High VEGF-A level at baseline predicts poor treatment effect of bevacizumab-based chemotherapy in metastatic colorectal cancer: a meta-analysis. *Panminerva Med* 2016;58:48–58.
 - [75] Bruhn MA, Townsend AR, Khoon Lee C, Shivasami A, Price TJ, Wrin J, et al. Proangiogenic tumor proteins as potential predictive or prognostic biomarkers for bevacizumab therapy in metastatic colorectal cancer: Proangiogenic Proteins and Bevacizumab Therapy in mCRC. *Int J Cancer* 2014;135:731–41. <https://doi.org/10.1002/ijc.28698>.
 - [76] Marisi G, Scarpi E, Passardi A, Nanni O, Ragazzini A, Valgiusti M, et al. Circulating VEGF and eNOS variations as predictors of outcome in metastatic colorectal cancer patients receiving bevacizumab. *Sci Rep* 2017;7:1293. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01420-0>.
 - [77] Weickhardt AJ, Williams DS, Lee CK, Chionh F, Simes J, Murone C, et al. Vascular endothelial growth factor D expression is a potential biomarker of bevacizumab benefit in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2015;113:37–45. <https://doi.org/10.1038/bjc.2015.209>.
 - [78] Bates DO, Catalano PJ, Symonds KE, Varey AHR, Ramani P, O'Dwyer PJ, et al. Association between VEGF Splice Isoforms and Progression-Free Survival in Metastatic Colorectal Cancer Patients Treated with Bevacizumab. *Clin Cancer Res* 2012;18:6384–91. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-2223>.
 - [79] Pentheroudakis G, Mavroeidis L, Papadopoulou K, Koliou G-A, Bamia C, Chatzopoulos K, et al. Angiogenic and Antiangiogenic VEGFA Splice Variants in Colorectal Cancer: Prospective Retrospective Cohort Study in Patients Treated With Irinotecan-Based Chemotherapy and Bevacizumab. *Clinical Colorectal Cancer* 2019;18:e370–84. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2019.07.007>.
 - [80] Aoyagi Y, Iinuma H, Horiuchi A, Shimada R, Watanabe T. Association of plasma VEGF-A, soluble VEGFR-1 and VEGFR-2 levels and clinical response and survival in advanced colorectal cancer patients receiving bevacizumab with modified FOLFOX6. *Oncology Letters* 2010;1:253–9. https://doi.org/10.3892/ol_000000045.
 - [81] Saharinen P, Eklund L, Alitalo K. Therapeutic targeting of the angiopoietin–TIE pathway. *Nat Rev Drug Discov* 2017;16:635–61. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.278>.

- [82] Goede V, Coutelle O, Neuneier J, Reinacher-Schick A, Schnell R, Koslowsky TC, et al. Identification of serum angiopoietin-2 as a biomarker for clinical outcome of colorectal cancer patients treated with bevacizumab-containing therapy. *Br J Cancer* 2010;103:1407–14. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605925>.
- [83] Munakata S, Ueyama T, Ishihara H, Komiyama H, Tsukamoto R, Kawai M, et al. Angiopoietin-2 as a Prognostic Factor in Patients with Incurable Stage IV Colorectal Cancer. *J Gastrointest Canc* 2021;52:237–42. <https://doi.org/10.1007/s12029-020-00392-1>.
- [84] Jary M, Vernerey D, Lecomte T, Dobi E, Ghiringhelli F, Monnien F, et al. Prognostic Value of Angiopoietin-2 for Death Risk Stratification in Patients with Metastatic Colorectal Carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2015;24:603–12. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-14-1059>.
- [85] Jayson GC, Zhou C, Backen A, Horsley L, Marti-Marti K, Shaw D, et al. Plasma Tie2 is a tumor vascular response biomarker for VEGF inhibitors in metastatic colorectal cancer. *Nat Commun* 2018;9:4672. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07174-1>.
- [86] Paiva TF, de Jesus VHF, Marques RA, da Costa AABA, de Macedo MP, Peresi PM, et al. Angiogenesis-related protein expression in bevacizumab-treated metastatic colorectal cancer: NOTCH1 detrimental to overall survival. *BMC Cancer* 2015;15:643. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1648-4>.
- [87] Hanna DL, Loupakis F, Yang D, Cremolini C, Schirripa M, Li M, et al. Prognostic Value of ACVRL1 Expression in Metastatic Colorectal Cancer Patients Receiving First-line Chemotherapy With Bevacizumab: Results From the Triplet Plus Bevacizumab (TRIBE) Study. *Clinical Colorectal Cancer* 2018;17:e471–88. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2018.03.006>.
- [88] Marisi G, Scarpi E, Passardi A, Nanni O, Ragazzini A, Valgiusti M, et al. Circulating VEGF and eNOS variations as predictors of outcome in metastatic colorectal cancer patients receiving bevacizumab. *Sci Rep* 2017;7:1293. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01420-0>.
- [89] Guijarro-Muñoz I, Sánchez A, Martínez-Martínez E, García JM, Salas C, Provencio M, et al. Gene expression profiling identifies EPHB4 as a potential predictive biomarker in colorectal cancer patients treated with bevacizumab. *Med Oncol* 2013;30:572. <https://doi.org/10.1007/s12032-013-0572-1>.
- [90] Iorio J, Lastraioli E, Tofani L, Petroni G, Antonuzzo L, Messerini L, et al. hERG1 and HIF-2 α Behave as Biomarkers of Positive Response to Bevacizumab in Metastatic Colorectal Cancer Patients. *Translational Oncology* 2020;13:100740. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.01.001>.
- [91] Zuurbier L, Rahman A, Cordes M, Scheick J, Wong TJ, Rustenburg F, et al. Apelin: A putative novel predictive biomarker for bevacizumab response in colorectal cancer. *Oncotarget* 2017;8:42949–61. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17306>.
- [92] Artaç M, Uysal M, Karaağaç M, Korkmaz L, Er Z, Güler T, et al. Prognostic Impact of Neutrophil/Lymphocyte Ratio, Platelet Count, CRP, and Albumin Levels in Metastatic Colorectal Cancer Patients Treated with FOLFIRI-Bevacizumab. *J Gastrointest Canc* 2017;48:176–80. <https://doi.org/10.1007/s12029-016-9879-4>.
- [93] Gardini AC, Carloni S, Scarpi E, Maltoni P, Dorizzi RM, Passardi A, et al. Prognostic role of serum concentrations of high-sensitivity C-reactive protein in patients with metastatic colorectal cancer: results from the ITACa trial. *Oncotarget* 2016;7:10193–202. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7166>.
- [94] Maillet M, Dréanic J, Dhooze M, Mir O, Brezault C, Goldwasser F, et al. The predictive and prognostic value of the Glasgow Prognostic Score in metastatic colorectal carcinoma patients receiving bevacizumab. *Anti-Cancer Drugs* 2014;25:1215–9. <https://doi.org/10.1097/CAD.000000000000129>.

- [95] Huang Y, Li W, Quan Q, Zhang B, Yang Q. Glasgow Prognostic Score as a Predictor of Bevacizumab Efficacy in the First-line Treatment with Metastatic Colorectal Cancer. *J Cancer* 2019;10:6858–64. <https://doi.org/10.7150/jca.31182>.
- [96] Hara M, Nagasaki T, Shiga K, Takahashi H, Takeyama H. High serum levels of interleukin-6 in patients with advanced or metastatic colorectal cancer: the effect on the outcome and the response to chemotherapy plus bevacizumab. *Surg Today* 2017;47:483–9. <https://doi.org/10.1007/s00595-016-1404-7>.
- [97] Kopetz S, Hoff PM, Morris JS, Wolff RA, Eng C, Glover KY, et al. Phase II Trial of Infusional Fluorouracil, Irinotecan, and Bevacizumab for Metastatic Colorectal Cancer: Efficacy and Circulating Angiogenic Biomarkers Associated With Therapeutic Resistance. *JCO* 2010;28:453–9. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.24.8252>.
- [98] Yamamoto Y, Okamoto W, Makiyama A, Shitara K, Denda T, Ogura T, et al. Plasma ICAM-1 (pICAM-1) and plasma IL-8 (pIL-8) level as biomarker of metastatic colorectal cancer patients (mCRC) treated with mFOLFOX6/XELOX plus bevacizumab (BV) (WJOG7612GTR). *JCO* 2018;36:670–670. https://doi.org/10.1200/JCO.2018.36.4_suppl.670.
- [99] Jary M, Lecomte T, Bouché O, Kim S, Dobi E, Queiroz L, et al. Prognostic value of baseline seric Syndecan-1 in initially unresectable metastatic colorectal cancer patients: a simple biological score: Prognostic value of baseline seric Syndecan-1. *Int J Cancer* 2016;139:2325–35. <https://doi.org/10.1002/ijc.30367>.
- [100] Nissen NI, Kehlet S, Boisen MK, Liljefors M, Jensen C, Johansen AZ, et al. Prognostic value of blood-based fibrosis biomarkers in patients with metastatic colorectal cancer receiving chemotherapy and bevacizumab. *Sci Rep* 2021;11:865. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79608-0>.
- [101] Martin P, Noonan S, Mullen MP, Scaife C, Tosetto M, Nolan B, et al. Predicting response to vascular endothelial growth factor inhibitor and chemotherapy in metastatic colorectal cancer. *BMC Cancer* 2014;14:887. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-887>.
- [102] Abajo A, Boni V, Lopez I, Gonzalez-Huarriz M, Bitarte N, Rodriguez J, et al. Identification of predictive circulating biomarkers of bevacizumab-containing regimen efficacy in pre-treated metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2012;107:287–90. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.242>.
- [103] Bai L, Wang F, Zhang D, Li C, Jin Y, Wang D, et al. A plasma cytokine and angiogenic factor (CAF) analysis for selection of bevacizumab therapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Sci Rep* 2015;5:17717. <https://doi.org/10.1038/srep17717>.
- [104] Noonan SA, Morrissey ME, Martin P, Biniacka M, O'Meachair S, Maguire A, et al. Tumour vasculature immaturity, oxidative damage and systemic inflammation stratify survival of colorectal cancer patients on bevacizumab treatment. *Oncotarget* 2018;9:10536–48. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24276>.
- [105] De Palma M, Biziato D, Petrova TV. Microenvironmental regulation of tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer* 2017;17:457–74. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.51>.
- [106] Formica V, Luccchetti J, Cunningham D, Smyth EC, Ferroni P, Nardecchia A, et al. Systemic inflammation, as measured by the neutrophil/lymphocyte ratio, may have differential prognostic impact before and during treatment with fluorouracil, irinotecan and bevacizumab in metastatic colorectal cancer patients. *Med Oncol* 2014;31:166. <https://doi.org/10.1007/s12032-014-0166-6>.
- [107] Dirican A, Varol U, Kucukzeybek Y, Alacacioglu A, Erten C, Somali I, et al. Treatment of metastatic colorectal cancer with or without bevacizumab: can the neutrophil/lymphocyte ratio predict the efficiency of bevacizumab? *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:4781–6. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.12.4781>.
- [108] Dogan E, Bozkurt O, Sakalar T, Derin S, Inanc M, Ozkan M. Impact of neutrophil-lymphocyte and platelet-lymphocyte ratio on antiEGFR and bevacizumab efficacy in metastatic colorectal cancer. *J BUON* 2019;24:1861–9.

- [109] Clarke SJ, Burge M, Feeney K, Gibbs P, Jones K, Marx G, et al. The prognostic role of inflammatory markers in patients with metastatic colorectal cancer treated with bevacizumab: A translational study [ASCENT]. PLoS ONE 2020;15:e0229900. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229900>.
- [110] Casadei Gardini A, Scarpi E, Valgiusti M, Monti M, Ruscelli S, Matteucci L, et al. Prognostic role of a new index (multi inflammatory index) in patients with metastatic colorectal cancer: results from the randomized ITACa trial. Ther Adv Med Oncol 2020;12:175883592095836. <https://doi.org/10.1177/1758835920958363>.
- [111] Dost Gunay FS, Kırmızı BA, Ensari A, İcli F, Akbulut H. Tumor-associated Macrophages and Neuroendocrine Differentiation Decrease the Efficacy of Bevacizumab Plus Chemotherapy in Patients With Advanced Colorectal Cancer. Clinical Colorectal Cancer 2019;18:e244–50. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2018.12.004>.
- [112] Bencsikova B, Budinska E, Selingerova I, Pilatova K, Fedorova L, Greplova K, et al. Circulating T cell subsets are associated with clinical outcome of anti-VEGF-based 1st-line treatment of metastatic colorectal cancer patients: a prospective study with focus on primary tumor sidedness. BMC Cancer 2019;19:687. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5909-5>.
- [113] Ronzoni M, Manzoni M, Mariucci S, Loupakakis F, Brugnatelli S, Bencardino K, et al. Circulating endothelial cells and endothelial progenitors as predictive markers of clinical response to bevacizumab-based first-line treatment in advanced colorectal cancer patients. Annals of Oncology 2010;21:2382–9. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdq261>.
- [114] Pohl M, Werner N, Munding J, Tannapfel A, Graeven U, Nickenig G, et al. Biomarkers of Anti-Angiogenic Therapy in Metastatic Colorectal Cancer (mCRC): Original Data and Review of the Literature. Z Gastroenterol 2011;49:1398–406. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1281752>.
- [115] Matsusaka S, Mishima Y, Suenaga M, Terui Y, Kuniyoshi R, Mizunuma N, et al. Circulating endothelial progenitors and CXCR4-positive circulating endothelial cells are predictive markers for bevacizumab. Cancer 2011;117:4026–32. <https://doi.org/10.1002/cncr.25977>.
- [116] Malka D, Boige V, Jacques N, Vimond N, Adenis A, Boucher E, et al. Clinical value of circulating endothelial cell levels in metastatic colorectal cancer patients treated with first-line chemotherapy and bevacizumab. Annals of Oncology 2012;23:919–27. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdr365>.
- [117] Petrelli F, Coinu A, Cabiddu M, Ghilardi M, Barni S. KRAS as prognostic biomarker in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab: a pooled analysis of 12 published trials. Med Oncol 2013;30:650. <https://doi.org/10.1007/s12032-013-0650-4>.
- [118] Díaz-Rubio E, Gómez-España A, Massutí B, Sastre J, Reboredo M, Manzano JL, et al. Role of Kras status in patients with metastatic colorectal cancer receiving first-line chemotherapy plus bevacizumab: a TTD group cooperative study. PLoS One 2012;7:e47345. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047345>.
- [119] Ince WL, Jubb AM, Holden SN, Holmgren EB, Tobin P, Sridhar M, et al. Association of k-ras, b-raf, and p53 Status With the Treatment Effect of Bevacizumab. JNCI: Journal of the National Cancer Institute 2005;97:981–9. <https://doi.org/10.1093/jnci/dji174>.
- [120] Hurwitz HI, Yi J, Ince W, Novotny WF, Rosen O. The Clinical Benefit of Bevacizumab in Metastatic Colorectal Cancer Is Independent of K- *ras* Mutation Status: Analysis of a Phase III Study of Bevacizumab with Chemotherapy in Previously Untreated Metastatic Colorectal Cancer. The Oncol 2009;14:22–8. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2008-0213>.
- [121] Price TJ, Hardingham JE, Lee CK, Weickhardt A, Townsend AR, Wrin JW, et al. Impact of *KRAS* and *BRAF* Gene Mutation Status on Outcomes From the Phase III AGITG MAX Trial of Capecitabine Alone or in Combination With Bevacizumab and Mitomycin in

- Advanced Colorectal Cancer. JCO 2011;29:2675–82. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.34.5520>.
- [122] Kubicka S, Greil R, André T, Bennouna J, Sastre J, Van Cutsem E, et al. Bevacizumab plus chemotherapy continued beyond first progression in patients with metastatic colorectal cancer previously treated with bevacizumab plus chemotherapy: ML18147 study KRAS subgroup findings. *Annals of Oncology* 2013;24:2342–9. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt231>.
- [123] Stintzing S, Miller-Phillips L, Modest DP, Fischer von Weikersthal L, Decker T, Kiani A, et al. Impact of BRAF and RAS mutations on first-line efficacy of FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab: analysis of the FIRE-3 (AIO KRK-0306) study. *European Journal of Cancer* 2017;79:50–60. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.03.023>.
- [124] Innocenti F, Ou F-S, Qu X, Zemla TJ, Niedzwiecki D, Tam R, et al. Mutational Analysis of Patients With Colorectal Cancer in CALGB/SWOG 80405 Identifies New Roles of Microsatellite Instability and Tumor Mutational Burden for Patient Outcome. *JCO* 2019;37:1217–27. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.01798>.
- [125] Sun D, Shi Y, Wang Y, Lv Y, Yan H, Mao H, et al. KRAS mutation and primary tumor location do not affect efficacy of bevacizumab-containing chemotherapy in stage IV colorectal cancer patients. *Sci Rep* 2017;7:14368. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14669-2>.
- [126] Nakayama I, Shinozaki E, Matsushima T, Wakatsuki T, Ogura M, Ichimura T, et al. Retrospective study of RAS/PIK3CA/BRAF tumor mutations as predictors of response to first-line chemotherapy with bevacizumab in metastatic colorectal cancer patients. *BMC Cancer* 2017;17:38. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2994-6>.
- [127] Bruera G, Cannita K, Tessitore A, Russo A, Alesse E, Ficorella C, et al. The prevalent KRAS exon 2 c.35 G>A mutation in metastatic colorectal cancer patients: A biomarker of worse prognosis and potential benefit of bevacizumab-containing intensive regimens? *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2015;93:190–202. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2014.10.004>.
- [128] Caputo, Santini, Bardasi, Cerma, Casadei-Gardini, Spallanzani, et al. BRAF-Mutated Colorectal Cancer: Clinical and Molecular Insights. *IJMS* 2019;20:5369. <https://doi.org/10.3390/ijms20215369>.
- [129] Cremolini C, Antoniotti C, Stein A, Bendell J, Gruenberger T, Rossini D, et al. Individual Patient Data Meta-Analysis of FOLFOXIRI Plus Bevacizumab Versus Doublets Plus Bevacizumab as Initial Therapy of Unresectable Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol* 2020;JCO2001225. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.01225>.
- [130] Price TJ, Hardingham JE, Lee CK, Townsend AR, Wrin JW, Wilson K, et al. Prognostic impact and the relevance of PTEN copy number alterations in patients with advanced colorectal cancer (CRC) receiving bevacizumab. *Cancer Med* 2013;2:277–85. <https://doi.org/10.1002/cam4.75>.
- [131] Sclafani F, Rimassa L, Colombo P, Destro A, Stinco S, Lutman FR, et al. An exploratory biomarker study in metastatic tumors from colorectal cancer patients treated with bevacizumab. *Int J Biol Markers* 2015;30:73–80. <https://doi.org/10.5301/ijbm.5000097>.
- [132] Hsu H-C, You J-F, Chen S-J, Chen H-C, Yeh C-Y, Tsai W-S, et al. TP53 DNA Binding Domain Mutations Predict Progression-Free Survival of Bevacizumab Therapy in Metastatic Colorectal Cancer. *Cancers* 2019;11:1079. <https://doi.org/10.3390/cancers11081079>.
- [133] Hsu H-C, Lapke N, Chen S-J, Lu Y-J, Jhou R-S, Yeh C-Y, et al. PTPRT and PTPRD Deleterious Mutations and Deletion Predict Bevacizumab Resistance in Metastatic Colorectal Cancer Patients. *Cancers* 2018;10:314. <https://doi.org/10.3390/cancers10090314>.

- [134] Smeets D, Miller IS, O'Connor DP, Das S, Moran B, Boeckx B, et al. Copy number load predicts outcome of metastatic colorectal cancer patients receiving bevacizumab combination therapy. *Nat Commun* 2018;9:4112. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06567-6>.
- [135] Haan JC, Labots M, Rausch C, Koopman M, Tol J, Mekenkamp LJM, et al. Genomic landscape of metastatic colorectal cancer. *Nat Commun* 2014;5:5457. <https://doi.org/10.1038/ncomms6457>.
- [136] van Dijk E, Biesma HD, Cordes M, Smeets D, Neerincx M, Das S, et al. Loss of Chromosome 18q11.2-q12.1 Is Predictive for Survival in Patients With Metastatic Colorectal Cancer Treated With Bevacizumab. *JCO* 2018;36:2052–60. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.77.1782>.
- [137] Drusco A, Croce CM. MicroRNAs and Cancer: A Long Story for Short RNAs. *Adv Cancer Res* 2017;135:1–24. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2017.06.005>.
- [138] Wang S, Aurora AB, Johnson BA, Qi X, McAnally J, Hill JA, et al. The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis. *Dev Cell* 2008;15:261–71. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2008.07.002>.
- [139] Hansen TF, Christensen R dP, Andersen RF, Sørensen FB, Johnsson A, Jakobsen A. MicroRNA-126 and epidermal growth factor-like domain 7—an angiogenic couple of importance in metastatic colorectal cancer. Results from the Nordic ACT trial. *Br J Cancer* 2013;109:1243–51. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.448>.
- [140] Hansen TF, Carlsen AL, Heegaard NHH, Sørensen FB, Jakobsen A. Changes in circulating microRNA-126 during treatment with chemotherapy and bevacizumab predicts treatment response in patients with metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2015;112:624–9. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.652>.
- [141] Hansen TF, Christensen R dP, Andersen RF, Sørensen FB, Johnsson A, Jakobsen A. MicroRNA-126 and epidermal growth factor-like domain 7—an angiogenic couple of importance in metastatic colorectal cancer. Results from the Nordic ACT trial. *Br J Cancer* 2013;109:1243–51. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.448>.
- [142] Hansen TF, Carlsen AL, Heegaard NHH, Sørensen FB, Jakobsen A. Changes in circulating microRNA-126 during treatment with chemotherapy and bevacizumab predicts treatment response in patients with metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2015;112:624–9. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.652>.
- [143] Boisen MK, Dehlendorff C, Linnemann D, Nielsen BS, Larsen JS, Østerlind K, et al. Tissue MicroRNAs as Predictors of Outcome in Patients with Metastatic Colorectal Cancer Treated with First Line Capecitabine and Oxaliplatin with or without Bevacizumab. *PLoS ONE* 2014;9:e109430. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109430>.
- [144] Ulivi P, Canale M, Passardi A, Marisi G, Valgiusti M, Frassinetti GL, et al. Circulating Plasma Levels of miR-20b, miR-29b and miR-155 as Predictors of Bevacizumab Efficacy in Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci* 2018;19. <https://doi.org/10.3390/ijms19010307>.
- [145] Li Y, Cai B, Shen L, Dong Y, Lu Q, Sun S, et al. MiRNA-29b suppresses tumor growth through simultaneously inhibiting angiogenesis and tumorigenesis by targeting Akt3. *Cancer Lett* 2017;397:111–9. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.03.032>.
- [146] Wong P-F, Jamal J, Tong K-L, Khor E-S, Yeap C-E, Jong H-L, et al. Deregulation of hsa-miR-20b expression in TNF- α -induced premature senescence of human pulmonary microvascular endothelial cells. *Microvasc Res* 2017;114:26–33. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2017.06.002>.
- [147] Yang D, Wang J, Xiao M, Zhou T, Shi X. Role of Mir-155 in Controlling HIF-1 α Level and Promoting Endothelial Cell Maturation. *Sci Rep* 2016;6:35316. <https://doi.org/10.1038/srep35316>.

- [148] Kiss I, Mlčochová J, Součková K, Fabian P, Poprach A, Halamkova J, et al. MicroRNAs as outcome predictors in patients with metastatic colorectal cancer treated with bevacizumab in combination with FOLFOX. *Oncol Lett* 2017;14:743–50. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6255>.
- [149] Laurent-Puig P, Grisoni M-L, Heinemann V, Liebaert F, Neureiter D, Jung A, et al. Validation of miR-31-3p Expression to Predict Cetuximab Efficacy When Used as First-Line Treatment in *RAS* Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer. *Clin Cancer Res* 2019;25:134–41. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-1324>.
- [150] de Miguel Pérez D, Rodríguez Martínez A, Ortigosa Palomo A, Delgado Ureña M, Garcia Puche JL, Robles Remacho A, et al. Extracellular vesicle-miRNAs as liquid biopsy biomarkers for disease identification and prognosis in metastatic colorectal cancer patients. *Sci Rep* 2020;10:3974. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60212-1>.
- [151] Song J, Ouyang Y, Che J, Li X, Zhao Y, Yang K, et al. Potential Value of miR-221/222 as Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Biomarkers for Diseases. *Front Immunol* 2017;8:56. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00056>.
- [152] Vincenzi B, Zoccoli A, Schiavon G, Iuliani M, Pantano F, Dell'Aquila E, et al. Dicer and Drosha expression and response to Bevacizumab-based therapy in advanced colorectal cancer patients. *European Journal of Cancer* 2013;49:1501–8. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.11.014>.
- [153] Contarelli S, Fedele V, Melisi D. HOX Genes Family and Cancer: A Novel Role for Homeobox B9 in the Resistance to Anti-Angiogenic Therapies. *Cancers (Basel)* 2020;12. <https://doi.org/10.3390/cancers12113299>.
- [154] Carbone C, Piro G, Simionato F, Ligorio F, Cremolini C, Loupakakis F, et al. Homeobox B9 Mediates Resistance to Anti-VEGF Therapy in Colorectal Cancer Patients. *Clin Cancer Res* 2017;23:4312–22. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-3153>.
- [155] Loupakakis F, Ruzzo A, Salvatore L, Cremolini C, Masi G, Frumento P, et al. Retrospective exploratory analysis of VEGF polymorphisms in the prediction of benefit from first-line FOLFIRI plus bevacizumab in metastatic colorectal cancer. *BMC Cancer* 2011;11:247. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-11-247>.
- [156] Loupakakis F, Cremolini C, Yang D, Salvatore L, Zhang W, Wakatsuki T, et al. Prospective Validation of Candidate SNPs of VEGF/VEGFR Pathway in Metastatic Colorectal Cancer Patients Treated with First-Line FOLFIRI Plus Bevacizumab. *PLoS ONE* 2013;8:e66774. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066774>.
- [157] Sohn BS, Park SJ, Kim JE, Kim K, Hong YS, Suh C, et al. Single-Nucleotide Polymorphisms in the Vascular Endothelial Growth Factor Pathway and Outcomes of Patients Treated with First-Line Cytotoxic Chemotherapy Combined with Bevacizumab for Advanced Colorectal Cancer. *Oncology* 2014;87:280–92. <https://doi.org/10.1159/000365593>.
- [158] Koutras AK, Antonacopoulou AG, Eleftheraki AG, Dimitrakopoulos F-I, Koumarianou A, Varthalitis I, et al. Vascular endothelial growth factor polymorphisms and clinical outcome in colorectal cancer patients treated with irinotecan-based chemotherapy and bevacizumab. *Pharmacogenomics J* 2012;12:468–75. <https://doi.org/10.1038/tpj.2011.37>.
- [159] Bécouarn Y, Cany L, Pulido M, Beyssac R, Texereau P, Le Morvan V, et al. FOLFIRI® and Bevacizumab in first-line treatment for colorectal cancer patients: safety, efficacy and genetic polymorphisms. *BMC Res Notes* 2014;7:260. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-260>.
- [160] Formica V, Palmirotta R, Del Monte G, Savonarola A, Ludovici G, De Marchis ML, et al. Predictive value of VEGF gene polymorphisms for metastatic colorectal cancer patients receiving first-line treatment including fluorouracil, irinotecan, and bevacizumab. *Int J Colorectal Dis* 2011;26:143–51. <https://doi.org/10.1007/s00384-010-1108-1>.

- [161] Papachristos A, Kemos P, Katsila T, Panoilia E, Patrinos GP, Kalofonos H, et al. VEGF-A and ICAM-1 Gene Polymorphisms as Predictors of Clinical Outcome to First-Line Bevacizumab-Based Treatment in Metastatic Colorectal Cancer. *IJMS* 2019;20:5791. <https://doi.org/10.3390/ijms20225791>.
- [162] Sibertin-Blanc C, Mancini J, Fabre A, Lagarde A, Del Grande J, Levy N, et al. Vascular Endothelial Growth Factor A c.*237C>T polymorphism is associated with bevacizumab efficacy and related hypertension in metastatic colorectal cancer. *Digestive and Liver Disease* 2015;47:331–7. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2014.12.013>.
- [163] Barat A, Smeets D, Moran B, Zhang W, Cao S, Das S, et al. Combination of variations in inflammation- and endoplasmic reticulum-associated genes as putative biomarker for bevacizumab response in KRAS wild-type colorectal cancer. *Sci Rep* 2020;10:9778. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65869-2>.
- [164] Hansen TF, Christensen R dePont, Andersen RF, Spindler K-LG, Johnsson A, Jakobsen A. The predictive value of single nucleotide polymorphisms in the VEGF system to the efficacy of first-line treatment with bevacizumab plus chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer: Results from the Nordic ACT trial. *Int J Colorectal Dis* 2012;27:715–20. <https://doi.org/10.1007/s00384-011-1382-6>.
- [165] Volz NB, Stintzing S, Zhang W, Yang D, Ning Y, Wakatsuki T, et al. Genes involved in pericyte-driven tumor maturation predict treatment benefit of first-line FOLFIRI plus bevacizumab in patients with metastatic colorectal cancer. *Pharmacogenomics J* 2015;15:69–76. <https://doi.org/10.1038/tpj.2014.40>.
- [166] Gerger A, El-Khoueiry A, Zhang W, Yang D, Singh H, Bohanes P, et al. Pharmacogenetic Angiogenesis Profiling for First-line Bevacizumab plus Oxaliplatin-Based Chemotherapy in Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Clin Cancer Res* 2011;17:5783–92. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-1115>.
- [167] Pohl A, El-Khoueiry A, Yang D, Zhang W, Lurje G, Ning Y, et al. Pharmacogenetic profiling of CD133 is associated with response rate (RR) and progression-free survival (PFS) in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC), treated with bevacizumab-based chemotherapy. *Pharmacogenomics J* 2013;13:173–80. <https://doi.org/10.1038/tpj.2011.61>.
- [168] Suenaga M, Cao S, Zhang W, Yang D, Ning Y, Okazaki S, et al. Genetic variants in *CCL5* and *CCR5* genes and serum VEGF-A levels predict efficacy of bevacizumab in metastatic colorectal cancer patients. *Int J Cancer* 2019;144:2567–77. <https://doi.org/10.1002/ijc.31968>.
- [169] Matsusaka S, Zhang W, Cao S, Hanna DL, Sunakawa Y, Sebio A, et al. *TWIST1* Polymorphisms Predict Survival in Patients with Metastatic Colorectal Cancer Receiving First-Line Bevacizumab plus Oxaliplatin-Based Chemotherapy. *Mol Cancer Ther* 2016;15:1405–11. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-15-0751>.
- [170] Matsusaka S, Hanna DL, Cao S, Zhang W, Yang D, Ning Y, et al. Prognostic Impact of *IL6* Genetic Variants in Patients with Metastatic Colorectal Cancer Treated with Bevacizumab-Based Chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2016;22:3218–26. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-2422>.
- [171] Gaibar M, Galán M, Romero-Lorca A, Antón B, Malón D, Moreno A, et al. Genetic Variants of *ANGPT1*, *CD39*, *FGF2* and *MMP9* Linked to Clinical Outcome of Bevacizumab Plus Chemotherapy for Metastatic Colorectal Cancer. *IJMS* 2021;22:1381. <https://doi.org/10.3390/ijms22031381>.
- [172] Tokunaga R, Cao S, Naseem M, Lo JH, Battaglin F, Puccini A, et al. Prognostic Effect of Adenosine-related Genetic Variants in Metastatic Colorectal Cancer Treated With Bevacizumab-based Chemotherapy. *Clinical Colorectal Cancer* 2019;18:e8–19. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2018.09.003>.
- [173] Berger MD, Stintzing S, Heinemann V, Yang D, Cao S, Sunakawa Y, et al. Impact of genetic variations in the MAPK signaling pathway on outcome in metastatic colorectal

- cancer patients treated with first-line FOLFIRI and bevacizumab: data from FIRE-3 and TRIBE trials. *Annals of Oncology* 2017;28:2780–5. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx412>.
- [174] Berger MD, Ning Y, Stintzing S, Heinemann V, Cao S, Zhang W, et al. A polymorphism within the R-spondin 2 gene predicts outcome in metastatic colorectal cancer patients treated with FOLFIRI/bevacizumab: data from FIRE-3 and TRIBE trials. *European Journal of Cancer* 2020;131:89–97. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2020.02.048>.
 - [175] Berger MD, Stintzing S, Heinemann V, Cao S, Yang D, Sunakawa Y, et al. A Polymorphism within the Vitamin D Transporter Gene Predicts Outcome in Metastatic Colorectal Cancer Patients Treated with FOLFIRI/Bevacizumab or FOLFIRI/Cetuximab. *Clin Cancer Res* 2018;24:784–93. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-1663>.
 - [176] Okazaki S, Loupakis F, Stintzing S, Cao S, Zhang W, Yang D, et al. Clinical Significance of *TLR1* I602S Polymorphism for Patients with Metastatic Colorectal Cancer Treated with FOLFIRI plus Bevacizumab. *Mol Cancer Ther* 2016;15:1740–5. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-15-0931>.
 - [177] Crea F, Fornaro L, Paolicchi E, Masi G, Frumento P, Loupakis F, et al. An EZH2 polymorphism is associated with clinical outcome in metastatic colorectal cancer patients. *Annals of Oncology* 2012;23:1207–13. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdr387>.
 - [178] Schirripa M, Zhang W, Heinemann V, Cao S, Okazaki S, Yang D, et al. Single nucleotide polymorphisms in the IGF-IRS pathway are associated with outcome in mCRC patients enrolled in the FIRE-3 trial: *IGF IRS* single nucleotide polymorphisms in metastatic CRC. *Int J Cancer* 2017;141:383–92. <https://doi.org/10.1002/ijc.30715>.
 - [179] Sunakawa Y, Stintzing S, Cao S, Heinemann V, Cremolini C, Falcone A, et al. Variations in genes regulating tumor-associated macrophages (TAMs) to predict outcomes of bevacizumab-based treatment in patients with metastatic colorectal cancer: results from TRIBE and FIRE3 trials. *Annals of Oncology* 2015;26:2450–6. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv474>.
 - [180] Di Salvatore M, Pietrantonio F, Orlandi A, Del Re M, Berenato R, Rossi E, et al. IL-8 and eNOS polymorphisms predict bevacizumab-based first line treatment outcomes in RAS mutant metastatic colorectal cancer patients. *Oncotarget* 2017;8:16887–98. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14810>.
 - [181] Caulet M, Lecomte T, Bouché O, Rollin J, Gouilleux-Gruart V, Azzopardi N, et al. Bevacizumab Pharmacokinetics Influence Overall and Progression-Free Survival in Metastatic Colorectal Cancer Patients. *Clin Pharmacokinet* 2016;55:1381–94. <https://doi.org/10.1007/s40262-016-0406-3>.
 - [182] Papachristos A, Karatza E, Kalofonos H, Sivolapenko G. Pharmacogenetics in Model-Based Optimization of Bevacizumab Therapy for Metastatic Colorectal Cancer. *IJMS* 2020;21:3753. <https://doi.org/10.3390/ijms21113753>.

Bibliographie : Références de l'article scientifique

- [1] Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer* 2019;144:1941–53. <https://doi.org/10.1002/ijc.31937>.
- [2] SEER Cancer Statistics Review, 1975-2016. SEER n.d. https://seer.cancer.gov/csr/1975_2016/index.html (accessed February 25, 2021).
- [3] Pretzsch E, Bösch F, Neumann J, Ganschow P, Bazhin A, Guba M, et al. Mechanisms of Metastasis in Colorectal Cancer and Metastatic Organotropism: Hematogenous versus Peritoneal Spread. *J Oncol* 2019;2019:7407190. <https://doi.org/10.1155/2019/7407190>.
- [4] Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer* 2003;3:401–10. <https://doi.org/10.1038/nrc1093>.
- [5] Ferrara N, Hillan KJ, Gerber H-P, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2004;3:391–400. <https://doi.org/10.1038/nrd1381>.
- [6] Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, Sobrero A, Van Krieken JH, Aderka D, et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2016;27:1386–422. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw235>.
- [7] Montemagno C, Pagès G. Resistance to Anti-angiogenic Therapies: A Mechanism Depending on the Time of Exposure to the Drugs. *Front Cell Dev Biol* 2020;8:584. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00584>.
- [8] Baraniskin A, Buchberger B, Pox C, Graeven U, Holch JW, Schmiegel W, et al. Efficacy of bevacizumab in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 2019;106:37–44. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.10.009>.
- [9] Taieb J, Jung A, Sartore-Bianchi A, Peeters M, Seligmann J, Zaanen A, et al. The Evolving Biomarker Landscape for Treatment Selection in Metastatic Colorectal Cancer. *Drugs* 2019;79:1375–94. <https://doi.org/10.1007/s40265-019-01165-2>.
- [10] Ruiz-Bañobre J, Kandimalla R, Goel A. Predictive Biomarkers in Metastatic Colorectal Cancer: A Systematic Review. *JCO Precis Oncol* 2019;3. <https://doi.org/10.1200/PO.18.00260>.
- [11] Noonan SA, Morrissey ME, Martin P, Biniecka M, Ó'Meachair S, Maguire A, et al. Tumour vasculature immaturity, oxidative damage and systemic inflammation stratify survival of colorectal cancer patients on bevacizumab treatment. *Oncotarget* 2018;9:10536–48. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24276>.
- [12] Bai L, Wang F, Zhang D, Li C, Jin Y, Wang D, et al. A plasma cytokine and angiogenic factor (CAF) analysis for selection of bevacizumab therapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Scientific Reports* 2015;5:17717. <https://doi.org/10.1038/srep17717>.
- [13] Goldstein DA, Chen Q, Ayer T, Chan KKW, Virik K, Hammerman A, et al. Bevacizumab for Metastatic Colorectal Cancer: A Global Cost-Effectiveness Analysis. *Oncologist* 2017;22:694–9. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2016-0455>.
- [14] Qu C-Y, Zheng Y, Zhou M, Zhang Y, Shen F, Cao J, et al. Value of bevacizumab in treatment of colorectal cancer: A meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2015;21:5072–80. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i16.5072>.
- [15] Balan V, Mihai C-T, Cojocaru F-D, Uritu C-M, Dodi G, Botezat D, et al. Vibrational Spectroscopy Fingerprinting in Medicine: from Molecular to Clinical Practice. *Materials (Basel)* 2019;12. <https://doi.org/10.3390/ma12182884>.

- [16] Bunaciu AA, Fleschin Ş, Hoang VD, Aboul-Enein HY. Vibrational Spectroscopy in Body Fluids Analysis. *Crit Rev Anal Chem* 2017;47:67–75. <https://doi.org/10.1080/10408347.2016.1209104>.
- [17] Pahlow S, Weber K, Popp J, Wood BR, Kochan K, Rüther A, et al. Application of Vibrational Spectroscopy and Imaging to Point-of-Care Medicine: A Review. *Appl Spectrosc* 2018;72:52–84. <https://doi.org/10.1177/0003702818791939>.
- [18] Tranquart F, Dujardin P-A, Bouché O, Marcus C, Borg C, Manzoni P, et al. Value of Contrast-Enhanced Ultrasound Quantification Criteria for Identifying Patients not Responding to Bevacizumab-Based Therapy for Colorectal Liver Metastases. *Ultraschall Med* 2018;39:544–58. <https://doi.org/10.1055/s-0043-122497>.
- [19] Mitsuyama Y, Shiba H, Haruki K, Fujiwara Y, Furukawa K, Iida T, et al. Carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 are prognostic predictors of colorectal cancer with unresectable liver metastasis. *Oncol Lett* 2012;3:767–71. <https://doi.org/10.3892/ol.2012.574>.
- [20] Barret M, Malka D, Aparicio T, Dalban C, Locher C, Sabate J-M, et al. Nutritional status affects treatment tolerability and survival in metastatic colorectal cancer patients: results of an AGEO prospective multicenter study. *Oncology* 2011;81:395–402. <https://doi.org/10.1159/000335478>.
- [21] Marmorino F, Salvatore L, Barbara C, Allegrini G, Antonuzzo L, Masi G, et al. Serum LDH predicts benefit from bevacizumab beyond progression in metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2017;116:318–23. <https://doi.org/10.1038/bjc.2016.413>.
- [22] Jary M, Vernerey D, Lecomte T, Dobi E, Ghiringhelli F, Monnien F, et al. Prognostic value of angiopoietin-2 for death risk stratification in patients with metastatic colorectal carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2015;24:603–12. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-14-1059>.
- [23] Li G, Wang Z, Xu J, Wu H, Cai S, He Y. The prognostic value of lactate dehydrogenase levels in colorectal cancer: a meta-analysis. *BMC Cancer* 2016;16. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2276-3>.
- [24] Holch JW, Ricard I, Stintzing S, Fischer von Weikersthal L, Decker T, Kiani A, et al. Relevance of baseline carcinoembryonic antigen for first-line treatment against metastatic colorectal cancer with FOLFIRI plus cetuximab or bevacizumab (FIRE-3 trial). *Eur J Cancer* 2019;106:115–25. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.10.001>.
- [25] Zhao L, Zhang D, Ma H, Jin M, Huang F, Zhang T. High VEGF-A level at baseline predicts poor treatment effect of bevacizumab-based chemotherapy in metastatic colorectal cancer: a meta-analysis. *Panminerva Med* 2016;58:48–58.
- [26] Goede V, Coutelle O, Neuneier J, Reinacher-Schick A, Schnell R, Koslowsky TC, et al. Identification of serum angiopoietin-2 as a biomarker for clinical outcome of colorectal cancer patients treated with bevacizumab-containing therapy. *Br J Cancer* 2010;103:1407–14. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605925>.
- [27] Haibe Y, Kreidieh M, El Hajj H, Khalifeh I, Mukherji D, Temraz S, et al. Resistance Mechanisms to Anti-angiogenic Therapies in Cancer. *Front Oncol* 2020;10:221. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00221>.
- [28] Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature* 2011;473:298–307. <https://doi.org/10.1038/nature10144>.
- [29] Liu R, Wang X, Aihara K, Chen L. Early diagnosis of complex diseases by molecular biomarkers, network biomarkers, and dynamical network biomarkers. *Med Res Rev* 2014;34:455–78. <https://doi.org/10.1002/med.21293>.
- [30] Su K-Y, Lee W-L. Fourier Transform Infrared Spectroscopy as a Cancer Screening and Diagnostic Tool: A Review and Prospects. *Cancers* 2020;12:115. <https://doi.org/10.3390/cancers12010115>.
- [31] Khanmohammadi M, Bagheri Garmarudi A, Samani S, Ghasemi K, Ashuri A. Application of linear discriminant analysis and Attenuated Total Reflectance Fourier Transform

- Infrared microspectroscopy for diagnosis of colon cancer. *Pathol Oncol Res* 2011;17:435–41. <https://doi.org/10.1007/s12253-010-9326-y>.
- [32] Depciuch J, Kaznowska E, Kozirowska A, Cebulski J. Verification of the effectiveness of the Fourier transform infrared spectroscopy computational model for colorectal cancer. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2017;145:611–5. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.07.026>.
 - [33] Salman A, Sebbag G, Argov S, Mordechai S, Sahu RK. Early detection of colorectal cancer relapse by infrared spectroscopy in “normal” anastomosis tissue. *J Biomed Opt* 2015;20:75007. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.7.075007>.
 - [34] Sala A, Anderson DJ, Brennan PM, Butler HJ, Cameron JM, Jenkinson MD, et al. Biofluid diagnostics by FTIR spectroscopy: A platform technology for cancer detection. *Cancer Lett* 2020;477:122–30. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.02.020>.
 - [35] Sheng D, Wu Y, Wang X, Huang D, Chen X, Liu X. Comparison of serum from gastric cancer patients and from healthy persons using FTIR spectroscopy. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2013;116:365–9. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.07.055>.
 - [36] Maitra I, Morais CLM, Lima KMG, Ashton KM, Date RS, Martin FL. Attenuated total reflection Fourier-transform infrared spectral discrimination in human bodily fluids of oesophageal transformation to adenocarcinoma. *Analyst* 2019;144:7447–56. <https://doi.org/10.1039/c9an01749f>.
 - [37] Butler HJ, Brennan PM, Cameron JM, Finlayson D, Hegarty MG, Jenkinson MD, et al. Development of high-throughput ATR-FTIR technology for rapid triage of brain cancer. *Nat Commun* 2019;10:4501. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12527-5>.
 - [38] Barlev E, Zelig U, Bar O, Segev C, Mordechai S, Kapelushnik J, et al. A novel method for screening colorectal cancer by infrared spectroscopy of peripheral blood mononuclear cells and plasma. *J Gastroenterol* 2016;51:214–21. <https://doi.org/10.1007/s00535-015-1095-7>.
 - [39] Ruan S-L, Wang R, Chen X-Y, Wu Y-Y, Liu Q, Liu M, et al. [Initial research on FTIR spectroscopy of lyophilized serum from colorectal cancer patients]. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi* 2013;33:354–8.
 - [40] Zhang C-J, Zhang S-Y, Zhang C-D, Lin C-R, Li X-Y, Li Q-Y, et al. Usefulness of bevacizumab-induced hypertension in patients with metastatic colorectal cancer: an updated meta-analysis. *Aging (Albany NY)* 2018;10:1424–41. <https://doi.org/10.18632/aging.101478>.

Vu, le Directeur de Thèse



**Vu, le Doyen
De la Faculté de Médecine de Tours
Tours, le**

CHAUTARD Romain

106 pages – 7 tableaux – 4 figures

Résumé :

Introduction : Le bévacicumab associé à une chimiothérapie est un des traitements de référence du cancer colorectal métastatique (CCRm). Pourtant, certains patients ne bénéficient pas de cette combinaison. À ce jour, aucun biomarqueur pronostique ni prédictif robuste n'a été identifié. La spectroscopie moyen infrarouge sur sérum (SMIRS) permet d'obtenir l'empreinte métabolique d'un individu. L'objectif principal de notre étude était d'évaluer le potentiel pronostique de la SMIRS chez des patients traités en première ligne d'un CCRm par chimiothérapie associée au bévacicumab.

Méthodes : 108 patients issus d'une étude prospective multicentrique (NCT00489697) ont été rétrospectivement étudiés. Leur sérum avant traitement a été analysé par réflexion totale atténuée puis interprété en composante principale et partitionnement en k-moyennes en aveugle des données cliniques. Les critères de jugement principal étaient la survie sans progression (SSP) et la survie globale (SG).

Résultats : Deux groupes ont été définis par la SMIRS. Les patients du groupe A (n=25) étaient plus dénutris ($p < 0,001$). Leurs taux d'angiopoïétine-2, facteur de croissance de l'endothélium vasculaire, lactate déshydrogénase et antigène carcino-embryonnaire étaient plus élevés ($p < 0,001$ pour tous). Leur signature spectrale variait selon 6 bandes d'absorption discriminantes correspondant à une carence lipidique et composition protéique et sucrée différente. Leur meilleur taux de réponse objective était diminué : 52,0% contre 73,5% ($p = 0,043$). En analyse univariée, leur SG et SSP étaient diminuées avec des médianes respectives de 17,6 contre 27,9 mois ($p = 0,02$) et 8,7 contre 11,3 mois ($p = 0,03$). En analyse multivariée, la SSP était significativement raccourcie (HR : 1,74 ; IC95 [1,07-2,82] ; $p = 0,025$) avec une tendance similaire pour la SG (HR : 1,69 ; IC95 [0,98-2,93] ; $p = 0,061$).

Conclusion : La signature métabolomique par SMIRS s'avère être un outil pronostique prometteur pour les patients traités en première ligne par chimiothérapie associée au bévacicumab pour un CCRm.

Mots clés : cancer colorectal, bévacicumab, spectroscopie moyen-infrarouge, biomarqueur

Jury :

Président du Jury : Professeur Claude LINASSIER
 Directeur de thèse : Professeur Thierry LECOMTE
 Membres du Jury : Professeur Michel DUCREUX
 Docteur William RAOUL
 Docteur Morgane CAULET

Date de soutenance : le 11 juin 2021