



**HAL**  
open science

# Variations de l'ACE et de l'ADN circulant en fonction du traitement reçu en 1ère ligne chez des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique

Virginie Vernon

► **To cite this version:**

Virginie Vernon. Variations de l'ACE et de l'ADN circulant en fonction du traitement reçu en 1ère ligne chez des patients atteints d'un cancer colorectal métastatique. Médecine humaine et pathologie. 2020. dumas-03265580

**HAL Id: dumas-03265580**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03265580>**

Submitted on 30 Jun 2021

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

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

**UFR DE SANTE DE ROUEN NORMANDIE**

ANNEE 2020

N°

**THESE POUR LE  
DOCTORAT EN MEDECINE**

(Diplôme d'État)

Par  
Mme **Virginie VERNON**  
Née le 20/12/1991 à Créteil (94)

Présentée et soutenue publiquement le 12 Octobre 2020

**Variations de l'ACE et de l'ADN circulant en  
fonction du traitement reçu en 1<sup>ère</sup> ligne chez des  
patients atteints d'un cancer colorectal métastatique**

Président du jury : **Monsieur le Professeur Pierre MICHEL**

Directeur de thèse : **Monsieur le Professeur Frédéric DI FIORE**

Membres du jury :

Monsieur le Professeur Guillaume SAVOYE

Madame le Docteur Alice GANGLOFF

Monsieur le Docteur David SEFRIOUI

**ANNEE UNIVERSITAIRE 2019 - 2020**

**U.F.R. SANTÉ DE ROUEN**

-----

DOYEN : **Professeur Benoît VEBER**

ASSESEURS : **Professeur Michel GUERBET**  
**Professeur Agnès LIARD**  
**Professeur Guillaume SAVOYE**

**I - MEDECINE**

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS**

Mr Frédéric <b>ANSELME</b>	HCN	Cardiologie
Mme Gisèle <b>APTER</b>	Havre	Pédopsychiatrie
Mme Isabelle <b>AUQUIT AUCKBUR</b>	HCN	Chirurgie plastique
Mr Jean-Marc <b>BASTE</b>	HCN	Chirurgie Thoracique
Mr Fabrice <b>BAUER</b>	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya <b>BEKRI</b>	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Ygal <b>BENHAMOU</b>	HCN	Médecine interne
Mr Jacques <b>BENICHOU</b>	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Olivier <b>BOYER</b>	UFR	Immunologie
Mme Sophie <b>CANDON</b>	HCN	Immunologie
Mr François <b>CARON</b>	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe <b>CHASSAGNE</b>	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Vincent <b>COMPERE</b>	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Jean-Nicolas <b>CORNU</b>	HCN	Urologie
Mr Antoine <b>CUVELIER</b>	HB	Pneumologie
Mr Jean-Nicolas <b>DACHER</b>	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan <b>DARMONI</b>	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre <b>DECHELOTTE</b>	HCN	Nutrition
Mr Stéphane <b>DERREY</b>	HCN	Neurochirurgie
Mr Frédéric <b>DI FIORE</b>	CHB	Cancérologie

Mr Fabien <b>DOGUET</b>	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean <b>DOUCET</b>	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard <b>DUBRAY</b>	CHB	Radiothérapie
Mr Frank <b>DUJARDIN</b>	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice <b>DUPARC</b>	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric <b>DURAND</b>	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand <b>DUREUIL</b>	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène <b>ELTCHANINOFF</b>	HCN	Cardiologie
Mr Manuel <b>ETIENNE</b>	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Thierry <b>FREBOURG</b>	UFR	Génétique
Mr Pierre <b>FREGER</b> ( <i>surnombre</i> )	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François <b>GEHANNO</b>	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel <b>GERARDIN</b>	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille <b>GERARDIN</b>	HCN	Pédopsychiatrie
M. Guillaume <b>GOURCEROL</b>	HCN	Physiologie
Mr Dominique <b>GUERROT</b>	HCN	Néphrologie
Mr Olivier <b>GULLIN</b>	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Claude <b>HOUDAYER</b>	HCN	Génétique
Mr Fabrice <b>JARDIN</b>	CHB	Hématologie
Mr Luc-Marie <b>JOLY</b>	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal <b>JOLY</b>	HCN	Dermato – Vénérologie
Mme Bouchra <b>LAMIA</b>	Havre	Pneumologie
Mme Annie <b>LAQUERRIERE</b>	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent <b>LAUDENBACH</b>	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Joël <b>LECHEVALLIER</b>	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé <b>LEFEBVRE</b>	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry <b>LEQUERRE</b>	HCN	Rhumatologie
Mme Anne-Marie <b>LEROI</b>	HCN	Physiologie
Mr Hervé <b>LEVESQUE</b>	HCN	Médecine interne
Mme Agnès <b>LIARD-ZMUDA</b>	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves <b>LITZLER</b>	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand <b>MACE</b>	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David <b>MALTETE</b>	HCN	Neurologie
Mr Christophe <b>MARGUET</b>	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle <b>MARIE</b>	HCN	Médecine interne
Mr Jean-Paul <b>MARIE</b>	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc <b>MARPEAU</b>	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane <b>MARRET</b>	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique <b>MERLE</b>	HCN	Épidémiologie

Mr Pierre <b>MICHEL</b>	HCN	Hépto-gastro-entérologie
M. Benoit <b>MISSET</b> ( <i>détachement</i> )	HCN	Réanimation Médicale
Mr Marc <b>MURAINÉ</b>	HCN	Ophthalmologie
Mr Christophe <b>PEILLON</b>	HCN	Chirurgie générale
Mr Christian <b>PFISTER</b>	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe <b>PLANTIER</b>	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier <b>PLISSONNIER</b>	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Gaëtan <b>PREVOST</b>	HCN	Endocrinologie
Mr Jean-Christophe <b>RICHARD</b> ( <i>détachement</i> )	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent <b>RICHARD</b>	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie <b>RIVES</b>	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Horace <b>ROMAN</b> ( <i>disponibilité</i> )	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe <b>SABOURIN</b>	HCN	Anatomie – Pathologie
Mr Mathieu <b>SALAUN</b>	HCN	Pneumologie
Mr Guillaume <b>SAVOYE</b>	HCN	Hépto-gastrologie
Mme Céline <b>SAVOYE-COLLET</b>	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale <b>SCHNEIDER</b>	HCN	Pédiatrie
Mr Lilian <b>SCHWARZ</b>	HCN	Chirurgie Viscérale et Digestive
Mr Michel <b>SCOTTE</b>	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne <b>TAMION</b>	HCN	Thérapeutique
Mr Luc <b>THIBERVILLE</b>	HCN	Pneumologie
Mr Hervé <b>TILLY</b> ( <i>surnombre</i> )	CHB	Hématologie et transfusion
M. Gilles <b>TOURNEL</b>	HCN	Médecine Légale
Mr Olivier <b>TROST</b>	HCN	Anatomie -Chirurgie Maxillo-Faciale
Mr Jean-Jacques <b>TUECH</b>	HCN	Chirurgie digestive
Mr Benoît <b>VEBER</b>	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre <b>VERA</b>	CHB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric <b>VERIN</b>	Les Herbiers	Médecine Physique et de Réadaptation
Mr Eric <b>VERSPYCK</b>	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier <b>VITTECOQ</b>	HC	Rhumatologie
Mme Marie-Laure <b>WELTER</b>	HCN	Physiologie

## **MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS**

Mme Najate <b>ACHAMRAH</b>	HCN	Nutrition
Mme Noëlle <b>BARBIER-FREBOURG</b>	HCN	Bactériologie – Virologie
Mr Emmanuel <b>BESNIER</b>	HCN	Anesthésiologie - Réanimation
Mme Carole <b>BRASSE LAGNEL</b>	HCN	Biochimie
Mme Valérie <b>BRIDOUX HUYBRECHTS</b>	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard <b>BUCHONNET</b>	HCN	Hématologie
Mme Mireille <b>CASTANET</b>	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie <b>CHASTAN</b>	HCN	Neurophysiologie
Mr Moïse <b>COEFFIER</b>	HCN	Nutrition
Mr Serge <b>JACQUOT</b>	UFR	Immunologie
Mr Joël <b>LADNER</b>	HCN	Épidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste <b>LATOUCHE</b>	UFR	Biologie cellulaire
M. Florent <b>MARGUET</b>	HCN	Histologie
Mme Chloé <b>MELCHIOR</b>	HCN	Gastroentérologie
Mr Thomas <b>MOUREZ</b> ( <i>détachement</i> )	HCN	Virologie
Mr Gaël <b>NICOLAS</b>	UFR	Génétique
Mme Muriel <b>QUILLARD</b>	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mme Laëtitia <b>ROLLIN</b>	HCN	Médecine du Travail
Mme Pascale <b>SAUGIER-VEBER</b>	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire <b>TOBENAS-DUJARDIN</b>	HCN	Anatomie
Mr David <b>WALLON</b>	HCN	Neurologie
Mr Julien <b>WILS</b>	HCN	Pharmacologie

## **PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE**

Mr Thierry <b>WABLE</b>	UFR	Communication
Mme Mélanie <b>AUVRAY-HAMEL</b>	UFR	Anglais

## II - PHARMACIE

### PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Mr Jérémy <b>BELLIEN</b> (PU-PH)	Pharmacologie
Mr Thierry <b>BESSON</b>	Chimie Thérapeutique
Mr Jean <b>COSTENTIN</b> (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
Mr Abdelhakim <b>EL OMRI</b>	Pharmacognosie
Mr François <b>ESTOUR</b>	Chimie Organique
Mr Loïc <b>FAVENNEC</b> (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre <b>GOULLE</b> (Professeur émérite)	Toxicologie
Mr Michel <b>GUERBET</b>	Toxicologie
Mme Christelle <b>MONTEIL</b>	Toxicologie
Mme Martine <b>PESTEL-CARON</b> (PU-PH)	Microbiologie
Mr Rémi <b>VARIN</b> (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie <b>VAUGEOIS</b>	Pharmacologie
Mr Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

### MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et Minérale
Mr Frédéric <b>BOUNOURE</b>	Pharmacie Galénique
Mr Thomas <b>CASTANHEIRO MATIAS</b>	Chimie Organique
Mr Abdeslam <b>CHAGRAOUI</b>	Physiologie
Mme Camille <b>CHARBONNIER (LE CLEZIO)</b>	Statistiques
Mme Elizabeth <b>CHOSSON</b>	Botanique
Mme Marie Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b>	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Cécile <b>CORBIERE</b>	Biochimie
Mme Nathalie <b>DOURMAP</b>	Pharmacologie
Mme Isabelle <b>DUBUC</b>	Pharmacologie
Mme Dominique <b>DUTERTE- BOUCHER</b>	Pharmacologie
Mr Gilles <b>GARGALA</b> (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Nejla <b>EL GHARBI-HAMZA</b>	Chimie analytique
Mme Marie-Laure <b>GROULT</b>	Botanique

Mr Hervé <b>HUE</b>	Biophysique et mathématiques
Mme Hong <b>LU</b>	Biologie
Mme Marine <b>MALLETER</b>	Toxicologie
M. Jérémie <b>MARTINET</b> (MCU-PH)	Immunologie
Mme Tiphaine <b>ROGEZ-FLORENT</b>	Chimie analytique
Mr Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mme Malika <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mme Christine <b>THARASSE</b>	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric <b>ZIEGLER</b>	Biochimie

### **PROFESSEURS ASSOCIES**

Mme Cécile <b>GUERARD-DETUNCQ</b>	Pharmacie officinale
Mme Caroline <b>BERTOUX</b>	Pharmacie

### **PAU-PH**

M. Mikaël **DAOUPHARS**

### **PROFESSEUR CERTIFIE**

Mme Mathilde <b>GUERIN</b>	Anglais
----------------------------	---------

### **ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES**

Mme Alice <b>MOISAN</b>	Virologie
M. Henri <b>GONDÉ</b>	Pharmacie

### **ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE**

M. Abdel <b>MOUHAJIR</b>	Parasitologie
M. Maxime <b>GRAND</b>	Bactériologie

### **ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT**

Mme Ramla <b>SALHI</b>	Pharmacognosie
------------------------	----------------

## LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry <b>BESSON</b>	Chimie thérapeutique
Mr Abdeslam <b>CHAGRAOUI</b>	Physiologie
Mme Elisabeth <b>CHOSSON</b>	Botanique
Mme Marie-Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b>	Législation et économie de la santé
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
Mr Abdelhakim <b>EL OMRI</b>	Pharmacognosie
Mr François <b>ESTOUR</b>	Chimie organique
Mr Loïc <b>FAVENNEC</b>	Parasitologie
Mr Michel <b>GUERBET</b>	Toxicologie
Mme Martine <b>PESTEL-CARON</b>	Microbiologie
Mr Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mr Rémi <b>VARIN</b>	Pharmacie clinique
M. Jean-Marie <b>VAUGEOIS</b>	Pharmacologie
Mr Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

### III – MEDECINE GENERALE

#### PROFESSEUR MEDECINE GENERALE

Mr Jean-Loup **HERMIL** (PU-MG) UFR Médecine générale

#### MAITRE DE CONFERENCE MEDECINE GENERALE

Mr Matthieu **SCHUERS** (MCU-MG) UFR Médecine générale

#### PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTE

Mr Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine Générale

Mme Elisabeth **MAUVIARD** UFR Médecine générale

Mr Philippe **NGUYEN THANH** UFR Médecine générale

Mme Yveline **SEVRIN** UFR Médecine générale

Mme Marie Thérèse **THUEUX** UFR Médecine générale

#### MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTES

Mr Pascal **BOULET** UFR Médecine générale

Mme Laëtitia **BOURDON** UFR Médecine Générale

Mr Emmanuel **HAZARD** UFR Médecine Générale

Mme Lucile **PELLERIN** UFR Médecine générale

## ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

### PROFESSEURS

Mr Paul <b>MULDER</b> (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su <b>RUAN</b> (med)	Génie Informatique

### MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil <b>ADRIOUCH</b> (med)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle <b>BOUGEARD-DENOYELLE</b> (med)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine <b>CLEREN</b> (med)	Neurosciences (Néovasc)
M. Sylvain <b>FRAINEAU</b> (med)	Physiologie (Inserm U 1096)
Mme Pascaline <b>GAILDRAT</b> (med)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas <b>GUEROUT</b> (med)	Chirurgie Expérimentale
Mme Rachel <b>LETELLIER</b> (med)	Physiologie
Mr Antoine <b>OUVRARD-PASCAUD</b> (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric <b>PASQUET</b>	Sciences du langage, orthophonie
Mme Christine <b>RONDANINO</b> (med)	Physiologie de la reproduction
Mr Youssan Var <b>TAN</b>	Immunologie
Mme Isabelle <b>TOURNIER</b> (med)	Biochimie (UMR 1079)

### **CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE**

*HCN - Hôpital Charles Nicolle*

*HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME*

*CB - Centre Henri Becquerel*

*CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray*

*CRMPPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation SJ – Saint Julien Rouen*

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

## **REMERCIEMENTS :**

A Monsieur le Professeur Di Fiore,  
Merci de m'avoir proposé ce travail de thèse. Merci pour votre aide précieuse, votre encadrement, votre disponibilité, votre calme et votre patience. J'ai beaucoup appris à vos côtés. Travailler avec vous fut un véritable plaisir.

A Monsieur le Professeur Michel,  
Merci d'avoir accepté de présider ce jury de thèse, de m'avoir accueillie dans le service, fait découvrir et aimer l'oncologie digestive. Merci pour la disponibilité et la bienveillance dont vous faites preuve. Votre pragmatisme, votre allure et votre humour font de vous un personnage emblématique. Merci de m'avoir également permis d'effectuer mon post-internat à Rouen.

A Monsieur le Professeur Savoye,  
Vous nous faites découvrir à tous l'hépatogastroentérologie avec une fibre pédagogique incroyable, vos enseignements sont toujours d'une grande qualité. Votre intelligence et votre pertinence forcent l'admiration. Merci pour votre disponibilité et merci de m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.

A Monsieur le Docteur Sefrioui,  
David, merci pour tout ce que j'ai appris à tes côtés, pour tes conseils précieux durant l'internat, pour ton investissement au quotidien auprès des patients comme avec les internes, pour l'aide que tu m'as apportée durant ce travail et pour avoir accepté de faire partie de ce jury. Moi qui adore la musique, les G2 en ta compagnie ont toujours été de bons moments.

A Madame le Docteur Gangloff,  
Alice, merci pour la disponibilité, la gentillesse et la bienveillance dont tu as fait preuve tout au long de l'internat, tes qualités humaines sont un exemple pour moi, c'est un plaisir que tu aies accepté de faire partie de ce jury de thèse.

Aux chefs du service : Odile, Ghassan, Hélène, Paul, Lucie, Cloé, Chloé ;

Merci pour votre enseignement, votre accompagnement tout au long de cet internat, vous êtes tous des modèles exemplaires, variés et complémentaires. Je suis ravie de pouvoir continuer à travailler avec vous.

A Monsieur le Professeur Gourcerol,

Merci de m'avoir accueillie dans votre service, fait découvrir la physiologie digestive et de me permettre de travailler à vos côtés.

A toute l'équipe d'Hépatogastroentérologie du Havre,

Merci de m'avoir si bien accueillie pour mon premier semestre, je n'aurai pas pu espérer mieux commencer mon internat. Merci pour votre encadrement, vos conseils, votre bienveillance et pour ce que j'ai appris à vos côtés.

A mes merveilleuses copines de promo,

Vous rencontrer a été ma plus belle surprise Rouennaise, votre soutien, votre écoute, nos sorties, nos rires et vos personnalités à chacune m'ont tant apporté. Je suis heureuse d'avoir traversé cet internat à vos côtés. J'espère pouvoir encore partager de nombreux moments de joie en votre compagnie.

Ilana, ma coloc, ma co-voitureuse, je me souviens si bien du jour de notre rencontre (de la constitution de notre coloc), je suis contente d'avoir vécu ce premier semestre avec toi, tu as toujours été présente et d'un soutien sans faille pendant les moments de déprime, tu as su m'aider à réfléchir dans les moments où je n'y arrivai plus. J'espère que l'on pourra partager d'autres expériences de voyage ;)

Chéché, LA co-interne d'endoscopie parfaite, je n'aurai pas pu espérer passer un meilleur dernier semestre au Chu qu'en ta compagnie ; malgré les péripéties, le stress et les frayeurs dues à nos thèses, je retiens les supers moments de rigolade, de complicité, ta gentillesse, ton écoute, ta bonne humeur et tes intonations parfois particulières ah ah !

Capu, notre boule d'énergie et de vitalité, tu fais preuve au quotidien d'une force de caractère incroyable, ta capacité à tout mener de front à toujours forcé notre admiration. Toujours d'une grande générosité, prête à nous recevoir et à nous concocter des plats délicieux. Notre magnifique mariée.

Sabrina, tu nous as accompagné lors de nos premiers pas d'internes et même tout au long de l'internat, ta présence et tes conseils dans tous les domaines ont toujours été précieux.  
Vous êtes de belles personnes les filles, merci pour tout.

A mes anciens co-internes devenus chefs : Sofya, Marion, Simon, Charlotte, Julien, Pierre, Gwendoline, Cyril, Benoit, Marie et Eléonore ;  
Merci pour votre aide, vos conseils et pour ces journées de DES toujours mémorables.  
Marie et Eléonore, merci pour votre aide dans la rédaction de cette thèse.  
Benoit et Julien, ce semestre d'hiver passé à vos côtés a été un plaisir, le BDL est né grâce à vous.

A mes co-internes d'Hépatogastroentérologie,  
Vous avez tous des personnalités qui vous sont propres, ça a été un plaisir de vous accueillir parmi la team à chaque fois, merci pour ces moments partagés à l'hôpital et en dehors, faites perdurer cet esprit de solidarité et de bonne entente auprès des générations futures.  
A Adrien, pour avoir atterri dans cette promo au milieu de 4 nanas pas toujours faciles à supporter.

A mes co-internes de radiothérapie,  
Pour leur soutien, leurs encouragements, leur gentillesse et leur humour dans cette dernière ligne droite.

A tout le personnel du service,  
Merci pour ces 4 années à vos côtés, qui m'ont donné envie de rester parmi vous.

A mes parents,  
Je ne vous remercierai jamais assez pour votre soutien sans faille à tous les moments de ma vie, pour l'amour que vous m'avez apporté et les valeurs que vous m'avez transmises. Merci d'avoir cru en moi souvent bien plus que moi. Cette petite réussite, c'est aussi la vôtre. J'ai beaucoup de chance de vous avoir.

A ma Charlotte adorée,  
Tu grandis si vite, je suis heureuse de t'avoir à mes côtés et je suis fière d'être ta sœur. Je te souhaite tout simplement le meilleur.

A mes grands-parents,

J'aurai tant aimé que vous puissiez être tous les quatre présents aujourd'hui. Merci pour tout l'amour que vous m'avez donné. Je vous dédie ce travail.

A mes amies : Alice, Margaux, Jeanne, Doriane, Marion, Solène, Hermine, Clémentine, Laure-cécile, Olivia et Marie-Jeanne ;

Que j'ai croisé votre chemin il y a 20 ans ou durant l'externat, merci pour ces années de folie, de sorties, de rires partagés, pour votre compréhension et votre soutien pendant tout ce parcours.

A Édouard,

Pour cette année passée à tes côtés, parce que ta rencontre a changé ma vie,

Merci

# **TABLE DES MATIERES**

Rationnel de l'étude .....	20
<b>I. INTRODUCTION.....</b>	<b>21</b>
<b>1. Généralités sur le cancer colorectal métastatique</b>	
<b>2. Stratégie thérapeutique du cancer colorectal métastatique</b>	
<b>3. Autres méthodes d'évaluation de la réponse</b>	
3.1 La réponse précoce	
3.2 La profondeur de la réponse	
<b>4. Principaux biomarqueurs du CCRm</b>	
4.1 Principaux biomarqueurs somatiques	
4.1.1 Instabilité microsatéllitaire	
4.1.2 RAS/BRAF	
4.2 Biomarqueurs et biopsie liquide dans le CCRm	
4.2.1 Marqueurs protéiques ACE et CA19-9	
a) ACE	
b) CA 19-9	
4.2.2 ADN circulant	
a) Origines et mécanismes de libération	
b) Méthodes de détection	
c) Principales implications dans le cancer colorectal	
4.2.3 Impact clinique en première ligne du CCRm (les taux initiaux, les variations)	
<b>II. OBJECTIF DE L'ETUDE .....</b>	<b>48</b>
<b>III. MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>49</b>
<b>1. Population</b>	
<b>2. Analyse des marqueurs circulants</b>	
2.1 Temps de prélèvements	

2.2 Méthodes de dosage

3. Analyses statistiques

<b>IV. RESULTATS .....</b>	<b>53</b>
1. Caractéristiques de la population dans les 4 groupes de traitement	
2. Données de réponse en fonction des groupes de traitement	
3. Données de survie en fonction des groupes de traitement	
4. Variations de l'ACE, de l'ADNtot et de l'ADNtc en fonction des groupes de traitement	
5. Étude des seuils extrêmes de variation des marqueurs en fonction des groupes de traitement	
<b>V. DISCUSSION .....</b>	<b>66</b>
<b>VI. CONCLUSION.....</b>	<b>70</b>
<b>VII. BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>71</b>
<b>VIII. ANNEXES .....</b>	<b>77</b>
<b>IX. RESUME .....</b>	<b>79</b>

## **Liste des abréviations :**

5FU :	5-Fluorouracil
ADN :	Acide désoxyribonucléique
ADNc :	Acide désoxyribonucléique circulant
ADNtc :	Acide désoxyribonucléique tumoral circulant
ADNtot :	Acide désoxyribonucléique total
ACE :	Antigène Carcino-Embryonnaire
BV :	Bevacizumab
CA 19-9 :	Antigène Carbohydrate
CCRm :	Cancer Colorectal Métastatique
CHI :	Centre Hospitalier Intercommunal
CHU :	Centre Hospitalier Universitaire
CIMP :	CpG Island Methylation Phenotype
CpG :	Cytosine-phosphate-Guanine
CRLCC :	Centre Régional de Lutte Contre Le Cancer
CT :	Chimiothérapie
EDTA :	Acide EthylèneDiamineTétraacétique
EGFR :	Epidermal Growth Factor Receptor
FOLFIRI :	5-Fluorouracil + Irinotécan + acide folinique
FOLFOX :	5-Fluorouracil + Oxaliplatine + acide folinique
FOLFOXIRI :	5-Fluorouracil + Oxaliplatine + Irinotécan
HR :	Hazard Ratio
IC 95% :	Intervalle de confiance à 95 %
IMS :	Instabilité Microsatéllitaire
IRM :	Imagerie par Résonance Magnétique
MMR (d) :	MisMatch Repair déficient
MSI :	Microsatellite Instable
MSS :	Microsatellite Stable
NGS :	Next Generation Sequencing
OR :	Odds Ratio
PCR :	Polymerase Chain Reaction
PD1 :	Programmed Cell Death 1
RECIST :	Response Evaluation Criteria in Solid Tumors

SG : Survie Globale  
SSP : Survie Sans Progression  
TDM : Tomodensitométrie  
UICC : Union for International Cancer Control  
VEGF : Vascular endothelial growth factor  
WT : Wild Type

## **Rationnel de l'étude**

La prise en charge thérapeutique globale du cancer colorectal métastatique (CCRm) se caractérise par une stratégie dite « multi-ligne » avec une survie médiane globale dans les dernières études de 30 mois pour les formes non résecables et de 50/60 mois pour les formes résecables d'emblée. Pour les patients traités pour un CCRm non résecables, la première ligne (L1) de traitement repose principalement sur la chimiothérapie (CT) systémique associée aux thérapies ciblées (TC) anti-EGFR ou anti-angiogénique, la chirurgie d'exérèse des sites métastatiques étant à envisager en cas de maladie résecable en totalité et contrôlée sous traitement. Si de nombreuses options thérapeutiques sont actuellement possibles en L1 du CCRm, les plus fréquemment utilisées reposent sur les protocoles dits de « bi-CT », FOLFIRI ou FOLFOX, associée à un anticorps monoclonal anti-EGFR (cetuximab, panitumumab) en cas de tumeurs sans mutations des gènes RAS (KRAS, NRAS) ou à un anticorps anti-VEGF (bevacizumab) quel que soit ce statut mutationnel. Pour les autres cas, en fonction de la situation clinique et des objectifs thérapeutiques, la première ligne de traitement peut reposer sur une mono-CT ou tri-CT et être associée à une thérapie ciblée.

Il est admis que l'intensité thérapeutique, mesurée classiquement par le taux de réponse objective observé sur l'imagerie, est dépendante du nombre de molécules associées variant ainsi par exemple de 25 % en cas de mono-CT par 5FU, 40 % en cas de bi-CT par FOLFOX et de 60 % en cas de bi-CT + anti-EGFR (1). Le suivi par imageries régulières, toutes les 8 à 12 semaines selon les équipes, est à ce jour considéré comme la méthode de référence pour juger de la performance du traitement et par conséquent pour décider de ses modifications ou adaptations. Dans ce contexte, l'émergence de la biopsie liquide et de la détection de l'ADN tumoral circulant en particulier est apparue comme un outil très prometteur pour permettre un suivi thérapeutique plus performant et entrevoir notamment des possibilités d'adaptations thérapeutiques soit plus précoces soit en lien avec l'évolution des altérations de la tumeur. A ce jour, les variations de l'ADNtc selon le protocole délivré en L1 du CCRm ne sont pas clairement définies. L'objectif principal de notre étude a été d'évaluer les variations de l'ACE et de l'ADNtc sur les 3 premiers mois en fonction du traitement reçu chez les patients traités en L1 pour un CCRm.

# **I. Introduction**

## **1. Généralités sur le cancer colorectal métastatique**

En France, le cancer colorectal se situe au 3<sup>ème</sup> rang et représente 20 % de l'ensemble des cancers. En 2012, le nombre de nouveaux cas estimés de CCR était de 42 000 avec 65 % de localisation colique (2), soit la 2<sup>ème</sup> cause de mortalité par cancer avec 17 000 décès. L'âge moyen au diagnostic est de 70 ans chez l'homme et de 73 ans chez la femme et son incidence croît régulièrement avec l'âge. La survie globale est de 79% à un an, de 56% à 5 ans et est fortement influencée par le stade UICC au diagnostic. Ainsi, la survie à 5 ans varie entre 90% pour les stades I, 80% dans les stades II, 50% pour les stades III avec atteinte ganglionnaire et 5% pour les stades IV métastatiques. Le caractère métastatique représente donc l'élément pronostique majeur du cancer colorectal.

Schématiquement, 3 présentations cliniques sont considérées dans le CCRm selon le caractère résécable des lésions secondaires et sous réserve bien entendu du terrain du patient : les formes avec métastases jugées résécables d'emblée, les métastases potentiellement résécables et les situations définitivement non résécables compte tenu de l'extension de la maladie.

Pour l'ensemble de ces 3 situations, il est admis qu'environ 25% des patients ont une maladie métastatique lors de la prise en charge initiale et qu'environ 50% développeront des métastases durant l'évolution de la maladie. Le site métastatique le plus fréquent est le foie dont 15 à 20% de métastases synchrones et 20% métachrones dans les 5 ans.

A ce jour, seule la résection ou la destruction des lésions par un traitement local associée ou non à une chimiothérapie et une thérapie ciblée selon les cas peut permettre la rémission complète et parfois la guérison. Ainsi la survie globale médiane est de 60 mois pour le CCRm d'emblée résécable et 30 mois dans le non résécable.

## **2. Stratégie thérapeutique du cancer colorectal métastatique**

L'objectif principal de la prise en charge est de proposer la thérapeutique la mieux adaptée à la situation carcinologique et au contexte du patient. En effet, le traitement du CCRm est palliatif sans possibilité de guérison à long terme pour une grande majorité des patients et l'équilibre entre le résultat oncologique et la qualité de vie doit rester la priorité dans l'ensemble des

séquences de traitement. Pour les patients traités pour un CCRm potentiellement résecable ou non résecable, la stratégie repose sur le traitement systémique en première intention avec de nombreuses options thérapeutiques actuellement possibles avec une tendance à privilégier les protocoles dits intensifiés reposant sur une bi ou tri-chimiothérapie avec thérapie ciblée (3).

Le tableau 1 résume les principaux résultats oncologiques en termes de réponse objective et de survie des principaux protocoles utilisés en L1 du CCRm.

Concernant le taux de réponse objective, dans ces études comme dans la pratique courante, l'évaluation de la réponse au traitement est réalisée par la comparaison d'un examen d'imagerie (TDM, IRM) avant et après 2-3 mois de traitement, puis tous les 2-3 mois. C'est la comparaison de la taille des cibles mesurables qui permet de définir la réponse objective, la stabilité ou la progression de la maladie selon les critères RECIST 1.1 « *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors* ». Au maximum 5 lésions cibles sont sélectionnées avec un maximum de 2 lésions cibles par organe. La sélection sera représentative de tous les organes envahis, en choisissant les lésions les plus grandes (dans leur plus grande dimension). Les ganglions lymphatiques peuvent être considérés comme des lésions cibles si leur plus petit axe (mesuré au scanner) est  $\geq 15$  mm. C'est la somme des diamètres de ces lésions cibles qui sera ensuite comparée entre les différents examens d'imagerie. L'évaluation permet ainsi de définir 4 types de réponse : « **réponse complète** » en cas de disparition totale des lésions (tous les ganglions lymphatiques (cible ou non-cible), doivent avoir atteint une dimension  $< 10$  mm dans leur plus petit axe) ; « **réponse partielle** » (RP) en cas de diminution d'au moins 30 % de la somme des diamètres des lésions cibles ; « **maladie progressive** » (PD) en cas d'augmentation d'au moins 20 % de la somme des diamètres des lésions cibles ou en cas d'apparition de nouvelles lésions; « **maladie stable** » (SD) en cas d'absence des critères ci-dessus (4). La réponse objective (RO) comprend les entités « réponse complète » et « réponse partielle ».

Ainsi, en première ligne de traitement, le taux de réponse objective attendue est de 25 % en cas de mono-CT par 5FU, 40 % en cas de bi-CT par FOLFOX et de 60 % en cas de biCT-antiEGFR.

Concernant les survies, l'ajout de Bevacizumab à une poly-chimiothérapie classique à base de fluorouracile, leucovorine et irinotécan entraîne une amélioration statistiquement et cliniquement significative de la survie des patients. Dans une étude réalisée sur 813 patients, il était montré un allongement de la durée médiane de survie (20,3 mois vs 15,6, rapport de risque de décès de 0,66 ( $P < 0,001$ )) ainsi qu'un allongement de la durée médiane de survie sans progression (10,6 mois vs 6,2 mois, risque de progression de la maladie, 0,54 ;  $P < 0,001$ ) (5).

Dans une seconde étude, l'association de fluoropyrimidine, oxaliplatine et de bevacizumab en 1<sup>ère</sup> ligne a permis d'obtenir une survie globale médiane de 23,7 mois (IC à 95%, 21,3 à 26,8) vs 18,2 mois (IC à 95%, 14,5 à 21,6) sans biothérapie (6).

L'équipe de Heinemann et al s'est intéressée à comparer l'efficacité du protocole FOLFIRI (fluorouracile, acide folinique et irinotécan), en association au cetuximab ou au bevacizumab en 1<sup>ère</sup> ligne chez 592 patients atteints d'un cancer colorectal métastatique KRAS sauvage. Il n'y avait pas de différence significative sur la réponse objective ni sur la survie médiane sans progression entre les deux groupes. Cependant, la survie globale médiane était de 28,7 mois (IC à 95% 24,0-36,6) dans le groupe cetuximab, contre 25,0 mois (22,7-27,6) dans le groupe bevacizumab (HR 0,77, IC à 95% 0,62-0,96 ; p=0,017) (7).

Enfin, l'association de 5FU, leucovorine, oxaliplatine et irinotécan (FOLFOXIRI) s'est révélée plus efficace que le FOLFIRI en 1<sup>ère</sup> ligne chez des patients atteints d'un CCR métastatique (8). Une étude incluant 508 patients en 1<sup>ère</sup> ligne a donc comparé l'efficacité d'un schéma par FOLFIRI plus bevacizumab vs FOLFOXIRI plus bevacizumab. On retrouve un allongement significatif de la survie sans progression (12,1 mois dans le groupe expérimental vs 9,7 mois P=0,003), un taux de réponse objectif de 65% dans le groupe expérimental vs 53% dans le groupe de contrôle (P=0,006). En revanche, l'allongement de la survie globale n'était pas significatif (9).

En résumé, le taux de réponse et de résécabilité secondaire est estimé à environ 30% après utilisation des protocoles intensifiés de première ligne, le recours à une résection chirurgicale doit ensuite toujours être discuté en réunion de concertation pluridisciplinaire. La discussion repose sur le rapport risque/bénéfice de la chirurgie.

Une étude a permis d'évaluer les effets de la chimiothérapie systémique préopératoire sur le parenchyme hépatique résiduel, la fonction hépatique et la morbidité après une résection hépatique majeure pour des métastases hépatiques d'un cancer colorectal. Dans les groupes, 45 patients ont été opérés après une chimiothérapie néo-adjuvante et 22 patients n'avaient reçu aucune chimiothérapie dans les 6 mois précédant la résection. La fonction hépatique était similaire dans les deux groupes en post opératoire. En revanche, le taux de morbidité postopératoire était plus élevé dans le groupe de chimiothérapie (38% contre 13,5%, P = 0,03) et corrélé au nombre de cycles de chimiothérapie administrés avant l'opération, mais pas au type de chimiothérapie. Le traitement néo-adjuvant était significativement associé à une dilatation sinusoidale, une atrophie des hépatocytes et/ou une nécrose hépatocytaire (49 % contre 25 %, P = 0,005) et donc à une modification du parenchyme hépatique. Ceci doit être

pris en considération avant de décider d'une résection hépatique majeure chez les patients ayant reçu une chimiothérapie préopératoire (10). L'évaluation précoce de la réponse au traitement permet donc d'optimiser le traitement néo-adjuvant afin d'en limiter les conséquences sur le parenchyme hépatique et de limiter la morbidité postopératoire.

### 3. Autres méthodes d'évaluation de la réponse

#### 3.1 La réponse précoce

Des études ont montré que la notion de réponse tumorale précoce était associée à la survie globale des patients suivis pour un CCRm. En effet, l'essai de phase 3 TRIBE sur 500 patients, a comparé deux protocoles de chimiothérapie (FOLFOXIRI plus bevacizumab contre FOLFIRI plus bevacizumab) et leur impact sur le rétrécissement précoce de la tumeur (à 8 semaines) et la profondeur de la réponse tumorale. Un pourcentage significativement plus élevé de patients dans le bras FOLFOXIRI plus BV a obtenu une rétraction tumorale précoce  $\geq 20\%$ , par rapport au bras contrôle (62,7% contre 51,9%,  $P = 0,025$ ). De même, la profondeur de la réponse tumorale était significativement plus élevée dans le groupe triplet plus bevacizumab (43,4 % contre 37,8 %,  $P = 0,003$ ). Ces deux critères étaient associés à la survie sans progression et à la survie globale dans les analyses multivariées. Ils ont également permis de prédire la survie avec autant de précision que la réponse RECIST. L'obtention d'un rétrécissement rapide et profond de la tumeur retarde donc sa progression et prolonge la survie des patients traités par une chimiothérapie de première intention avec du bevacizumab (11).

En 2013, une première étude reprenant les résultats des essais CRYSTAL et OPUS (chimiothérapie de 1<sup>ère</sup> ligne par Irinotécan ou Oxaliplatine +/- Cetuximab) avait analysé la valeur prédictive de la réponse tumorale précoce (à 8 semaines) sur le long terme en fonction du traitement reçu et du statut de la tumeur. Dans les deux essais, les patients KRAS sauvage avaient une survie sans progression plus élevées ( $P < 0,001$ ) lorsqu'ils recevaient une chimiothérapie associée au cetuximab par rapport à la chimiothérapie seule, indiquant une valeur prédictive plus forte de la réponse tumorale précoce chez ces patients. Dans les essais CRYSTAL et OPUS, respectivement, une valeur seuil de réponse tumorale précoce  $\geq 20\%$  (vs  $< 20\%$ ) a permis d'observer une survie sans progression plus longue chez les patients KRAS sauvage recevant une chimiothérapie associée au Cetuximab (médianes 14,1 vs 7,3 mois, HR = 0,32 ;  $P < 0,001$ , et médianes 11,9 vs 5,7 mois, HR = 0,22 ;  $P < 0,001$ )(12).

L'étude des marqueurs tumoraux circulants pour l'évaluation précoce de la réponse pourrait constituer une approche innovante et contribuer à l'optimisation de la prise en charge initiale des patients en permettant une intensification thérapeutique ou un changement de protocole en cas de réponse insuffisante.

### 3.2 La profondeur de la réponse

Le concept de "profondeur de la réponse" vise à établir un lien entre la rétraction de la tumeur et la survie post-progression. Si la tumeur rétrécit effectivement, la profondeur de la réponse est le pourcentage de rétrécissement de la tumeur observé au nadir par rapport à la mesure de base. Elle est égale à 0 si aucun changement n'est observé et est négative si la charge tumorale augmente.

Sur la base des données des essais randomisés CRYSTAL et OPUS, les relations entre la charge tumorale de base, la profondeur de la réponse et la survie post-progression ont été étudiées. Les résultats sont issus des mesures de 841 patients avec des tumeurs RAS sauvage : 663 de l'étude CRYSTAL et 178 de l'étude OPUS. Les 348 patients traités par FOLFIRI seul ont eu une profondeur de réponse médiane de 33,3% (IC : 8,0%, 58,0%) tandis que les 315 patients traités par FOLFIRI + cetuximab ont eu une profondeur de réponse médiane significativement plus élevée de 50,9% (IC : 18,4%, 78,6%),  $p < 0,0001$ . Les 96 patients traités par FOLFOX4 seul ont eu une profondeur de réponse médiane de 30,7% (IC : 4,0%, 55,9%) et les 82 patients traités par FOLFOX4 + cetuximab ont eu une profondeur de réponse médiane significativement plus élevée de 57,9% (IC : 24,0%, 92,9%),  $p = 0,0008$ . La corrélation entre la profondeur de réponse et la survie post-progression pour les patients présentant une progression documentée de la maladie était statistiquement significative dans chacun des groupes de traitement. Les rapports de risque montrent qu'une profondeur de réponse plus élevée est associée de manière significative à un temps de survie post-progression plus long dans les deux études. Ces résultats soulignent la valeur de la profondeur de la réponse comme potentielle nouvelle mesure d'efficacité pour les essais cliniques (13).

Enfin, en 2015, une revue de la littérature sur les notions de rétrécissement tumoral précoce et de diminution de la taille tumorale dans les CCRm a été réalisée. Les données montraient que la réduction tumorale précoce était en faveur d'une plus grande sensibilité au traitement, d'un pronostic plus favorable et un indicateur précoce de la réponse potentielle. En revanche, la profondeur de la réponse estime le nadir de la réponse tumorale comme une variable continue, qui peut affecter l'histoire de la maladie et la survie ultérieure.

Les concepts de réponse tumorale précoce et de profondeur de la réponse pourraient donc être des outils prometteurs en tant que paramètres cliniques pour aider la prise de décision et ainsi optimiser davantage la prise en charge des patients atteints de CCRm (14).

Tableau 1 : Principales études sur les protocoles de chimiothérapie de 1ère ligne dans le CCRm

Auteur/Année	Effectif	Molécules	Résultats
Hurwitz <i>et al.</i> 2004 (5)	n = 813	FOLFIRI +/- Bevacizumab	Avantage en faveur du bras FOLFIRI + BV : Durée médiane de survie : 20,3 vs 15,6 mois Durée médiane de SSP : 10,6 vs 6,2 mois Taux de réponse 44,8 vs 34,8% (p=0,004)
Falcone <i>et al.</i> 2007 (8)	n = 244	FOLFOXIRI ou FOLFIRI	Avantage dans le bras FOLFOXIRI : SSP et SG améliorées (SSP médiane : 6,9 v 9,8 mois ; HR : 0,63 ; P = 0,0006 ; SG médiane : 16,7 v 22,6 mois ; HR 0,70 ; p = 0,032)
Hochster <i>et al.</i> 2008 (6) (études TREE 1 et 2)	n1 = 150 n2 = 223	Fluoropyrimidine et Oxaliplatine +/- BV	Avantage en faveur du bras FOLFOX + BV : SG médiane 23,7 mois (IC à 95%, 21,3 à 26,8) vs 18,2 mois (IC à 95%, 14,5 à 21,6)
Van Cutsem <i>et al.</i> 2009 (15) (étude CRYSTAL)	n = 1198	FOLFIRI +/- Cetuximab	Avantage de la biothérapie pour la SSP (HR 0,85, IC à 95% 0,72 à 0,99 ; p= 0,048) Pas de différence pour la SG (HR 0,93, IC à 95% 0,81 à 1,07 ; p= 0,31)
Douillard <i>et al.</i> 2013 (16) (étude PRIME)	n = 512 KRAS sauvage	FOLFOX 4 +/- Panitumumab	Avantage de la biothérapie : SSP : 10,1 vs 7,9 mois (HR 0,72, IC à 95% 0,58 à 0,90 ; p= 0,004) SG : 26 vs 20,2 mois (HR 0,78, IC à 95% 0,62 à 0,99 ; p= 0,04)
Heinemann <i>et al.</i> 2014 (7) (étude FIRE 3)	n = 592 KRAS sauvage	FOLFIRI + Cetuximab ou BV	Pas de différence significative sur la RO ni sur la SSP médiane. SG médiane de 28,7 mois (IC à 95%, 24,0 à 36,6) dans le groupe cetuximab vs 25,0 mois (IC à 95%, 22,7 à 27,6) dans le groupe BV (HR 0,77, IC à 95% 0,62 à 0,96 ; p=0,017)
Loupakis <i>et al.</i> 2014 (9) Cremolini <i>et al.</i> 2015 (11) (étude TRIBE 1)	n = 508	FOLFIRI ou FOLFOXIRI + BV	Avantage du protocole intensifié : SSP 12,1 mois dans le groupe expérimental vs 9,7 mois p=0,003, taux de réponse objectif : 65% vs 53% dans le groupe contrôle (p=0,006) Rétraction tumorale précoce ≥20% : 62,7% contre 51,9% (p = 0,025). Profondeur de la réponse tumorale : 43,4 % contre 37,8 % (p = 0,003)
Venook <i>et al.</i> 2017 (17) (étude CALGB)	n = 1137 KRAS sauvage	FOLFOX6m ou FOLFIRI + Cétuximab ou BV	SG 30 mois dans le gpe Cétuximab vs 29 mois dans le gpe Avastin (HR : 0,88 (95% CI, 0,77–1,01 ; p = 0,08). SSP 10,5 mois dans le gpe Cetuximab vs 10,6 mois (HR : 0,95 (95% CI, 0,84–1,08 ; p = 0,45). Taux de réponse : 59,6% vs 55,2% pour le Cetuximab et le Bevacizumab (différence, 4,4%, 95% CI, 1,0%-9,0%, p = 0,13).
Modest <i>et al.</i> 2019 (18) (étude VOLFI)	n = 86	FOLFOXIRI +/- Panitumumab	Taux de réponse : 86 % vs 61% (OR 3,9 p= 0,009) en faveur du Panitumumab. Pas de différence pour la SSP (10,5 vs 10,8 mois)
Cremolini <i>et al.</i> 2020 (19) (étude TRIBE 2)	n = 679	FOLFOXIRI + BV (avant et après progression) vs mFOLFOX6 + BV avant progression et FOLFIRI + BV après progression (gpe contrôle)	Avantage du bras FOLFOXIRI: SSP médiane 19,2 mois (IC à 95% 17,3 à 21,4) dans le gpe expérimental vs 16,4 mois (IC à 95% 15,1 à 17,5) dans le gpe contrôle (HR 0,74, IC à 95% 0,63 à 0,88 ; p=0,0005)

BV : Bevacizumab ; SSP : survie sans progression ; RO : réponse objective ; SG : survie globale ; OR : odds ratio ; HR : hazard ration ; m : modifié

## 4. Principaux biomarqueurs du CCRm

### 4.1 Principaux biomarqueurs somatiques

Au plan biologique, le CCR est caractérisé par un processus multi-étapes conduisant à la transformation de la muqueuse colique normale en adénome puis en cancer d'abord in situ puis invasif. Ce processus résulte directement de l'accumulation d'altérations moléculaires au sein des cellules de l'épithélium colique (20). Ces altérations correspondent principalement à l'activation de proto-oncogènes, à l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs ou de gènes impliqués dans le système de réparation des mésappariements de l'ADN. Ces altérations touchent directement les gènes cibles ou peuvent être secondaires à une hyperméthylation touchant les îlots CpG des régions promotrices entraînant un défaut de transcription du gène concerné. Schématiquement, ces altérations sont regroupées au sein de 3 principales voies de la carcinogenèse :

- L'instabilité chromosomique impliquée dans environ 80% des CCR (caractérisée par des pertes alléliques sur le bras court des chromosomes 17 et 8 ; et sur le bras long des chromosomes 18, 5 et 22). Ces pertes alléliques sont associées à des mutations fréquentes des gènes suppresseurs de tumeurs (TP53, APC, SMAD4...) et participent ainsi à l'inactivation bi-allélique de ces gènes.
- L'instabilité microsatéllitaire (IMS) impliquée dans 12 à 15 % des CCR.
- L'instabilité épigénétique, en lien avec une hyperméthylation de l'ADN au niveau de certaines régions promotrices de gènes (CIMP : CpG Island Methylation Phenotype) induisant une inactivation transcriptionnelle de gènes suppresseurs de tumeur.

Dans ce contexte, un biomarqueur moléculaire est une altération présente sur l'une de ces voies et dont la présence ou l'absence a un impact sur le pronostic ou une thérapeutique. On distingue ainsi les biomarqueurs pronostiques qui conditionnent la survie de manière indépendante du traitement. A l'inverse, un biomarqueur prédictif conditionne l'effet d'une thérapeutique.

A ce jour, les principaux biomarqueurs du CCRm avec un impact clinique démontré et avec une véritable implication clinique sont le statut MSI et les mutations somatiques RAS/BRAF. Comme le montre le tableau 2, d'autres biomarqueurs potentiellement pertinents au plan clinique et thérapeutique ont été rapportés mais avec un impact clinique qui reste encore à préciser.

Tableau 2 : Principaux biomarqueurs somatiques du CCRm

<b>Biomarqueur</b>	<b>Fréquence</b>	<b>Implication clinique</b>
Mutations RAS	50%	Impact pronostique défavorable et prédictif de non réponse aux anti-EGFR
Statut MSI	10-15%	Impact pronostique favorable et prédictif de réponse aux anti-PD1(21)
Mutation BRAF	5-10%	Impact pronostique défavorable et prédictif de réponse aux anti-BRAF, anti-MEK et anti-EGFR (22)
Mutation PI3K	10-15%	Impact pronostique et prédictif indéterminé
Altérations HER 2	5%	Impact pronostique indéterminé (23) et prédictif potentiel de réponse aux anti-HER2 (24)
Mutation POL 1	1%	Peu de données, phénotype hyper muté, possiblement impact prédictif potentiel aux anti-PD1 (25)

#### 4.1.1 Instabilité microsatéllitaire

La voie de l'instabilité microsatéllitaire est caractérisée par la présence d'une instabilité des « microsatellites ». Les microsatellites sont des séquences répétées de l'ADN particulièrement sujettes à des erreurs à type de mésappariements lors de la réplication de l'ADN. En l'absence d'altérations, ces erreurs sont corrigées par un complexe de protéines appartenant au système MMR (Mismatch– Repair) comprenant les protéines MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2.

L'IMS est liée à un défaut de réparation des mésappariements de l'ADN survenus au cours de la réplication. Ce défaut de réparation est lié à une inactivation bi-allélique de gène du système MMR (gènes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*).

Cette inactivation est le plus souvent due à une hyperméthylation de la région promotrice du gène *MLH1*. Cette déficience du système de réparation induit une accumulation de mutations secondaires au sein de gènes impliqués dans le contrôle tumoral.

La recherche d'un phénotype tumoral moléculaire MSI (ou dMMR) est recommandée. Il s'agit

d'une caractéristique moléculaire dont la fréquence augmente avec l'âge des patients (> 20% après 75 ans et > 30% après 85 ans) (26). Parmi ces cancers de phénotype MSI, il faut distinguer les cancers sporadiques (environ 80 %), qui sont décrits majoritairement chez des sujets âgés, de ceux observés chez les patients atteints d'un syndrome de Lynch avec une mutation constitutionnelle (20 %). Ce phénotype moléculaire tumoral doit être déterminé au moyen d'une technique d'immunohistochimie (anticorps anti-MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2) et/ou de biologie moléculaire après extraction d'ADN à partir de matériel tumoral. L'absence d'expression de l'une des protéines de réparation MMR (MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2) au niveau tumoral est fortement en faveur d'un phénotype MSI. En cas de tumeur MSI en biologie moléculaire et dans le cadre d'une suspicion de syndrome de Lynch, une analyse immunohistochimique de l'expression des protéines de réparation MMR s'impose afin d'orienter le diagnostic génétique. Cette analyse immuno-histochimique complémentaire n'est pas nécessaire en cas de tumeur *BRAF* mutée ou en cas d'hyperméthylation du promoteur de *MLH1* car ces altérations moléculaires tumorales sont associées aux tumeurs MSI sporadiques.

Les CCR de stade II et III de phénotype MSI apparaissent dans les études comme étant de meilleur pronostic que les MSS (27). Dans le CCRm, les résultats sont plus nuancés, une étude rétrospective sur 55 patients atteints de CCRm MSI-H retrouvait une survie globale médiane de 15,4 mois. Treize patients ont subi une métastasectomie R0/R1, avec une survie globale médiane de 33,8 mois après la métastasectomie. Trente et un patients ont reçu une chimiothérapie systémique de 1<sup>ère</sup> ligne avec une survie globale médiane de 11,5 mois. Dans cette étude, les patients atteints de CCRm MSI-H ne semblent pas avoir de meilleurs résultats en terme de survie (28).

En 2015, une étude de phase 2 chez 41 patients a évalué l'impact pronostique et thérapeutique du phénotype MSI au cours d'un traitement par immunothérapie. L'intérêt clinique du Pembrolizumab (anti-PD1) a été analysé en fonction de la présence ou non d'une instabilité microsatéllitaire au niveau de la tumeur. Le taux de réponse objective et le taux de survie sans progression étaient respectivement de 40 % (4 patients sur 10) et 78 % (7 patients sur 9) pour les cancers colorectaux MSI et de 0 % (0 patient sur 18) et 11 % (2 patients sur 18) pour les cancers colorectaux MSS. Les médianes de survie sans progression et de survie globale n'ont pas été atteintes dans la cohorte de patients atteints d'un CCR avec un phénotype MSI, mais étaient respectivement de 2,2 et 5,0 mois dans la cohorte de patients atteints d'un CCR MSS (HR pour la progression de la maladie ou le décès, 0,10 (p<0,001), et HR pour le décès, 0,22 (p= 0,05)). Le séquençage de l'exome entier a révélé une moyenne de 1782 mutations

somatiques par tumeur dans les cas de tumeurs présentant un phénotype MSI, contre seulement 73 dans les cas de tumeurs présentant un phénotype MSS ( $p = 0,007$ ). Des charges de mutation somatique élevées ont été associées à une survie sans progression prolongée ( $p = 0,02$ ). Cette étude suggère donc que le statut MMR des tumeurs permet de prédire le bénéfice clinique du blocage des points de contrôle immunitaire par le pembrolizumab (21).

#### 4.1.2 RAS/BRAF

Dans le CCR, des altérations génétiques des protéines constituant les voies RAS/RAF/MAPKinase et PI3K/AKT acquises lors de la carcinogenèse colique, telles que des mutations activatrices type gain de fonction, ou perte de fonction d'un inhibiteur, sont responsables d'une activation quasi-permanente de ces voies. L'activation constitutive de la voie RAS/RAF/MAPKinase est liée à une mutation activatrice des protéines RAS dans environ 50 à 60% des cancers colorectaux. Les protéines RAS font partie de la famille des GTPases. Il en existe 4 iso-formes codées par trois gènes différents : *KRAS*, *HRAS* et *NRAS*. Ces GTPases mutées sont activées en permanence, entraînant une activation dérégulée de la cascade de transduction d'aval. Ainsi, le gène *KRAS* est muté dans 40% des tumeurs, et dans 40% des cas au sein de l'exon 2 le plus souvent au niveau des codons 12 et 13. Dans moins de 10% des cas, les mutations concernent l'exon 3 (codons 61 et 59) et l'exon 4 (codons 117 et 146). Le gène *NRAS* est beaucoup plus rarement porteur de mutations (environ 5 à 8% des cas). Enfin, il n'est pas décrit de mutation du gène *HRAS* au cours des CCR.

Au plan biologique, ces mutations sont des mutations faux sens qui aboutissent à une forme de RAS bloquée en phase active entraînant une activation constante des voies de signalisation d'aval qui stimulent la prolifération, la survie, la différenciation, la migration cellulaire et l'angiogenèse.

Au plan pronostique, la présence d'une mutation RAS est associée à un pronostic défavorable dans le CCRm. En effet, comme le montre une étude de Yaeger et al réalisée chez 918 patients atteints d'un CCRm, la mutation RAS était associée de manière significative à une survie globale médiane plus courte et, en analyse multivariée, prédisait également de manière indépendante une survie globale plus courte (HR 1,6,  $p < 0,01$ ) (29,30).

Au plan thérapeutique, la connaissance de ces mécanismes moléculaires a permis le développement de thérapies dites « ciblées » que sont les anti-EGFR. Ce sont des anticorps monoclonaux (Cétuximab (Erbix®) et le Panitumumab (Vectibix®)) qui possèdent un mode

d'action similaire, leur fixation sur la partie extracellulaire de l'EGFR empêche la fixation de leur ligand. Il en résulte une inhibition de la dimérisation et de l'activation de l'EGFR. Le statut KRAS est maintenant connu comme marqueur de résistance aux anti-EGFR chez les patients atteints de CCRm. En effet, il a été montré, d'abord dans des études rétrospectives puis dans des essais randomisés, que les patients avec un CCRm et une mutation KRAS ne tiraient aucun bénéfice en termes de réponse tumorale et de survie au traitement anti-EGFR contrairement aux patients dont la tumeur était Wild-type (WT) (31–33). L'autorisation de mise sur le marché des anti-EGFR limite donc l'indication aux CCR métastatiques dits « *RAS* sauvages » c'est-à-dire sans mutation *KRAS* ni *NRAS* sur l'ensemble des codons précités.

Les protéines RAF sont des protéines serine/thréonine - Kinases. Il en existe 3 isoformes codées par trois gènes différents : *A-RAF*, *B-RAF* et *C-RAF*. La protéine BRAF appartient à la voie de signalisation RAS/RAF/MEK/MAPK mise en jeu lors de l'activation de l'EGFR. Dans 10 % des CCR il existe une mutation activatrice de BRAF, située en aval des protéines RAS, conférant une augmentation de l'activité kinase. Dans plus de 95% des cas, il s'agit d'une mutation à type de transversion T>A (remplacement d'une thymine en une adénine) appelée communément mutation *BRAF* V600E. L'activation de la protéine BRAF induit donc une activation de la voie RAS/MAPK similaire à celle provoquée par les mutations de gènes *RAS*. La mutation *BRAF* V600E est mutuellement exclusive de mutations du gène *RAS*. Elle est plus fréquente dans les tumeurs de localisation proximale (25 à 30%) que distale (moins de 5%) et survient beaucoup plus fréquemment dans les cancers sporadiques MSI que dans les tumeurs MSS (respectivement 50-80% et 5-10%).

Au plan pronostique, la présence d'une mutation *BRAF* V600E a un impact pronostique défavorable bien établi avec une survie globale médiane de 4 à 6 mois après l'échec du traitement initial, quels que soient les traitements reçus. Sa présence est associée à une diminution de la survie globale, particulièrement pour les tumeurs MSS (34).

Actuellement, il n'y a pas de recommandation de prise en charge spécifique des patients porteurs de CCR métastatiques avec mutation *BRAF*. La prescription d'Ac anti-EGFR n'est pas contre-indiquée, contrairement aux CCR avec mutations *RAS*. Cependant, la connaissance de ce statut tumoral peut influencer la prise en charge en incitant à un traitement de chimiothérapie intensifiée dès la 1<sup>re</sup> ligne, compte tenu de l'agressivité de la maladie.

En 2019 l'essai BEACON (ouvert / phase 3) a étudié l'efficacité d'une stratégie d'inhibition multi-cible chez 665 patients ayant un CCRm muté BRAF V600E après échec d'une première

ligne de chimiothérapie. Les patients ont été répartis dans 3 groupes pour recevoir : l'encorafenib, le binimetinib et le cetuximab (groupe de tri-thérapie) ; l'encorafenib et le cetuximab (groupe de bi-thérapie) ; ou une chimiothérapie classique par Irinotécan ou FOLFIRI + Cetuximab (groupe témoin). Les principaux critères d'évaluation étaient la survie globale et le taux de réponse objective dans le groupe trithérapie par rapport au groupe contrôle. Le second critère d'évaluation était la survie globale dans le groupe bi-thérapie par rapport au groupe contrôle. La survie globale médiane était de 9,0 mois dans le groupe trithérapie et de 5,4 mois dans le groupe contrôle (rapport de risque de décès, 0,52 ; IC à 95% : 0,39 à 0,70 ; P<0,001). Le taux de réponse était de 26 % (IC à 95 %, 18 à 35) dans le groupe de trithérapie et de 2 % (IC à 95 % : 0 à 7) dans le groupe contrôle (P<0,001). La survie globale médiane dans le groupe bi-thérapie était de 8,4 mois (rapport de risque de décès, 0,60 ; IC à 95 % : 0,45 à 0,79 ; P<0,001). La combinaison d'encorafenib, de cetuximab et de binimetinib a donc augmenté significativement la survie globale et le taux de réponse (22).

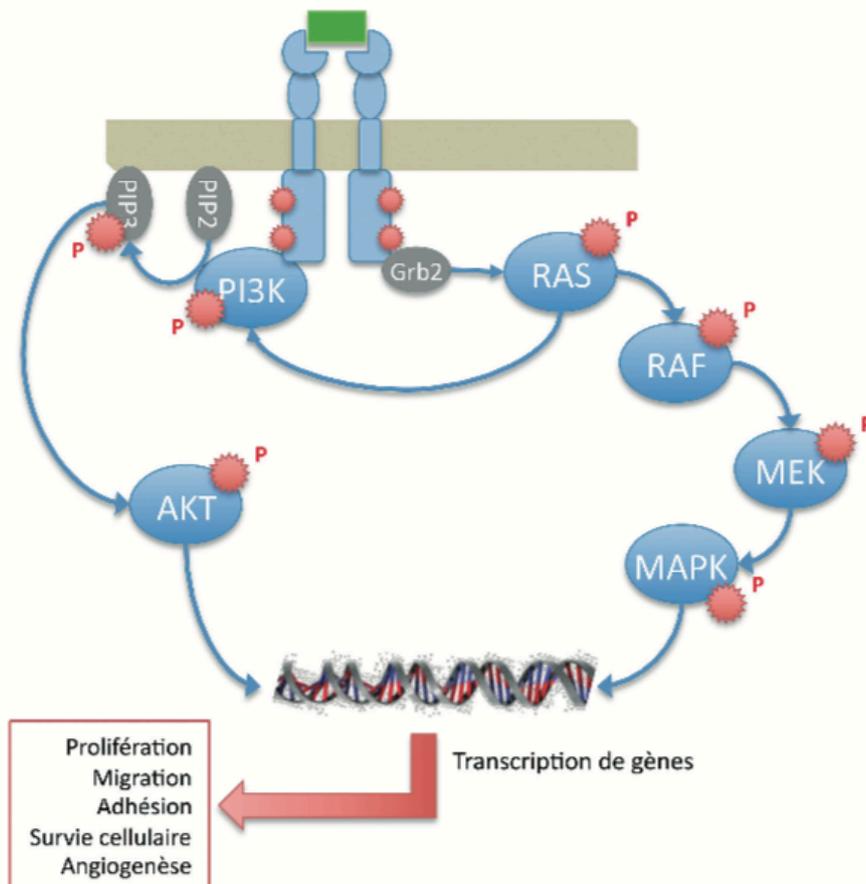


Figure 1 Voies RAS/RAF/MEK/MAPK et PI3K/AKT (35)

## 4.2 Biomarqueurs et biopsie liquide dans le CCRm

L'essor récent des méthodes de détection en biologie moléculaire a permis le développement de la biopsie liquide, concept qui est schématiquement basé sur la détection dans le sang périphérique d'une altération de la tumeur. Parmi les différentes approches, la détection de l'ADN tumoral circulant porteur d'une mutation présente dans la tumeur est celle qui a été le plus développé dans les cancers solides et le CCR en particulier. Si la faisabilité a été montrée par de nombreux travaux dans le CCRm, l'intérêt clinique de la détection de l'ADNtc chez les patients traités en première ligne pour un CCRm n'est pas clairement démontré.

En tenant compte de leurs principales caractéristiques biologiques (récurrences, fréquences, conservation dans la carcinogenèse) et de la performance des nouvelles méthodes de PCR digitale, les mutations RAS/BRAF ont été les principales altérations recherchées pour la détection de l'ADNtc. Plus récemment, les travaux ont montré que l'utilisation du séquençage de nouvelle génération (ou NGS) permet une détection de l'ADNtc sur l'ensemble des altérations tumorales (RAS, BRAF, TP53, APC, PI3KCA, etc...). A ce jour, il est également important de souligner que les marqueurs circulants « classiques » comme l'ACE et le CA19.9 restent largement utilisés, leur intérêt dans le suivi des patients restant encore également à définir.

### 4.2.1 Marqueurs protéiques ACE et CA19-9

#### a) ACE

L'Antigène carcino-embryonnaire (ACE) est une protéine endogène dont la sécrétion peut être augmentée lors d'un processus pathologique, notamment lors de l'activation de certains gènes au cours de l'oncogenèse. Ce marqueur est utilisé quotidiennement en routine principalement pour le monitoring des patients sous chimiothérapie. La principale limite de ce marqueur concerne son manque de spécificité puisqu'il n'est pas pathognomonique d'un type tumoral particulier. L'ACE est synthétisé chez l'individu sain en concentration faible avec des valeurs normales situées entre 2,5 et 5 µg/l. Sa demi vie est de 2,8 jours.

Plusieurs travaux ont montré que la diminution de l'ACE pendant la chimiothérapie était prédictive d'une meilleure survie globale et inversement qu'une augmentation de l'ACE prédisait une maladie évolutive. Une étude réalisée dans notre service sur 122 patients présentant un CCRm a cherché à mettre en évidence une relation entre les variations de pente

d'ACE et la réponse à la chimiothérapie. La progression était définie par une pente de l'ACE supérieure à +0,05 et la réponse par une pente inférieure à -0,2. La survie sans progression était corrélée aux pentes d'ACE, avec une médiane de 10 mois pour les patients ayant des valeurs de pente de l'ACE inférieures à -0,2 contre 6 mois pour les patients ayant des valeurs de pente de l'ACE supérieures à -0,2 ( $P < 0,0001$ ). Ces résultats suggèrent que la cinétique de l'ACE peut-être une méthode simple et non invasive pour identifier la progression de la maladie tumorale chez les patients présentant un CCRm (36). Actuellement les recommandations préconisent l'utilisation du dosage de l'ACE pour le suivi du CCRm en association aux autres méthodes d'évaluation, notamment radiologiques (37).

Récemment, une étude tirée de l'essai FIRE 3 a examiné la relation entre la diminution de l'ACE, la réponse tumorale et la survie chez des patients atteints de CCRm de type KRAS sauvage et recevant une chimiothérapie de 1<sup>ère</sup> ligne par FOLFIRI plus cetuximab ou FOLFIRI plus bevacizumab. La diminution de l'ACE était évaluée en pourcentage de décroissance entre le début du traitement et le nadir obtenu. Une valeur seuil optimale de 75 % de diminution de l'ACE a été choisie pour distinguer les répondeurs et les non-répondeurs. 472 patients étaient éligibles pour une analyse de l'ACE (bras cetuximab : 230 et bras bevacizumab : 242). La diminution relative maximale (%) de l'ACE différait de manière significative ( $P = 0,003$ ) entre le bras cetuximab (médiane 83,0 % ; IC 40,9 %-94,7 %) et le bras bevacizumab (médiane 72,3 % ; IC 26,3 %-91,0 %). La diminution de l'ACE était plus rapide et plus importante dans le groupe cetuximab. Le nadir de l'ACE était observé après 3,3 mois (bras cetuximab) et 3,5 mois (bras bevacizumab) ( $p = 0,49$ ). Dans le groupe cetuximab, les patients dits répondeurs sur leur taux d'ACE avaient une SSP significativement plus longue (11,8 contre 7,4 mois ; HR 1,53 ; IC à 95%, 1,15 à 2,04 ;  $p = 0,004$ ) et une SG plus longue (36,6 contre 21,3 mois ; HR 1,73 ; IC à 95%, 1,24 à 2,43 ;  $p = 0,001$ ). Dans cet essai, la diminution de l'ACE a été significativement corrélée à une survie prolongée chez les patients recevant du FOLFIRI plus du cetuximab (38).

Cependant, le taux d'ACE n'est augmenté que chez environ 80 % des patients ayant un CCRm (39), il existe ainsi une proportion significative de patients pour lesquels ce taux reste bas et donc, non informatif pour le suivi. Une autre limite de l'ACE est la possibilité d'observer un « flare up » initial du taux d'ACE, décrit chez environ 15 % des patients, malgré l'absence de progression ultérieure documentée (40).

b) CA 19-9

Le CA 19-9 (ganglioside contenant un radical sialyl-lacto-N-fucopentaose) est le second marqueur sérique fréquemment utilisé en pratique alors que les données de la littérature ne permettent pas de recommander son utilisation en routine pour le CCRm. Il est synthétisé par le pancréas humain normal ainsi que par les épithéliums biliaires, gastriques, coliques, œsophagiens, endométriaux et salivaires. Les taux de CA 19-9 sont augmentés dans 50 à 70% des cas de CCR. En revanche, environ 5 à 10 % de la population générale ne produit pas de CA 19-9.

Une étude réalisée sur 87 patients, a évalué la valeur prédictive du CA 19-9 chez des patients ayant un CCRm et traités soit par chimiothérapie standard seule (FOLFIRI/FOLFOX) soit par chimiothérapie + bevacizumab (FOLFIRI + BV). Parmi tous les facteurs étudiés, seuls le type de traitement (chimiothérapie seule vs chimiothérapie + BV) et le CA19-9 de base (> vs < normale) ont été indépendamment associés à la survie sans progression. L'étude a démontré une valeur prédictive significative du taux de CA19-9 chez les patients traités par anti-angiogéniques. Seuls les patients présentant des taux de CA19-9 anormaux ont bénéficié de manière significative du bevacizumab (41). Une seconde étude sur 73 patients atteints d'un CCRm ayant reçu une chimiothérapie par FOLFOX4 ou FOLFIRI + cetuximab en 1<sup>ère</sup> ligne a mis en évidence que les variations des taux de CA19-9 après trois cycles de traitement étaient significativement corrélées à la survie sans progression et à l'efficacité du traitement par cetuximab (42). Enfin, une dernière étude publiée en 2019 sur 113 patients a également mis en évidence que la concentration sérique de CA19-9 quatre mois après une chimiothérapie de 1<sup>ère</sup> ligne ( $p=0,003$ ,  $HR=3,761$ ) était un facteur prédictif indépendant de la survie de ces patients (43).

Tableau 3 : Impact des variations des marqueurs protéiques ACE et CA 19-9 sur la réponse et la survie en L1 dans le CCRm

Auteur / Année	Effectif	Traitement (n° ligne)	Biomarqueur	Timing dosage	Résultats
Iwanicki <i>et al</i> , 2008 (36)	n=122	1 <sup>ère</sup> ligne	ACE	1 <sup>er</sup> jour de chaque cure	<b>Variation de pente d'ACE sur les 3 ou 4 premières cures</b> Progression : pente ACE > +0,05 Réponse : pente < -0,2  SSP : médiane de 10 mois si pente ACE < -0,2 vs 6 mois si pente ACE > -0,2 (p < 0,0001)
Michl <i>et al</i> , 2016 (38) (étude FIRE 3)	n=472	1 <sup>ère</sup> ligne FOLFIRI + Cétuximab ou BV	ACE	14 jours avant C1 Puis tous les 14 jours	<b>Décroissance en % entre le début du traitement et le nadir</b> Valeur seuil de 75% de diminution (définit répondeurs vs non répondeurs)  Baisse + rapide et + profonde dans le bras Cetuximab (p= 0,003) Dans le gpe Cetuximab, pour les répondeurs : SSP : 11,8 contre 7,4 mois ; (HR 1,53 ; IC95%, 1,15 à 2,04 ; p = 0,004) SG : 36,6 contre 21,3 mois ; (HR 1,73 ; IC95%, 1,24 à 2,43 ; p = 0,001)
Formica <i>et al</i> , 2009 (41)	n=87	1 <sup>ère</sup> ligne FOLFIRI ou FOLFOX ou FOLFIRI + BV	CA 19-9	/ 2 semaines	<b>Valeur baseline (selon la médiane)</b> SSP : plus longue en cas de CA 19-9 normal (baseline) : 12,3 contre 9,9 mois ; (HR 1,96 ; IC95%, 1,19 à 4,09 ; p = 0,03) SSP : 14,7 mois (dans le groupe chimiothérapie + BV + CA 19-9 anormal) contre 8,4 mois (dans le groupe chimiothérapie seule + CA 19-9 anormal) HR = 0,26, p = 0,04
Jia <i>et al</i> , 2019 (42)	n=73	1 <sup>ère</sup> ligne FOLFOX4 ou FOLFIRI + Cétuximab	CA 19-9	/ 2 semaines, à chaque cure	<b>Variation en % baseline/C3</b> SSP : Après C3, une augmentation de 28% du taux de CA 19-9, entraîne une SSP plus courte (p < 0 0001) <b>Efficacité</b> : Après la C1, une baisse de 45% du taux de CA 19-9, prédit un taux d'efficacité et une sensibilité au Cétuximab de 84,21% et 93,18% respectivement, (AUC 0,91, IC95%: 0,82–0,97)
Hashizume <i>et al</i> , 2019 (43)	n=113	1 <sup>ère</sup> ligne	CA 19-9	Avant C1 à 4 mois	<b>Taux à 4 mois</b> Le taux de CA 19-9 à 4 mois était significativement lié à la survie (p=0,003, HR=3,761)

SSP : survie sans progression ; BV : bevacizumab ; SG : survie globale ; HR : Hazard ratio

## 4.2.2 ADN circulant

### a) Origines et mécanismes de libération

L'ADN tumoral circulant qui correspond à de petits fragments d'acides nucléiques qui ne sont pas associés à des cellules, est apparu depuis plusieurs années comme un biomarqueur prometteur susceptible d'apporter des informations permettant l'optimisation de la prise en charge du patient en oncologie. Cette « biopsie liquide » permet d'étudier un large spectre d'altérations génétiques spécifiques de la tumeur (mutations, translocations récurrentes, pertes d'hétérozygoties, hyperméthylation) de façon non invasive. La mise en évidence d'ADN dans la circulation sanguine a été décrite pour la première fois par Mandel et Metais en 1948. Les premières avancées dans le domaine de l'oncologie ont été décrites par Leon et al en 1977. Dans cet article, la concentration d'ADN circulant était plus élevée chez les patients atteints de cancer que chez les témoins et les niveaux d'ADN, étaient également significativement plus élevés dans le sérum des patients atteints de maladies métastatiques par rapport aux patients non métastatiques. De plus, la concentration d'ADN pouvait évoluer après un traitement par radiothérapie, soulignant son intérêt potentiellement pronostique (44).

L'ADN<sub>tc</sub> est issu des cellules néoplasiques et ne représente qu'une fraction minoritaire de l'ensemble des fragments d'ADN total circulant (entre 0,01 % et 93 %). L'autre fraction provient des cellules dites « saines » qui peuvent correspondre aux cellules hématopoïétiques, aux cellules de l'environnement péri-tumoral ou aux cellules en provenance de tissu sain non péri-tumoral (45). Le rôle pronostique de la détection de l'ADN<sub>tc</sub> chez les patients atteints d'un cancer colique n'est actuellement pas clairement établi. En effet, l'histoire naturelle et l'impact pronostique de l'ADN<sub>tc</sub> dans l'évolution du processus cancéreux ne sont pas encore entièrement élucidés en raison principalement des limites technologiques auxquelles se heurte la détection de l'ADN tumoral présent dans le sang circulant des patients.

Le profil génétique des tumeurs solides est actuellement obtenu à partir de prélèvements chirurgicaux ou de biopsies, qui restent toutes deux des techniques invasives, avec des délais d'obtention des résultats qui peuvent être longs. Les informations obtenues à partir d'une seule biopsie fournissent un aperçu limité dans l'espace et dans le temps des altérations tumorales et peuvent ne pas refléter son hétérogénéité. Ces méthodes présentent également des limitations techniques : épuisement du matériel tumoral en cas d'analyses multiples, dégradation de l'ADN due aux fixateurs utilisés, prélèvements tissulaires non réalisables ou coûteux. Les progrès

technologiques ont permis de rendre possible l'identification des altérations génétiques et épigénétiques de l'ADNtc au sein de l'ADN total circulant (45). L'équipe de Thierry et al a montré un taux de concordance de 96% pour la détection de mutations KRAS entre les prélèvements tissulaires et plasmatiques (46).

En ce qui concerne les mécanismes de libération de l'ADNtc, ils peuvent être directs, par relargage d'ADN dans la circulation sanguine (par sécrétion cellulaire, nécrose cellulaire et de manière majoritaire par apoptose cellulaire au niveau du tissu tumoral (primitif ou métastatique) ou des cellules tumorales circulantes) ou indirecte sous forme d'exosome (47). L'équipe de Jahr et al, a montré que les tailles des fragments d'ADN circulant étaient majoritairement des multiples de 180 paires de bases du fait de l'action des enzymes (Caspase Activated DNase) impliquées dans l'apoptose. La nécrose cellulaire quant à elle, induit la libération de fragments de plus grande taille (>10 000 paires de bases) (47).

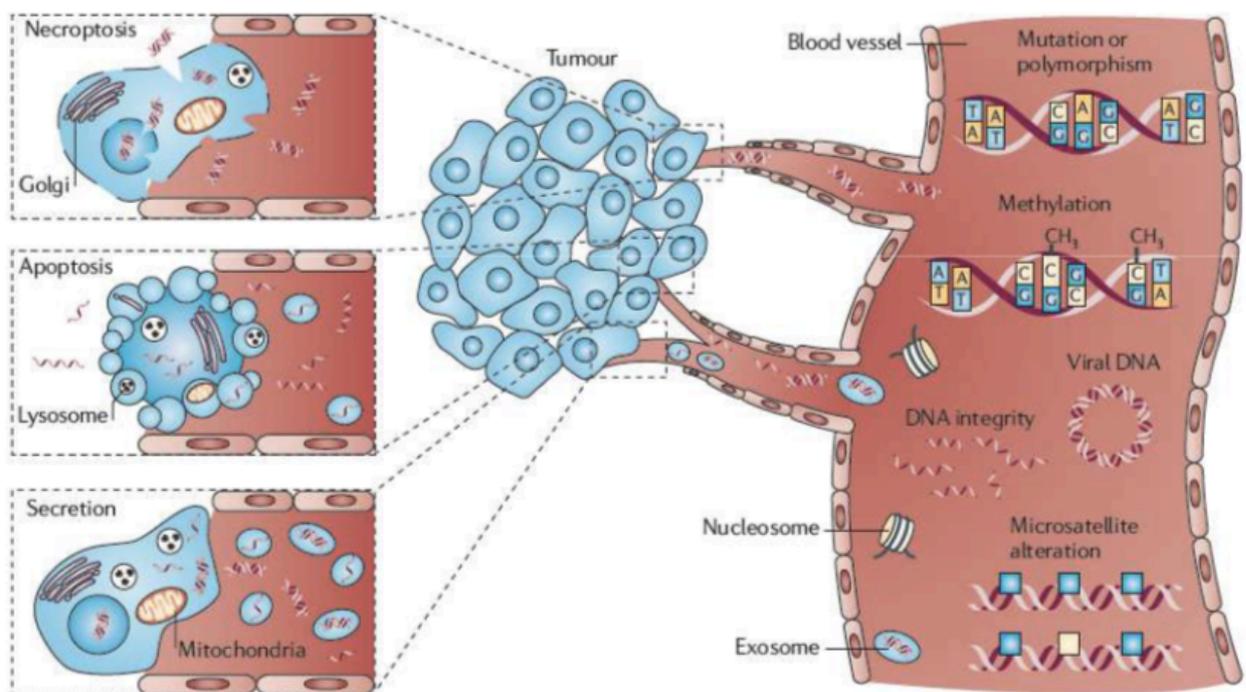


Figure 2 Mécanismes de libération de l'ADN dans la circulation sanguine (D'après Schwarzenbach et al, 2011)

La quantité d'ADNtc présente dans le plasma est sensiblement plus élevée chez les patients atteints de cancer que chez les individus sains ou atteints de maladies bénignes, et semble augmenter avec le stade de la tumeur (et donc possiblement avec le volume tumoral) (48)(49). La quantification moyenne d'ADNc chez les patients atteints de cancer est de 180 ng/ml (0-

1000ng/ml) et de 30ng/ml (0-100ng/ml) chez le sujet sain. Chez ces patients, l'inflammation, l'auto-immunité, le tabagisme, la grossesse, une chirurgie, l'exercice physique et l'insuffisance cardiaque peuvent augmenter les concentrations en ADNc. L'élimination de l'ADNc se fait par les reins, le foie et la rate ; la demi-vie de l'ADNc dans la circulation sanguine est courte, d'environ 1 à 2 heures (50).

#### b) Méthodes de détection

La détection de l'ADN circulant total et de l'ADNtc repose sur des techniques de dosage quantitatif avec une relation significative entre le taux d'ADN circulant total et le taux d'ADNtc (51,52). Cependant, la détection d'ADNtc nécessite d'avoir préalablement identifié une mutation somatique cible susceptible d'être recherchée dans le sang périphérique (53). L'identification d'une telle mutation cible n'est actuellement possible en routine que chez 60% des patients.

Les grandes étapes de la détection sont les suivantes :

##### - Étape pré-analytique :

L'analyse des prélèvements afin d'étudier l'ADNc et l'ADNtc doit se faire à partir du plasma. En effet, il a été montré que les concentrations en ADNc dans le sérum étaient plus importantes que dans le plasma du fait de la libération d'ADN via la lyse des leucocytes lors de la coagulation, entraînant une dilution de l'ADNtc dans l'ADN génomique (54). L'EDTA représente l'anticoagulant de choix à utiliser étant donné que l'héparine inhibe la réaction de PCR (55). La centrifugation de l'échantillon dans les 6 heures qui suivent le prélèvement et son transport à température ambiante ou à 4°C permettent le maintien d'une concentration stable en ADNc (56). Le conditionnement afin de préparer l'échantillon de sang consiste en une double centrifugation (première étape à vitesse lente puis seconde à vitesse rapide) (54). Il peut ensuite être stocké à -20 ou -80°C en évitant les procédures de décongélations-congélations multiples. Enfin, l'extraction d'ADN se fait en utilisant des kits spécifiques.

##### - Étape analytique :

Le principe de la biopsie liquide repose sur le fait de pouvoir séparer les fragments d'ADNtc des fragments d'ADN non tumoraux via la détection de mutations somatiques spécifiques de la tumeur. Il existe des techniques plus ou moins sensibles pour la détection de ces altérations

dont les principaux avantages et inconvénients sont indiqués dans le Tableau 3. La détection peut se faire en se basant sur des altérations génétiques identifiées au préalable ou non dans le tissu tumoral.

Tableau 4 : Comparaison des méthodes de détection et d'analyse d'ADNtc (modifié d'après Osumi *et al*, 2019 (57)).

<b>Méthodes de détection</b>	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>	<b>Principales altérations</b>
PCR spécifique d'allèle PCR Digitale (ex : BEAMing)	Analyse rapide, sensibilité élevée, adaptée à la détection de point de mutations spécifiques, faible coût, pas d'analyse bio-informatique.	Mise en évidence d'un faible nombre de mutations qui doivent être connues.	RAS BRAF
NGS optimisée (ex : SAFE-SeqS ou CAPP- Seq) Séquençage ciblé ou non ciblé du génome	Pas de nécessité de connaître préalablement la mutation, nombreux loci analysés en parallèle, monitoring de mutations de résistance de novo.	Temps plus long d'obtention et d'analyse des résultats, coût élevé, expertise bio-informatique.	Cible au choix (RAS, BRAF, Pi3K, TP 53...)

### c) Principales implications dans le cancer colorectal

Aucun marqueur biologique de pronostic validé n'est actuellement disponible pour le cancer colorectal métastatique. L'intérêt clinique potentiel de l'ADNc intervient à chaque stade de la maladie cancéreuse. Il permettrait le diagnostic de la maladie tumorale, y compris au stade précoce et infra clinique. Son utilisation est étudiée pour le diagnostic de maladie résiduelle minime après chirurgie curative, pour permettre une meilleure sélection des patients pour lesquels une chimiothérapie adjuvante serait indiquée. L'ADNc présente un potentiel théranostique en permettant de réaliser le profilage moléculaire tumoral des mutations prédictives de résistance aux thérapies ciblées (ex : anti EGFR). Il permettrait aussi de saisir l'hétérogénéité inter métastatique étant donné qu'elles ont généralement des profils moléculaires distincts. Il a également été décrit que l'ADNc serait un bon reflet de la charge tumorale et donc une bonne méthode de monitoring sous traitement.

Enfin, les biopsies liquides répétées peuvent avoir une utilité particulière en permettant d'identifier des mutations de résistance acquises sous traitement (par exemple aux anti EGFR ) et de modifier le traitement en temps réel (58–60). Le CCR contient probablement des clones mutants résistants avant le début du traitement et leur proportion augmente sous la pression thérapeutique (61). L'analyse de l'évolution de l'ADNc a montré que plusieurs mutations peuvent émerger rapidement pendant les blocages des voies de signalisation de l'EGFR et qu'elles peuvent souvent être détectées avant une rechute radiologique (62). Une étude a montré que l'émergence de clones KRAS mutés résistants pourrait être détectée jusqu'à 10 mois avant la confirmation radiographique de la progression de la maladie (63). Les profils d'évolution de l'ADNc chez les patients traités avec un anti-EGFR ont montré que les clones KRAS mutés, qui émergent pendant le blocage du récepteur à l'EGF, déclinent lors du retrait de l'anti EGFR, ce qui permet de reprendre le traitement afin d'obtenir une nouvelle réponse.

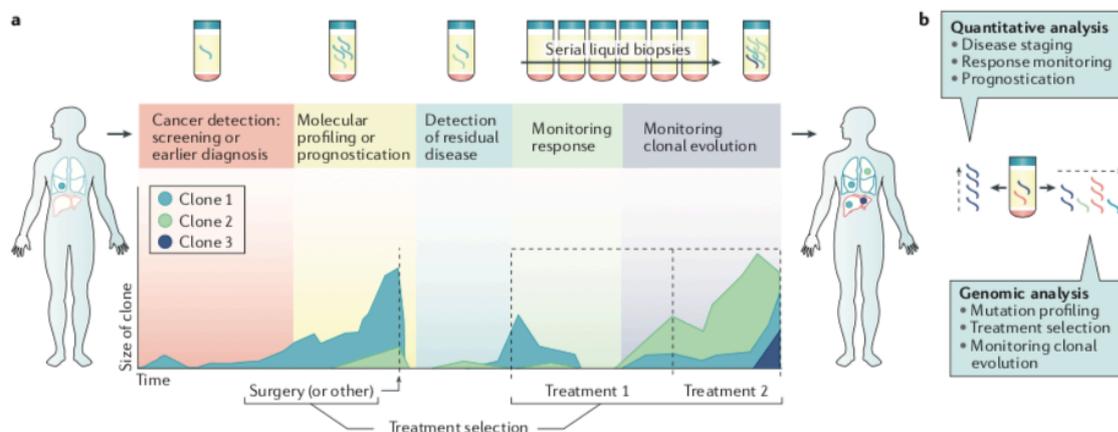


Figure 3 Applications pour l'utilisation de l'ADNtc (D'après Wan et al, 2017)(64)

#### 4.2.3 Impact clinique en première ligne du CCRm (les taux initiaux, les variations)

Si des données antérieures avaient montré l'intérêt potentiel de la détection de l'ADNtc par des méthodes classiques de PCR (Lefebure *et al* (65)), l'étude de Diehl *et al* en 2008 est considérée comme un travail marquant sur le sujet en montrant avec une méthode de détection ultrasensible (Beaming) sur 18 patients l'existence d'une association entre les variations du taux d'ADNtc et les séquences de traitement comme la chirurgie des métastases et la chimiothérapie (51). Par la suite, l'étude de Garm-Spindler *et al* retrouva des résultats similaires sur une cohorte prospective de 100 patients traités en troisième ligne par une mono-CT. Dans ce travail, une analyse rétrospective des variations des marqueurs circulants a pu être réalisée par PCR digitale pour 86 d'entre eux. Les résultats suggèrent une association entre les variations précoces du taux d'ADN circulant total et la réponse (52). Dans ce même contexte, dans une étude réalisée dans notre service, la PCR digitale a été utilisée chez 34 patients atteints d'un CCRm pour détecter et quantifier l'ADN libre circulant et l'ADN tumoral sur la base du statut mutationnel de KRAS. Cette technique a permis un taux de détection de 69 % pour l'ADNtc. Les concentrations médianes d'ADN libre circulant et d'ADNtc étaient respectivement de 20 et 6,8 ng/mL. La SG médiane était de 4,8 mois chez les patients présentant un taux élevé d'ADN libre circulant (quartile >75 %), alors qu'elle n'était pas atteinte chez les patients présentant un taux faible (quartile <25 %) ( $p=0,029$ ). De plus, la SG médiane a été significativement réduite chez

les patients dont l'ADNtc était détectable par rapport à ceux qui ne l'étaient pas (respectivement 11,8 mois contre non atteinte,  $p=0,04$ ) (66).

Si ces différents travaux ont démontré la pertinence biologique de la détection de l'ADNtc, les données sur l'intérêt clinique dans le suivi des patients traités pour un CCRm, et en particulier en première ligne, restent encore limitées à quelques études (tableau 5).

Tie *et coll.* en 2015 ont mis en évidence une corrélation entre la variation de l'ADNtc (chute > 10 fois par rapport au taux initial) et la réponse radiologique alors qu'ils ne mettaient pas en évidence de variation significative du taux d'ACE sur les prélèvements réalisés de manière concomitante. Des réductions majeures ( $\geq 10$  fois) par rapport à des réductions moindres de l'ADNtc avant le deuxième cycle de traitement ont également été associées à une tendance à l'augmentation de la SSP (médiane 14,7 contre 8,1 mois ; HR = 1,87 ; P = 0,266) (67). Des données similaires ont été mises en évidence dans l'étude PLACOL qui incluait 82 patients en cours de chimiothérapie de 1<sup>ère</sup> ou 2<sup>nde</sup> ligne. Ces patients étaient classés en « bon répondeurs » et « mauvais répondeurs » en fonction de la concentration et de l'évolution du taux d'ADNtc entre le 1<sup>er</sup> et le 2<sup>ème</sup> et/ou le 3<sup>ème</sup> cycle de chimiothérapie. Ceux classés « bons répondeurs » présentaient un taux plus élevé de réponse tumorale objective ( $p < 0,001$ ) et une médiane de SSP plus longue (8,5 vs 2,4 mois : HR : 0,19 ; IC à 95%, 0,09–0,40 ; P < 0,0001) ainsi qu'une meilleure SG (27,1 vs 11,2 mois : HR, 0,25 ; IC à 95%, 0,11–0,57 ; P < 0,001) (68).

L'étude prospective COCA-COLON menée par notre service, a montré que l'ADNtot et l'ADNtc pourraient jouer un rôle en tant que biomarqueurs pour le monitoring de la réponse sous traitement et un rôle pronostique. En effet, les valeurs médianes à la baseline étaient significativement associées à la progression de la maladie lors de l'évaluation à S12 selon RECIST (OR= 2,41; IC 95% :1,26-4,64,  $p=0,0082$  et OR= 3,37; IC 95% :1,34-8,5,  $p=0,0099$ , respectivement), à la SSP (HR= 1,87; IC 95% :1,36-2,56,  $p=0,0001$  et HR= 1,74; IC 95% :1,13-2,69,  $p=0,0127$ , respectivement) et à la SG (HR= 2,28; IC 95% :1,65-3,16,  $p<0,0001$  et HR= 2,19; IC 95% :1,39-3,46,  $p=0,0008$ , respectivement). La cinétique des taux d'ADNtot et d'ADNtc était également significativement associée à la progression (OR=3,6 ; IC 95% :1,17-11,12,  $p=0,0257$  et OR=4,81 ; IC 95% :1,39-16,69,  $p=0,0133$ , respectivement). De plus, la cinétique des taux d'ADNtc était significativement associée à la SG (HR= 2,33; IC 95% :1,32-4,09,  $p=0,0033$ ) (69).

Enfin, les résultats de l'étude COCA-MACS (70 patients en 1<sup>ère</sup> ligne pour un CCRm) réalisée récemment dans notre service confirment cette tendance de corrélation entre la valeur de

l'ADNtc et total à l'inclusion et la survie. Pour une valeur seuil d'ADNtot inférieure à 38,7 ng/ml, SSP : 13,1 mois vs 5,7 mois  $p < 0,0001$  et SG : non atteinte vs 17,7 mois  $p = 0,0005$ . Pour une valeur seuil d'ADNtc inférieure à 13%, SSP : 13,1 mois vs 7,5 mois  $p = 0,03$  et SG : non atteinte vs 17,7 mois  $p = 0,04$ . De plus, le seuil de 84% défini par courbe ROC pour la variation de la fréquence allélique d'ADNtc entre C1 et C3 était associé à la SSP (SSP médiane de 11,8 mois en cas de diminution  $\geq 84\%$  versus 6,7 mois en cas de diminution  $< 84\%$  ( $p = 0,007$ )). En résumé, les données sur l'analyse combinée des marqueurs circulants chez les patients traités en première ligne du CCRm sont encore limitées, le dosage initial et au cours du suivi de l'ADNtc apparaît prédictif de la survie globale et de la survie sans récurrence, une diminution du taux de survie est observée à mesure que la concentration en ADNtc augmente (57,58).

Tableau 5 : Impact clinique des taux initiaux et des variations de l'ADN total et tumoral circulant sur la survie et la réponse dans le CCRm

Année / Auteur	Effectif	Traitement (n° ligne)	Méthode de détection	Cible moléculaire	Seuil	Timing dosage	Résultats
Tie <i>et al.</i> 2015 (67)	n = 42 RO  n = 52 SSP	CT 1 <sup>ère</sup> ligne	NGS  Safe-Seq	Panel de 15 gènes	Diminution ADNtc ≥ 90 %	Inclusion  Avant C2	<b>RO S8-10:</b> 14/19 (74 %) vs 8/23 (35 %) OR = 5,25; [IC95 % : 1,38 – 19,93]; p = 0,016 VPP 65,2 %; VPN 73,7 % <b>SSP :</b> 14,7 mois vs 8,1 mois HR = 1,87 ; [IC95 % : 0,62 – 5,61] ; p = 0,266
Garlan <i>et al.</i> 2017 (68)	n = 82	CT 1 <sup>ère</sup> ou 2 <sup>ème</sup> ligne  +/- thérapie ciblée	dPCR	KRAS, BRAF, TP 53 ; si - : Hyperméthylation WIF1, NPY	ADNtc inf ou égal à 0,1 ng/mL Et Pente ADNtc sup ou égale à 80%	Inclusion (C1)  C2 ou C3	<b>SSP :</b> 8,5 mois vs 2,4mois HR = 0,19 ; (IC95% : 0,09 – 0,4) ; p < 0,0001 <b>SG :</b> 27,1 mois vs 11,2 mois HR = 0,25 ; (IC95% : 0,11 – 0,57) ; p < 0,001
Vidal <i>et al.</i> 2017 (70)	n = 95 en L1	CT +/- Thérapie ciblée Naïfs d'anti EGFR	BEAMing	KRAS  NRAS	NA	Inclusion  S8-S12	<u>Variation (%) de la FA médiane d'ADNtc et Progression (RECIST) à S8-S12 :</u> + 132 % si progression vs – 99 % si absence de progression ; p = 0,027
Thomsen <i>et al.</i> 2018 (71)	n = 138 (77 ADNtc +)	CT 1 <sup>ère</sup> ligne	DdPCR	KRAS BRAF	Valeur ctDNA à C2 (low vs high ctDNA)	Inclusion (avant C1)  Puis à chaque cure	Augmentation de l'ADNtc C1 associée au risque de progression (RR = 1,02 ; IC95 % : 1,01-1,03, p< 0,001) <b>LctDNA</b> = 27 patients après C1 2/27 (7%) ont progressés, 17/38 (45%) ont progressés dans le gpe non-LctDNA p=0,001. <b>SSP :</b> LctDNA vs non-LctDNA HR = 0,16, p = 0,017
Sefrioui <i>et al.</i> 2019 (69)	n = 192	134 patients avec une CT de 1 <sup>ère</sup> ligne	dPCR	KRAS NRAS BRAF	Valeurs médianes baseline : ADNtot 24,4 ng/ml ADNtc 14,3 %	Inclusion  S6	<b>Progression S12:</b> OR = 2,41 ADNtot OR = 3,37 ADNtc. <b>SSP :</b> HR = 1,87 ADNtot HR = 1,74 ADNtc. <b>SG :</b> HR = 2,28 ADNtot HR = 2,19 ADNtc

Gangloff <i>et al.</i> 2020	n = 70	CT 1 <sup>ère</sup> ligne	DdPCR	KRAS NRAS BRAF	Valeur seuil : ADNtot inférieure à 38,7 ng/ml  ADNtc inférieure à 13%  Variation de la FA d'ADNtc entre C1 et C3 de 84%	C1 / C2 / C3  M3	<b>SSP</b> : 13,1 mois vs 5,7 mois p<0,0001 <b>SG</b> : non atteinte vs 17,7 mois p=0,0005  <b>SSP</b> : 13,1 mois vs 7,5 mois p=0,03 <b>SG</b> : non atteinte vs 17,7 mois p=0,04  <b>SSP</b> : médiane de 11,8 mois en cas de diminution ≥ 84 % versus 6,7 mois en cas de diminution < 84 % (p = 0,007))
-----------------------------	--------	---------------------------	-------	----------------------	---	------------------------	--

CT : chimiothérapie ; qPCR : PCR quantitative ; ADNtot: ADN total circulant; RO: Réponse objective; NGS : Next Generation Sequencing ; Safe-Seq : Safe-sequencing system; ADNtc: ADN tumoral circulant; OR: Odds Ratio; IC95 %: Intervalle de confiance à 95 %; VPP: Valeur prédictive positive ; VPN : Valeur prédictive négative ; SSP : Survie sans progression ; HR : Hazard Ratio ; dPCR : PCR digitale ; SG : Survie globale ; BEAMing: Beads Emulsion Amplification Magnetics ; FA : Fréquence allélique ; DdPCR : Droplet digital PCR ; LctDNA : low circulating tumor DNA; RR : risqué relatif ; M : mois

## **II. OBJECTIF DE L'ETUDE**

L'objectif de notre étude a été de décrire et d'évaluer les variations de l'ACE et de l'ADN circulant (ADN<sub>tot</sub> et ADN<sub>tc</sub>), sur les trois premiers mois de traitement en fonction de l'intensité du protocole reçu en L1 du CCRm au sein des patients inclus dans les études COCACOLON et COCAMACS.

### **III. MATERIEL ET METHODES**

#### **1. Population**

Les patients ont été sélectionnés au sein de deux études prospectives (COCACOLON et COCAMACS) ayant eu comme objectif d'analyser les marqueurs circulants (ACE, ADNtot et ADNtc). Elles ont été réalisées sur 192 et 73 patients respectivement, soit un total de 265 patients inclus dans 5 centres. Parmi eux, 207 patients recevaient une chimiothérapie de 1<sup>ère</sup> ligne, 30 patients une chimiothérapie de 2<sup>ème</sup> ligne et 28 patients recevaient une chimiothérapie de 3<sup>ème</sup>, 4<sup>ème</sup> ou 5<sup>ème</sup> ligne.

Pour cette étude, tous les patients recevant une chimiothérapie de 1<sup>ère</sup> ligne ont été inclus et réparti en quatre groupes en fonction de l'intensité du protocole de chimiothérapie reçu : mono-CT +/- thérapie ciblée (TC) ou une thérapie ciblée seule (groupe 1), bi-CT (groupe 2), bi-CT + TC (groupe 3) et tri-CT +/- TC (groupe 4).

L'étude COCACOLON (2009/170/HP) avait pour objectif principal de confirmer la valeur prédictive de la pente de l'ACE sur une série indépendante mais également de valider l'intérêt clinique de la détection de l'ADNtc comme facteur prédictif de réponse au traitement. Il s'agissait d'une étude prospective multicentrique de cohorte non interventionnelle dont la période d'inclusion s'étendait de septembre 2010 à septembre 2013. Les patients étaient inclus dans 5 centres : le Centre Hospitalier Universitaire de Rouen, le Centre Frédéric Joliot de Rouen, le Centre Hospitalier Universitaire de Caen, le Centre Régional de Lutte Contre le Cancer de Caen et le Centre Hospitalier Intercommunal d'Elbeuf-Louviers-Val de Reuil. Les critères d'inclusion des patients étaient : un âge supérieur à 18 ans, avoir un adénocarcinome du côlon ou du rectum prouvé histologiquement, une (ou des) Métastase(s) mesurable(s) ou évaluable(s), une maladie justifiant un traitement par chimiothérapie (avec ou sans résection des métastases) ou un changement de ligne de chimiothérapie, un état général permettant la réalisation du traitement (critère OMS <3) et une élévation du taux de CA19-9 ou de l'ACE.

La seconde étude, COCAMACS (2015/076/HP), étude multicentrique, observationnelle et prospective avait pour objectif d'étudier la corrélation entre les variations précoces des marqueurs tumoraux circulants et la réponse clinique chez les patients traités pour un CCRm. Les inclusions ont eu lieu entre août 2016 et juillet 2019, les patients étaient âgés de 18 ans et plus, avaient un adénocarcinome colorectal métastatique histologiquement prouvé et une

maladie mesurable selon les critères RECIST 1.1 justifiant une première ligne de chimiothérapie intraveineuse (5FU ± Oxaliplatine ± Irinotécan) ± une thérapie ciblée. Ces patients ont été recrutés dans trois centres : le Centre Hospitalier Universitaire de Rouen, le Centre Hospitalier Universitaire de Caen et le Centre Hospitalier Intercommunal d'Elbeuf-Louviers-Val de Reuil. Ils étaient en bon état général (OMS < 3) et naïfs de traitement systémique carcinologique en dehors d'un éventuel traitement adjuvant dans les cas de métastases métachrones.

## 2. Analyse des marqueurs circulants

### 2.1 Temps de prélèvements

Dans cette étude, nous avons analysé les variations des marqueurs circulants (ACE, ADNtot et ADNtc) à partir de 3 temps de prélèvement pendant les trois premiers mois de traitement : avant le début de la 1<sup>ère</sup> cure (C1), le 1<sup>er</sup> jour du 3<sup>ème</sup> ou du 4<sup>ème</sup> cycle (C3 ou C4) puis à 3 mois. Pour l'étude COCACOLON, le prélèvement intermédiaire était réalisé à 6 semaines du début du traitement. Pour l'étude COCAMACS, le temps intermédiaire choisis était celui de la 3<sup>ème</sup> cure (soit à 4 semaines du début du traitement).

Tableau 6 : Calendrier des prélèvements ACE et ADNc

	Cure 1	Cure 3	Cure 4	3 mois
<b>Étude</b>				
<b>COCACOLON</b>				
ACE	×	×	×	×
ADNc	×	×	×	×
<b>Étude</b>				
<b>COCAMACS</b>				
ACE	×	×		×
ADNc	×	×		×

## 2.2 Méthodes de dosage

Pour les analyses d'ACE, les dosages ont été centralisés à l'Institut de Biologie Clinique du CHU de Rouen pour l'étude COCACOLON, et réalisés sur un automate Immulite 2500 (DPC, Los Angeles, USA), par dosage immunométrique séquentiel chimiluminescent en phase solide. Pour COCAMACS, les analyses d'ACE ont été réalisées au sein du centre ayant inclus le patient. La technique était la même pour les CHU de Rouen et de Caen. La quantification a été faite sur un automate Cobas® 8000 module c602 (Roche) par une méthode immunométrique séquentielle d'électrochimiluminescence. Pour le CHI d'Elbeuf-Louviers-Val de Reuil, la quantification a été faite sur un automate ADVIA Centaur® (Siemens). Le seuil  $\leq 5$  ng/mL était considéré comme normal.

Pour l'ADN circulant total et l'ADN tumoral circulant, les analyses ont été centralisées au CHU de Rouen et réalisées selon la méthode développée au sein de l'Unité INSERM 1245.

A chaque temps de prélèvement, les analyses ont été effectuées à partir de prélèvements de sang veineux périphérique. Une fois prélevés, les tubes devaient être acheminés en quelques heures au laboratoire. La première étape consistait en une double centrifugation, le plasma ainsi obtenu était congelé à  $-80^{\circ}\text{C}$ . L'extraction de l'ADN à partir du plasma se faisait grâce à des kits spécifiques (QIAamp circulating nucleic acid kit (Qiagen)). L'ADNtot extrait était quantifié par fluorimétrie et exprimé en ng/ml. Pour l'ADNtc, il y avait ensuite une étape de pré-amplification par PCR portant sur la région d'intérêt du gène cible (contenant la mutation *KRAS*, *NRAS* ou *BRAF* identifiée au préalable par la technique de SNaPshot® dans le tissu tumoral). Le produit de pré-amplification était ensuite conservé à  $4^{\circ}\text{C}$ . Enfin, l'étape de détection des mutations dans l'ADNtc était réalisée par la technique de PCR Digitale (QuantStudio™ 3D Digital PCR System ®) sur puce (72).

Dans un deuxième temps, pour les patients sans mutation somatique RAS/BRAF détectable sur le tissu tumoral, une technique de NGS (QIAseq™ Targeted DNA panel) ciblant des régions « hot spot » de 6 gènes cibles (*KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *TP53*, *APC*, *PI3KCA*) impliqués dans la carcinogénèse colorectale a été utilisée. Cette technique ne nécessite pas de connaître la mutation au préalable et permet d'analyser plusieurs loci simultanément. Brièvement, les étapes sont les suivantes : préparation de l'échantillon d'ADN (extraction, fragmentation), construction des libraires, amplification, séquençage de l'ADN à proprement parlé par NGS, analyse et traitement des données par bio-informatique puis interprétation des données avec identification des variants. La valeur d'ADNtc était exprimée en fréquence allélique (FA).

### 3. Analyses statistiques

L'objectif principal était d'évaluer les variations d'ACE, d'ADN<sub>tot</sub> et d'ADN<sub>tc</sub> durant les 3 premiers mois de traitement en fonction des 4 groupes de traitement reçu : mono-CT +/- thérapie ciblée (TC) ou une TC seule (groupe 1), bi-CT (groupe 2), bi-CT + TC (groupe 3) et tri-CT +/- TC (groupe 4). L'objectif secondaire était d'évaluer les variations de ces marqueurs en utilisant des seuils décrits comme pronostiques dans la littérature, soit un seuil  $\geq 75\%$  pour l'ACE et des seuils  $\geq 80\%$  et  $90\%$  pour l'ADN<sub>tc</sub> (38,67,68).

Pour chaque marqueur, les variations moyennes ont été calculées entre C1 et C3/C4 puis entre C1 et M3, elles ont été exprimées en pourcentage de variation. Les caractéristiques cliniques et biologiques ont été déterminées pour l'ensemble des patients. Les variables qualitatives ont été exprimées en pourcentage et les variables quantitatives sous forme de moyenne et de médiane. Les tests de Fisher et de Student ont été utilisés pour la comparaison des variables qualitatives et quantitatives, respectivement. Les courbes de survie étaient estimées par la méthode de Kaplan-Meier et comparées par le test du log-Rank. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel Statview®. Une valeur de  $p < 0,05$  était considérée comme statistiquement significative pour toutes les analyses.

## IV. RESULTATS :

### 1. Caractéristiques de la population dans les 4 groupes de traitement

Au total, 207 patients ont été inclus en L1 dans notre étude, 27 (13%) dans le groupe 1, 56 (27%) dans le groupe 2, 95 (45,9%) dans le groupe 3 et 28 (13,5%) dans le groupe 4. Un des patients est décédé avant de pouvoir débuter son traitement. Ces données sont résumées dans le Flow chart (figure 4).

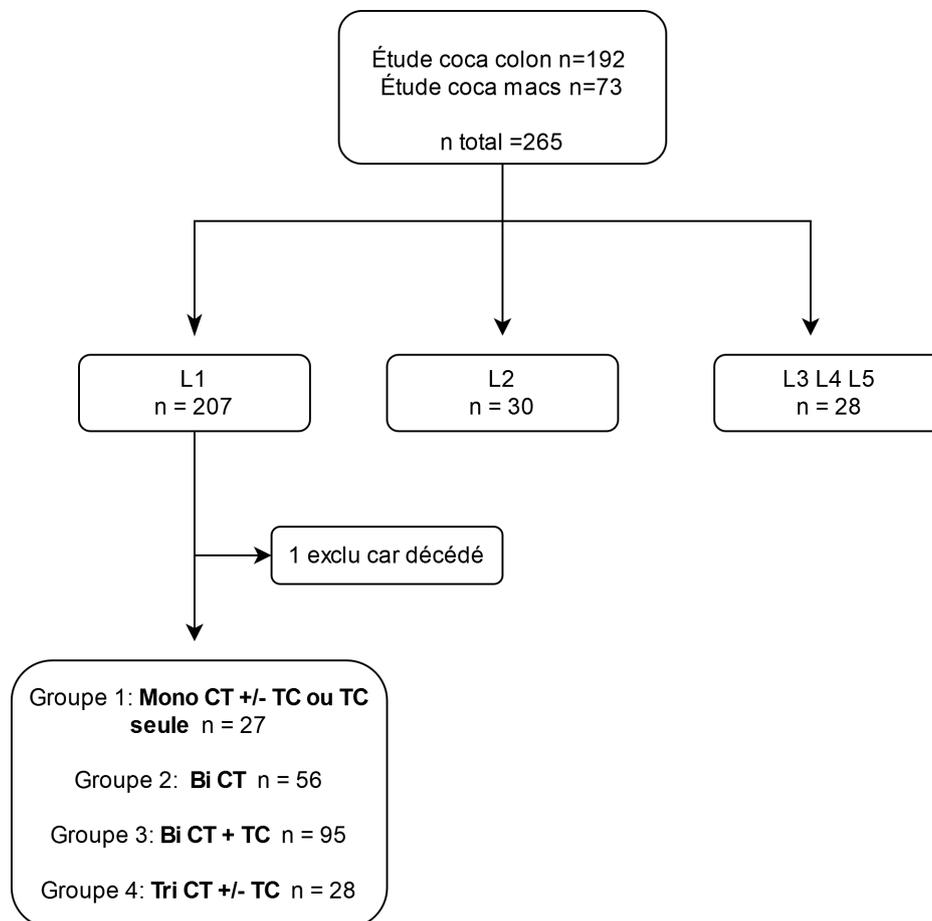


Figure 4 : Flow Chart

L : ligne ; Mono CT : mono-chimiothérapie ; TC : thérapie ciblée ; Bi CT : bi-chimiothérapie ; Tri CT : tri-chimiothérapie

Étude Cocacolon : D'après Sefrioui et al. 2019  
Étude Cocamacs : D'après Gangloff et al. 2020

Dans le groupe 1, 14 patients recevaient une mono-CT, 11 une mono-CT + TC et 2 une TC seule. Dans le groupe 2, qui incluait des patients traités par bi-CT, 26 recevaient du FOLFIRI et 30 une chimiothérapie à base d'oxaliplatine (FOLFOX, XELOX, TOMOX). Dans le groupe 3, qui incluait des patients traités par bi-CT + TC, 77 recevaient du bevacizumab (BV) et 18 un anti-EGFR. Enfin, dans le groupe 4, 17 recevaient une tri-CT et 11 une tri-CT + TC (9 du BV et 2 un anti-EGFR).

Concernant les principales caractéristiques de la population, l'âge moyen était de 65,9 ans (27-87), 116 (56,3%) patients étaient des hommes et 90 (43,7%) des femmes. La plupart des patients étaient OMS 0 ou 1 (82%). Les tumeurs étaient essentiellement localisées dans le colon gauche (46,6%), puis dans le colon droit (33,5%) et enfin dans le rectum (19,9%). Une chirurgie de la tumeur primitive avait été réalisée chez 96 patients (46,6%). Il y avait autant de patients avec 1 ou plusieurs sites métastatiques. Dans le tissu tumoral, une mutation du gène RAS ou BRAF a été identifiée chez 104 (50,5%) et 16 (7,8%) patients, respectivement. Le taux d'ACE moyen à l'inclusion était de 748,7 ng/mL (1-64051), celui d'ADN total de 108,2 ng/mL (5,9-2275,6) et de 23,2 % (0,07-78,9) pour l'ADN tumoral circulant.

Comme prévu, il n'y a pas de différence significative entre les 4 groupes sauf pour les variables qui reflètent les choix thérapeutiques comme l'âge et le statut OMS, qui étaient significativement plus élevés dans le groupe 1. On peut également voir que les patients recevant un protocole intensifié (groupe 4) présentent plus souvent des métastases synchrones.

Les patients mutés RAS ( $p=0,47$ ) ou BRAF ( $p=0,29$ ) étaient répartis de manière équitable entre les différents groupes. Au vu de l'effectif réduit du groupe 4, il apparaît cependant une tendance à ce qu'il y ait davantage de patients mutés dans ce groupe.

Le taux d'ACE initial moyen était uniquement significativement différent entre les groupes 1 et 3 ( $p=0,04$ ). Il n'y avait pas de différence significative pour les taux initiaux moyens d'ADN<sub>tot</sub> et d'ADN<sub>tc</sub> entre les différents groupes.

L'ensemble des données est reporté dans le tableau 7.

**Tableau 7 : Caractéristiques initiales de la population des patients en L1 (n=206)**

Caractéristiques de la population	Tous n = 206	Gpe 1 Mono CT +/- TC ou TC seule n = 27 (13,1 %)	Gpe 2 Bi CT n = 56 (27,2 %)	Gpe 3 Bi CT + TC n = 95 (46,1 %)	Gpe 4 Tri CT +/- TC n = 28 (13,6 %)	p
<b>Age (année)</b>						
Moyen	65,9 (27-87)	74,2 (32-87)	66,5 (27-86)	65,8 (40-85)	57,3 (27-71)	
<b>OMS</b>						
0 ou 1	169 (82 %)	16 (59,3 %)	44 (78,6 %)	82 (86,3 %)	27 (96,4 %)	0,0005
2 ou plus	32 (15,5 %)	11 (40,7 %)	10 (17,9%)	10 (10,5 %)	1 (3,6 %)	
ND	5	0	2	3	0	
<b>Sexe</b>						
F	90 (43,7 %)	15 (55,6 %)	23 (41 %)	42 (44,2 %)	10 (35,7 %)	0,49
M	116 (56,3 %)	12 (44,4 %)	33 (59 %)	53 (55,8 %)	18 (64,3 %)	
<b>Localisation tumorale</b>						
Rectum	41 (19,9 %)	5 (18,5 %)	12 (21,4 %)	18 (19 %)	6 (21,4 %)	0,95
Colon gauche	96 (46,6 %)	11 (40,7 %)	24 (43 %)	47 (49,5 %)	14 (50 %)	
Colon droit	69 (33,5 %)	11 (40, 7%)	20 (35,7 %)	30 (31,6 %)	8 (28,6 %)	
<b>Chirurgie TP</b>						
Oui	96 (46,6 %)	15 (55,6 %)	27 (48,2 %)	42 (44,2 %)	12 (42,9 %)	0,73
Non	110 (53,4 %)	12 (44,4 %)	29 (51,8 %)	53 (55, 8%)	16 (57,1 %)	
<b>Métastases synchrones</b>						
Oui	160 (77,7 %)	18 (66,7 %)	44 (78,6 %)	71 (74,7 %)	27 (96,4 %)	0,044
Non	46 (22,3%)	9 (33,3 %)	12 (21,4 %)	24 (25,3 %)	1 (3,6 %)	
<b>Nombre de sites métastatiques</b>						
1	101 (49 %)	14 (51,9 %)	31 (55,4 %)	44 (46,3 %)	12 (42,9 %)	0,64
2 ou plus	105 (51 %)	13 (48,1 %)	25 (44,6 %)	51 (53,7 %)	16 (57,1 %)	
<b>Mutation somatique</b>						
RAS muté	104 (50,5 %)	15 (55,6 %)	29 (51,8 %)	43 (45,3 %)	17 (60,7 %)	0,47
RAS WT	102 (49,5%)	12 (44,6%)	27 (48,2%)	52 (54,7%)	11 (39,3%)	
BRAF muté	16 (7,8%)	2 (7,4 %)	7 (12,5 %)	4 (4,2 %)	3 (10,7 %)	0,29
BRAF WT	190 (92,2%)	25 (92,6%)	49 (87,5%)	91 (95,8%)	25 (89,3%)	
WT global	81 (39,3 %)	10 (37 %)	17 (30,4 %)	46 (48,4 %)	8 (28,6 %)	0,06
ND	5	0	3 (5,4 %)	2 (2,1 %)	0	
<b>ACE ng/mL</b>						
Moyen n = 205	748,7 (1-64051)	3067,4 (10,3- 64051)	286,8 (2-2514)	446,1 (1-6897)	452,5 (1-2812)	0,044
ND	1 (0,5%)	0	0	0	1 (3,6%)	

<b>ADN total ng/mL</b>						
Moyen	108,2	180	95	102,3	87,7	0,53
n = 192	(5,9-2275,6)	(9-2275,6)	(6,8-1121,9)	(5,9-1282,2)	(10,1- 1075,4)	
ND	14 (6,8%)	3 (11,1%)	6 (10,7%)	2 (2,1%)	3 (10,7%)	

<b>ADNtum FA (%)</b>						
Moyenne	23,2	30,6	20,0	22,5	24,8	0,3
n = 145	(0,07-78,9)	(0,36-73,58)	(0,08-72,67)	(0,07-78,9)	(2,26-64,3)	
ND	61 (29,6%)	9 (33,3%)	19 (33,9%)	26 (27,4%)	7 (25%)	

## 2. Données de réponse en fonction des groupes de traitement

Tableau 8 : Données de réponse des patients en L1

Évaluation à M3	Tous	Gpe 1	Gpe 2	Gpe 3	Gpe 4	p
	n = 206	Mono CT +/- TC ou TC seule n = 27	Bi CT n = 56	Bi CT + TC n = 95	Tri CT +/- TC n = 28	
<b>Réponse partielle</b>	57 (27,7%)	2 (7,4%)	17 (30,4%)	25 (26,3%)	13 (46,4%)	
<b>Réponse complète</b>	1 (0,5%)	0	0	1 (1%)	0	
<b>Réponse objective</b>	58 (28,2%)	2 (7,4%)	17 (30,4%)	26 (27,4%)	13 (46,4%)	0,01
<b>Stabilité</b>	87 (42,2%)	10 (37%)	19 (33,9%)	46 (48,4%)	12 (42,9%)	
<b>Maladie contrôlée (RP+RC+S)</b>	145 (70,4%)	12 (44,4%)	36 (64,3%)	72 (75,8%)	25 (89,3%)	0,0005
<b>Progression</b>	60 (29,1%)	15 (55,6%)	20 (35,7%)	23 (24,2%)	2 (7,1%)	
<b>ND</b>	1 (0,5%)	0	0	0	1 (3,6%)	

Les taux de réponse objective et de contrôle de la maladie sont significativement différents en fonction de l'intensité du protocole de chimiothérapie reçue (p=0,01 et p=0,0005, respectivement). Il existe une différence significative sur la réponse objective entre les

groupes : 3 et 4 ( $p=0,04$ ) ; 1 et 2 ( $p=0,02$ ) ; 1 et 3 ( $p=0,03$ ) ; 1 et 4 ( $p=0,0008$ ). Le contrôle de la maladie est significativement différent entre les groupes : 3 et 4 ( $p= 0,05$ ) ; 2 et 4 ( $p=0,006$ ) ; 1 et 3 ( $p=0,002$ ) ; 1 et 4 ( $p=0,0001$ ).

### 3. Données de survie en fonction des groupes de traitement

Tableau 9 : Données de survie des patients en L1

	<b>Tous</b>	<b>Gpe 1</b>	<b>Gpe 2</b>	<b>Gpe 3</b>	<b>Gpe 4</b>	<b>p</b>
	n = 206	Mono CT +/- TC ou TC seule n = 27	Bi CT n = 56	Bi CT + TC n = 95	Tri CT +/- TC n = 28	
<b>SSP (mois)</b>	7,9	3,6	6,6	8,8	11,4	p<0,0001
Médiane	(0,7-94,9)	(0,7-25,5)	(0,7-21,5)	(0,8-94,9)	(2,8-45,6)	
<b>SG (mois)</b>	16,9	13,8	15,8	18,4	20,0	0,21
Médiane	(0,7-94,9)	(1,7-83,3)	(0,7-84,2)	(1,5-94,9)	(6,4-50,4)	

La différence de survie sans progression entre les groupes apparait statistiquement significative ( $p<0,0001$ ). A titre d'exemple, la médiane de SSP était significativement plus longue dans le groupe 4 (11,4 mois) que dans le groupe 1 (3,6 mois). Pour la survie globale, il existe une tendance à son allongement en fonction de l'intensité du protocole de chimiothérapie, qui n'est cependant pas significative ( $p=0,21$ ).

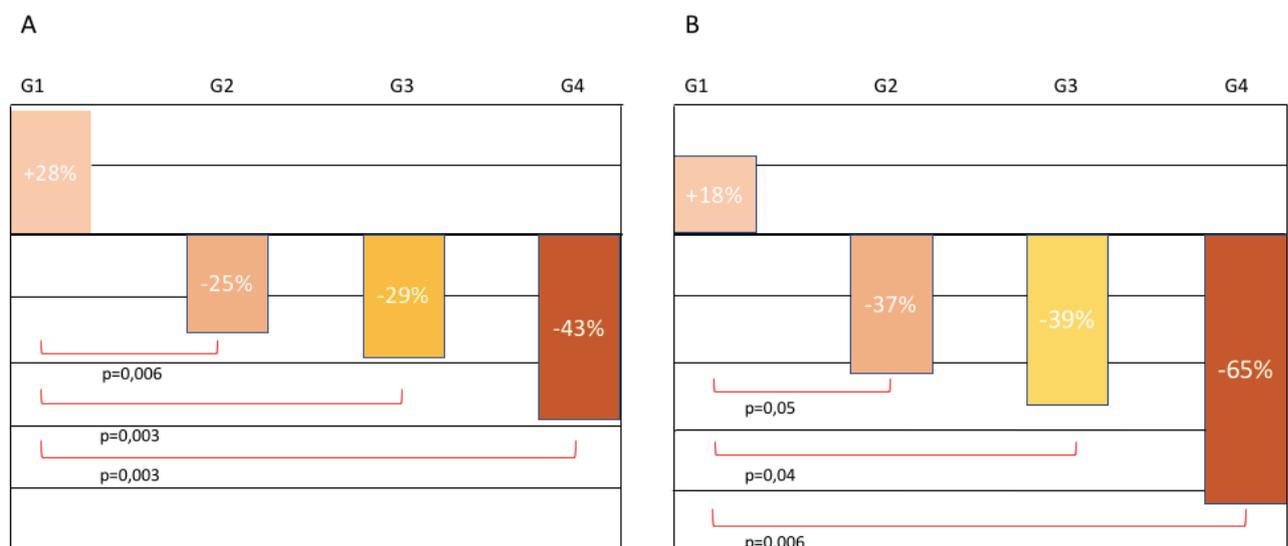
#### 4. Variations de l'ACE, de l'ADNtot et de l'ADNtc en fonction des groupes de traitement

Dans la population globale, chaque marqueur présentait une variation significative entre C1 et C3/C4, également entre C1 et M3, en revanche les variations n'étaient pas significatives entre C3/C4 et M3 (Tableau 10).

**Tableau 10 : Nombre de marqueurs disponibles et leurs valeurs aux 3 temps de prélèvement**

	<b>Cycle 1</b>	<b>Cycle 3 ou 4</b>	<b>M 3</b>	<b>p</b>
<b>ACE</b>	205 (99,5%)	172 (83,5%)	127 (61,6%)	
Médiane	80 ng/mL	42 ng/mL	25 ng/mL	C1-C3/4 p= 0,0009
Moyenne	748,7 ng/mL	260,1 ng/mL	167,2 ng/mL	C1-M3 p= 0,0022 C3/4-M3 p= 0,14
<b>ADNtot</b>	192 (93,2%)	169 (82%)	136 (66%)	
Médiane	31,3 ng/mL	20,5 ng/mL	22,1 ng/mL	C1-C3/4 p= 0,0004
Moyenne	108,2 ng/mL	36,4 ng/mL	35 ng/mL	C1-M3 p= 0,0067 C3/4-M3 p= 0,95
<b>ADNtc</b>	145 (70,4%)	121 (58,7%)	87 (42,2%)	
Médiane	20,9 %	1 %	0,3 %	C1-C3/4 p< 0,0001
Moyenne	23,2 %	5,7 %	4 %	C1-M3 p< 0,0001 C3/4-M3 p= 0,186

Comme le montrent les figures 5 et 6, nous avons pu observer des variations différentes entre les 4 groupes pour l'ACE et l'ADNtc entre C1 et C3/C4, et entre C1 et M3.



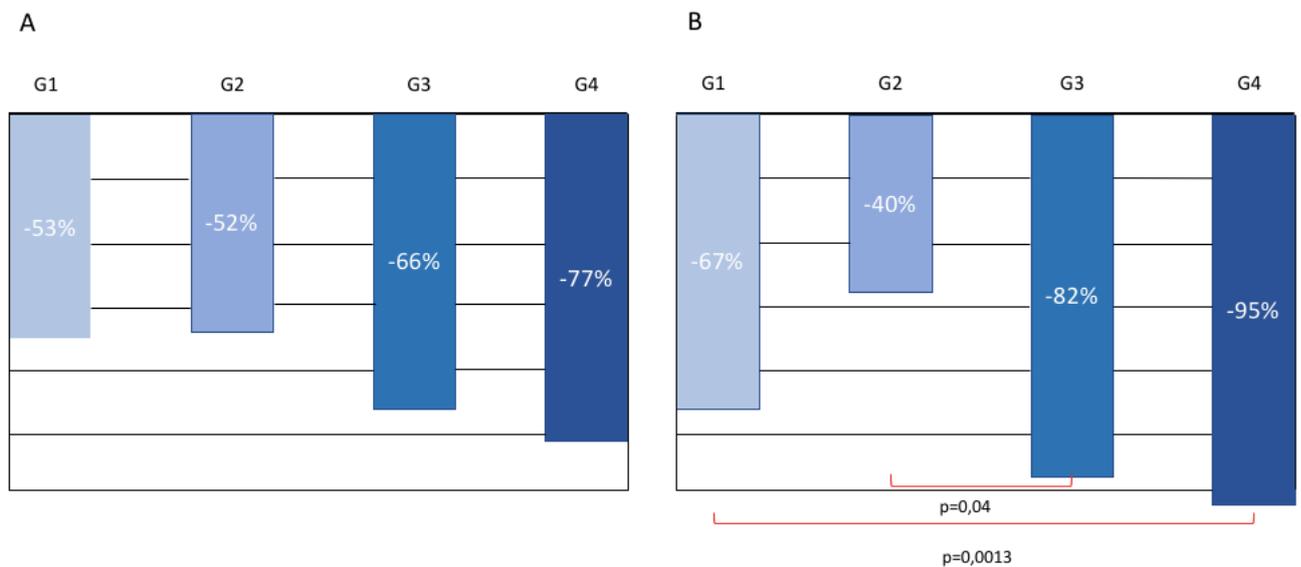
**Figure 5: Variations d'ACE en fonction du groupe de traitement**

Fig 5A. Variations moyennes de l'ACE en pourcentage entre C1-C3/C4

Fig 5B. Variations moyennes de l'ACE en pourcentage entre C1-M3

G 1 : Mono CT +/- TC ou TC seule ; G 2 : Bi CT ; G 3 : Bi CT + TC ; G 4 : Tri CT +/- TC

Entre C1 et le temps intermédiaire (C3 ou C4), il a été observé une augmentation significative des variations d'ACE selon l'intensité du traitement, avec une variation moyenne de +28%, -25%, -29% et -43% entre les 4 groupes (Fig 5A). Concernant les variations entre C1 et M3, celles-ci étaient plus marquées, avec une variation moyenne de l'ACE de +18%, -37%, -39% et -65% (Fig 5B).



**Figure 6: Variations d'ADNtc en fonction du groupe de traitement**

Fig 6A. Variations moyennes de l'ADNtc en pourcentage entre C1-C3/C4

Fig 6B. Variations moyennes de l'ADNtc en pourcentage entre C1-M3

G 1 : Mono CT +/- TC ou TC seule ; G 2 : Bi CT ; G 3 : Bi CT + TC ; G 4 : Tri CT +/- TC

Pour l'ADNtc, la même tendance de variation croissante en fonction de l'intensité du traitement a été observée entre C1 et C3/C4 mais sans atteindre la significativité, avec une variation moyenne de -53%, -52%, -66% et -77%, respectivement (Fig 6A). Concernant les variations entre C1 et M3, celles-ci étaient également plus marquées, avec une variation moyenne de -67%, -40%, -82% et -95%, les différences de variation étaient d'ailleurs significatives entre le G2 vs G3 et le G1 vs G4 (Fig 6B).

Dans le sous-groupe de patients ayant une maladie contrôlée, au temps intermédiaire comme à 3 mois, nous retrouvons globalement les mêmes tendances de variation.

Les variations d'ACE et d'ADNtc ont également été analysées en fonction de la thérapie ciblée utilisée (BV ou anti-EGFR), sans tenir compte du protocole de chimiothérapie. Comme le montre le tableau 11, si aucune différence significative n'a été observée, il existait une tendance à une plus forte augmentation des variations moyennes de l'ACE avec le BV comparé aux anti-

EGFR, à la fois entre C1 et C3/C4 (-39% vs -25%) et entre C1 et M3 (-72% vs -31%). Pour l'ADNtc, il n'a pas été mis en évidence de différence majeure ni au temps intermédiaire ni à M3 entre les 2 molécules.

Tableau 11 : Variations des marqueurs en fonction de la thérapie ciblée utilisée

<b>Variation ACE</b>	<b>C1-C3/C4</b>	<b>C1-M3</b>
Bévacizumab (n=96)	-39%	-72%
Anti-EGFR (n=23)	-25%	-31%
<b>Variation ADNtc</b>		
Bévacizumab (n=96)	-72%	-86%
Anti-EGFR (n=23)	-63%	-83%

Pour l'ADNtot, il n'a pas été observé de différences majeures des variations en fonction du protocole, à l'exception d'une augmentation du taux moyen d'ADNtot entre C1 et C3/C4 dans le groupe intensifié (groupe 4) par rapport au groupe biCT +TC (groupe 3).

## 5. Étude des seuils extrêmes de variation des marqueurs en fonction des groupes de traitement

Enfin, nous avons également analysé la capacité de chaque groupe de traitement à atteindre un niveau élevé de variations de l'ACE, l'ADNtc et de l'ADNtot en utilisant des seuils pertinents décrits comme ayant un impact pronostique significatif dans le CCRm en première ligne : seuil  $\geq 75\%$  pour l'ACE et seuil  $\geq 80\%$  et  $\geq 90\%$  pour l'ADNtc. Il convient de noter qu'aucun seuil significatif n'a été décrit pour l'ADNtot.

Comme le montre le Tableau 12, nous avons observé que le nombre de patients atteignant une variation de l'ADNtc  $\geq 80\%$  entre C1 et M3 était significativement lié à l'intensité du protocole, respectivement 33% dans le groupe 1, 53% dans le groupe 2, 81% dans le groupe 3 et 93% dans le groupe 4. La même tendance non significative a été observée entre C1 et C3/C4. De même, le pourcentage de patients atteignant une variation de l'ADNtc  $\geq 90\%$  augmentait en fonction de l'intensité du traitement entre C1 et C3/C4 ( $p=0,08$ ) et entre C1 et M3 ( $p = 0,05$ ) (Tableau 13).

Le taux de patients atteignant un niveau élevé de variation de l'ACE et de l'ADNtot n'était pas différent entre les 4 groupes de traitement (Tableaux 14 et 15).

Tableau 12 : Étude des variations de l'ADNtc au seuil de 80%

Variations	Tous	Gpe 1	Gpe 2	Gpe 3	Gpe 4	p
<b>ADNtc</b>	n = 113	Mono CT +/- TC ou TC seule n = 12	Bi CT n = 25	Bi CT + TC n = 56	Tri CT +/- TC n = 20	
<b>C1-int</b>						
$\geq 80\%$	70 (61,9%)	4 (33,3%)	14 (56%)	39 (69,6%)	13 (65%)	0,11
$< 80\%$	43 (38,1%)	8 (66,7%)	11 (44%)	17 (30,4%)	7 (35%)	
Variations	Tous	Gpe 1	Gpe 2	Gpe 3	Gpe 4	p
<b>ADNtc</b>	n = 76	n = 6	n = 19	n = 36	n = 15	
<b>C1-M3</b>						
$\geq 80\%$	55 (72,4%)	2 (33,3%)	10 (52,6%)	29 (80,6%)	14 (93,3%)	0,005
$< 80\%$	21 (27,6%)	4 (66,7%)	9 (47,4%)	7 (19,4%)	1 (6,7%)	

Au temps intermédiaire, on observe une tendance non significative à la variation de l'ADNtc supérieure ou égale à 80% en fonction de l'intensité du protocole. A 3 mois, cette différence de variation au seuil de 80% devient significative.

Tableau 13 : Étude des variations de l'ADNtc au seuil de 90%

<b>Variations</b>	<b>Tous</b>	<b>Gpe 1</b>	<b>Gpe 2</b>	<b>Gpe 3</b>	<b>Gpe 4</b>	<b>p</b>
<b>ADNtc</b>	n = 113	Mono CT +/- TC ou TC seule n = 12	Bi CT n = 25	Bi CT + TC n = 56	Tri CT +/- TC n = 20	
<b>C1-int</b>						
≥ 90%	58 (51,3%)	3 (25%)	10 (40%)	34 (60,7%)	11 (55%)	0,08
< 90%	55 (48,7%)	9 (75%)	15 (60%)	22 (39,3%)	9 (45%)	
<b>Variations</b>	<b>Tous</b>	<b>Gpe 1</b>	<b>Gpe 2</b>	<b>Gpe 3</b>	<b>Gpe 4</b>	<b>p</b>
<b>ADNtc</b>	n = 76	n = 6	n = 19	n = 36	n = 15	
<b>C1-M3</b>						
≥ 90%	47 (61,8%)	2 (33,3%)	9 (47,4%)	23 (63,9%)	13 (86,7%)	0,05
< 90%	29 (38,2%)	4 (66,7%)	10 (52,6%)	13 (36,1%)	2 (13,3%)	

Au temps intermédiaire, on observe là encore une tendance non significative à la variation de l'ADNtc supérieure ou égale à 90% en fonction de l'intensité du protocole. A 3 mois, cette différence de variation au seuil de 90% devient significative.

Tableau 14 : Étude des variations de l'ACE au seuil de 75%

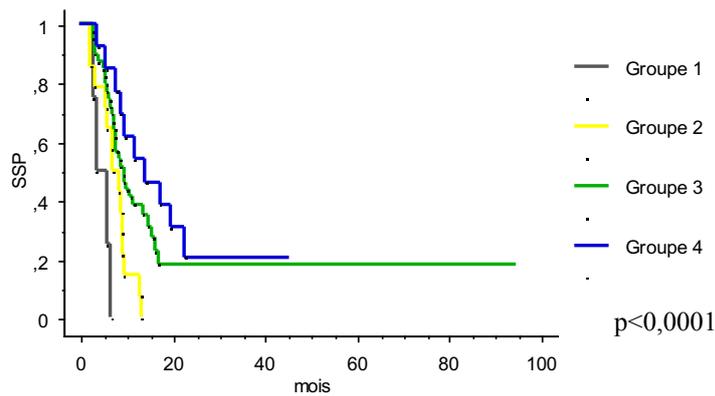
Variations	Tous	Gpe 1	Gpe 2	Gpe 3	Gpe 4	p
<b>ACE</b>	n = 171	Mono CT +/- TC ou TC seule n = 19	Bi CT n = 44	Bi CT + TC n = 82	Tri CT +/- TC n = 26	
<b>C1-int</b>						
≥ 75%	33 (19,3%)	1 (5,3%)	8 (18,2%)	16 (19,5%)	8 (30,8%)	0,20
< 75%	138 (80,7%)	18 (94,7%)	36 (81,8%)	66 (80,5%)	18 (69,2%)	
<b>Variations</b>	<b>Tous</b>	<b>Gpe 1</b>	<b>Gpe 2</b>	<b>Gpe 3</b>	<b>Gpe 4</b>	<b>p</b>
<b>ACE</b>	n = 126	n = 12	n = 33	n = 63	n = 18	
<b>C1-M3</b>						
≥ 75%	53 (42,1%)	3 (25%)	13 (39,4%)	27 (42,9%)	10 (55,6%)	0,41
< 75%	73 (57,9%)	9 (75%)	20 (60,6%)	36 (57,1%)	8 (44,4%)	

Tableau 15 : Étude des variations de l'ADNtot au seuil de 80%

Variations	Tous	Gpe 1	Gpe 2	Gpe 3	Gpe 4	p
<b>ADNtot</b>	n = 162	Mono CT +/- TC ou TC seule n = 18	Bi CT n = 39	Bi CT + TC n = 81	Tri CT +/- TC n = 24	
<b>C1-int</b>						
≥ 80%	20 (12,3%)	2 (11,1%)	5 (12,8%)	13 (16,1%)	0	0,22
< 80%	142 (87,7%)	16 (88,9%)	34 (87,2%)	68 (83,9%)	24 (100%)	
<b>Variations</b>	<b>Tous</b>	<b>Gpe 1</b>	<b>Gpe 2</b>	<b>Gpe 3</b>	<b>Gpe 4</b>	<b>p</b>
<b>ADNtot</b>	n = 129	n = 11	n = 33	n = 69	n = 16	
<b>C1-M3</b>						
≥ 80%	14 (10,9%)	0	2 (6,1%)	9 (13%)	3 (18,8%)	0,32
< 80%	115 (89,1%)	11 (100%)	31 (93,9%)	60 (87%)	13 (81,2%)	

Enfin, nous avons réalisé des analyses de survie dans le sous-groupe de patients ayant atteint des variations d'ADNtc  $\geq 80\%$ . Pour les patients ayant atteint ce seuil de variation au temps intermédiaire, la SSP et la SG étaient significativement plus longues en fonction de l'intensité du traitement reçu ( $p < 0,0001$  et  $p = 0,0023$  respectivement ; Fig 7A et 7B). Pour les patients ayant atteint ce seuil de variation à M3, seule la SSP était significativement différente entre les groupes ( $p = 0,019$  ; Fig 7C).

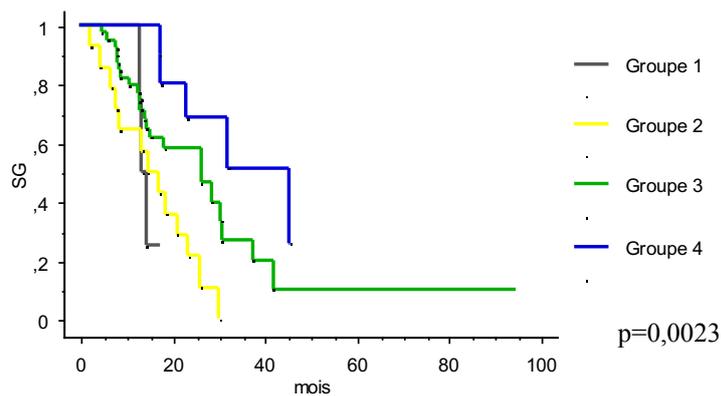
A



SSP moyenne

**G1:** 4,7 mois **G2:** 7,5 mois **G3:** 10,5 mois **G4:** 14,7 mois

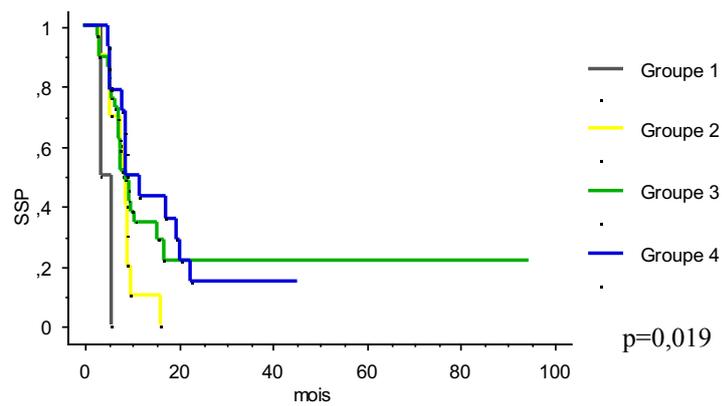
B



SG moyenne

**G1:** 13,9 mois **G2:** 16 mois **G3:** 24,7 mois **G4:** 35,1 mois

C



SSP moyenne

**G1:** 4,7 mois   **G2:** 8,4 mois   **G3:** 10,4 mois   **G4:** 13,6 mois

**Figure 7 : Courbes de survie chez les patients avec une variation d'ADNtc  $\geq 80\%$**

Fig 7A. SSP selon les 4 groupes de traitement chez les patients avec une variation ADNtc  $\geq 80\%$  entre C1 et C3/C4

Fig 7B. SG selon les 4 groupes de traitement chez les patients avec une variation ADNtc  $\geq 80\%$  entre C1 et C3/C4

Fig 7C. SSP selon les 4 groupes de traitement chez les patients avec une variation ADNtc  $\geq 80\%$  entre C1 et M3

G 1 : Mono CT +/- TC ou TC seule ; G 2 : Bi CT ; G 3 : Bi CT + TC ; G 4 : Tri CT +/- TC

## V. DISCUSSION :

Nos résultats suggèrent que les variations de l'ACE et de l'ADNtc sur les 3 premiers mois de la L1 du CCRm sont significativement différentes selon l'intensité du protocole utilisé. Ainsi, entre C1 et le temps intermédiaire (C3 ou C4), il a été observé une variation croissante et significative de l'ACE selon l'intensité du traitement, soit une variation moyenne de +28%, -25%, -29% et -43% entre les 4 groupes (G1 vs G2,  $p=0.006$  ; G1 vs G3,  $p=0.003$  and G1 vs G4,  $p=0.003$ ). Pour l'ADNtc, la même tendance de variation croissante a été observée mais sans atteindre la significativité, soit respectivement une variation moyenne de -53%, -52%, -66% et -77%, respectivement. Concernant les variations entre C1 et M3, celles-ci étaient plus marquées et toujours significatives pour l'ACE, soit une variation moyenne de +18%, -37%, -39% et -65%, respectivement. Pour l'ADNtc, les variations devenaient significatives en fonction des groupes, soit une variation moyenne de -67%, -40%, -82% et -95% respectivement (G2 vs G3,  $p=0.04$  and G1 vs G4,  $p=0.0013$ ). En revanche, il n'a pas été observé de différences majeures de variations en fonction du protocole pour l'ADNtot, à l'exception d'une augmentation du taux moyen entre C1 et C3/C4 dans le groupe intensifié (groupe 4) par rapport au groupe biCT +TC (groupe 3).

A notre connaissance, si l'impact pronostique des marqueurs circulants (ACE et ADNtc) a été rapporté chez les patients traités en L1 pour un CCRm, l'étude de leurs variations en fonction de l'intensité du protocole utilisé en L1 du CCRm n'avait jamais été étudiée. Sous réserve d'études complémentaires, nos résultats suggèrent que l'analyse des variations de l'ACE et l'ADNtc sur les 3 premiers mois de traitement pourrait être utile afin de définir de nouvelles stratégies comme d'éventuelles adaptations thérapeutiques précoces en fonction des variations observées. En effet, si de nombreuses options thérapeutiques sont possibles en L1 du CCRm (Bi CT +/- TC, Tri CT +/- TC...), la séquence optimale d'utilisation de ces différentes associations n'est pas clairement établie. Dans ce contexte, disposer de biomarqueurs de suivi adaptés aux protocoles utilisés serait une aide importante pour le quotidien des cliniciens comme pour le développement de nouvelles séquences de traitement.

De manière intéressante, nous avons également analysé la relation entre l'intensité du traitement et l'atteinte de hauts niveaux de variations des marqueurs, à partir de seuils décrits comme pronostiques en L1 du CCRm dans la littérature, soit un seuil  $\geq 75\%$  pour l'ACE et  $\geq 80\%$  et  $\geq 90\%$  pour l'ADNtc (38,67,68). Pour l'ACE, une analyse *post-hoc* de l'étude FIRE-3 par Michl et al en 2016 (38), a en effet montré, chez des patients traités en L1 par FOLFIRI + Cétuximab

ou BV, que pour une valeur seuil de 75% de diminution de l'ACE entre le début du traitement et le nadir (quel que soit le moment du prélèvement), la SSP ( $p=0,004$ ) et la SG ( $p=0,001$ ) étaient significativement plus longues dans le groupe recevant du Cetuximab. Dans notre travail, la variation du taux d'ACE au seuil  $\geq 75\%$  entre C1 et C3-C4 et entre C1 et M3 n'était pas différente entre les 4 groupes de traitement.

Concernant l'ADNtc, deux études récentes ont montré qu'une diminution au moins  $\geq 80\%$  des taux d'ADNtc entre C1 et C2 ou C3 avait une valeur pronostique. L'étude PLACOL (68) incluant 82 patients traités majoritairement en L1, a identifié la variation de l'ADNtc  $\geq 80\%$  entre C1 et C2/C3, comme étant associée à une augmentation significative de la SSP ( $p<0,0001$ ) et de la SG ( $p<0,001$ ). De manière intéressante, nous avons observé que le degré d'obtention d'une variation de l'ADNtc  $\geq 80\%$  entre C1 et M3 était liée de manière significative à l'intensité du protocole, respectivement 33% vs 53% vs 81% vs 93% de patients atteignant le seuil entre les 4 groupes de traitement. La tendance était également observée entre C1 et C3/4 mais non significative. L'étude de Tie et *al* (67) en 2015 réalisée sur 52 patients traités en L1 par bi-CT +/- BV a rapporté que l'obtention d'une variation à un seuil proche de celui de PLACOL,  $\geq 90\%$  entre C1 et C2 dans ce travail, était associée de manière significative à la réponse objective ( $p=0,016$ ) et à une tendance à l'augmentation de la SSP ( $p=0,26$ ). Dans notre étude, le pourcentage de patients atteignant le seuil de variation  $\geq 90\%$  augmentait de manière significative entre C1 et M3 en cas de traitement intensifié, respectivement 33% vs 47% vs 64% vs 87% de patients atteignant le seuil entre les 4 groupes de traitement ( $p=0,05$ ). Ce résultat était également observé entre C1 et C3/C4 mais à la limite de la significativité ( $p=0,08$ ).

De plus, l'analyse des variations d'ACE dans l'étude FIRE-3 montrait que la baisse de l'ACE était significativement plus rapide et plus profonde dans le bras Cétuximab que dans le bras BV. A l'inverse dans notre travail, en comparant l'utilisation du BV vs anti-EGFR, il existait une tendance non significative à une plus forte diminution moyenne de l'ACE avec le BV par rapport aux anti-EGFR, tant entre C1 et C3/C4 (-39% contre -25%) qu'entre C1 et M3 (-72% contre -31%) alors qu'aucune différence n'a été observée pour l'ADNtc entre les deux molécules. La différence avec les résultats de Michl et *al* peut s'expliquer en partie par la taille limitée de notre échantillon de patients traités par anti-EGFR ( $n=23$ ) et aussi par le fait que les variations de l'ACE ont été analysées en utilisant des points fixes dans le temps à C1-C3/C4 et M3 alors que la cinétique de l'ACE a été réalisée sur des dosages répétés à chaque cycle dans FIRE-3.

Pris ensemble, tous ces résultats suggèrent que les protocoles intensifiés, comme dans les groupes 3 et 4 dans notre travail, semblent plus pertinents que les autres pour atteindre un niveau élevé et pronostic de variation de l'ADNtc, la différence entre les thérapies ciblées reste encore à mettre en évidence. En revanche, pour l'ADNtot, l'intensité du traitement n'avait pas d'impact sur l'obtention d'un seuil de variation élevé autant entre C1 et C3/C4 qu'entre C1 et M3.

Notre étude présente certaines limites. Tout d'abord, bien que notre série soit la plus importante à ce jour sur ce sujet, la taille de l'échantillon est relativement limitée et il existe une hétérogénéité au sein de certains de nos groupes de traitement. Nos résultats ont été obtenus sur une population de patients non sélectionnés atteints d'un CCRm reflétant ainsi la pratique quotidienne des centres. En effet, l'âge moyen était de 65,9 ans, la localisation colique gauche majoritaire (46% des cas), 77,7% des patients avaient une maladie métastatique synchrone, plus d'un site métastatique dans 51% des cas, et avec une tumeur primitive opérée dans 46% des cas. Par ailleurs, au niveau moléculaire, une mutation somatique de RAS ou BRAF a été identifiée chez 50,5% et 7,8% des patients respectivement, soit des pourcentages parfaitement concordants avec les données dans la littérature (16,73). Concernant l'équilibre entre les 4 groupes, celui-ci était logiquement différent pour certaines variables reflétant notamment des choix thérapeutiques orientés sur les données cliniques. Ainsi, un état clinique précaire avec un indice OMS à 2 était significativement plus fréquent dans le groupe 1 de mono-CT +/- TC.

De plus, le taux de réponse objective et la SSP sont différents entre les 4 groupes de traitement et croissants en fonction de l'intensité des traitements mais en deçà des chiffres rapportés dans la littérature. En effet, par exemple, le taux de réponse objective sous Bi-CT ou Bi-CT + TC est d'environ 30% dans notre travail, ce qui est bien inférieur aux taux de réponse retrouvés dans la littérature. Dans l'étude FIRE-3 (7) qui compare l'association FOLFIRI + Cétuximab vs FOLFIRI + BV, les taux de réponse objective étaient d'environ 60% pour les deux groupes. De même, dans l'étude CALGB (17), qui compare l'ajout d'une thérapie ciblée par Cétuximab ou Bévécizumab à une Bi-CT par FOLFOX ou FOLFIRI, les taux de réponse objective étaient de plus de 50%. Notre taux de réponse objective dans le groupe Tri-CT +/- TC (46,4%) est également inférieur à celui retrouvé dans la littérature, il était d'environ 60% dans l'étude de Falcone et *al* (8). Ces résultats peuvent s'expliquer en partie par l'effectif limité de l'ensemble de la population et par une hétérogénéité au sein de certains groupes comme le groupe 1, correspondant aux patients traités par un protocole peu intense, qui regroupait 3 catégories de

traitements (mono-CT ; mono-CT + TC et TC seule). Il est évident qu'une homogénéisation des groupes par l'inclusion de patients supplémentaires via des études ultérieures ou en combinant les données d'autres études comme PLACOL permettrait de réduire ces différents biais.

En tenant compte de ces limitations, nos résultats ont montré des variations significatives de l'ACE et de l'ADNtc selon les 4 groupes de traitement, des études supplémentaires avec des échantillons plus importants et incluant des groupes homogènes de patients sont nécessaires pour mieux définir les variations des marqueurs selon le type de traitement.

Enfin, la détection de l'ADNtc n'est pas optimale à ce stade avec 29 dosages en attente de NGS à C1. De plus, nous avons 20 patients sur 145 (14%) sans ADNtc détectable à C1, ce taux étant proche de ceux rapportés dans la littérature en digitale PCR et en NGS. Il est également à souligner que nous avons donc utilisé 2 méthodes pour la détection de l'ADNtc, la PCR digitale en cas de mutation RAS/BRAF connue sur la tumeur et la NGS pour les autres patients. Cette limite est finalement toute relative, puisque la concordance entre les 2 méthodes a été rapportée dans la littérature et confirmée dans notre série sur 5 cas ayant bénéficié des 2 techniques.

Le dernier point concerne l'analyse au temps intermédiaire, qui était différent entre les deux études, à 4 semaines pour COCAMACS (C3) et 6 semaines pour COCACOLON (C4). Ainsi, le temps médian entre C1 et l'analyse intermédiaire était de 28 jours et 42,5 jours dans les 2 études respectivement.

## **VI. CONCLUSION :**

Notre étude est la première à évaluer l'impact des variations de l'ACE, de l'ADNtot et de l'ADNtc sur les 3 premiers mois, en fonction du type de traitement chez les patients traités pour un CCRm en L1. Nos résultats suggèrent que les variations étaient différentes et croissantes avec l'intensité du protocole, en particulier pour l'ACE et l'ADNtc. A notre connaissance, ces résultats n'ont jamais été rapportés dans le CCRm. Si des études complémentaires sur de plus larges effectifs sont nécessaires pour évaluer l'utilité de stratégies thérapeutiques basées sur les variations d'ACE et d'ADNtc, notre travail suggère que, en fonction des variations observées, des modifications thérapeutiques pourraient être réalisées.

## **VII. BIBLIOGRAPHIE :**

1. Folprecht G, Grothey A, Alberts S, Raab H-R, Köhne C-H. Neoadjuvant treatment of unresectable colorectal liver metastases: correlation between tumour response and resection rates. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* août 2005;16(8):1311-9.
2. Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012 - Partie 1 - Tumeurs solides - Ref: RAPTUMSOL13 [Internet]. [cité 18 févr 2020]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Estimation-nationale-de-l-incidence-et-de-la-mortalite-par-cancer-en-France-entre-1980-et-2012-Partie-1-Tumeurs-solides>
3. Phelip JM, Tougeron D, Léonard D, Benhaim L, Desolneux G, Dupré A, et al. Metastatic colorectal cancer (mCRC): French intergroup clinical practice guidelines for diagnosis, treatments and follow-up (SNFGE, FFCO, GERCOR, UNICANCER, SFCO, SFED, SFRO, SFR). *Dig Liver Dis.* oct 2019;51(10):1357-63.
4. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. janv 2009;45(2):228-47.
5. 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.* 3 juin 2004;350(23):2335-42.
6. Hochster HS, Hart LL, Ramanathan RK, Childs BH, Hainsworth JD, Cohn AL, et al. Safety and efficacy of oxaliplatin and fluoropyrimidine regimens with or without bevacizumab as first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results of the TREE Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20 juill 2008;26(21):3523-9.
7. 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.* sept 2014;15(10):1065-75.
8. Falcone A, Ricci S, Brunetti I, Pfanner E, Allegrini G, Barbara C, et al. Phase III trial of infusional fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) compared with infusional fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the Gruppo Oncologico Nord Ovest. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1 mai 2007;25(13):1670-6.
9. Loupakis F, Cremolini C, Masi G, Lonardi S, Zagonel V, Salvatore L, et al. Initial therapy with FOLFOXIRI and bevacizumab for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med.* 23 oct 2014;371(17):1609-18.
10. Karoui M, Penna C, Amin-Hashem M, Mitry E, Benoist S, Franc B, et al. Influence of preoperative chemotherapy on the risk of major hepatectomy for colorectal liver metastases. *Ann Surg.* janv 2006;243(1):1-7.
11. Cremolini C, Loupakis F, Antoniotti C, Lonardi S, Masi G, Salvatore L, et al. Early tumor shrinkage and depth of response predict long-term outcome in metastatic colorectal cancer patients treated with first-line chemotherapy plus bevacizumab: results from phase III TRIBE trial by the Gruppo Oncologico del Nord Ovest. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* juin 2015;26(6):1188-94.

12. Piessevaux H, Buyse M, Schlichting M, Van Cutsem E, Bokemeyer C, Heeger S, et al. Use of early tumor shrinkage to predict long-term outcome in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 oct 2013;31(30):3764-75.
13. Mansmann U, Sartorius U, Laubender R, Giessen C, Esser R, Heinemann V. Quantitative Analysis of the Impact of Deepness of Response on Post-Progression Survival Time Following First-Line Treatment in Patients with Mrcr. *Ann Oncol*. juin 2013;24:iv14.
14. Heinemann V, Stintzing S, Modest DP, Giessen-Jung C, Michl M, Mansmann UR. Early tumour shrinkage (ETS) and depth of response (DpR) in the treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC). *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. sept 2015;51(14):1927-36.
15. Van Cutsem E, Köhne C-H, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien C-R, Makhson A, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2 avr 2009;360(14):1408-17.
16. Douillard J-Y, Oliner KS, Siena S, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, et al. Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *N Engl J Med*. 12 sept 2013;369(11):1023-34.
17. 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. *JAMA*. 20 juin 2017;317(23):2392-401.
18. Modest DP, Martens UM, Riera-Knorrenschild J, Greeve J, Florschütz A, Wessendorf S, et al. FOLFOXIRI Plus Panitumumab As First-Line Treatment of RAS Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer: The Randomized, Open-Label, Phase II VOLFI Study (AIO KRK0109). *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 2019;37(35):3401-11.
19. Cremolini C, Antoniotti C, Rossini D, Lonardi S, Loupakis F, Pietrantonio F, et al. Upfront FOLFOXIRI plus bevacizumab and reintroduction after progression versus mFOLFOX6 plus bevacizumab followed by FOLFIRI plus bevacizumab in the treatment of patients with metastatic colorectal cancer (TRIBE2): a multicentre, open-label, phase 3, randomised, controlled trial. *Lancet Oncol*. 2020;21(4):497-507.
20. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1 juin 1990;61(5):759-67.
21. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med*. 25 juin 2015;372(26):2509-20.
22. Kopetz S, Grothey A, Yaeger R, Van Cutsem E, Desai J, Yoshino T, et al. Encorafenib, Binimetinib, and Cetuximab in BRAF V600E-Mutated Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 24 2019;381(17):1632-43.
23. Siena S, Sartore-Bianchi A, Marsoni S, Hurwitz HI, McCall SJ, Penault-Llorca F, et al. Targeting the human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) oncogene in colorectal cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 01 2018;29(5):1108-19.
24. Sartore-Bianchi A, Trusolino L, Martino C, Bencardino K, Lonardi S, Bergamo F, et al. Dual-targeted therapy with trastuzumab and lapatinib in treatment-refractory, KRAS codon 12/13 wild-type, HER2-positive metastatic colorectal cancer (HERACLES): a proof-of-concept, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. juin 2016;17(6):738-46.

25. Muzny DM, Bainbridge MN, Chang K, Dinh HH, Drummond JA, Fowler G, et al. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. juill 2012;487(7407):330-7.
26. Aparicio T, Schischmanoff O, Poupardin C, Soufir N, Angelakov C, Barrat C, et al. Deficient mismatch repair phenotype is a prognostic factor for colorectal cancer in elderly patients. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver*. mars 2013;45(3):245-50.
27. Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, Thibodeau SN, Labianca R, Hamilton SR, et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 juill 2010;28(20):3219-26.
28. Goldstein J, Tran B, Ensor J, Gibbs P, Wong HL, Wong SF, et al. Multicenter retrospective analysis of metastatic colorectal cancer (CRC) with high-level microsatellite instability (MSI-H). *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. mai 2014;25(5):1032-8.
29. Yaeger R, Cowell E, Chou JF, Gewirtz AN, Borsu L, Vakiani E, et al. RAS mutations affect pattern of metastatic spread and increase propensity for brain metastasis in colorectal cancer. *Cancer*. 15 avr 2015;121(8):1195-203.
30. Brudvik KW, Kopetz SE, Li L, Conrad C, Aloia TA, Vauthey J-N. Meta-analysis of KRAS mutations and survival after resection of colorectal liver metastases. *Br J Surg*. sept 2015;102(10):1175-83.
31. Di Fiore F, Blanchard F, Charbonnier F, Le Pessot F, Lamy A, Galais MP, et al. Clinical relevance of KRAS mutation detection in metastatic colorectal cancer treated by Cetuximab plus chemotherapy. *Br J Cancer*. 23 avr 2007;96(8):1166-9.
32. 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*. 15 avr 2006;66(8):3992-5.
33. Lièvre A, Bachet J-B, Boige V, Cayre A, Le Corre D, Buc E, et al. KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 janv 2008;26(3):374-9.
34. Safaee Ardekani G, Jafarnejad SM, Tan L, Saeedi A, Li G. The prognostic value of BRAF mutation in colorectal cancer and melanoma: a systematic review and meta-analysis. *PloS One*. 2012;7(10):e47054.
35. Laurenty A-P, Selves J, Guimbaud R. Biomarqueurs des cancers colorectaux utiles en pratique clinique. :9.
36. Iwanicki-Caron I, Di Fiore F, Roque I, Astruc E, Stetiu M, Duclos A, et al. Usefulness of the serum carcinoembryonic antigen kinetic for chemotherapy monitoring in patients with unresectable metastasis of colorectal cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 août 2008;26(22):3681-6.
37. Locker GY, Hamilton S, Harris J, Jessup JM, Kemeny N, Macdonald JS, et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 nov 2006;24(33):5313-27.
38. Michl M, Stintzing S, Fischer von Weikersthal L, Decker T, Kiani A, Vehling-Kaiser U, et al. CEA response is associated with tumor response and survival in patients with KRAS exon 2 wild-type and extended RAS wild-type metastatic colorectal cancer receiving first-line FOLFIRI plus cetuximab or bevacizumab (FIRE-3 trial). *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2016;27(8):1565-72.

39. Duffy MJ. Carcinoembryonic antigen as a marker for colorectal cancer: is it clinically useful? *Clin Chem. avr 2001*;47(4):624-30.
40. Sørbye H, Dahl O. Carcinoembryonic antigen surge in metastatic colorectal cancer patients responding to oxaliplatin combination chemotherapy: implications for tumor marker monitoring and guidelines. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 1 déc 2003*;21(23):4466-7.
41. 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. *Cancer Biomark Sect Dis Markers. 2009*;5(4):167-75.
42. Jia J, Zhang P, Gou M, Yang F, Qian N, Dai G. The Role of Serum CEA and CA19-9 in Efficacy Evaluations and Progression-Free Survival Predictions for Patients Treated with Cetuximab Combined with FOLFOX4 or FOLFIRI as a First-Line Treatment for Advanced Colorectal Cancer. *Dis Markers. 2019*;2019:6812045.
43. Hashizume R, Kawahara H, Ogawa M, Suwa K, Eto K, Yanaga K. CA19-9 Concentration After First-line Chemotherapy Is Prognostic Predictor of Metastatic Colon Cancer. *Vivo Athens Greece. déc 2019*;33(6):2087-93.
44. Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, Yaros MJ. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res. mars 1977*;37(3):646-50.
45. Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Bardelli A. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood. *Nat Rev Clin Oncol. août 2013*;10(8):472-84.
46. Thierry AR, Mouliere F, El Messaoudi S, Mollevi C, Lopez-Crapez E, Rolet F, et al. Clinical validation of the detection of KRAS and BRAF mutations from circulating tumor DNA. *Nat Med. avr 2014*;20(4):430-5.
47. Jahr S, Hentze H, Englisch S, Hardt D, Fackelmayer FO, Hesch RD, et al. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. *Cancer Res. 15 févr 2001*;61(4):1659-65.
48. Sozzi G, Conte D, Leon M, Ciricione R, Roz L, Ratcliffe C, et al. Quantification of free circulating DNA as a diagnostic marker in lung cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 1 nov 2003*;21(21):3902-8.
49. Diehl F, Li M, Dressman D, He Y, Shen D, Szabo S, et al. Detection and quantification of mutations in the plasma of patients with colorectal tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A. 8 nov 2005*;102(45):16368-73.
50. Siravegna G, Marsoni S, Siena S, Bardelli A. Integrating liquid biopsies into the management of cancer. *Nat Rev Clin Oncol. sept 2017*;14(9):531-48.
51. Diehl F, Schmidt K, Choti MA, Romans K, Goodman S, Li M, et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med. sept 2008*;14(9):985-90.
52. Spindler K-LG, Pallisgaard N, Andersen RF, Jakobsen A. Changes in mutational status during third-line treatment for metastatic colorectal cancer--results of consecutive measurement of cell free DNA, KRAS and BRAF in the plasma. *Int J Cancer. 1 nov 2014*;135(9):2215-22.
53. Diaz LA, Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 20 févr 2014*;32(6):579-86.

54. El Messaoudi S, Rolet F, Mouliere F, Thierry AR. Circulating cell free DNA: Preanalytical considerations. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 23 sept 2013;424:222-30.
55. Jung R, Lübecke C, Wagener C, Neumaier M. Reversal of RT-PCR inhibition observed in heparinized clinical specimens. *BioTechniques.* juill 1997;23(1):24, 26, 28.
56. Jung M, Klotzek S, Lewandowski M, Fleischhacker M, Jung K. Changes in concentration of DNA in serum and plasma during storage of blood samples. *Clin Chem.* juin 2003;49(6 Pt 1):1028-9.
57. Osumi H, Shinozaki E, Yamaguchi K, Zembutsu H. Clinical utility of circulating tumor DNA for colorectal cancer. *Cancer Sci.* avr 2019;110(4):1148-55.
58. Bettgowda C, Sausen M, Leary RJ, Kinde I, Wang Y, Agrawal N, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med.* 19 févr 2014;6(224):224ra24.
59. Siravegna G, Mussolin B, Buscarino M, Corti G, Cassingena A, Crisafulli G, et al. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients. *Nat Med.* juill 2015;21(7):795-801.
60. Parseghian CM, Loree JM, Morris VK, Liu X, Clifton KK, Napolitano S, et al. Anti-EGFR-resistant clones decay exponentially after progression: implications for anti-EGFR re-challenge. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 01 2019;30(2):243-9.
61. Santini D, Vincenzi B, Addeo R, Garufi C, Masi G, Scartozzi M, et al. Cetuximab rechallenge in metastatic colorectal cancer patients: how to come away from acquired resistance? *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* sept 2012;23(9):2313-8.
62. Diaz LA, Williams RT, Wu J, Kinde I, Hecht JR, Berlin J, et al. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers. *Nature.* 28 juin 2012;486(7404):537-40.
63. Misale S, Yaeger R, Hobor S, Scala E, Janakiraman M, Liska D, et al. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti EGFR therapy in colorectal cancer. *Nature.* 28 juin 2012;486(7404):532-6.
64. Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J, Mouliere F, Brenton JD, Caldas C, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. *Nat Rev Cancer.* 2017;17(4):223-38.
65. Lefebvre B, Charbonnier F, Di Fiore F, Tuech JJ, Le Pessot F, Michot F, et al. Prognostic value of circulating mutant DNA in unresectable metastatic colorectal cancer. *Ann Surg.* févr 2010;251(2):275-80.
66. Sefrioui D, Sarafan-Vasseur N, Beaussire L, Baretta M, Gangloff A, Blanchard F, et al. Clinical value of chip-based digital-PCR platform for the detection of circulating DNA in metastatic colorectal cancer. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver.* oct 2015;47(10):884-90.
67. Tie J, Kinde I, Wang Y, Wong HL, Roebert J, Christie M, et al. Circulating tumor DNA as an early marker of therapeutic response in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* août 2015;26(8):1715-22.
68. Garlan F, Laurent-Puig P, Sefrioui D, Siauve N, Didelot A, Sarafan-Vasseur N, et al. Early Evaluation of Circulating Tumor DNA as Marker of Therapeutic Efficacy in Metastatic Colorectal Cancer Patients (PLACOL Study). *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 sept 2017;23(18):5416-25.

69. Sefrioui D, Vasseur N, Toure E, Blanchard F, Delacour J, Thill C, et al. Prospective analysis of CEA, CA19.9, circulating DNA (cDNA) and circulating tumor cells (CTC) in patients (pts) treated for a metastatic colorectal cancer (mCRC)\_Results of COCA-COLON study. *Ann Oncol.* 1 oct 2016;27:vi21.
70. Vidal J, Muinelo L, Dalmases A, Jones F, Edelstein D, Iglesias M, et al. Plasma ctDNA RAS mutation analysis for the diagnosis and treatment monitoring of metastatic colorectal cancer patients. *Ann Oncol.* juin 2017;28(6):1325-32.
71. Thomsen CB, Hansen TF, Andersen RF, Lindebjerg J, Jensen LH, Jakobsen A. Monitoring the effect of first line treatment in RAS/RAF mutated metastatic colorectal cancer by serial analysis of tumor specific DNA in plasma. *J Exp Clin Cancer Res CR.* 12 mars 2018;37(1):55.
72. Sefrioui D, Sarafan-Vasseur N, Beaussire L, Baretti M, Gangloff A, Blanchard F, et al. Clinical value of chip-based digital-PCR platform for the detection of circulating DNA in metastatic colorectal cancer. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver.* oct 2015;47(10):884-90.
73. Di Fiore F, Sesboué R, Michel P, Sabourin JC, Frebourg T. Molecular determinants of anti-EGFR sensitivity and resistance in metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer.* 7 déc 2010;103(12):1765-72.

## VIII. ANNEXES

### Classification TNM (8<sup>ème</sup> édition, 2017) [3] :

Tis : carcinome intra-épithélial ou intra-muqueux (Carcinome *in situ*, adénocarcinome intra-muqueux envahissant le chorion ou la musculaire muqueuse).

T1 : tumeur envahissant la sous-muqueuse

T2 : tumeur envahissant la musculature

T3 : tumeur envahissant la sous-séreuse

T4 : tumeur pénétrant le péritoine viscéral et/ou envahissant au moins une structure/organe de voisinage

T4a : pénétration du péritoine viscéral\*

T4b : envahissement d'une structure de voisinage\*\*

N0 : pas de métastase ganglionnaire régionale

N1 : métastase dans 1 à 3 ganglions lymphatiques régionaux\*\*\*

N1a : métastase dans 1 ganglion lymphatique régional

N1b : métastases dans 2-3 ganglions lymphatiques régionaux

N1c : dépôts tumoraux « satellites » dans la sous-séreuse, ou dans le tissu péri-colique ou péri-rectal non péritonisé, en l'absence de ganglion métastatique\*\*\*\*

N2 : métastase  $\geq 4$  ganglions lymphatiques régionaux

N2a : métastase dans 4-6 ganglions lymphatiques régionaux

N2b : métastase dans  $\geq 7$  ganglions lymphatiques régionaux

M0 : pas de métastase à distance

M1a : métastases à distance confinées à un organe sans atteinte péritonéale : foie, poumon, ovaire, ganglions non régionaux ...

M1b : métastases atteignant plus d'un site métastatique

M1c : métastase péritonéale avec ou sans autre organe atteint

### Classification par stade :

Stade 0	pTis N0 M0
Stade I	pT1-2 N0 M0
Stade IIA	pT3 N0 M0
Stade IIB	pT4a N0 M0
Stade IIC	pT4b N0 M0
Stade IIIA	pT1-T2 N1/N1c M0 et pT1 N2a M0
Stade IIIB	pT3-T4a N1N1c M0, pT2-T3 N2a M0, pT1-T2 N2b M0
Stade IIIC	pT4a N2a M0; p T3-T4a N2b M0; pT4b N1-N2 M0
Stade IVA	tout T, tout N, M1a
Stade IVB	tout T, tout N, M1b
Stade IVC	tout T, tout N, M1c

Annexe : critères RECIST 1.1

<b>Choix des lésions</b>	<b>Evaluation</b>
<u>Lésion cible</u> : maximum 5 (maximum 2 par organe), taille > 10 mm, contours nets	<u>Réponse complète</u> : disparition de la lésion, ganglion < 10 mm
<u>Lésion non cible</u> : mesurable mais non choisie comme cible, évaluable mais non mesurable	<u>Réponse partielle</u> : diminution > 30% de la SPD des lésions cibles ou diminution indiscutable des lésions non cibles
<u>Lésion non évaluable, non mesurable</u> : lymphangite, épanchement, métastase osseuse	<u>Progression</u> : augmentation > 20% de la SPD, augmentation indiscutable des lésions non cibles
<u>Ganglion</u> : cible si petit axe > 15mm	<u>Stabilité</u> : diminution des SPD < 30%, augmentation des SPD < 20%, évolution non indiscutable des lésions non cibles

SPD : somme des plus grands diamètres

## **RESUME :**

**Contexte :** L'Antigène Carcino-embryonnaire (ACE) et l'ADN circulant (total : ADNtot et tumoral : ADNtc) sont considérés comme des outils prometteurs pour optimiser la prise en charge des patients traités pour un cancer colorectal métastatique (CCRm). À ce jour, les variations de ces marqueurs selon le protocole de traitement en première ligne (L1) n'ont jamais été étudiées. L'objectif était d'évaluer les variations de l'ACE, de l'ADNtot et de l'ADNtc selon l'intensité du protocole en L1 du CCRm.

**Patients et méthode :** Les patients traités en L1 dans 2 études multicentriques (COCACOLON et COCAMACS) ont été inclus rétrospectivement et divisés en 4 groupes selon les schémas de chimiothérapie (CT) et/ou de thérapie ciblée (TC) reçus : mono CT +/- TC ou TC seule (groupe 1 : G1), Bi-CT (groupe 2 : G2), Bi-CT + TC (groupe 3 : G3) et Tri-CT +/- TC (groupe 4 : G4). Les variations moyennes de l'ACE, de l'ADNtot et de l'ADNtc ont été analysées entre les 4 groupes selon 3 temps : premier cycle (C1), troisième ou quatrième cycle (C3/C4) et scanner d'évaluation (M3). Le taux de patients avec une variation élevée pronostique ( $\geq 75\%$  pour l'ACE et  $\geq 80\%$  et  $\geq 90\%$  pour l'ADNtc) a été évalué.

**Résultats :** Au total, 206 patients ont été inclus, respectivement 27 dans le G1, 56 dans le G2, 95 dans le G3 et 28 dans le G4. L'ACE variait de manière significative entre C1 et C3/C4 selon l'intensité du traitement avec une variation moyenne respectivement de +28%, -25%, -29% et -43% entre les 4 groupes (G1 vs G2,  $p=0,006$  ; G1 vs G3,  $p=0,003$  et G1 vs G4,  $p=0,003$ ). Ces variations étaient plus prononcées et significatives entre C1 et M3, respectivement de +18%, -37%, -39% et -65%. Pour l'ADNtc, la même tendance significative a été observée entre C1 et M3 avec des variations moyennes de -67%, -40%, -82% et -95%, respectivement (G2 vs G3,  $p=0,04$  et G1 vs G4,  $p=0,0013$ ). Il n'a pas été mis en évidence de variation pertinente pour l'ADNtot. Concernant l'utilisation du bevacizumab (BV) vs anti-EGFR, il existait une diminution plus importante de l'ACE avec le BV entre C1 et M3 (respectivement -72% vs -31%, NS), sans différence pour l'ADNtc. Enfin, le taux de patients avec une variation élevée d'ADNtc  $\geq 80\%$  ou  $\geq 90\%$  entre C1 et M3 augmentait en fonction de l'intensité du traitement ( $p=0,005$  et  $p=0,05$ , respectivement).

**Conclusion :** Nos résultats suggèrent que les variations moyennes d'ACE et d'ADNtc au cours des 3 premiers mois en L1 sont différentes selon l'intensité du protocole de traitement. À notre connaissance, ces résultats n'ont pas été rapportés et soulignent l'intérêt d'études supplémentaires sur de nouvelles stratégies basées sur les variations d'ACE et d'ADNtc.