



**HAL**  
open science

# Déficit de la recombinaison homologue dans les cancers épithéliaux de l'ovaire : état de l'art et perspectives biomédicales. De la caractérisation moléculaire au parcours des patientes

Stanislas Quesada

► **To cite this version:**

Stanislas Quesada. Déficit de la recombinaison homologue dans les cancers épithéliaux de l'ovaire : état de l'art et perspectives biomédicales. De la caractérisation moléculaire au parcours des patientes. Médecine humaine et pathologie. 2022. dumas-03682022

**HAL Id: dumas-03682022**

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03682022v1>

Submitted on 30 May 2022

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - ShareAlike 4.0 International License

UNIVERSITE DE MONTPELLIER  
FACULTE DE MEDECINE MONTPELLIER-NIMES

**THESE**

Pour obtenir le titre de  
**DOCTEUR EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement  
Par  
Stanislas Quesada

Le 19 avril 2022

**Déficit de la recombinaison homologue dans les cancers  
épithéliaux de l'ovaire : état de l'art et perspectives biomédicales**

-

*De la caractérisation moléculaire au parcours des patientes*

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Michel Fabbro

**JURY**

Président : Monsieur le Professeur Marc Ychou

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Jérôme Solassol

Monsieur le Docteur Michel Fabbro

Madame le Professeur Nadine Houédé

Monsieur le Professeur Pierre-Emmanuel Colombo

*« Créer, c'est vivre deux fois »*

Albert Camus, le Mythe de Sisyphe, 1942

*« Et ideo mando, volo, laudo atque concedo in perpetuum, quod omnes homines cuiquamque sint, vel undecumque sint, sine aliqua interpellatione, regant scholas de fisica in Montepessulano »*

Extrait de l'Edit de Guilhem VIII, seigneur de Montpellier, proclamé en 1181

## Serment d'Hippocrate

En présence des Maîtres de cette école,  
de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate,

Je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois  
de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

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

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

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

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes  
promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y  
manque.

**ANNEE UNIVERSITAIRE 2021-2022**

**PERSONNEL ENSEIGNANT**

**Professeurs Honoraires**

ALBAT Bernard	BRUNEL Michel	HUMEAU Claude	NAVARRO Maurice
ALLIEU Yves	CANAUD Bernard	JAFFIOL Claude	NAVRATIL Henri
ALRIC Robert	CHAPTAL Paul-André	JANBON Charles	OTHONIEL Jacques
ARNAUD Bernard	CIURANA Albert-Jean	JANBON François	PAGES Michel
ASENCIO Gérard	CLOT Jacques	JARRY Daniel	PEGURET Claude
ASTRUC Jacques	COSTA Pierre	JOURDAN Jacques	PELISSIER Jacques
AUSSILLOUX Charles	D'ATHIS Françoise	KLEIN Bernard	PETIT Pierre
AVEROUS Michel	DEMAILLE Jacques	LAFFARGUE François	POUGET Régis
AYRAL Guy	DESCOMPS Bernard	LALLEMANT Jean Gabriel	PUJOL Henri
BAILLAT Xavier	DIMEGLIO Alain	LAMARQUE Jean-Louis	RABISCHONG Pierre
BALDET Pierre	DUBOIS Jean Bernard	LAPEYRIE Henri	RAMUZ Michel
BALDY-MOULINIER Michel	DUJOLS Pierre	LEROUX Jean-Louis	REBOUL Jean
BALMES Jean-Louis	DUMAS Robert	LESBROS Daniel	RIEU Daniel
BANSARD Nicole	DUMAZER Romain	LOPEZ François Michel	ROCHEFORT Henri
BAYLET René	ECHENNE Bernard	LORIOT Jean	ROUANET DE VIGNE LAVIT Jean Pierre
BILLIARD Michel	FABRE Serge	LOUBATIERES Marie Madeleine	SAINT AUBERT Bernard
BLARD Jean-Marie	FRAPIER Jean-Marc	MAGNAN DE BORNIER Bernard	SANCHO-GARNIER Hélène
BLAYAC Jean Pierre	FREREBEAU Philippe	MARTY ANE Charles	SANY Jacques
BLOTMAN Francis	GALIFER René Benoît	MATHIEU-DAUDE Pierre	SEGNARBIEUX François
BONNEL François	GODLEWSKI Guilhem	MEYNADIER Jean	SENAC Jean-Paul
BOURGEOIS Jean-Marie	GRASSET Daniel	MICHEL François-Bernard	SERRE Arlette
BOUSQUET Jean	GUILHOU Jean-Jacques	MION Charles	SOLASSOL Claude
BRUEL Jean Michel	GUI TER Pierre	MION Henri	TOUITOU Isabelle
BUREAU Jean-Paul	HEDON berbard	MIRO Luis	VIDAL Jacques
	HERTAULT Jean		VISI ER Jean Pierre

### Professeurs Emérites

ARTUS Jean-Claude	LANDAIS Paul	ZANCA Michel
BASTIEN Patrick	LARREY Dominique	
BLANC François	LE QUELLEC Alain	
BONAFE Alain	MARES Pierre	
BOULENGER Jean-Philippe	MAUDELONDE Thierry	
BOURREL Gérard	MAURY Michèle	
BRINGER Jacques	MESSNER Patrick	
CLAUSTRES Mireille	MILLAT Bertrand	
COMBE Bernard	MONNIER Louis	
DAURES Jean-Pierre	MOURAD Georges	
DAUZAT Michel	PREFAUT Christian	
DAVY Jean-Marc	PUJOL Rémy	
DEDET Jean-Pierre	RIBSTEIN Jean	
ELEDJAM Jean-Jacques	SCHVED Jean-François	
GROLLEAU RAOUX Robert	SULTAN Charles	
GUERRIER Bernard	TOUCHON Jacques	
GUILLOT Bernard	UZIEL Alain	
JONQUET Olivier	VOISIN Michel	

### Docteurs Emerites

PRAT Dominique
PUJOL Joseph

**Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers**

**PU-PH de classe exceptionnelle**

ALRIC Pierre	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option chirurgie vasculaire)
BACCINO Eric	Médecine légale et droit de la santé
BEREGI Jean-Paul	Radiologie et imagerie médicale
BLAIN Hubert	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
BOULOT Pierre	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
CANOVAS François	Anatomie
CAPDEVILA Xavier	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
CHAMMAS Michel	Chirurgie orthopédique et traumatologique
COLSON Pascal	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
COSTES Valérie	Anatomie et cytologie pathologiques
COTTALORDA Jérôme	Chirurgie infantile
COUBES Philippe	Neurochirurgie
COURTET Philippe	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
CRAMPETTE Louis	Oto-rhino-laryngologie
CRISTOL Jean Paul	Biochimie et biologie moléculaire
CYTEVAL Catherine	Radiologie et imagerie médicale
DE LA COUSSAYE Jean Emmanuel	Médecine d'urgence
DE WAZIERES Benoît	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
DELAPORTE Eric	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
DEMOLY Pascal	Pneumologie ; addictologie
DOMERGUE Jacques	Chirurgie viscérale et digestive
DUFFAU Hugues	Neurochirurgie
ELIAOU Jean François	Immunologie
FABRE Jean Michel	Chirurgie viscérale et digestive
HAMAMAH Samir	Biologie et Médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
HERISSON Christian	Médecine physique et de réadaptation
JABER Samir	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
JEANDEL Claude	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
JORGENSEN Christian	Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie
KOENIG Michel	Génétique
KOTZKI Pierre Olivier	Biophysique et médecine nucléaire



LABAUGE Pierre	Neurologie
LAFFONT Isabelle	Médecine physique et de réadaptation
LEFRANT Jean-Yves	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
LEHMANN Sylvain	Biochimie et biologie moléculaire
LUMBROSO Serge	Biochimie et Biologie moléculaire
MARIANO-GOULART Denis	Biophysique et médecine nucléaire
MERCIER Jacques	Physiologie
MEUNIER Laurent	Dermato-vénéréologie
MONDAIN Michel	Oto-rhino-laryngologie
MORIN Denis	Pédiatrie
PAGEAUX Georges- Philippe	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
PUJOL Pascal	Biologie cellulaire
QUERE Isabelle	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option médecine vasculaire)
RENARD Eric	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale
REYNES Jacques	Maladies infectieuses, maladies tropicales
RIPART Jacques	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
ROUANET Philippe	Cancérologie ; radiothérapie
SOTTO Albert	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
TAOUREL Patrice	Radiologie et imagerie médicale
VANDE PERRE Philippe	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
VERNHET Hélène	Radiologie et imagerie médicale
YCHOU Marc	Cancérologie ; radiothérapie

### **PU-PH de 1<sup>re</sup> classe**

AGUILAR MARTINEZ Patricia	Hématologie ; transfusion
ASSENAT Éric	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
AVIGNON Antoine	Nutrition
AZRIA David	Cancérologie ; radiothérapie
BAGHDADLI Amaria	Pédopsychiatrie ; addictologie
BLANC Pierre	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
BORIE Frédéric	Chirurgie viscérale et digestive
BOURDIN Arnaud	Pneumologie ; addictologie
CAMBONIE Gilles	Pédiatrie

CAMU William	Neurologie
CAPTIER Guillaume	Anatomie
CARTRON Guillaume	Hématologie ; transfusion
CAYLA Guillaume	Cardiologie
CHANQUES Gérald	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
CORBEAU Pierre	Immunologie
COULET Bertrand	Chirurgie orthopédique et traumatologique
CUVILLON Philippe	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DADURE Christophe	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DAUVILLIERS Yves	Physiologie
DE TAYRAC Renaud	Gynécologie-obstétrique, gynécologie médicale
DE VOS John	Histologie, embryologie et cytogénétique
DEMARIA Roland	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
DEREURE Olivier	Dermatologie - vénéréologie
DROUPY Stéphane	Urologie
DUCROS Anne	Neurologie
DUPEYRON Arnaud	Médecine physique et de réadaptation
FESLER Pierre	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
GARREL Renaud	Oto-rhino-laryngologie
GENEVIEVE David	Génétique
GUILLAUME Sébastien	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
GUIU Boris	Radiologie et imagerie médicale
HAYOT Maurice	Physiologie
HOUEDE Nadine	Cancérologie ; radiothérapie
JUNG Boris	Médecine intensive-réanimation
KALFA Nicolas	Chirurgie infantile
KLOUCHE Kada	Médecine intensive-réanimation
KOUYOUMDJIAN Pascal	Chirurgie orthopédique et traumatologique
LACHAUD Laurence	Parasitologie et mycologie
LAVABRE-BERTRAND Thierry	Histologie, embryologie et cytogénétique
LAVIGNE Jean-Philippe	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
LE MOING Vincent	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
LECLERCQ Florence	Cardiologie

MATECKI Stéfan	Physiologie
MORANNE Olivier	Néphrologie
MOREL Jacques	Rhumatologie
NAVARRO Francis	Chirurgie viscérale et digestive
NOCCA David	Chirurgie viscérale et digestive
PANARO Fabrizio	Chirurgie viscérale et digestive
PASQUIE Jean-Luc	Cardiologie
PEREZ MARTIN Antonia	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option médecine vasculaire)
PERNEY Pascal	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
PRUDHOMME Michel	Anatomie
PUJOL Jean Louis	Pneumologie ; addictologie
PURPER-OUAKIL Diane	Pédopsychiatrie ; addictologie
ROGER Pascal	Anatomie et cytologie pathologiques
TRAN Tu-Anh	Pédiatrie

#### **PU-PH de 2ème classe**

BOBBIA Xavier	Médecine d'urgence
BOURGIER Céline	Cancérologie; radiothérapie
CANAUD Ludovic	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option chirurgie vasculaire)
CAPDEVIELLE Delphine	Psychiatrie d'Adultes ; addictologie
CLARET Pierre-Géraud	Médecine d'urgence
COLOMBO Pierre-Emmanuel	Cancérologie ; radiothérapie
COSTALAT Vincent	Radiologie et imagerie médicale
DAIEN Vincent	Ophthalmologie
DORANDEU Anne	Médecine légale et droit de la santé
FAILLIE Jean-Luc	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
FUCHS Florent	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
GABELLE DELOUSTAL Audrey	Neurologie
GAUJOUX Viala Cécile	Rhumatologie
GODREUIL Sylvain	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
GUILPAIN Philippe	Médecine Interne, gériatrie et biologie du vieillissement; addictologie
HERLIN Christian	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, brûlologie

IMMEDIATO DAIEN Claire	Rhumatologie
JACOT William	Cancérologie ; Radiothérapie
JEZIORSKI Eric	Pédiatrie
LALLEMANT Benjamin	Oto-rhino-laryngologie
LATTUCA Benoît	Cardiologie
LE QUINTREC DONNETTE Moglie	Néphrologie
LETOUZEY Vincent	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
LONJON Nicolas	Neurochirurgie
LOPEZ CASTROMAN Jorge	Psychiatrie d'Adultes ; addictologie
LUKAS Cédric	Rhumatologie
MENJOT de CHAMPFLEUR Nicolas	Radiologie et imagerie médicale
MILLET Ingrid	Radiologie et imagerie médicale
MURA Thibault	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication
NAGOT Nicolas	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication
OLIE Emilie	Psychiatrie d'adultes; addictologie
PARIS Françoise	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
PELLESTOR Franck	Histologie, embryologie et cytogénétique
POUDEROUX Philippe	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
RIGAU Valérie	Anatomie et cytologie pathologiques
RIVIER François	Pédiatrie
ROGER Claire	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
ROSSI Jean François	Hématologie ; transfusion
ROUBILLE François	Cardiologie
SEBBANE Mustapha	Médecine d'urgence
SIRVENT Nicolas	Pédiatrie
SOLASSOL Jérôme	Biologie cellulaire
STERKERS Yvon	Parasitologie et mycologie
STOEBNER Pierre	Dermato-vénéréologie
SULTAN Ariane	Nutrition
THOUVENOT Éric	Neurologie
THURET Rodolphe	Urologie
TUAILLON Edouard	Bactériologie-virologie; hygiène hospitalière

VENAIL Frédéric	Oto-rhino-laryngologie
VILLAIN Max	Ophthalmologie
VINCENT Denis	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
VINCENT Thierry	Immunologie

## PROFESSEURS DES UNIVERSITES

### 1<sup>re</sup> classe :

COLINGE Jacques (Cancérologie, Signalisation cellulaire et systèmes complexes)

LAOUDJ CHENIVESSE Dalila (Biochimie et biologie moléculaire)

VISIER Laurent (Sociologie, démographie)

## PROFESSEURS DES UNIVERSITES - Médecine générale

### 1<sup>re</sup> classe :

LAMBERT Philippe

AMOUYAL Michel

## PROFESSEURS ASSOCIES - Médecine Générale

CLARY Bernard

GARCIA Marc

## PROFESSEURS ASSOCIES - Médecine

BESSIS Didier (Dermato-vénérologie)

MEUNIER Isabelle (Ophtalmologie)

MULLER Laurent (Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire)

PERRIGAULT Pierre-François (Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire)

QUANTIN Xavier (Pneumologie)

ROUBERTIE Agathe (Pédiatrie)

VIEL Eric (Soins palliatifs et traitement de la douleur)

## Maîtres de Conférences des Universités - Praticiens Hospitaliers

### **MCU-PH Hors classe - Echelon Exceptionnel**

MARTRILLE Laurent	Médecine légale et droit de la santé
RICHARD Bruno	Médecine palliative

### **MCU-PH Hors classe**

BADIOU Stéphanie	Biochimie et biologie moléculaire
BOULLE Nathalie	Biologie cellulaire
CACHEUX-RATABOUL Valère	Génétique
CARRIERE Christian	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
CHARACHON Sylvie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
FABBRO-PERAY Pascale	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
GIANSILY-BLAIZOT Muriel	Hématologie ; transfusion

### **MCU-PH de 1<sup>er</sup> classe**

BERTRAND Martin	Anatomie
BOUDOUSQ Vincent	Biophysique et médecine nucléaire
BRET Caroline	Hématologie biologique
BROUILLET Sophie	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
COSSEE Mireille	Génétique
GIRARDET-BESSIS Anne	Biochimie et biologie moléculaire
HERRERO Astrid	Chirurgie viscérale et digestive
LAVIGNE Géraldine	Hématologie ; transfusion
LESAGE François-Xavier	Médecine et Santé au Travail
MATHIEU Olivier	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
MOUZAT Kévin	Biochimie et biologie moléculaire
PANABIERES Catherine	Biologie cellulaire
RAVEL Christophe	Parasitologie et mycologie
SCHUSTER-BECK Iris	Physiologie
THEVENIN-RENE Céline	Immunologie

**MCU-PH de 2<sup>ème</sup> classe**

BARATEAU Lucie	Physiologie
BERGOUX Anne	Génétique
BOETTO Julien	Neurochirurgie
CHIRIAC Anca	Immunologie
DE JONG Audrey	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DESHAYES Emmanuel	Biophysique et médecine nucléaire
DU THANH Aurélie	Dermato-vénérologie
FITENI Frédéric	Cancérologie ; radiothérapie
GATINOIS Vincent	Histologie, embryologie et cytogénétique
GOUZI Farès	Physiologie
HERBAUX Charles	Hématologie, transfusion
HUBERLANT Stéphanie	Gynécologie-obstétrique ; Gynécologie médicale
LEVEQUE Maude	Parasitologie et mycologie
MAKINSON Alain	Maladies infectieuses, Maladies tropicales
MARIA Alexandre	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
PANTEL Alix	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
PERS Yves-Marie	Thérapeutique; addictologie
ROUBILLE Camille	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
SZABLEWSKY	Anatomie et cytologie pathologiques

**Maitres de Conférences des Universités**

**Maitres de Conférences hors classe**

BERNEX Florence	Physiologie
CHAZAL Nathalie	Biologie cellulaire

**Maitres de Conférences de classe normale**

BECAMEL Carine	Neurosciences
CHAUMONT-DUBEL Séverine	Sciences du médicament et des autres produits de santé
DELABY Constance	Biochimie et biologie moléculaire
GUGLIELMI Laurence	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
HENRY Laurent	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
HERBET Guillaume	Neurosciences

LADRET Véronique	Mathématiques appliquées et applications des mathématiques
LAINÉ Sébastien	Sciences du Médicament et autres produits de santé
LE GALLIC Lionel	Sciences du médicament et autres produits de santé
LOZZA Catherine	Sciences physico-chimiques et technologies pharmaceutiques
MAIMOUN Laurent	Sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé
MOREAUX Jérôme	Science biologiques, fondamentales et cliniques
MORITZ-GASSER Sylvie	Neurosciences
MOUTOT Gilles	Philosophie
PASSERIEUX Emilie	Physiologie
RAMIREZ Jean-Marie	Histologie
RAYNAUD Fabrice	Sciences du Médicament et autres produits de santé
TAULAN Magali	Biologie Cellulaire

#### **Maîtres de Conférences des Universités - Médecine Générale**

##### **MCU-MG de 1<sup>re</sup> classe**

COSTA David

OUDE ENGBERINK Agnès

##### **MCU-MG de 2<sup>ème</sup> classe**

FOLCO-LOGNOS Béatrice

CARBONNEL François

#### **Maîtres de Conférences associés - Médecine Générale**

CAMPAGNAC Jérôme

LOPEZ Antonio

MILLION Elodie

MINET Mathilde

PAVAGEAU Sylvain

REBOUL Marie-Catherine

SERAYET Philippe



### Praticiens Hospitaliers Universitaires

CAZAUBON Yoann	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
DAGNEAUX Louis	Chirurgie orthopédique et traumatologique
DUFLOS Claire	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication
GOULABCHAND Radjiv	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
MIOT Stéphanie	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
ROCH Benoît	Pneumologie, addictologie
SARRABAY Guillaume	Génétique
SOUCHE François-Régis	Chirurgie viscérale et digestive

### PH chargés d'enseignements

ABOUKRAT Patrick	BRINGER-DEUTSCH Sop	DJANIKIAN Flora	LE MOINE DONY Marie-Christine	RIDOLFO Jérôme
AGUILHON Sylvain	BRINGUIER BRANCHERE	DONNADIEU-RIGOLE Hélène	LETERTRE Simon	RIPART Sylvie
AKKARI Mohamed	BRISOT Dominique	FAIDHERBE Jacques	LOPEZ Régis	RONGIERES Michel
ALRIC Jérôme	BRONER Jonathan	FATTON Brigitte	LUQUIENS Amandine	ROULET Agnès
AMEDRO Pascal	CADE Stéphane	FAUCHERRE Vincent	MANZANERA Cyril	RUBENOVITCH Josh
AMOUREUX Cyril	CAIMMI Davide Paolo	FAURE Elsa	MARGUERITTE Emmanuel	SANTONI Fannie
ANTOINE Valéry	CARR Julie	FILLERON Anne	MARTIN Lucille	SASSO Milène
ARQUIZAN Caroline	CARTIER César	FILLOLS Mélanie	MATTATIA Laurent	SCHULDINER Sophie
ATTALIN Vincent	CASPER Thierry	FITENI Frédéric	MEROUEH Fadi	SEGURET Fabienne
AYRIGNAC Xavier	CASSINOTTO Christophe	FOURNIER Philippe	MEYER Pierre	SENESSE Pierre
BADR Maliha	CATHALA Philippe	GAILLARD Nicolas	MICHEL Moïse	SERRE Jean-Emmanuel
BAIS Céline	CAZABAN Michel	GALMICHE Sophie	MILESI Christophe	SKALLI El Medhi
BARBAR Saber Davide	CHARBIT Jonathan	GENY Christian	MORAU Estelle	SOLA Christelle
BASSET Didier	CHEVALLIER Thierry	GERONIMI Laetitia	MORQUIN David	SOULLIER Camille
BATIFOL Dominique	CHEVALLIER-MICHAUD	GINIES Patrick	MOSER Camille	SOUKSI MEDIONI Isabelle
BATTISTELLA Pascal	COLIN Olivier	GRECO Frédéric	MOUSTY Eve	STOEBNER DELBARRE Anne
BAUCHET Luc	CONEJERO Ismael	GUEDJ Anne Marie	MOUTERDE Gaël	TEOT Luc
BELL Ariane	CONSEIL Mathieu	GROSSIN Delphine	PANSARD Nicole	THIRION Marina
BENEZECH Jean-Pierre	CORBEAU Catherine	GUYON Gaël	PERNIN Vincent	TUNEZ Virginie
BENNYs Karim	COROIAN Flavia-Oana	HEDON Christophe	PERRIGAULT Pierre François	VACHIERY-LAHAYE Florence
BERNARD Nathalie	COUDRAY Sarah	HENRY Vincent	PEYRON Pierre-Antoine	VERNES Eric
BERTCHANSKY Ivan	CRANSAC Frédéric	JAMMET Patrick	PICARD Eric	VIALA Maurice
BIBOULET Philippe	CUNTZ Danielle	JEDRYKA François	PICOT Marie Christine	VINCENT Laure
BIRON-ANDREANI Christine	DARDALHON Brigitte	JREIGE Riad	PIERONI Laurence	WAGNER Laurent
BLANC Brigitte	DAVID Aurore	KINNE Mélanie	POQUET Hélène	WALTHER LOUVIER Ulrike
BLANCHARD Sylvie	DE BOUTRAY Marie	LABARIAS Coralie	PUJOL Sarah-Lise	ZERKOWSKI Laetitia
BLANCHET Catherine	DE LA TRIBONNIÈRE Xav	LABORDE Caroline	PUPIER Florence	
BLATIERE Véronique	DEBIEN Blaise	LACAMBRE Mathieu	QUANTIN Xavier	
BOBBIA Xavier	DELPONT Marion	LANG Philippe	RAFFARD Laurence	
BOGE Gudrun	DENIS Hélène	LAZERGES Cyril	RAPIDO Francesca	
BOURRAIN Jean Luc	DEVILLE de PERIERE Gill	LE GUILLOU Cédric	RIBRAULT Alice	
BOUYABRINE Hassan	DI CASTRI Alberto	LEGLISE Marie Suzanne	RICHAUD-MOREL Brigitte	

## Remerciements du jury

Je tiens de prime abord à remercier chaque membre d'avoir accepté de participer à mon jury.

**Monsieur le Professeur Marc Ychou**, je souhaite plus spécifiquement vous remercier de présider mon jury de thèse de Médecine, vous savez l'importance que ceci représente. Depuis notre premier échange il y a plus d'une décennie et selon la dynamique du « faire ses gammes d'abord », vous avez été présent en filigrane le long de mon apprentissage : l'accession à la Médecine, l'externat puis l'internat et maintenant la soutenance. Votre approche holistique du soin nourrit les chemins de la transmission.

**Monsieur le Professeur Jérôme Solassol**, je vous remercie sincèrement de m'avoir « rouvert » les portes du laboratoire de Biologie des tumeurs solides, 12 ans après mon premier passage. Au sein de votre équipe, j'ai pu renouer avec la perspective biologique, nourrie de nos échanges très instructifs et bienveillants. Je vous remercie de m'avoir fait confiance et de m'avoir lancé sur ce projet de double-revue, projet qui a pu se concrétiser.

**Monsieur le Docteur Michel Fabbro**, cher Michel...*indeed*, nous y sommes ! Et ce n'est que le début de cette belle aventure qu'est « l'OncoGynéco », teintée de passion, de vie, d'échanges animés, de débats scientifiques...et de transmission humaine et médicale. Merci d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse, de m'avoir accompagné depuis plusieurs semestres et de me soutenir dans la construction de mon parcours.

**Madame le Professeur Nadine Houédé**, vous êtes une des raisons de mon éclosion en tant qu'oncologue médical, via le passage au sein de votre service et plus largement à travers nos discussions. J'ai donc fait le « bon choix », même si votre expérience dans la culture des jeunes pousses avait décelé ceci dès la première semaine passée dans votre service...merci pout tout. La connexion Montpellier-Nîmes n'est pas près de cesser.

**Monsieur le Professeur Pierre-Emmanuel Colombo**, par-delà le fait d'être source d'inspiration quotidienne pour les chirurgiens en devenir, votre implication pour les patientes transparait par-delà la frontière artificielle entre médecins et chirurgiens. Les échanges que j'ai pu avoir avec vous me renvoient à la nécessaire humilité à conserver.

## **Remerciements institutionnels**

L'apprentissage de la Médecine constitue un chemin tortueux et escarpé, *ad augusta per angusta*, fait de remise en cause, de doute, d'interrogations...mais aussi de belles rencontres, permettant de cerner pleinement par leur diversité la richesse de la profession de Médecin. Puisqu'il s'agit d'une étape particulière dans la construction de mon parcours, je tiens à remercier l'ensemble des personnes que j'ai pu croiser et qui ont participé à façonner mon édifice. Je demande pardon par avance aux personnes dont j'omettrai le nom, l'urgence de rédaction de cette partie du manuscrit n'ayant pas permis de m'assurer de sa complétion.

### ***Car l'internat d'Oncologie est une sacrée aventure, une petite famille...***

Au Professeur William Jacot, coordonnateur de notre DES, merci pour votre soutien indéfectible (tant personnel que professionnel) et votre implication pour pousser et faire éclore les « Oncos en herbe ». Passionné, passionnant et impressionnant et pour autant toujours dans le tact et la mesure. Depuis le DFASM1, votre porte a toujours été ouverte, que ce soit pour des questionnements, des projets, de la pédagogie, de la recherche.

Aux Professeurs David Azria et Céline Bourcier, merci de m'avoir initié au monde de la radiothérapie et pour votre dynamisme, chers à l'évolution de nos pratiques.

### ***Car l'internat c'est aussi et avant tout des semestres...***

MA1 : un GRAND merci à TOUTE l'équipe, ma 1<sup>ère</sup> équipe d'internat, un accueil idéal pour commencer à faire ses gammes...Agnès, Gaëlle, Flora, Marie, Anne, CriCri, Nadia et tous les autres...chaque jour de stage était un plaisir grâce à vous ! Merci à l'ensemble du département de RT pour l'accueil. A toute la petite troupe du semestre d'hiver 2018 : Alexis (un vieil interne devenu ami, merci pour les premiers RecoRad), Nico les bons tuyaux (« je garde la table »), Marie (« j'en peux ! »), JCM (le châtelain), Elodie, Thomas, Alexis/Sylvain/Xavier et toute l'équipe des « OncoRadioT » (avec une pensée chère envers le Dr Kerr pour avoir porté l'Ethique médicale à bout de bras).

OM ICG : que dire...la révélation, l'amour des patients, un service en or, des rencontres humaines et médicales au top, je vous porte TOUS dans mon cœur (IDE, AS, ASH, kinés, diététiciennes, ARC, assistantes sociales et les repas si généreux de Bastu !). Une pensée singulière pour Virginia, une femme de poigne, un *leader* d'équipe, toutes ces discussions pour améliorer les parcours des patients. Les oncologues : Fred (#alopeciaconnection, merci pour ton dynamisme partagé, pour ta confiance...ce n'est que le début !), Emmanuel (un super co-interne) et Miruna pour ta rigueur formatrice et ton implication pour nos patients. Évidemment, un grand merci à Mathias (tu es vraiment un chic type, nous sommes passés d'un binôme interne/FFI à co-internes et surtout amis, une sacrée tranche de vie dans le bureau des internes !). Enfin, un grand merci à la DAM et à la CME pour leur travail de fond.

St-Eloi : merci au Professeur Assenat ainsi qu'à l'ensemble de son équipe médicale et paramédicale pour la qualité de la formation, qui m'a appris la rigueur de la démarche HGE teintée de médecine interne et à affûter mon esprit critique.

MB2 : Sophie/Bogdan et pendant un intervalle notre FFI/bébé interne Ismaël, on formait une sacrée cordée ! Mélanie, infirmière de cœur ! Maryline « maman B2 » et Christelle, votre réserve apparente laissait rapidement dévoiler un amour du soin et de l'esprit d'équipe. Merci à toute l'équipe de MB2 pour leur accueil, leur joie et leur implication.

Hémato Nîmes : merci au Docteur Jourdan pour m'avoir accueilli avec bienveillance au sein du service et pour m'avoir transmis la passion de l'Hématologie. Agathe/Samy/Stefan...3 philosophies complémentaires du soin, vous êtes au top ! Eddine, Eddine...ce semestre était fou, toutes ces discussions à s'exciter sur un bilan, une analyse géopolitique...la tornade *Stanedin* a retourné le service ! Merci aux IDE de choc <3, vous étiez au top !!!!

Laboratoire des tumeurs solides : 12 ans après, bien que les machines aient changé, je reconnais les noms et les sourires ! Merci à TOUTE l'équipe du labo pour le super accueil, la bienveillance permanente et pour avoir stimulé mes neurones pendant ce semestre ! Évidemment, j'ai une forte pensée pour les Dr Gozé et Boule, 6 mois à avoir partagé votre bureau et à avoir appris à vos côtés.

Enfin *last but not least*, MB3 : merci les (Marie)<sup>2</sup>, c'était 2 salles 2 ambiances mais tout aussi formatrices et enrichissantes ! Quentin, Q.D., Quentinho...que dire, si ce n'est que voici le début d'un sacré binôme ! Chloé, mon binôme de choc, rigoureuse et investie, nous étions

le Yin et le Yang, mais toujours en soutien mutuel...profite bien de cette belle aventure que sera ta dispo après ta soutenance ! Christine, Christine...merci Madame ! Jo, mon ange gardien de MB3, toujours enjouée et pimpante avec Bebeth, vous méritez amplement les cœurs ! Toute l'équipe de MB3 pour votre bonhomie/dynamisme, je ne vous oublierai pas !

### ***Car l'Oncologie montpelliéraine c'est aussi et surtout la famille ICM...***

Merci au Professeur Adenis (et à toute l'équipe *OncoDige*, dont les docteurs Samalin, Mazard et Portales) pour m'avoir accompagné dans mon premier projet de recherche. Un grand merci à l'ensemble des praticiens que j'ai pu rencontrer et qui m'ont inspiré par leur pratique et leur énergie, chacun avec sa touche, afin que je puisse *faire mon propre miel* : les médecins préalablement cités, le Professeur Quantin, les docteurs Tosi, Viala, Guiu, Alexandre, Darlix, Gallet et Pouderoux. Un merci particulier aux Docteurs D'Hondt (impatience de pouvoir recevoir ton expérience en OncoGyn et en recherche translationnelle !) et Firmin (merci pour tout, tu es une personne très inspirante et bienveillante).

Merci à l'ensemble des acteurs de l'ICM que j'ai pu côtoyer durant ces 3 semestres : l'UTN au top avec des diététiciens toujours présents au pied levé et dévoués pour l'accompagnement de nos patients, le binôme d'excellence que constituent les Docteurs Senesse/Flori, le Docteur Stoebner (merci pour ces tranches d'échanges et pour ta philosophie du soin), le Docteur Perotin (merci pour tout, un support inestimable pour les situations délicates), l'EMASP, les Docteurs Thomaso et Gallay, Patrice Champoirail pour ton soutien et ta mise en perspective des situations. Un grand merci à « la Pharma » avec des acteurs toujours présents (une pensée particulière pour Laurent Philibert et à nos discussions innombrables !). J'en profite aussi pour remercier l'ensemble des « MedPol », qui ont fait et font un travail de longue haleine (Charlotte et Samy, merci pour votre gaieté !).

Évidemment, un énorme MERCI à tous les IATOS, brancardiers, kinés, manips radio, assistantes sociales (pour m'avoir tant aidé dans l'amélioration du parcours social de nombreux patients) ainsi qu'au personnel du point chaud et du self.

Un grand merci aux départements transversaux permettant de mettre de l'huile dans les rouages : au SIRIC (merci Aurore et Vanessa pour tous ces échanges me rappelant mes premières amours scientifiques), aux instances de Direction (avec une pensée pour Julia,

Martine, Lisa et Mina pour leur aide et leur dynamisme), à M. Guillaumon ainsi qu'au Directeur Général adjoint M. Brugeron et à son successeur M. Quissac pour soutenir la philosophie « centrée sur le patient » de notre institution. Merci aussi au département de communication (notamment pour le soutien au Cin'éthique) ainsi qu'à l'École du Cancer.

### ***Car l'internat est fait de rencontres...***

ChaCha et PauPau, on a démarré par la P2 et nous y sommes arrivés...terre, ciel et mer !

A tous les collègues d'externat puis d'internat, trop nombreux pour être cités ici. Cependant, une grosse pensée à Bader (Talus!), ainsi qu'à *Copie-Express* (à Lass, président *honoris causa* de la SDT, en espérant que tu sois fier de nous de là où tu es ; à Mumu).

A tous les externes passés dans les services et à qui j'ai pu transmettre un bout de ma passion, je pense à vous ! Transmettez à votre tour !

### ***Car l'internat c'est aussi le SILR...***

Merci aux 3 Grâces Marianne/Sylvia/Valérie...vous faites un travail remarqué et remarquable !

### ***Car l'internat d'Oncologie est fait d'internes (anciens, actuels et futurs)...***

...le côté obscur de la force : Chloé D. *again*, Aurélie, Soufyan, Julien, Camille, Guillaume...

...les OR *obviously* : Nico H., Karlito, Manon, Chloé B., Amandine, Nico M., Pierre-Ivan...

...les anciens : Quentin et Morgan les CCA de l'extrême, Alexis, Charlotte, JCM, Antoine,

Alexis, Simon, Julien W., Mailys, Alice, Elodie, Sophie, Leticia...

... une pensée aux sortants Cédric et Rayane...et bien sûr aux *cancer stem cells* Maxime (???), Lydia, Marion, Maureen et Alexandre...venez, on a des cookies !

Sur le plan de notre chère Faculté pluriséculaire, je tiens avant toute chose à remercier chaleureusement tout le personnel IATOS, ces « personnes de l'ombre », secrétaires, adjoints administratifs et responsables, manutentionnaires, appariteurs, gardiens, qui œuvrent au bon fonctionnement de notre Institution. Une pensée spéciale pour mesdames Meyer, Herrada et Reboul ainsi que pour monsieur Lamou et son équipe.

Monsieur le Doyen honoraire Bringer, vous représentez l'alchimie parfaite entre technicité du soin et bienveillance humaniste. Tout ce travail exécuté à vos côtés, notamment pour le tissage du Cin'éthique et le déploiement de l'éthique a été extrêmement formateur.

Monsieur le Doyen honoraire Mondain, dans la juste continuité de votre prédécesseur, vous avez parfaitement su faire entrer la formation médicale de notre institution dans une dynamique d'Ecole du Soins, en répondant aux défis actuels et à venir, tout en ne négligeant pas l'aspect humain et l'intégration des perspectives éthiques. Merci pour votre soutien.

Madame la Doyenne Laffont, première Femme Doyenne de notre Institution, je retiendrai les premiers vœux réalisés lors de votre prise de fonction « apaisement, construction et responsabilité ».

Monsieur le Professeur Thierry-Lavabre Bertrand, je vous transmets ici tout mon respect et toute ma gratitude pour cette transmission continue d'un savoir holistique, intégrant pensée médicale, éthique et philosophique. Pour reprendre le grand Paul : « ce qui est le meilleur dans le nouveau est ce qui répond à un désir ancien ».

Monsieur le Professeur Ribstein, merci pour votre soutien et votre vision de la Médecine, je reste inspiré par vos cours de Sémiologie et par mon passage dans votre service.

Monsieur le Professeur Chanques, vous représentez un de mes modèles dans votre approche de la Médecine, couplant expertise médicotéchnique, humilité et prise de hauteur.

L'externat a aussi été un lieu de passage dans le monde associatif, impliquant l'ATM, l'ACM, les élus étudiants et le poste de Vice-Doyen Etudiant au service de notre Faculté, avec la création et la présidence d'ADEMMOS. Merci à l'implication de chacun. Cette phase m'a notamment permis d'interagir avec de nombreux enseignants plus qu'impliqués pour passer le relais aux nouvelles générations. Je tiens chaleureusement à remercier les professeurs Cyteval et Aguilar-Martinez pour leur confiance et leur soutien.



Je ne saurais rapporter ici l'ensemble des Professeurs et Enseignants ayant modelé mon exercice de la profession et ayant participé à mon apprentissage, notamment durant mes années d'externat. Jje tiens cependant à remercier plus particulièrement les Professeurs Blain, Blanc, Bonnel, Bourdin, Cambonie, Captier, Chammas, Coulet, De Vos, Duffau, Ducros, Dupeyron, Fabre, Fesler, Geneviève, Godreuil, Guilpain, Hédon, Herlin, Jaber, Jonquet, Jung, Klouche, Lattuca, Leclercq, Le Moing, Le Quellec, Le Quintrec, Lukas, Mariano-Goulart, Matecki, Millet, Morel, Mourad, Navarro, Nocca, Pellestor, Pujol, Schved, Sultan, Taourel, Thuret, Touchon, Van De Perre et Voisin ainsi que les Docteurs Amouroux, Benezech, Bruno, Cathala, Donnadiou, Du Tanh, Faucherre, Herrero, Margueritte, Mathieu et Pers.

## Remerciements personnels

A ma Maman, une lionne, tu as fait de moi un Homme en me transmettant principes et valeurs dans l'adversité ainsi que le goût de l'accomplissement par le travail.

A mon beau-père, tu as exercé le rôle de père et ce toujours dans la bienveillance et la responsabilité, sans avoir la prétention de l'autoritarisme inhérent à la paternité. Tu as mis ton petit sur la voie.

A mon petit frère, vas, vis et deviens.

A mes grands-mères, si loin et pourtant si proches...merci pour tout cet amour et ces valeurs transmises.

A Brian et Jennifer, toujours là depuis plus de 20 ans. A mes petits amours Louna et Joy.

A Philippe Jay, tu es et tu resteras mon « Maître en Sciences », je te remercie encore d'avoir été le tuteur de mon apprentissage en recherche scientifique.

A Didier Hève, mon père spirituel, toujours bienveillant et de bon conseil.

A Alain Capelle, qui a déposé les graines de ma vocation de médecin.

A tous les amis et connaissances, puisque le cursus en médecine a quelque peu freiné les moments partagés...*I'll be back* ! A tous les amis d'enfance de l'île singulière ou rencontrés dans mon parcours en Sciences et hors professionnel, trop nombreux pour être déroulés ici !

## Production scientifique durant l'internat

### Articles originaux

- 2022 Perioperative FOLFOX in patients with locally advanced oesogastric adenocarcinoma  
S. Quesada, E. Samalin, S. Thezenas, L. Khellaf, A. Mougerot, F. Portales, T. Mazard,  
M. Ychou, A. Adenis - *Anticancer Research* - 2022 Jan ;42(1):185-193.
- 2020 Loss of APC Rapidly Impairs DNA Methylation Programs and Cell Fate Decisions in LGR5+ ISC  
M. Bruschi, L. Garnier, E. Cleroux, A. Giordano, M. Dumas, A. Bardet, T. Kergrohen,  
S. Quesada, P. Cesses, M. Weber, F. Gerbe, P. Jay - *Cancer Research* - 2020 Jun 1;80(11):2101-2113.

### Reuves

- 2022 Toward More Comprehensive HRD Assays in Ovarian Cancer, Part 1: Technical Considerations  
S. Quesada, M. Fabbro, J. Solassol – *Cancers*, 2022, Feb 23 ; 14(5):1132.
- 2022 Toward More Comprehensive HRD Assays in Ovarian Cancer, Part 2: Medical Perspectives  
S. Quesada, M. Fabbro, J. Solassol – *Cancers*, 2022, Feb 21;14(4):1098.
- 2022 Adénocarcinomes œsogastriques HER2+ : standards actuels et perspectives thérapeutiques  
S. Quesada, A. Adenis, E. Samalin - *Hepato-Gastro et Oncologie Digestive*, 2022, sous presse.
- 2022 Combinaison de la chirurgie, traitement médical du cancer de l'ovaire : y a-t-il une stratégie optimale ?  
Q. D. Thomas, S. Quesada, V. D'Hondt, I. Belaroussi, E. Laas, J.-M. Classe, M. Fabbro,  
P.-E. Colombo, F. Fiteni - *Bulletin du cancer*, 2022 Vol109, Issue 2, Fev 2021, pp. 197-215.
- 2021 Cancer-related alopecia: from etiologies to global management  
S. Quesada, A. Guichard, F. Fiteni – *Cancers*, 2021, nov 5 ; 13(21), 5556.
- 2021 Alopecie et cancers : de la physiopathologie à la pratique clinique  
S. Quesada, A. Guichard, S. Le Vigouroux, L. Baussard, F. Fiteni  
*Bulletin du cancer*. Vol108, Issue 10, Oct 2021, pp. 963-980.

### Brèves et commentaires d'articles

- 2022 Maintenance endocrine therapy and bevacizumab in metastatic breast cancer  
S. Quesada, W. Jacot – *The Lancet Oncology*, 2022, sous presse.
- 2022 Nouvelle AMM européenne: pembrolizumab en association à la chimiothérapie en 1<sup>ère</sup> ligne des SCC de l'œsophage ou des ADK de la JOG HER2-négatifs métastatiques avec PDL1 avec un CPS $\geq$ 10  
S. Quesada, P. Vaflard - *Bulletin du cancer*, 2022 Vol109, Issue 2, Fev 2021, pp. 109-110.
- 2022 Nouvelle AMM européenne: nivolumab en association à la chimiothérapie en 1<sup>ère</sup> ligne du traitement de l'ADK de l'œsophage HER2-négatif avec PDL1 avec un CPS $\geq$ 5  
S. Quesada, P. Vaflard - *Bulletin du cancer*, 2022 Vol109, Issue 2, Fev 2021, pp. 111-113.
- 2019 Le JOG a lu pour vous : Ospina-Romero et al. Rate of memory change before/after cancer  
S. Quesada - *Le Journal d'OncoGériatrie - JOG J Oncogéiatr* 2019 ; 10 (4).
- 2019 Le JOG a lu pour vous: Hall et al. Optimizing chemotherapy for frail and elderly patients  
S. Quesada - *Le Journal d'OncoGériatrie - JOG J Oncogéiatr* 2019 ; 10 (3).

## Production pédagogique durant l'internat

### Ouvrages

- 2021 Syndromes et réflexes pour les ECNi et la clinique  
S. Quesada - éditeur : Elsevier-Masson
- 2020 Les dernières recos parues à ne pas manquer pour les ECNi 2020  
S. Quesada - éditeur : Elsevier-Masson

### Référentiel

- 2022 « Alopécie et cancer »  
Référentiel de l'Association Francophone des Soins Oncologiques de Support (AFSOS)  
Coordination : S. Quesada et F. Fiteni – *sous presse*

### Enseignement

- 2021 Participation à la rédaction des « Situations de départ » pour la réforme des ECNi  
SDD 254, 297, 303, 327, 337 - via le Collège National des Enseignants en Cancérologie (CNEC)
- Depuis 2019* IFSI du Centre de Rééducation et d'Insertion Professionnelle (Montpellier)  
- étudiants infirmiers en 3<sup>ème</sup> année (CM - 20h/an) : UE 2.9 - Cancer
- Depuis 2018* DFASM3 (6<sup>ème</sup> année de médecine) - UFR de Médecine - Montpellier-Nîmes  
- Conférences Universitaires en binôme avec le Pr. William Jacot (8h/an)  
- Cycles de conférences « Eric Delous » de préparation aux ECNi  
2018-2019 : Pneumologie (éq. 30h)  
2019-2020 : Oncologie (éq. 60h) et Conf. indiff. (éq. 30h)  
2020-2021 : Méthodologie (éq. 20h) et Oncologie (éq. 30h)

## Table des matières

COUVERTURE.....	1
SERMENT D'HIPPOCRATE.....	4
LISTE DU CORPS ENSEIGNANT.....	5
REMERCIEMENTS DU JURY.....	18
REMERCIEMENTS INSTITUTIONNELS.....	19
REMERCIEMENTS PERSONNELS .....	25
PRODUCTION SCIENTIFIQUE DURANT L'INTERNAT .....	26
PRODUCTION PEDAGOGIQUE DURANT L'INTERNAT .....	27
TABLE DES MATIERES .....	28
ABREVIATIONS .....	30
AVANT-PROPOS.....	32
I - INTRODUCTION SUR LES CANCERS DE L'OVAIRE : CONSIDERATIONS CLINIQUES .....	33
II – PATHOLOGIE MOLECULAIRE DES CANCERS EPITHELIAUX DE L'OVAIRE .....	36
III – MECANISTIQUE DE LA REPARATION DE L'ADN ET HRD.....	38
IV – HRD : CAUSES.....	42
V – HRD : CONSEQUENCES.....	46

VI – METHODES D’EVALUATION DU STATUT HRD VALIDEES EN PRATIQUE CLINIQUE.....	50
VII – IMPACT THERANOSTIQUE DU STATUT HRD.....	55
VIII - LIMITES TECHNIQUES DES TESTS ACTUELS.....	62
IX - LIMITES MEDICALES DES TESTS ACTUELS .....	65
X - PERSPECTIVES D’EVOLUTION CONCERNANT L’EVALUATION DU STATUT HRD .....	69
XI - CONTEXTUALISATION A LA SITUATION FRANÇAISE : SYNTHESE DES AMM.....	80
XII – <i>BRCA</i> , HRD ET PARPI : QUELLE STRATEGIE EN FRANCE ? .....	83
XIII - CONCLUSIONS.....	91
RÉFÉRENCES.....	92
ANNEXE 1 : REVUE PARTIE 1.....	118
ANNEXE 2 : REVUE PARTIE 2.....	142
DOS DE COUVERTURE : RESUME ET MOTS-CLES / ABSTRACT AND KEYWORDS.....	163

## Abréviations

AMM	autorisation de mise sur le marché
ASCO	<i>American Society of Clinical Oncology</i>
BA-CDx	BRACAnalysis CDx®
BER	réparation par excision de base
<i>BRCA1/2</i>	<i>gènes BReast Cancer 1 et 2</i>
<i>BRCAness</i>	<i>HRD non-lié à une altération de BRCA</i>
<i>BRCA<sup>mt</sup></i>	séquence de <i>BRCA1/2</i> sauvage ( <i>wild-type</i> )
C/PR	réponse complète ou partielle (C/PR) aux sels de platine
CDx	test compagnon ( <i>companion diagnostic assay</i> )
CJP	critère de jugement principal
DoR	durée de réponse ( <i>duration of response</i> )
DSB	cassure double-brin
EMA	<i>European Medicine Agency</i>
ESMO	<i>European Society for Medical Oncology</i>
EOC	cancer épithélial de l'ovaire
F1-CDx	FoundationOne CDx®
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FF-CDx	FoundationFocus CDxBRCA-LOH®
FFPE	tissu fixé au formol et inclus en paraffine
FIGO	fédération internationale de gynécologie et d'obstétrique
FM	FoundationMedicine®
FN/FP	faux négatif/positif
<i>gBRCA1*</i>	mutation germinale de <i>BRCA1</i>
<i>gBRCA2*</i>	mutation germinale de <i>BRCA2</i>
GINECO	Groupe d'Investigateurs National des Études des Cancers Ovariens et du sein
GIS	score d'instabilité génomique
GIS <sub>MG</sub>	score d'instabilité génomique de MG
HAS	Haute Autorité de Santé
HR	<i>hazard ratio</i> (abréviation utilisée entre parenthèses pour les essais cliniques)
HR	recombinaison homologue
HRD	déficit de recombinaison homologue ( <i>homologous recombination deficiency</i> )
HRP	statut HR fonctionnel ( <i>homologous recombination proficiency</i> )
<i>HRR genes</i>	gènes liés à la recombinaison homologue

HBOC	syndrome sein-ovaire ( <i>hereditary breast and ovarian cancer</i> )
<i>HBOC genes</i>	ensemble de gènes prédisposant au syndrome HBOC
HGSOC	carcinome séreux de haut grade de l'ovaire ( <i>high-grade serous ovarian carcinoma</i> )
IC95	intervalle de confiance à 95 %
INCa	Institut National du Cancer
lncRNA	ARN long non-codant
LOH	perte d'hétérozygotie ( <i>loss of heterozygosity</i> )
LOH <sub>FM</sub>	score d'instabilité génomique selon FoundationMedicine, évalué par le LOH
LR	variant structurel ( <i>large rearrangement</i> )
LST	état de transition à grande échelle ( <i>large-scale state transitions</i> )
MC-CDx	MyChoice-CDx®
MG	MyriadGenetics ®
miRNA	micro-ARN
MMEJ	jonction d'extrémités médiée par les microhomologies
NER	réparation par excision de nucléotide
NHEJ	réparation par jonction d'extrémités non homologues
ORR	taux de réponse objective ( <i>objective response rate</i> )
OS	survie globale ( <i>overall survival</i> )
PARPi	inhibiteur de poly(adénosine diphosphate-ribose) polymérase
PFI	intervalle sans platines ( <i>platinum-free interval</i> )
PFS	survie sans progression ( <i>progression-free survival</i> )
Pt-S	statut platino-sensible
Pt-R	statut platino-résistant
PTM	modifications post-traductionnelles des histones
RPC	recommandations de pratiques professionnelles
RCT	essai clinique randomisé ( <i>randomized clinical trial</i> )
<i>sBRCA1*</i>	mutation exclusivement somatique de <i>BRCA1</i>
<i>sBRCA2*</i>	mutation exclusivement somatique de <i>BRCA2</i>
SFMPP	Société Française de Médecine Personnalisée et Prédictive
SSB	cassure simple-brin
<i>tBRCA(*)</i>	<i>BRCA1/2</i> tumoral (muté)
<i>tBRCA<sup>wt</sup>/HRD</i>	patient avec un statut <i>BRCA1/2</i> sauvage et une instabilité génomique (HRD+)
TAI	déséquilibre allélique des télomères ( <i>telomeric allelic imbalance</i> )
TCGA	<i>The Cancer Genome Atlas</i>
VUS	variant de signification indéterminée ( <i>variant of unknown significance</i> )



## Avant-propos

Le présent manuscrit correspond à une synthèse en français de la double revue publiée en février 2022 dans le journal *Cancers* :

- Quesada S, Fabbro M, Solassol J. *Toward More Comprehensive Homologous Recombination Deficiency Assays in Ovarian Cancer, Part 1: Technical Considerations. Cancers (Basel). 2022 Feb 23;14(5):1132. doi: 10.3390/cancers14051132. PMID: 35267439; PMCID: PMC8909526.*

- Quesada S, Fabbro M, Solassol J. *Toward More Comprehensive Homologous Recombination Deficiency Assays in Ovarian Cancer Part 2: Medical Perspectives. Cancers (Basel). 2022 Feb 21;14(4):1098. doi: 10.3390/cancers14041098. PMID: 35205846; PMCID: PMC8870335.*

En amont de l'insertion de ces deux publications, nous proposerons une introduction qui rappellera brièvement les principales données médicales concernant les cancers de l'ovaire, puis nous centrerons le propos sur le déficit de la recombinaison homologue ou *homologous recombination deficiency* (HRD). En effet, cette altération moléculaire est retrouvée dans environ 50 % des carcinomes séreux de haut grade de l'ovaire ou *high-grade serous ovarian carcinoma* (HGSOC), qui constituent à la fois le type le plus fréquent et de plus mauvais pronostic. Après avoir fourni une définition du HRD ainsi que ses causes et conséquences, nous développerons les modalités d'évaluation actuellement validées en pratique clinique. Nous détaillerons ensuite les principaux essais cliniques ayant évalué les inhibiteurs de PARP dans le traitement des HGSOC, avec un focus sur l'impact du statut HRD.

Ces publications ont pour ambition de proposer une approche «*bench to bedside*» et intégrée du statut HRD, depuis les considérations techniques jusqu'aux réalités médicales, avec un focus sur les perspectives de recherche.

En aval des publications, nous discuterons des limites techniques et médicales des tests actuels, ainsi que les controverses soulevées. Nous discuterons ensuite des pistes de recherche et proposerons des hypothèses de travail qui pourraient permettre leur affinement.

Nous effectuerons enfin une mise en perspective eu égard à la situation actuelle en France concernant les recommandations nationales et européennes.

## **I - Introduction sur les cancers de l'ovaire : considérations cliniques**

En considérant les cinq principales tumeurs malignes gynécologiques pouvant se développer à partir de l'appareil reproducteur féminin (*i.e.* vulve, vagin, col de l'utérus, corps de l'utérus et ovaire), les cancers de l'ovaire (englobant les cancers primitifs de l'ovaire, des trompes de Fallope et du péritoine) représentent les plus létaux. En effet, avec 313 959 nouveaux cas et 207 252 décès rapportés en 2020, les cancers de l'ovaire sont classés au 8ème rang, tant en termes d'incidence que de mortalité chez les femmes [1].

Cette létalité élevée s'explique notamment par l'absence de stratégies efficaces de dépistage en population et par l'aspect paucisymptomatique aux stades initiaux de la maladie. Au niveau national, 5 193 nouveaux cas et 3 479 décès ont été rapportés en 2018, faisant des cancers de l'ovaire les 8ème cancers les plus fréquents et la 5ème cause de décès par cancer chez les femmes en France [2].

D'un point de vue histologique, ces lésions émergent dans 90 % des cas depuis les cellules épithéliales conduisant aux cancers épithéliaux de l'ovaire (EOC) ; à l'inverse, les cancers non épithéliaux comprennent les tumeurs germinales, les sarcomes, les lymphomes et les tumeurs des cordons sexuels. De fait, les EOC englobent un ensemble hétérogène d'affections que l'on peut diviser en cinq sous-types, selon leur histologie et leurs altérations moléculaires : séreux de haut grade (HGSOC, qui représente 70 % des cas), endométrioïde (10 %), à cellules claires (10 %), mucineux (3 %) et séreux de bas grade (< 5 %) [3].

Traditionnellement, les EOC étaient dichotomisés en tumeurs de type I et II. Le type I regroupait les tumeurs liées à l'endométriose (*i.e.* les carcinomes endométrioïdes et à cellules claires), les carcinomes séreux de bas grade et les mucineux, tandis que le type II comprenait les HGSOC, les carcinome indifférenciés et les carcinosarcomes [4]. Fait intéressant, des données moléculaires récentes ont remis en question cette classification [5].

En effet, chaque sous-type d'EOC présente ses propres caractéristiques, que ce soit en termes d'épidémiologie, de facteurs de risque, de voies carcinogénétiques, de traitements et de pronostic. Plusieurs facteurs de risque d'EOC ont été caractérisés jusqu'à présent, tels que le vieillissement, la présence d'antécédents familiaux d'EOC, le nombre d'ovulations, l'intoxication tabagique, l'inflammation tubaire, les saignements rétrogrades chroniques, certains traitements hormonaux de la ménopause, l'endométriose ou encore le syndrome des ovaires polykystiques [4,6].

Les HGSOC, en plus de représenter la majorité des cas, constituent aussi le sous-type le plus le plus agressif et meurtrier. Environ 70 % des patientes atteintes d'EOC sont diagnostiquées à un stade avancé, correspondant aux maladies de stade III-IV de la classification de la Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (FIGO).

Ce diagnostic à un stade avancé a un impact pronostique majeur : alors que le taux de survie globale ou *overall survival* (OS) à 5 ans tous stades confondus est d'environ 40 %, il existe une variation importante entre les stades I-II et les stades III-IV (80-95 % *versus* 10-30 %, respectivement) [7,8].

Pour les HGSOC de stades avancés, le traitement standard de 1ère ligne (tout comme la 1ère rechute) repose principalement sur la chirurgie de cytoréduction maximale, associée à une thérapie systémique à base de paclitaxel et carboplatine [9,10]. La chirurgie de *debulking* reste recommandée au début de la prise en charge avec comme objectif la résection complète. Celle-ci peut être soit initiale soit si elle n'est pas réalisable survenir au décours d'une chimiothérapie néoadjuvante (chirurgie dite d'intervalle). Ce choix entre les deux stratégies implique notamment des critères d'opérabilité et de résécabilité [11].

Environ 70 % des patientes présentent une réponse initiale aux sels de platine. En dépit d'une séquence initiale thérapeutique permettant l'entrée en rémission, une rechute est cependant observée dans environ 75% des cas. Cette rechute est associée à l'apparition plus ou moins tardive d'une résistance aux sels de platine et conduit inéluctablement à l'entrée dans une phase palliative de la maladie et au décès [7].

L'avènement des thérapies ciblées s'est appliqué aussi aux EOC et a pu permettre le développement des traitements de maintenance dans le but d'améliorer le pronostic des patientes atteintes d'HGSOC. Le bevacizumab, un anticorps monoclonal ciblant le *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) initialement développé pour le cancer colorectal métastatique, s'est révélé efficace pour l'amélioration de la survie sans progression ou *progression-free survival* (PFS) via son utilisation en association avec la chimiothérapie initiale plus en traitement d'entretien de 1ère ligne, ainsi que lors de la rechute initiale [12–14]. Bien qu'amenant un avantage indéniable sur la PFS, l'impact de l'adjonction du bevacizumab sur l'OS reste controversé à ce jour, avec des résultats discordants [15–18].

Notons dès lors que nous utiliserons par convenance et selon l'usage général le terme de PFS dans la suite de ce manuscrit (notamment pour le traitement de maintenance) de 1<sup>ère</sup> ligne, bien que « survie sans rechute » serait plus exact en cas d'absence de résidu tumoral.

Au-delà du bevacizumab, une nouvelle classe thérapeutique a émergé au cours de la dernière décennie, à savoir les inhibiteurs de poly(adénosine diphosphate-ribose) polymérase (PARPi), avec un impact substantiel sur le pronostic des patientes [19,20]. Ceci a ainsi conduit à l'intégration des PARPi dans les recommandations nationales et internationales ainsi qu'en pratique clinique, tant en traitement d'entretien de 1ère ligne qu'en rechute [21–28].

Cependant, leur efficacité et par voie de conséquence leur prescription dépend de caractéristiques biocliniques que nous discuterons dans ce manuscrit.

## II – Pathologie moléculaire des cancers épithéliaux de l’ovaire

L'impact de la présence d'antécédents familiaux sur le risque de développer un EOC a ouvert la voie à la susceptibilité génétique au niveau constitutif. Sur la base des données du *The Cancer Genome Atlas* (TCGA) ainsi que d'autres consortiums, il est estimé qu'environ 15 % des patientes avec un HGSOC sont porteuses d'une mutation germinale d'un des gènes *Breast Cancer*, à savoir *BRCA1* ou *BRCA2* [29,30]. Ces altérations seront par la suite abrégés en *gBRCA\** lorsque nous ferons référence indistinctement aux 2 gènes ; autrement, nous utiliserons *gBRCA1\** et *gBRCA2\**, respectivement. De même, lorsque nous parlerons de l'analyse combinée des deux gènes, nous utiliserons l'abréviation *BRCA1/2*.

Cette altération germinale entraîne un risque cumulé de développer un EOC à l'âge de 80 ans de 44 % (*gBRCA1\**) et 17 % (*gBRCA2\**), contre 1,4 % dans la population générale [31]. En sus des EOC, les porteurs de *gBRCA\** présentent un risque majoré de cancer du sein, ce qui a conduit à nommer initialement ce syndrome en « syndrome sein-ovaire » ou *hereditary breast and ovarian cancer* (HBOC) ; les *gBRCA2\** augmentent le risque de développer des adénocarcinomes de la prostate et du pancréas [31,32]. Les patientes porteuses de *gBRCA1\** développeront un EOC à un âge plus jeune par rapport à la population générale, ce qui n'est pas retrouvé en cas de *gBRCA2\**.

La forte prévalence de ces mutations germinales chez les patientes atteintes d'EOC a conduit à proposer un test génétique ou tout du moins un conseil génétique lors du diagnostic d'EOC de haut grade, d'autant plus à un âge jeune (*i.e.* < 70 ans) et/ou en contexte d'antécédents familiaux d'EOC ou de cancers du sein [23,30,33,34].

De plus, une annexectomie bilatérale prophylactique peut être proposée en contexte de *gBRCA\**, conduisant à une réduction du risque carcinologique [35]. Par ailleurs, des cas plus rares d'épimutations constitutives par un mécanisme d'hyperméthylation aberrante du promoteur de *BRCA1* ont été rapportées [36,37].

Par-delà *BRCA1* et *BRCA2*, d'autres mutations germinales ont été décrites au sein des gènes regroupés sous l'idiome « *HBOC genes* ». Bien que la liste univoque des *HBOC genes* ne soit pas déterminée de manière définitive, elle inclut notamment l'analyse d'un panel de gènes, incluant *RAD51C*, *RAD51D*, *PALB2*, *BARD1* et *BRIP1* ; l'ensemble de ces mutations représente une fréquence cumulée d'environ 5 % [38,39].

La présence de mutations germinales des gènes impliqués dans la réparation des mésappariements (*hMLH1*, *hMSH2*, *hMSH6* et *PMS2*) conduisant au syndrome de Lynch, augmente aussi le risque d'EOC ; notons cependant une histologie endométriode [40].

Dans la même dynamique que pour les autres localisations cancéreuses telles que le cancer colorectal, la connaissance des altérations génétiques constitutives a été le point de départ pour décrypter la carcinogenèse moléculaire des EOC.

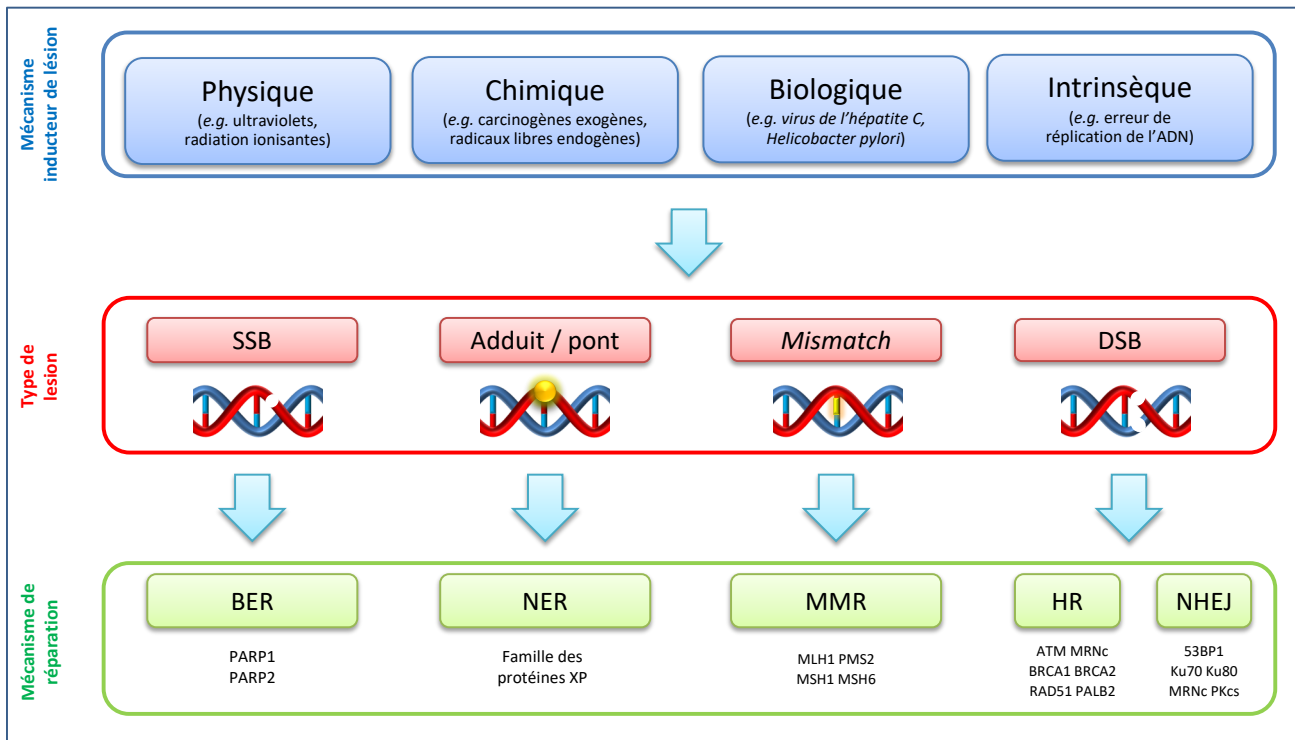
En ne se restreignant pas au contexte germinale, des mutations exclusivement somatiques ont été rapportées dans environ 4 % et 3 % (*sBRCA1\** et *sBRCA2\**, respectivement) des cas d'HGSOC [29,41].

De manière plus générale, la carcinogenèse ovarienne repose sur quelques voies cruciales [4]. En effet, *TP53* est retrouvé muté dans environ 96% des HGSOC, ceci de manière précoce dans le processus carcinogénétique et selon une perspective de *driver mutation* [42,43]. Notons que les données du TCGA ont rapporté la présence d'altérations génétiques récurrentes dans un ensemble restreint de gènes tels que *NF1*, *CCNE1*, *PTEN*, *RB1* et *CDK12*.

Par-delà les altérations génétiques identifiés, les HGSOC sont caractérisés dans environ la moitié des cas par un déficit de la recombinaison homologe (HRD), conduisant à une instabilité génomique [29,44].

### III – Mécanistique de la réparation de l'ADN et HRD

Les mutations de l'ADN représentent une des pierres angulaires du processus carcinogénétique et les systèmes de réparation de l'ADN constituent donc des gardiens du génome [45]. Plusieurs mécanismes de réparation coexistent (**figure 1**).



**Figure 1 : types de lésions et mécanismes de réparation de l'ADN**

Abréviations : BER = réparation par excision de base ; DSB = cassure double brin ; HR = recombinaison homologue ; MMR = réparation des mésappariements ; MRNc = complexe MRN ; NHEJ = réparation par jonction d'extrémités non homologues ; NER = réparation par excision de nucléotide ; SSB = cassure simple brin ; XP = xeroderma pigmentosum.

Nota bene : sous chaque mécanisme de réparation sont indiquées les principales protéines impliquées, sans prétendre à l'exhaustivité dans une volonté de clarté pédagogique.

Chaque mécanisme de réparation suit un processus en 3 étapes à travers un ensemble distinct de protéines = 1/ capteurs de lésion, 2/ protéines effectrices, 3/ ADN ligase. Le mécanisme MMEJ est décrit dans le texte.

Schématiquement, les dommages à l'ADN ont quatre étiologies principales : les altérations physiques (*i.e.* rayonnements ultraviolets et radiations ionisantes), chimiques (soit endogènes via les radicaux libres, soit exogènes via les carcinogènes), biologiques (*i.e.* lors

de l'infection par certains agents microbiologiques) ou intrinsèques (*e.g.* erreurs de réplication de l'ADN) [46].

La réparation par excision de base (BER) et la réparation par excision de nucléotide (NER) sont des mécanismes respectivement impliqués dans la réparation des cassures simple-brin (SSB) et dans les lésions plus volumineuses de types ponts et adduits. Par ailleurs, une mauvaise incorporation de nucléotides créant des mésappariements conduit à la voie dite de réparation des mésappariements ou *mismatch repair* [47].

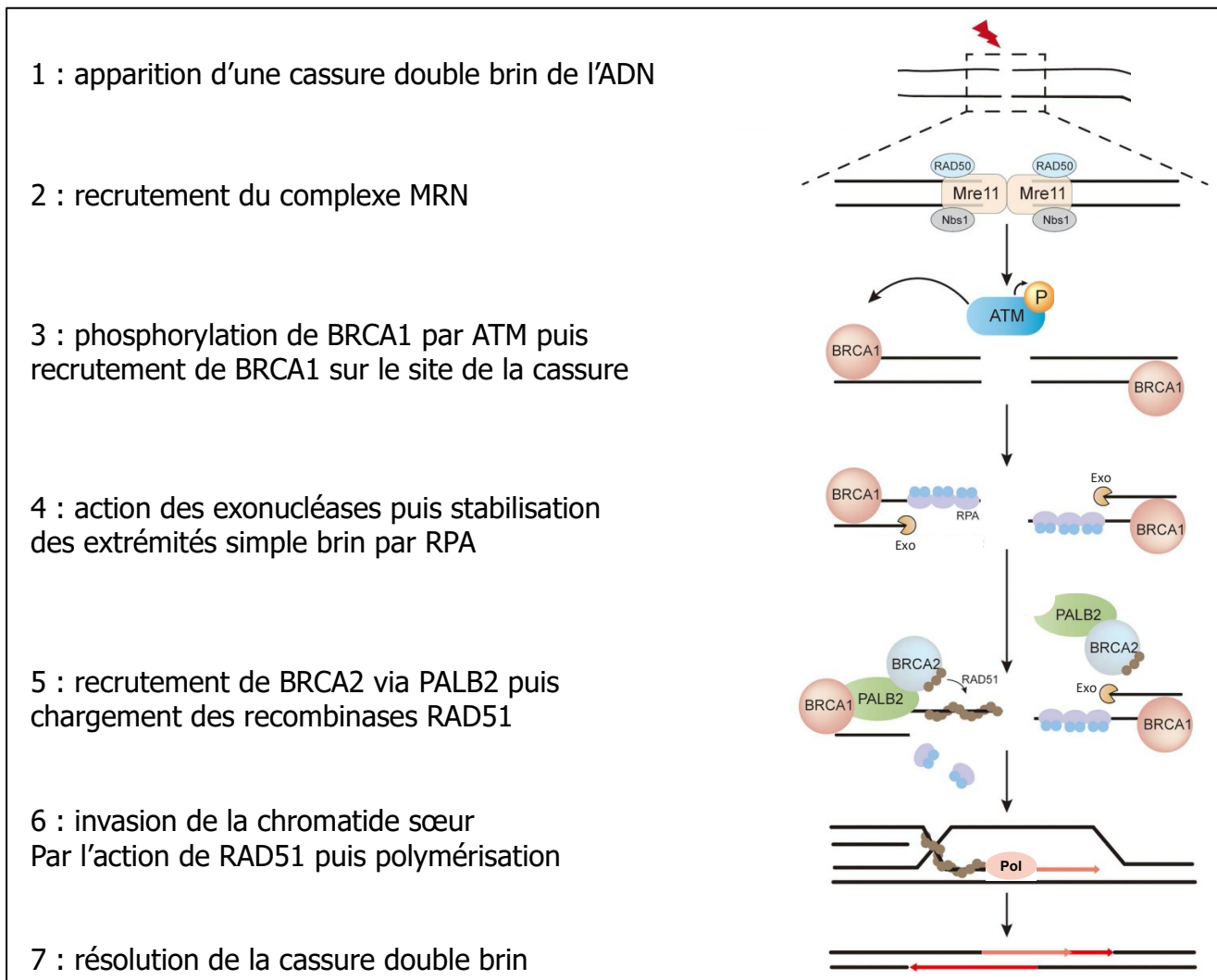
Les cassures double-brin (DSB) représentent le type de lésion de l'ADN le plus dangereux pour les cellules car elles peuvent potentiellement entraîner une perte de régions d'ADN et/ou des mécanismes de translocations avec fusions de gènes. Face à une DSB, la cellule utilisera deux mécanismes de réparation majeurs : la recombinaison homologue (HR) et la réparation par jonction d'extrémités non homologues (NHEJ) [44,48].

La NHEJ est efficace tout au long du cycle cellulaire et implique un ensemble de protéines : le processus simplifié consiste à reconnaître, réséquer et ligaturer les extrémités d'ADN libres, conduisant à une accumulation de mutations d'ADN dans les zones impliquées par ces jonctions. La protéine 53BP1 constitue un des acteurs clés d'orientation vers un mécanisme NHEJ [49]. En sus du NHEJ « canonique », il existe un NHEJ alternatif intitulé jonction d'extrémités médiée par les microhomologies (MMEJ), reposant sur l'utilisation de séquences avec microhomologies à proximité de la DSB, conduisant à des réparations de l'ADN avec des délétions [50].

Inversement, le mécanisme HR permet une réparation précise de l'ADN en utilisant la chromatide sœur intacte comme matrice ; ce dernier point signifie que ce mécanisme est restreint aux phases S et G2 du cycle cellulaire, assurant la réplication fidèle de l'ADN [51,52].

Schématiquement, la recombinaison homologue suit un panel d'étapes successives (**Figure 2**). Notons que le descriptif proposé ici a été simplifié, puisque de nombreuses protéines supplémentaires ont été caractérisées, aspects que nous ne développerons par ici dans un souci de clarté pédagogique.





**Figure 2 : représentation schématique de la recombinaison homologue**

Figure adaptée de Wu *et al.* [52]. *Nota bene* : les protéines MRE11, RAD50 et NBS1 correspondent au complexe. Exo correspond aux exonucléases. Pol correspond au polymérase impliquées dans la seconde partie du processus, aspect qui n'est pas détaillé ici.

Celle-ci commence par la reconnaissance d'une DSB par le complexe MRN (composé des protéines MRE11, RAD50 et NBS1) et par le recrutement de la protéine kinase ATM, qui est au carrefour de la réparation des DSB. En effet, ATM va phosphoryler les protéines BRCA1 et CHEK1/2, conduisant respectivement à l'initiation du mécanisme HR et à l'arrêt du cycle cellulaire [47]. La protéine BRCA1 ainsi phosphorylée va être recrutée sur le site de la DSB où elle activera plusieurs exonucléases, conduisant à la formation d'extrémités simple brin qui seront stabilisées par les protéines RPA. Ceci conduira au recrutement de BRCA2 et de PALB2, permettant le chargement des protéines RAD51 en remplacement des RPA. Les

recombinases RAD51 (dont RAD51C et RAD51D sont les principales protéines paralogues) ainsi chargées favoriseront l'invasion des brins de la chromatide sœur homologue, conduisant *in fine* à la réparation fidèle de l'ADN.

Notons que la recombinaison homologue implique notamment un remodelage de la chromatine, impliquant : le positionnement des nucléosomes sur l'ADN, les modifications post-traductionnelles des histones (PTM ; principalement méthylation, acétylation, phosphorylation, ubiquitination et SUMOylation) et le remodelage global de la chromatine [53,54]. Plusieurs PTM des histones ont été décrites en contexte de DSB, participant notamment au choix entre les voies HR et NHEJ [55]. Notons plus spécifiquement la phosphorylation de H2AX sur la position sérine 139 ( $\gamma$ -H2AX), constituant un événement précoce et caractéristique des DSB [56].

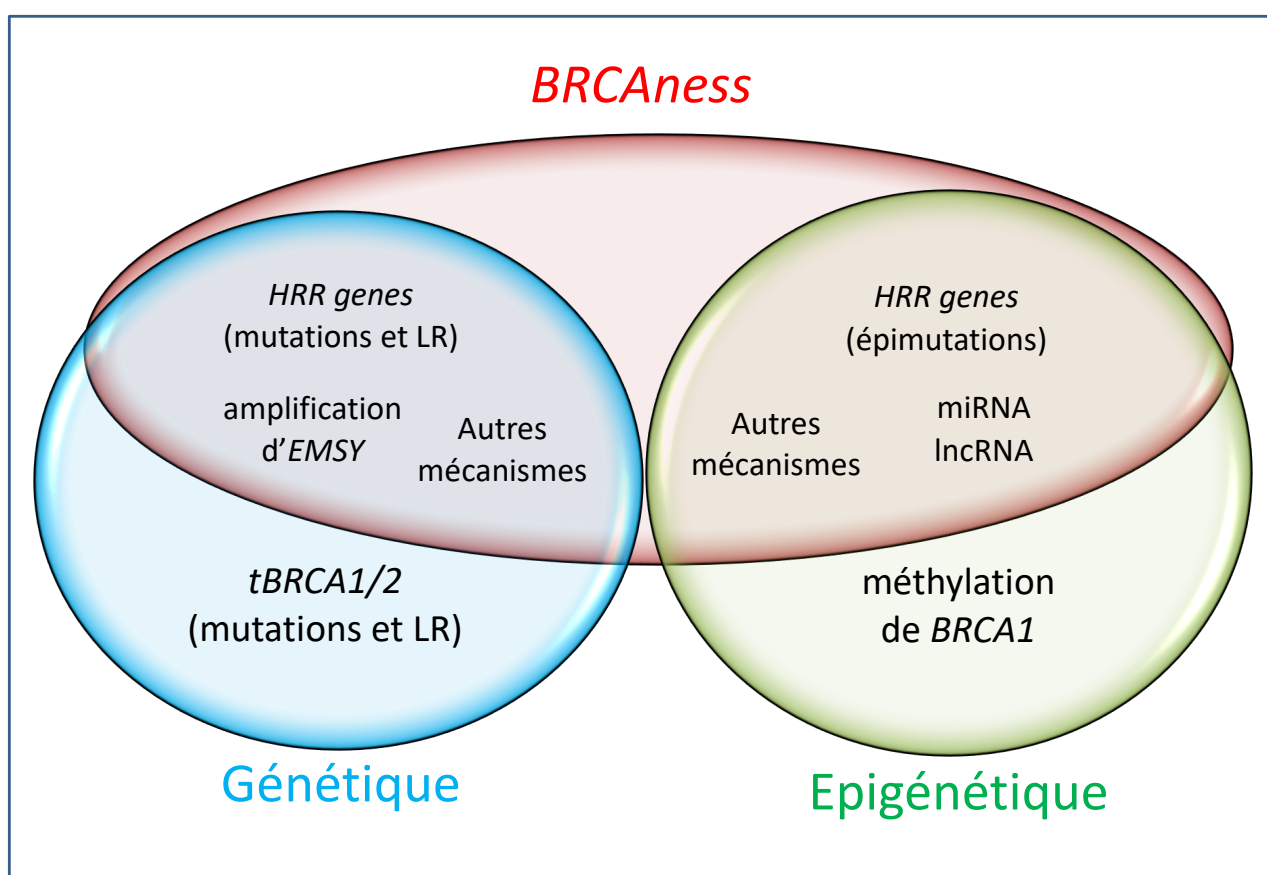
Ainsi, un défaut de l'un des acteurs de ce mécanisme de réparation conduit à un déficit en recombinaison homologue (HRD), situation dans laquelle les cellules réparent le DSB par des mécanismes plus sujets aux erreurs que sont la NHEJ et la MMEJ, ouvrant la voie à une promotion de l'instabilité de l'ADN.

De par son importance et sa fréquence dans les HGSOc, une connaissance approfondie de l'HRD est essentielle. Par-delà l'aspect mécanistique que nous venons de décrire, le statut HRD peut être appréhendé selon une dichotomie : causes et conséquences.

## IV – HRD : causes

Concernant la partie étiologique du HRD, plusieurs niveaux ont été décrits jusqu'à présent, qui peuvent être séparés en deux groupes : les mutations génétiques et les altérations épigénétiques.

Une seconde dichotomie peut être appréhendée, selon que la cause est liée ou non à une altération de *BRCA1/2*. Bien qu'initialement décrit à travers les altérations germinales et somatiques de *BRCA1/2* (représentant environ 30% des cas d'HGSOC), un statut HRD est cependant retrouvé dans environ 50% des cas. Ce « reliquat » d'environ 20% de patientes présentant un statut HRD en dépit d'un contexte BRCA de type sauvage (*BRCA<sup>wt</sup>*) a conduit au concept de *BRCAness*. Celui-ci se définit comme tout phénotype HRD non causé par une altération directe de *BRCA1/2* (**Figure 3**) [57].



**Figure 3 : mécanismes à l'origine d'un déficit de recombinaison homologue**

Abréviations : HRD = déficit de la recombinaison homologue ; *HRR genes* = gènes liés à la recombinaison homologue ; lncRNA = ARN long non-codant ; miRNA = micro ARN ; LR = grand réarrangement (*i.e.* variant structurel) ; *tBRCA* = BRCA tumoral.

Sur le versant génétique :

Les altérations de *BRCA1* et *BRCA2* sont les altérations les plus fréquentes et les mieux caractérisées. Ces deux gènes appartiennent à la famille dite des *caretaker genes*, impliqués dans le maintien de l'intégrité du génome. La mutation de ces gènes ne conduit pas à une transformation cellulaire *per se*. Cependant, les altérations génétiques permises par ce déficit provoquent de manière indirecte l'initiation et la promotion de la carcinogenèse par l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs, par l'amplification de proto-oncogènes et par un processus d'instabilité génomique.

Du fait de leurs structures différentes, les protéines BRCA1 et BRCA 2 présentent des fonctions cellulaires distinctes. Outre la recombinaison homologe et la protection des fourches de réplication qui ont été caractérisées aussi pour BRCA2, la protéine BRCA1 est impliquée dans une variété de processus, tels que la régulation du cycle cellulaire, le remodelage de la chromatine et l'apoptose [52,58,59].

Les altérations les plus fréquentes et les plus connues sont des mutations courtes dans les gènes *BRCA1/2*, entraînant une perturbation de la séquence codante (mutations faux-sens, non-sens ou *frameshift*) qui provoquent la perte de fonction protéique ou la constitution d'une forme dominante négative [60].

Selon l'hypothèse du *two-hit* de Knudson, en contexte de mutation germinale (*gBRCA\**), toutes les cellules du patient portent déjà une copie inactive de *BRCA* (*first-hit*); ainsi, la perte du deuxième allèle (*second-hit*), qui se produit principalement par perte d'hétérozygotie (LOH pour *loss of heterozygosity*), est la seule étape nécessaire pour conduire à un phénotype HRD [61]. Hors contexte germinal, la présence de deux altérations successives somatiques (*sBRCA\**) est nécessaire pour développer un statut HRD.

Il a été suggéré que l'haploinsuffisance de BRCA en contexte *gBRCA\** pourrait être suffisante pour initier la tumorigenèse suite à une mutation de *TP53*, sans nécessité de *second-hit* [62]. Cette hypothèse est étayée par le fait qu'une rétention de l'allèle normal (c'est-à-dire sans LOH) a été rapportée dans 7 % et 16 % (*gBRCA1\** ou *gBRCA2\**) des cas de HGSOV [63].

Comme dit précédemment, il est estimé que les mutations *gBRCA1\** et *gBRCA2\** constituent 8 % et 6 % des cas de HGSOV, respectivement. De plus, des mutations *sBRCA1\** et *sBRCA2\** sont retrouvés respectivement dans 4 % et 3 % supplémentaires [29,64].

Par ailleurs, il a été récemment rapporté que des altérations de types variants structurels ou *large rearrangements* (LR) à l'échelle multimégabase affectant *BRCA1/2* et conduisant donc à un statut HRD pouvaient affecter jusqu'à 16 % des patientes [65].

En contexte *BRCA<sup>wt</sup>* et donc *BRCAness*, des mutations bialléliques dans les gènes associés au processus HR (*HRR genes*) ont été décrites, représentant environ 5% des cas [66–68]. Tout comme pour *BRCA1/2*, des LR affectant ces *HRR genes* (tels que *RAD50C/D*), ont été rapportés [69].

Fait notable, le statut HRD peut être la conséquence de l'amplification d'*EMSY* (codant un répresseur de transcription interagissant avec *BRCA2*) ; cette altération est retrouvée dans environ 5 % des cas [70,71]. Inversement, un sous-ensemble spécifique des HGSOC présente une amplification de *CCNE1* ; cette altération moléculaire est caractérisée non seulement par un mauvais pronostic mais aussi par une voie carcinogénèse moléculaire distincte associée à un statut HR fonctionnel ou *homologous recombination proficiency* (HRP) [72].

Sur le versant épigénétique :

L'hyperméthylation du promoteur de *BRCA1* peut également conduire à une perte d'expression de *BRCA1* [73]. Les données du TCGA ont révélé que ce mécanisme conduisant à un statut HRD était retrouvé dans environ 11 % des cas de HGSOC [29]. Selon une méta-analyse basée sur 16 études, cette hyperméthylation du promoteur de *BRCA1* est retrouvée dans environ 16 % des EOC [74]. Une étude récente, qui a analysé 88 cas d'EOC a retrouvé une hyperméthylation des promoteurs de *BRCA1* et *BRCA2* dans respectivement 19,3 % et 4,6 % des cas, alors que l'impact de ces épimutations affectant *BRCA2* était considéré comme anecdotique jusqu'alors [75]. La méthylation du promoteur dans d'autres *HRR genes*, tels que *RAD51C* et *PALB2* a aussi été décrite dans les HGSOC [60,76].

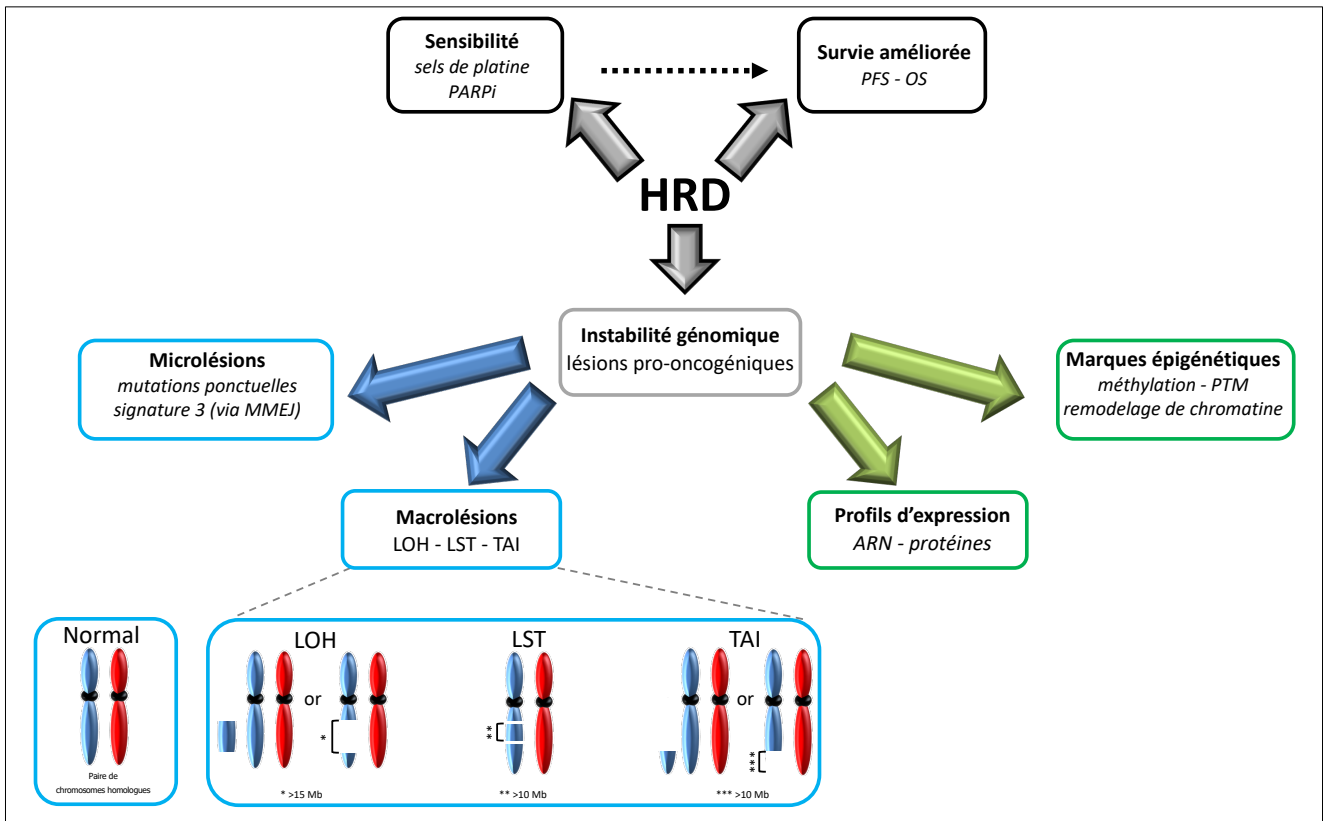
Outre les ARN messagers codant les protéines, la surexpression de certains microARN (miRNA), tels que miR-509-3p et miR-211, conduit à une inhibition du processus HR [77,78]. De manière similaire, certains ARN longs non codants (lncRNA) comme EBIC ont été montrés comme influant sur l'efficacité du mécanisme HR [79]. Fait intéressant, il a été suggéré que la dérégulation des miRNA pouvait être causée par des altérations de la méthylation, impliquant un dialogue moléculaire entre ces deux processus épigénétiques.

Par-delà la méthylation et l'expression génétique, d'autres marques épigénétiques sont à l'étude, bien qu'à l'heure actuelle il n'existe pas de preuve clinique que de telles modifications épigénétiques puissent directement conduire à un statut HRD en contexte d'HGSOC [80]. Relevons cependant que la dynamique de la chromatine, que ce soit via les PTM des histones, le positionnement des nucléosomes et l'organisation spatiale du génome peut agir comme un *silencer* d'expression génique. Ainsi, il apparaît plausible que le remodelage de la chromatine puisse expliquer (tout du moins en partie) certains cas d'HRD [81]. En effet, plusieurs PTM des histones ont été décrites comme participant au processus de résolution des DSB, notamment en orientant le choix entre les voies HR et NHEJ [82,83]. Pour exemple, l'acétylation H4K16 et la triméthylation H3K36 agissent en synergie et sont nécessaires pour la réalisation du processus HR après une DSB [84,85].

En conclusion, bien qu'ils ne soient pas facilement transposables à la pratique clinique actuelle, de nombreux mécanismes épigénétiques complexes impliqués dans l'HR ont été décrits jusqu'à présent et pourraient être développés à l'avenir pour une meilleure définition des patientes avec un statut HRD.

## V – HRD : conséquences

La pierre angulaire du HRD est la promotion d'une instabilité génomique, qui conduit à diverses conséquences, classables en trois catégories : les altérations génétiques, les marqueurs épigénétiques et les phénotypes fonctionnels (**Figure 4**).



**Figure 4 : conséquences d'un déficit de la recombinaison homologue**

Abréviations : HRD = déficit de la recombinaison homologue ; LOH = perte d'hétérozygotie ; LST = état de transition à grande échelle ; MMEJ = jonction d'extrémités médié par les microhomologies ; OS = survie globale ; PFS = survie sans progression ; PARPi = inhibiteur de poly(adénosine diphosphate-ribose) polymérase ; PTM = modification post-traductionnelle ; TAI = déséquilibre allélique des télomères.

Sur le versant génétique, les altérations de l'ADN peuvent être divisées en deux classes : les microlésions (affectant un à quelques nucléotides) et les macrolésions (affectant de plus grandes régions d'ADN, jusqu'à plusieurs mégabases).

À l'échelle microlésionnelle, les altérations de *BRCA* (causées par des altérations germinales, somatiques ou par une hyperméthylation du promoteur de *BRCA1*) conduisent à un schéma caractéristique de substitutions de bases, nommé *signature 3* [86–88]. Cette signature présente une distribution relativement homogène à travers le génome. De plus, elle se caractérise par un nombre élevé de délétions causées par une utilisation alternative du mécanisme MMEJ. Fait notable, la présence de mutations de *BRCA1/2* conduit à une multiplication par 7 du taux mutationnel, favorisant ainsi l'oncogenèse et l'hétérogénéité intratumorale [89]. En plus des altérations de *BRCA1/2*, cette *signature 3* a aussi été observée en contexte *BRCAness* [90–92].

À l'échelle (sub)chromosomique, l'HRD entraîne certains réarrangements caractéristiques [93]. Plusieurs types de LR ont été décrits, regroupés sous le terme global de cicatrices génomiques ou *genomic scars*, puisque constituant une empreinte permanente et irréversible de l'instabilité génomique globale liée à l'HRD [94]. Ainsi, un panel spécifique d'altérations du nombre de copies (par suppressions, duplications, inversions et translocations) a été de prime abord caractérisé par hybridation génomique comparative sur puce en contexte *BRCA\** puis dans les tumeurs *BRCAness* [95,96].

Plus précisément, trois types d'altérations sont spécifiquement enrichies dans les tumeurs avec HRD : LOH, état de transition à grande échelle (LST pour *large-scale state transitions*) et déséquilibre allélique des télomères (TAI pour *telomeric allelic imbalance*). Le LOH en contexte HRD est défini des délétions > 15 mégabases (Mb) et inférieures à une perte chromosomique totale [97]. Le TAI correspond à un déséquilibre allélique > 11 Mb au sein des régions des télomères [98]. A l'inverse, le LST fait référence à un déséquilibre allélique > 10 Mb entre des régions génomiques adjacentes [99]. Dans le cadre de l'HRD, ces altérations se retrouvent de manière relativement homogène à travers le génome, et leur enrichissement global permet de définir un score d'instabilité génomique (GIS) [100].



En plus des altérations génétiques, le statut HRD est également associé à des altérations épigénétiques. Cependant, le lien causes/conséquences est plus difficile à établir ici ; en effet, ces altérations peuvent précéder, maintenir ou découler de l'HRD. A l'échelle de l'expression génique, des profils d'expression spécifiques ont été décrits pour les tumeurs mutées *BRCA* et *BRCAness*, avec cependant des distinctions selon le gène affecté (*BRCA1* vs *BRCA2*) et selon le mécanisme causal (*gBRCA\** vs *sBRCA\** vs *BRCAness*) [101,102].

Plusieurs autres marques épigénétiques ont été associés au statut HRD, telles qu'un *pattern* de PTM, avec des niveaux inférieurs d'acétylation de H4K12/16 et une surexpression du gène codant HDAC6 [103,104]. Un réseau de 30 protéines co-exprimées permet de distinguer les tumeurs HRD et HRP [104]. Fait majeur, l'HRD conduit à l'absence de recrutement de RAD51 sur les DSB, empêchant la formation de *RAD51 foci* [105,106].

Au niveau fonctionnel, les tumeurs HRD présentent certaines particularités, dont un métabolisme distinct, reposant davantage sur la phosphorylation oxydative que sur la glycolyse [107]. Par ailleurs, une charge mutationnelle tumorale, une charge en néo-antigènes et un niveau d'expression de HLA-I plus élevés ont été décrits [108]. Ceci est en accord avec l'augmentation des lymphocytes CD8+ infiltrant la tumeur et avec l'expression plus élevée des protéines PD-1/PD-L1 observée dans les HGSOE avec *tBRCA\** [109].

Cliniquement, les tumeurs avec HRD ont une sensibilité accrue aux sels de platine et aux PARPi, bien que des différences existent en fonction du mécanisme HRD sous-jacent [105,110]. Les sels de platine reposent principalement sur la génération de DSB via des liaisons covalentes avec l'ADN, lésions que les cellules avec HRD réparent mal [111].

Concernant les PARPi, la sensibilité des tumeurs HRD est basée sur la létalité synthétique. Ce concept repose sur le fait que les cellules cancéreuses portent des défauts génétiques qui ne sont pas létaux *per se*, mais qui le deviennent lorsqu'ils sont combinés avec une seconde altération [112]. Lors de l'utilisation des PARPi, la létalité synthétique se produit en raison de l'incapacité des tumeurs avec HRD à prendre en charge de manière fiable les DSB.

Les protéines PARP1 et PARP2 (appartenant à une grande famille de 17 protéines) jouent un rôle clé dans la réparation des SSB, principalement via le mécanisme BER [113,114]. Par conséquent, l'utilisation de PARPi altère cette voie : les SSB ainsi accumulés

vont progresser vers la formation de DSB. Dans les cellules avec HRP, ces DSB seront réparés, permettant une survie cellulaire. En revanche, les cellules avec HRD accumuleront des DSB, conduisant à la mort cellulaire *in fine*.

En termes de pronostic, les patientes présentant des HGSOc avec HRD ont tendance à avoir une PFS et une OS améliorées, en partie causées par de meilleures réponses aux traitements [106] .

Ainsi, une évaluation précise et fiable du statut HRD apparaît essentielle pour s'orienter vers une médecine personnalisée.

## VI – Méthodes d'évaluation du statut HRD validées en pratique clinique

En raison de l'impact potentiel du statut HRD sur la prise en charge des patientes avec un HGSOE, plusieurs tests ont été développés pour son évaluation ; alors que certains sont actuellement restreints à la recherche, d'autres sont utilisés comme tests compagnons ou *companion diagnostic assays* (CDx) avant la prescription de PARPi. Dans cette section ne seront décrits que les CDx et méthodes utilisées en pratique clinique. La description technique exhaustive est retrouvée dans la partie 1 de la double revue jointe à ce manuscrit.

À ce jour, 3 CDx ont reçu l'approbation de la *Food and Drug Administration* (FDA) pour les EOC [116]. Notons qu'il existe une distinction organisationnelle entre la situation aux USA, en Europe et plus spécifiquement en France. Cet aspect sera approfondi dans une section spécifique de ce manuscrit. Il semble cependant nécessaire d'avancer dès à présent le fait qu'aux USA, l'utilisation d'un CDx (en vue de rechercher une altération moléculaire distincte et ce préalablement à la prescription d'une molécule donnée dans un contexte pathologique donné) est soumise à l'approbation spécifique de la FDA.

Selon la dichotomie causes/conséquences précédemment décrite, l'évaluation du statut HRD repose principalement sur deux stratégies : la recherche de mutations génétiques (causes) et/ou la présence de cicatrices génomiques (conséquences).

Sur le versant « causes », l'évaluation du statut mutationnel de *BRCA1* et *BRCA2* représente une approche essentielle dans la prise en charge des HGSOE. Cette évaluation peut se faire de manière ciblée sur *BRCA1/2* ou via une approche de séquençage multipanel, en raison du coût réduit de ce type de test et de la détection de potentielles mutations actionnables touchant d'autres gènes que *BRCA1/2*.

Selon le contexte, l'analyse de *BRCA1/2* peut être effectuée soit en constitutif sur prélèvement sanguin (*i.e.* recherche de mutation *gBRCA\**), soit directement dans la tumeur (*i.e.* recherche de mutation *tBRCA\**).

Il est important de relever une distinction majeure. Alors que la détection d'une mutation *gBRCA\** implique la présence d'une mutation tumorale (*i.e.* *tBRCA\**) sauf cas

exceptionnels, l'inverse n'est pas vrai. En effet, la détection d'une mutation *tBRCA\** à partir de tissu tumoral peut révéler 2 situations distinctes : soit reliée à *sBRCA\** ou à *gBRCA\**.

Concernant le choix dans la priorisation entre séquençage de *gBRCA* et de *tBRCA* et la recherche systématique d'une altération germinale, les recommandations nationales et internationales présentent certaines divergences qui seront discutées ultérieurement dans ce manuscrit ; néanmoins, l'évaluation de mutations *tBRCA\** pour tout cancer EOC de haut grade nouvellement diagnostiqué représente une directive consensuelle [9,21–24,26,27,30,33,34,117]. L'autre aspect indiscutable réside dans l'orientation systématique vers un conseiller en génétique suite à la détection d'une lésion *tBRCA\**, au vu des implications importantes en termes de risque héréditaire. Pour rappel, les *gBRCA\** représentent la fraction majeure des *tBRCA\** dans les HGSOC.

Pour ce qui est de l'analyse de la séquence des gènes *BRCA1/2*, le taux de variants de signification indéterminée (VUS), qui était à l'origine de 84 % lors du développement initial des tests *BRCA1/2*, est descendu à environ 10 % en raison de la reclassification itérative et de l'affinage des VUS, notamment par le biais du Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA [118]. L'analyse germinale de *BRCA1/2* doit être effectuée dans une perspective de détection des micro- et des macrolésions, puisque comme dit précédemment les LR constituent une fraction non négligeable des altérations de *BRCA1/2*.

Pour l'analyse germinale, MyriadGenetics (MG) a développé le BRACAnalysis® CDx (BA-CDx). Les séquences codantes entières des gènes *BRCA1/2* sont incluses (ainsi que les régions promotrices et les limites intron/exon). Les mutations ponctuelles et les *indels* courts sont analysés par polymérisation par réaction en chaîne puis séquençage Sanger, tandis que les LR sont détectés par un système propriétaire intitulé BART® CDx. MG utilise de même sa propre banque de données privée pour la classification des variants retrouvés. En 2014, ce CDx est devenu le premier à bénéficier d'un aval de la FDA comme préalable à la prescription d'olaparib (un PARPi) pour le traitement des patientes atteintes d'EOC avec *gBRCA\** et qui avaient précédemment reçu  $\geq 3$  lignes de chimiothérapie [119].

Hors situation aux USA et essais cliniques, l'évaluation -tant tumorale que germinale- se fait dans des laboratoires publics ou privés (avec une accréditation spécifique pour la recherche germinale) et selon une technologie analogue au BA-CDx. La principale limite du BA-CDx (et de la recherche de *gBRCA\** de manière générale) réside dans le fait que ceci ne

permet que la recherche exclusive des mutations germinales. Ainsi, un résultat négatif n'exclut pas la présence d'une mutation tumorale exclusivement somatique. BA-CDx est actuellement approuvé par la FDA dans 3 situations distinctes pour lesquelles l'évaluation de gBRCA\* est un prérequis pour la prescription de PARPi (*cf.* section suivante - **tableau 1**).

Pour les mutations somatiques des *HRR genes*, les données obtenues jusqu'alors à partir des essais cliniques randomisés (RCT) ayant évalué les PARPi dans le traitement des HGSOc ont donné des résultats contrastés, ne permettant pas de les positionner comme prédictifs d'efficacité des PARPi. Ainsi, la recherche systématique de mutations dans les *HRR genes* n'est pas indiquée dans les recommandations [9,24,30,33,120].

Concernant les conséquences de l'HRD, les techniques validées à l'heure actuelle sont basées en partie sur l'évaluation des *genomic scars*. Il s'agit de FoundationFocus CDxBRCA-LOH® (FF-CDx) développé par FoundationMedicine (FM) et de MyChoice-CDx® (MC-CDx) développé par MG [24,117]. Ces 2 CDx sont effectués sur prélèvement tumoral (*i.e.* tissu fixé au formol et inclus en paraffine ou FFPE) et combinent le séquençage de *tBRCA* et l'évaluation du degré de *genomic scars*. Dans ces contextes, puisque l'analyse de *BRCA1/2* se fait sur du tissu tumoral, il n'y a pas de distinction entre *gBRCA\** et *tBRCA\**. Ces deux techniques sont basées sur une approche de séquençage à haut débit : construction d'une librairie pangénomique, hybridation sur puce utilisant des *single nucleotide variants* répartis sur tout le génome, puis amplification et séquençage des séquences capturées et analyse des données [121–124].

Cependant, elles diffèrent dans l'évaluation du score d'instabilité génomique (GIS) : alors que FF-CDx se restreint à évaluer le degré de LOH à l'échelle pangénomique, MC-CDx utilise une somme des 3 altérations précédemment décrites que sont LST, LOH et TAI afin d'obtenir un score global d'instabilité génomique.

Concernant FF-CDx, un échantillon est considéré comme HRD si la tumeur présente une mutation de *tBRCA\** et/ou un score LOH<sub>FM</sub> élevé. Afin de déterminer un seuil de LOH<sub>FM</sub> pangénomique permettant de discriminer les tumeurs HRD des non-HRD, les données du TCGA ont été utilisées et ont permis d'établir initialement ce seuil LOH<sub>FM</sub> à 14 % [125].

Par la suite, une validation clinique a été effectuée sur un sous-ensemble d'échantillons provenant des cohortes des essais STUDY10 (NCT01482715) et ARIEL2 (NCT01891344). Le LOH<sub>FM</sub> était calculé de manière pangénomique afin d'obtenir un score reflétant le pourcentage

global de LOH. Ceci a ainsi permis de déterminer un seuil à 16 %, permettant de définir des tumeurs « LOH<sub>FM</sub> haut » ( $\geq 16\%$ ) ou « LOH<sub>FM</sub> bas » ( $< 16\%$ ), correspondant respectivement aux statuts HRD et HRP [124]. Notons que la fiabilité des résultats obtenus pour l'évaluation du LOH<sub>FM</sub> requerrait  $\geq 35\%$  de cellularité tumorale dans le prélèvement initial.

Par ailleurs, le FF-CDx a évolué en parallèle avec les essais cliniques ayant évalué le rucaparib (un PARPi). En effet, FM proposait initialement un test intitulé FoundationFocus CDxBRCA® qui se concentrait uniquement sur *tBRCA\**, avec une approbation initiale de la FDA en 2016 [126]. Ce test a ensuite inclus l'analyse LOH<sub>FM</sub> suite aux études ARIEL2 et ARIEL3 (NCT01968213) ; notons que 6 % (ARIEL2) et 8,7 % (ARIEL3) des échantillons analysés ont fourni des résultats non concluants lors de l'analyse du LOH<sub>FM</sub> [125,127]. Actuellement, le test FF-CDx est uniquement disponible via le FoundationOne CDx® (F1-CDx), proposant une analyse multicancers. En effet, au-delà de *tBRCA1/2* et du LOH<sub>FM</sub>, F1-CDx analyse les mutations dans un panel de 324 gènes ainsi que l'altération du nombre de copies, la charge mutationnelle tumorale, l'instabilité microsatellitaire et la présence de réarrangements spécifiques de certains gènes [117]. En dépit de la détection théorique des LR d'après les données du fournisseur, ceux-ci sont faiblement détectés via cette approche [123]. Récemment, FM a proposé le FoundationOne-Liquid CDx®, permettant la détection directe de *tBRCA\** (avec toujours l'analyse combinée de 324 gènes) dans un échantillon sanguin ; cependant, ce test n'effectue pas d'analyse du LOH<sub>FM</sub> [128]. Ces tests multipanels, bien que rapides et globaux augmentent également le risque de détection de VUS.

Le développement de MC-CDx s'est aussi effectué de manière progressive, en se basant initialement sur des données séparées (LOH, LST et TAI) ayant montré pour chaque type d'altération une corrélation avec le statut mutationnel *tBRCA\** et avec la platinosensibilité [98–100]. Par la suite, il a été montré la supériorité prédictive de déceler un statut *BRCA1/2* muté en combinant ces trois mesures plutôt qu'en les prenant séparément [129]. Par conséquent, le score d'instabilité génomique de MG (GIS<sub>MG</sub>) a été développé, consistant en une addition non pondérée des 3 scores (LOH + LST + TAI). La positivité du test MC-CDx est actuellement définie en pratique clinique par un GIS<sub>MG</sub>  $\geq 42$  et/ou *tBRCA1/2\**. Le seuil GIS<sub>MG</sub>  $\geq 42$  a été fixé suite à l'analyse d'une cohorte de 497 patientes avec un cancer du sein et 561 patientes avec un EOC dont les statuts *BRCA1/2* (mutations et méthylation des promoteurs) étaient connus. Le seuil a été fixé afin de pouvoir déterminer avec une sensibilité de 95 % les échantillons présentant une altération de *BRCA1/2* ; ce test a ensuite été évalué

pour sa capacité à identifier les cancers du sein triple-négatifs platino-sensibles en situation néoadjuvante [130]. Suite à cette validation initiale, le MC-CDx a été intégré au sein de plusieurs essais cliniques qui seront discutés dans la section suivante [131,132]. Notons que d'autres seuils ont été évalués : par exemple l'essai VELIA (NCT02470585) ayant évalué le veliparib en 1<sup>ère</sup> ligne de maintenance a proposé un abaissement du seuil à 33, ceci dans la perspective d'augmenter la sensibilité et ainsi de maximiser le nombre de patientes éligibles aux PARPi [133]. Point non négligeable, un statut HRD inconnu a été rapporté chez 8,1 à 11,4 % des patientes avec un EOC et pour lesquelles un test MC-CDx était inclus, dans un contexte d'évaluation de PARPi [131,132,134]. Par ailleurs, une évolution du MC-CDx intitulée Myriad MyChoice® CDx PLUS est maintenant proposée, permettant en sus de l'analyse classique d'évaluer un panel de 13 gènes supplémentaires : *ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *PPP2R2A*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D* et *RAD54L*.

Suite à l'approbation par la FDA au vu de leur intérêt théranostique en vue de la prescription de PARPi, ces deux tests (et plus généralement la notion de statut HRD via l'évaluation de l'instabilité génomique) ont été inclus dans les recommandations internationales de l'*European Society for Medical Oncology* (ESMO) et de l'*American Society of Clinical Oncology* (ASCO) [21,24,30]. Cependant, un consensus d'experts européens a récemment rapporté le besoin urgent de développer de nouveaux outils capables d'évaluer plus précisément le statut HRD dans le contexte des HGSO [120].

Par-delà l'aspect moléculaire, un des marqueurs les plus robustes (bien qu'empirique) est la platino-sensibilité (Pt-S). La définition actuelle la plus acceptée pour évaluer la sensibilité ou non aux sels de platine est l'intervalle sans platines (PFI pour *platinum-free interval*), correspondant au laps de temps entre la dernière dose de platine reçue et la rechute [135]. Vis-à-vis de la sensibilité aux platines, 4 catégories existent selon ce laps de temps : réfractaire < 1mois < résistance < 6mois < sensibilité partielle < 12mois < sensibilité complète. Les patientes rechutant avant 6 mois sont ainsi considérées platino-résistantes (Pt-R).

Cette catégorisation, par-delà son utilisation en pratique clinique pour le choix thérapeutique a été utilisée dans les essais ayant évalué l'efficacité des PARPi dans les HGSO. Bien que ne correspondant pas exactement au même concept, il est par ailleurs important de relever que la majorité de ces RCT (notamment ceux ayant évalué les PARPi en en maintenance de 1<sup>ère</sup> ligne et qui seront décrits ci-après) a inclus exclusivement des patientes ayant présenté une réponse initiale aux sels de platine.

## VII – Impact théranostique du statut HRD

La dernière décennie a conduit à une amélioration substantielle du pronostic des patientes atteintes d'HGSOC, notamment grâce à l'introduction des PARPi.

Les premières études « preuve de concept » ont montré que l'inhibition des protéines PARP entraîne une létalité synthétique dans les cellules déficientes en *BRCA2* [136,137]. Par la suite, les premières études cliniques ont été réalisées chez des patientes présentant des tumeurs multitraitées (incluant des EOC) et porteuses de mutations *gBRCA\** ; chez ces patientes, le traitement par olaparib conduisait à une activité antitumorale manifeste, avec une corrélation entre cette activité et un statut Pt-S [138]. Ces résultats encourageants ont ainsi ouvert la voie à de nombreux essais ayant évalué les PARPi pour le traitement des EOC, avec des succès thérapeutiques patents. Il s'agissait de RCT de phase III, sauf précision.

Ceci a conduit aux approbations par la FDA et l'*European Medicine Agency* (EMA) des PARPi dans des contextes cliniques et des situations moléculaires distincts (**tableau 1**). Actuellement, 3 PARPi ont été approuvés : l'olaparib, le rucaparib et le niraparib. Sauf mention contraire, ces autorisations concernent les EOC avancés ou en rechute.

Le détail de ces essais cliniques se trouve dans la partie 2 de la double revue jointe à ce manuscrit, qui a effectué un focus sur l'aspect prédictif des altérations moléculaires. Il est important de relever que plusieurs analyses en sous-groupes pour ces RCT ont été effectuées de manière exploratoire, limitant ainsi leur extrapolation. Des précautions doivent par ailleurs être prises lors de la comparaison entre ces RCT puisque les critères d'éligibilité et les populations recrutées étaient différentes. Les RCT ayant évalué les PARPi en traitement de maintenance de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> lignes avaient pour critère de jugement principal (CJP) la PFS et étaient restreints à des patientes en réponse complète ou partielle (C/PR) à une chimiothérapie à base de sels de platine. La C/PR est définie par des paramètres radiobiologiques : réponse complète = disparition de toute maladie mesurable/évaluable présente en pré-chimiothérapie et [CA-125] normal ; réponse partielle = subsistance après chimiothérapie de preuves radiologiques de la maladie et/ou [CA-125] anormal.



Altération moléculaire requise <sup>1</sup>	EOC avancé avec C/PR Maintenance de 1 <sup>ère</sup> ligne <sup>2</sup>	EOC en 1 <sup>ère</sup> rechute avec C/PR Maintenance de 2 <sup>nde</sup> ligne <sup>2</sup>	EOC en ≥ 2 <sup>nde</sup> rechute Monothérapie de ≥ 3 <sup>ème</sup> ligne
gBRCA*			<b>Olaparib</b> <sup>3</sup> après ≥3 lignes ; tout statut vis-à-vis des platines (FDA 2014 ; STUDY-42) - BA-CDx
tBRCA*	<b>Olaparib</b> (FDA 2018 ; EMA 2019 ; SOLO-1) - F1-CDx		<b>Rucaparib</b> <sup>4</sup> après ≥2 lignes ; tout statut vis-à-vis des platines (FDA 2016 ; EMA 2019 ; ARIEL-2/STUDY-10) - F1-CDx
HRD+	<b>Olaparib + bevacizumab</b> (FDA 2020 ; EMA 2020 ; PAOLA-1) - MC-CDx		<b>Niraparib</b> <sup>5</sup> après ≥3L ; potentiellement platino-sensible (FDA 2019 ; QUADRA) - MC-CDx
Aucune	<b>Niraparib</b> (FDA 2020 ; EMA 2020 ; PRIMA)	<b>Niraparib</b> <sup>6</sup> (FDA 2017 ; EMA 2017 ; NOVA) <b>Olaparib</b> (FDA 2017 ; EMA 2018 ; SOLO-2/STUDY-19) <b>Rucaparib</b> <sup>7</sup> (FDA 2018 ; EMA 2019 ; ARIEL-3) - F1-CDx	

**Tableau 1 : synthèse des AMM (FDA et EMA) des PARPi dans le traitement du cancer épithélial de l’ovaire selon le contexte moléculaire**

Abréviations : AMM = autorisation de mise sur le marché ; BA-CDx = BRACAnalysis® CDx ; CDx = test compagnon ; C/PR = réponse complète/partielle à une chimiothérapie à base de platine ; EMA = *European Medicine Agency* ; EOC = cancer épithélial de l'ovaire (y compris les cancers primitifs du péritoine et des trompes de Fallope) ; F1-CDx = FoundationMedicine FoundationOne CDx® ; FDA = *Food and Drug Administration* ; gBRCA\* = présence d'une mutation germinale de *BRCA1* ou *BRCA2* ; HRD+ = présence d'un déficit en recombinaison homologue ; MC-CDx = MyriadGenetics MyChoice-CDx® ; PARPi = inhibiteur de la poly(adénosine diphosphate-ribose) polymérase ; tBRCA = présence d'une mutation tumorale de *BRCA1* ou *BRCA2*.

Remarques : Les dates entre parenthèses correspondent aux années d'autorisation de la FDA et de l'EMA, suivies des études principales ayant conduit à celles-ci. Le texte en italique représente le test compagnon ayant reçu une autorisation de la FDA dans cette indication. Toutes les approbations de l'EMA concernent uniquement les EOC de haut grade et celles au-delà de la 1<sup>ère</sup> ligne précisent la nécessité d'une platino-sensibilité. Le rechallenge par PARPi n'a pas été validé à ce jour par les autorités de régulation.

<sup>1</sup> Par définition, une autorisation en contexte HRD+ (*i.e.* tBRCA\* et/ou du score d'instabilité génomique positif) inclut gBRCA\* et tBRCA\* tout comme une autorisation pour tBRCA\* inclut gBRCA\* ; pour plus de clarté, l'autorisation la plus large est présentée ici.

<sup>2</sup> Tous les traitements de maintenance ont été autorisés en contexte C/PR ; de plus, tous les PARPi sauf la combinaison olaparib + bevacizumab sont des monothérapies d'entretien.

<sup>3</sup> Cette autorisation est limitée aux cancers de l'ovaire uniquement, incluant donc les histologies non épithéliales.

<sup>4</sup> L'autorisation de l'EMA restreint l'utilisation aux patientes ne pouvant plus tolérer de chimiothérapie à base de platine.

<sup>5</sup> L'autorisation de la FDA implique au moins une de ces deux conditions : 1/ une mutation *BRCA1/2* ; 2/ un score d'instabilité génomique positif (≥42) et un intervalle sans platines > 6 mois.

<sup>6</sup> L'approbation du niraparib par l'EMA est limitée aux EOC avec Pt-S dans ce contexte.

<sup>7</sup> Bien que non soumise à la présence d'altérations moléculaires, cette autorisation a été couplée à une autorisation du test compagnon F1-CDx, puisqu'un statut HRD positif est prédictif d'une meilleure efficacité et d'une amélioration de la survie sans progression.

De manière synthétique, concernant le traitement de maintenance de 1ère ligne :

L'essai SOLO1 (NCT01844986) a inclus 391 patientes atteintes d'EOC de haut grade (dont 95% de séreux) avec *tBRCA\** (dont 99 % de *gBRCA\**) afin d'évaluer l'olaparib vs placebo (ratio 2:1 ; n=260 et n=131) chez des patientes en C/PR [139]. L'utilisation de l'olaparib par rapport au placebo permettait une diminution de 70 % du risque de progression ou de décès (*hazard ratio* (HR) 0,30 ; intervalle de confiance à 95 % (IC95) 0,23-0,41 ;  $p < 0,001$ ). Récemment, le suivi à 5 ans de SOLO1 a montré en analyse *post hoc* une PFS de 56 vs 13,8 mois (HR 0,33 ; IC95 0,25-0,43) avec l'olaparib et le placebo, respectivement [140].

L'essai PAOLA-1 (NCT02477644) a comparé le bevacizumab plus olaparib (OlaBeva) au bevacizumab plus placebo (Beva) chez des patientes en C/PR [131]. 806 patientes (HGSOc dans 95 % des cas) ont été incluses selon un ratio 2:1 (n=537 et n=269, respectivement) et testées prospectivement avec le MC-CDx, retrouvant 30 % de patientes avec *tBRCA\** et 50 % avec un statut HRD ( $GIS_{MG} \geq 42$ ). La PFS médiane sur la population randomisée était de 22,9 vs 16,6 mois (OlaBeva vs Beva, respectivement ; HR 0,59 ; IC 95 0,49-0,72 ;  $p < 0,001$ ). En contexte *tBRCA\**, la PFS médiane était de 37,2 vs 21,7 mois (HR 0,31 ; IC95 0,20-0,47). En contexte HRD et *tBRCA<sup>mt</sup>*, cet effet positif persistait, bien que semblant plus modéré, avec une PFS médiane de 28,1 vs 16,6 mois (HR 0,43 ; IC95 0,28-0,66). Ceci suggère donc que les patientes avec *tBRCA\** semblent tirer le plus grand bénéfice de la combinaison OlaBeva.

L'étude PRIMA (NCT02655016) a inclus 733 patientes afin d'évaluer le niraparib (n=487) vs placebo (n=246) en monothérapie d'entretien, avec 2 co-CJP : sur la cohorte entière et chez les patientes avec un statut HRD [139]. Une évaluation prospective par MC-CDx a retrouvé 50,9 % de patientes avec un statut HRD (dont 59,7 % étaient *tBRCA\**). En se restreignant aux patientes HRD, la PFS médiane était de 21,9 vs 10,4 mois (niraparib vs placebo, respectivement ; HR 0,43 ; IC95 0,31-0,59 ;  $p < 0,001$ ). Dans la cohorte entière, la PFS restait significativement augmentée, avec des valeurs médianes de 13,8 vs 8,2 mois (HR 0,62 ; IC95 0,50-0,76 ;  $p < 0,001$ ). Fait intéressant, dans cette population de patientes HRD, l'impact du statut *BRCA1/2* semblait plus modéré, retrouvant des PFS médianes de 22,9 vs 10,9 mois (HR 0,40 ; IC95 0,25-0,62) en contexte *tBRCA\** et de 19,6 vs 8,2 mois (HR 0,50 ;

IC95 0,31-0,83) en contexte *BRCA*<sup>mt</sup>. Par ailleurs, en contexte HRP, un bénéfice persistait, bien que modéré, avec une PFS de 8,1 vs 5,4 mois (HR 0,68 ; IC95 0,49-0,94).

Le traitement par PARPi en maintenance de 1<sup>ère</sup> ligne est ainsi devenu le standard selon les recommandations cliniques américaines et européennes : aux tumeurs *tBRCA*\* l'olaparib +/- bevacizumab et aux tumeurs HRD la combinaison olaparib plus bevacizumab. Par ailleurs, en contexte HRP, le niraparib est considéré comme une option [21,120].

#### Pour ce qui est du traitement de maintenance de 2<sup>nde</sup> ligne (1<sup>ère</sup> rechute) :

Comme pour le traitement de maintenance de 1<sup>ère</sup> ligne, les patientes incluses dans les différents RCT étaient atteintes d'EOC de haut grade (quasi-exclusivement des HGSOc), en rechute, ayant donc reçu  $\geq 2$  lignes de chimiothérapie et avec un statut C/PR. De plus, le recrutement se restreignait aux patientes platino-sensibles (PFI > 6 mois) et à nouveau répondeuses à la ré-introduction des sels de platine en association. Le CJP dans toutes les études décrites était la PFS médiane (en cohorte globale et/ou restreinte à un groupe avec une altération moléculaire spécifique).

L'essai ARIEL3 (NCT01968213) a évalué le rucaparib vs placebo avec une analyse prospective du statut HRD en utilisant le CDx de FoundationMedicine (*i.e.* statut HRD = LOH<sub>FM</sub>  $\geq 16$  et/ou *tBRCA*\*) et le BA-CDx pour la détermination du statut *gBRCA* le statut a été évalué par BA-CDx [127]. 564 patientes ont été incluses (ratio 2:1 ; rucaparib n = 375 et placebo n = 189), avec les caractéristiques moléculaires suivantes : 196 *tBRCA*\* (dont 130 *gBRCA*\*), 158 *tBRCA*<sup>mt</sup>/HRD, 161 HRP et 49 de statut non défini. L'amélioration statistiquement significative de la PFS médiane a été retrouvée dans 3 populations prédéfinies : *tBRCA*\* (16,6 vs 5,4 mois ; HR 0,23 ; IC95 0,16-0,34 ; p < 0,0001), HRD (13,6 vs 5,4 mois ; HR 0,32 ; IC95 0,24-0,42 ; p < 0,0001) et cohorte entière randomisée (10,8 vs 5,4 mois ; HR 0,32 ; IC95 0,30-0,45 ; p < 0,0001). Ainsi, le rucaparib semble exercer un effet plus important en contexte HRD ou *BRCA*\*, bien qu'il n'y ait pas eu de comparaison directe.

L'essai NOVA (NCT01847274) a pour sa part évalué le niraparib *vs* placebo (ratio 2:1), avec la particularité d'une catégorisation des patientes au moment de l'inclusion en deux cohortes distinctes, ceci en se basant sur le statut *gBRCA\** (déterminé par BA-CDx) [141]. 553 patientes ont ainsi été incluses : 203 *gBRCA\** et 350 *gBRCA<sup>mt</sup>*. Cette seconde cohorte retrouvait ensuite via MC-CDx : 162 HRD (dont 29% de *tBRCA\**), 134 HRP et 54 de statut indéterminé. Le niraparib a entraîné une PFS médiane significativement plus longue dans les deux cohortes distinctes (niraparib *vs* placebo, respectivement) : 21,0 *vs* 5,5 mois (HR 0,27 ; IC95 0,17-0,41 ;  $p < 0,001$ ) dans la cohorte *gBRCA\** et 9,3 *vs* 3,9 mois (HR 0,45 ; IC95 0,34-0,61 ;  $p < 0,001$ ) dans la cohorte *gBRCA<sup>mt</sup>*. Au sein de cette seconde cohorte *gBRCA<sup>mt</sup>*, les patientes avec un statut HRD semblaient tirer un plus grand bénéfice du niraparib, avec une PFS de 12,9 contre 3,8 mois (HR 0,38 ; IC95 0,24-0,59 ;  $p < 0,001$ ).

L'étude de phase II STUDY19 (NCT00753545) a randomisé 265 patientes (ratio 2:1 ;  $n = 136$ , olaparib ;  $n = 129$ , placebo) indépendamment de la présence de mutation *BRCA* [142]. Celle-ci a rapporté une amélioration de la PFS : 8,4 *vs* 4,8 mois (olaparib *vs* placebo ; HR 0,35 ; IC95 0,25-0,49 ;  $p < 0,0001$ ). De manière complémentaire à STUDY19, l'essai SOLO2 (NCT01874353) a pour sa part inclus 295 patientes avec *gBRCA\** (testé par BA-CDx) afin d'évaluer l'olaparib ( $n=196$ ) *vs* placebo ( $n=99$ ) [143]. Ceci a montré une PFS médiane aussi augmentée : 19,1 *vs* 5,5 mois (HR 0,30 ; IC 95 0,22-0,41 ;  $p < 0,0001$ ).

En conclusion, les 3 PARPi évalués (niraparib, olaparib et rucaparib) ont reçu une approbation de la FDA et de l'EMA ainsi qu'une recommandation des instances internationales (ESMO/ASCO) en tant que monothérapies de maintenance de 2<sup>nde</sup> ligne chez les patientes atteintes d'EOC en rechute avec C/PR, indépendamment du statut moléculaire (*i.e.* *gBRCA\**, *tBRCA\** ou HRD) [21,23].

### Pour le traitement par monothérapie au-delà de la 1ère rechute :

Contrairement aux deux sections précédentes, les CJP de ces essais s'articulaient autour du taux de réponse objective (ORR pour *objective response rate*) et de la durée de réponse médiane (DoR pour *median duration of response*), sauf précision.

L'essai de phase II monobras STUDY42 (NCT01078662) a recruté 137 patientes *gBRCA\**, précédemment traitées avec  $\geq 3$  lignes de chimiothérapie, indépendamment d'une platino-sensibilité. Le traitement par olaparib a montré un ORR de 34 % et une DoR de 7,9 mois [144]. Fait notable, l'ORR était tout de même de 30 % chez les patientes platino-résistantes et la DoR était similaire quel que soit le statut vis-à-vis des sels de platine : 8,2 mois (Pt-S ; IC95 5,6-13,5) vs 8,0 mois (Pt-R ; IC95 4,8-14,8).

Deux essais en ouvert à un seul bras, l'étude de phase I/II STUDY10 (NCT01482715) et l'étude de phase II ARIEL2 (NCT01891344) ont par ailleurs évalué l'intérêt d'une monothérapie par rucaparib [125,126]. STUDY10 (n = 42) comprenait des patientes avec *tBRCA\** et précédemment traitées par 2 à 4 lignes. ARIEL2 (n = 491) était une étude de phase II ayant recruté des patientes avec *tBRCA\** ; la partie 1 (n = 204) incluait des patientes traitées par au moins 1 ligne et Pt-S, tandis que la partie 2 (n = 287) incluait des patientes ayant reçu au moins 3 lignes de chimiothérapie (tout statut vis-à-vis des sels de platine). L'activité antitumorale a été évaluée à partir d'une combinaison de patientes des 2 études (n = 106), retrouvant un ORR à 53,8 % (IC95 43,8-63,5) et une DoR de 9,2 mois (IC95 6,6-11,6) [145]. Concernant la partie 1 d'ARIEL2 (avec pour CJP la PFS), les patientes ont été évaluées par le CDx FF-CDx (avec ici un seuil de positivité du LOH<sub>FM</sub>  $\geq 14$  %) pour obtenir une répartition en 3 groupes : *tBRCA\** (n = 40), *tBRCA<sup>wt</sup>/HRD* (n = 82) et HRP (n = 70). Par ailleurs, le statut restait indéterminé pour 12 patientes. Le rationnel était donc d'évaluer la PFS médiane selon le statut moléculaire. Par rapport au sous-groupe HRP (PFS = 5,2 mois) servant de référence, la PFS était significativement plus longue dans les contextes *tBRCA\** (PFS = 12,8 mois ; HR 0,27 ; IC95 0,16-0,44 ; p < 0,0001) et *tBRCA<sup>wt</sup>/HRD* (PFS = 5,7 mois ; HR 0,62 ; IC95 0,42-0,90 ; p < 0,01).

Les résultats finaux d'ARIEL2 ont été récemment publiés [146]. Pour la partie 2, l'ORR était le CJP : celui-ci était de 31,0 % (IC95 21,3–42,0), 6,8 % (IC95 2,3–15,3) et 5,6% (IC95 2,1–11,8) pour les patientes avec des statuts *tBRCA\**, *tBRCA<sup>wt</sup>/HRD* et HRP, respectivement. Notons que pour la partie 2 d'ARIEL2, le seuil de positivité du LOH<sub>FM</sub> était à  $\geq 18$  %. Cependant, des analyses *post hoc* intéressantes concernant la cohorte entière ont été rapportées, notamment concernant la PFS médiane : 7,8 mois pour *tBRCA\** (ORR de 45,7 %), 4,5 mois pour *tBRCA<sup>wt</sup>/HRD* (ORR de 16,7 %) et 4,0 mois pour les HRP (ORR de 7,7 %). Par ailleurs, cette étude a mis en exergue l'impact de la platino-sensibilité, puisqu'un statut hyperméthylé du promoteur de *BRCA1* et la présence de mutations de *RAD51C/D* étaient prédictifs de l'efficacité du rucaparib. De plus, la perte du statut hyperméthylé de *BRCA1* entre le diagnostic initial et le *screening* pre-rucaparib ainsi que la présence de mutations de réversion de *tBRCA\** dans l'ADN tumoral circulant (ctDNA) apparaissaient comme des marqueurs putatifs de résistance au rucaparib.

Plus récemment, l'essai de phase II monobras QUADRA (NCT02354586) a testé le niraparib en  $\geq 4$ ème ligne, en incluant des patientes lourdement prétraités et indépendamment de la platino-sensibilité [147]. L'analyse moléculaire était faite via MC-CDx, retrouvant : 63 *tBRCA\**, 126 *tBRCA<sup>wt</sup>/HRD*, 186 HRP et 44 de statut indéterminé. Dans le groupe *tBRCA\**, l'ORR était différent selon la sensibilité aux platines : 39 % (sensible), 29 % (résistant) et 19 % (réfractaire). En contexte *tBRCA<sup>wt</sup>/HRD*, 20 % des patientes Pt-S avaient une réponse et ce taux tombait à 10 % en cas de tumeur résistante/réfractaire au platine. Pour les patientes HRP ou de statut inconnu, l'ORR était de 3 %.

Ainsi, alors que l'évaluation du statut HRD semble être un prérequis indiscutable à visée théranostique pour les lignes antérieures, les études ARIEL2 et QUADRA remettent en cause la pertinence d'une évaluation à ce stade de la maladie, au vu de son impact théranostique modéré.

En synthèse, l'adjonction des PARPi a considérablement amélioré le pronostic des patientes atteintes d'HGSO, tout du moins sur la PFS. En effet, alors que cet impact est indéniable, une méta-analyse récente n'a pas permis de montrer d'effet majeur sur l'OS bien que les données actuelles soient immatures [148].

## VIII - Limites techniques des tests actuels

En dépit des progrès considérables amenés par les PARPi et sous-tendus par l'évaluation moléculaire des tumeurs via les CDx, ces derniers souffrent de limites qui ont notamment été soulevées par les différentes instances nationales et internationales [21,24,30,33]. Dans cette dynamique, un panel européen de 98 experts a récemment publié un consensus de 34 préconisations concernant l'évaluation du statut HRD ; un de ces items avance que « *there is a need for the development of new, alternative validated homologous recombination repair deficiency tests* », avec 92 % d'agrément de ces experts [120]. Les problématiques peuvent être séparées selon deux axes : techniques et médicales.

Sur le versant technique, les limites peuvent être appréhendées selon trois temporalités (préanalytique, analytique ou postanalytique).

De manière globale, il convient de noter que les tests validés pour la pratique clinique ne présentent pas les mêmes performances et ne sont donc pas interchangeables. Par exemple, une étude s'est attelée à comparer MC-CDx (positif en cas de  $GIS_{MG} \geq 42$  et/ou *tBRCA\**),  $LOH_{FM}$  (positif si  $LOH_{FM} \geq 16$  % et/ou *tBRCA\**) et un panel de 11 *HRR genes*. De fait, jusqu'à 46 % des tumeurs HRD selon le test MC-CDx ont été considérés comme négatives (donc HRP) par les deux autres techniques à l'essai. De plus, l'utilisation d'un seuil inférieur ( $GIS_{MG} \geq 33$  % ; équivalent à celui utilisé dans l'essai VELIA) conduisait à l'absence de positivité par les 2 autres techniques pour 61% des échantillons [133,149].

Sur le versant préanalytique, il est rapporté qu'environ 5-10 % des échantillons ne sont pas de qualité suffisante pour une évaluation du statut HRD ; ceci peut être la conséquence d'un matériel de départ insuffisant, d'un manque de cellularité tumorale ou d'échantillons de mauvaise qualité ou dégradés. Un autre aspect qu'il convient de considérer est l'hétérogénéité des échantillons, qui s'appréhende selon deux niveaux distincts : tissu sain vs tumoral et hétérogénéité intratumorale. Un prélèvement tumoral contient quasi-systématiquement des cellules saines, pouvant interférer avec l'analyse du statut HRD (*e.g.* en abaissant le GIS et/ou en empêchant la détection de *tBRCA\**). De plus, chaque tumeur

consiste en un amoncellement de clones cellulaires distincts ayant pour chacun sa propre évolution, avec de possibles statuts HRD discordants et une sensibilité différentielle aux traitements (dont les PARPi). Cette hétérogénéité intratumorale est également présente entre tumeurs distinctes, par exemple entre lésions primitives et secondaires [150].

Sur le plan analytique, comme dit précédemment, l'analyse par BA-CDx (ou de manière plus générale la recherche d'une altération *gBRCA\**) ne détecte pas les mutations exclusivement somatiques (*sBRCA\**), représentant pourtant jusqu'à 30 % des HGSOc avec *tBRCA\**. Par conséquent, un résultat négatif *gBRCA\** n'exclut pas la présence de *sBRCA\**. En se basant sur les analyses de performance des tests actuels (MC-CDx et F1-CDx), il apparaît que ceux-ci présentent des limites de détection (LOD) élevées pour la partie GIS. En effet, une cellularité tumorale de 30-35 % est requise pour son évaluation. De plus, les tests HRD effectués sur prélèvement tumoral ont un faible niveau de détection des LR de *tBRCA\**, alors qu'il a été rapporté que ce type d'altération représentait une fraction non négligeable des lésions *BRCA1/2* [65]. En atteste une étude récente ayant rapporté qu'environ 20% d'authentiques *gBRCA\** n'étaient pas détectées par l'évaluation initiale de *tBRCA\** et notamment qu'aucun LR n'avait été détecté par celle-ci [151].

Enfin, concernant l'approche postanalytique, même si le matériel de départ répond aux exigences du fabricant, environ 5-10 % des échantillons traités donnent un résultat indéterminé. Pour *BRCA1/2*, la principale limite reste le problème des VUS, des reclassifications des variants ainsi que des divergences de classification entre les bases de données [152–154]. Pour complexifier l'interprétation, certains variants ont été classés comme pathogènes sur la base d'un effet délétère prouvé en contexte *gBRCA\**, avec une extrapolation au *sBRCA\**. Cependant, *gBRCA\** et *sBRCA\** peuvent avoir des effets distincts aux niveaux moléculaire et cellulaire, en attestent les divergences de données de transcriptome selon la nature de la mutation. Enfin, les CDx de type multipanel comme le F1-CDx (qui analyse 324 gènes) soulèvent la problématique du *off-target*, augmentant le risque de détecter des VUS et des *incidental findings* génétiques, sans pour autant pouvoir proposer d'approche thérapeutique en aval [155].



De manière plus ciblée sur le GIS, le choix d'un seuil idéal unique et vu avec le test MC-CDx comme le « *magic 42* » reste sujet à controverse. En effet, le principal risque d'un seuil inadapté est une mauvaise classification, avec la présence de faux positifs (FP) et de faux négatifs (FN).

Dans le contexte HRD, un FP correspond à un résultat HRD alors que l'échantillon est HRP ; inversement, un FN étiquette un patient comme HRP alors qu'il s'agit d'un authentique HRD. Le GIS<sub>MG</sub> qui pour rappel a été initialement fixé comme positif si  $\geq 42$  et validé avec des tumeurs du sein triple négatifs et des EOC (avec pour objectif une sensibilité de 95 % de détection des altérations *BRCA1/2*). Ainsi, le *primum movens* de ce biomarqueur n'était pas d'être prédictif de la sensibilité aux PARPi.

Le GIS<sub>MG</sub> a par la suite évalué avec différents seuils. Dans l'essai VELIA, un seuil inférieur (GIS<sub>MG</sub>  $\geq 33$ ) avait pour rationnel de prévenir les FN, dans une perspective de plus grande éligibilité des patientes aux PARPi. Bien que non approuvé actuellement par les entités de régulation FDA/EMA, le veliparib a donc été testé dans le cadre de l'ECR VELIA (NCT02470585) en tant que 1<sup>ère</sup> ligne avec un démarrage de concert avec la chimiothérapie (*versus*) la chimiothérapie, avec une évaluation prospective du statut HRD par MC-CDx [131]. Le CJP était la PFS médiane, qui s'est retrouvée augmentée dans 3 conditions distinctes analysées. Les patientes avec *tBRCA\** ont semblé tirer le plus grand bénéfice du traitement (34,7 *vs* 22,0 mois ; HR 0,44 ; IC95 0,28-0,68 ;  $p < 0,001$ ), par rapport aux patientes HRD (31,9 *vs* 20,5 mois ; HR 0,57 ; IC95 0,43-0,76 ;  $p < 0,001$ ) et par rapport à la cohorte entière (23,5 *vs* 17,3 mois ; HR 0,68 ; IC95 0,56-0,83 ;  $p < 0,001$ ). Bien que cette analyse ait été effectuée en analyse exploratoire, le groupe HRP ne semblait pas tirer parti du veliparib (15,0 *vs* 11,5 mois ; HR 0,81 ; IC95 0,60-1,09). Ainsi, cette étude oriente vers la possibilité de proposer un abaissement du seuil en 1<sup>ère</sup> ligne.

Inversement, dans une perspective inverse de plus grande spécificité, une étude rétrospective basée sur les données du TCGA a utilisé une plus grande stringence avec un seuil de positivité de GIS<sub>MG</sub>  $\geq 63$ , permettant une forte corrélation « histobioclinique » [156].

## IX - Limites médicales des tests actuels

Outre les questions techniques, des considérations médicales doivent également être prises en compte. De manière générale, il convient de noter qu'aux USA, seuls le MC-CDx et le F1-CDx ont reçu l'aval de la FDA à l'heure actuelle, limitant la réalisation de ce test aux entreprises privées ainsi que le partage des données obtenues. De plus, ces CDx ont un coût non négligeable, allant de 4 040 \$ à 5 800 \$. En Europe, les autorisations de l'EMA n'apposent pas spécifiquement de CDx spécifique pour l'identification d'un statut HRD ; MC-CDx représente à l'heure actuelle le seul test utilisé afin d'évaluer le GIS.

Au-delà de cette question générale, des limites médicales sont soulevées par les tests actuels d'évaluation du statut HRD, qui peuvent être catégorisées selon 3 aspects : le prélèvement lui-même (*i.e.* l'échantillon analysé), le résultat obtenu (*i.e.* la pertinence du statut HRD comme biomarqueur) et le contexte clinique.

Concernant le tissu, il est maintenant bien connu que les tumeurs sont constituées de sous-clones distincts *de facto* ; ainsi, le résultat fourni à partir d'un échantillon ne sera qu'une synthèse de ces sous-clones selon leurs proportions relatives [157–159]. Par définition, une biopsie ne représente qu'une fraction du tissu tumoral. Ainsi, une biopsie peut présenter un statut HRD tout en étant composée de clones HRD et HRP (ou être HRD alors que le reste de la tumeur est HRP et vice-versa), ces derniers pouvant participer à une résistance primitive (ou à une sensibilité réduite) aux PARPi et aux sels de platine et/ou à la rechute par des mécanismes de sélection et d'expansion clonale. De même, il peut exister une divergence de statut entre tumeur primitive et métastases ou même entre des métastases distinctes. Outre l'évaluation du statut HRD lui-même, les RCT ayant conduit aux AMM des PARPi n'ont pas considéré les contextes épigénomique et génomique (tout en concédant que ceci impliquerait des considérations de faisabilité technique et financière).

En effet, comme expliqué précédemment, le phénotype HRD est sous-tendu par de nombreuses couches de complexité [160]. En plus de la tumeur elle-même, le microenvironnement cellulaire pourrait participer à la sensibilité aux PARPi ; des données suggèrent que leur activité serait différente selon les paramètres du microenvironnement tumoral (*e.g.* en condition hypoxique) ayant conduit au concept de « létalité synthétique

contextuelle » [161]. Notons qu'il existe aussi une interaction complexe avec les cellules immunitaires infiltrant la tumeur, facteur qui pourrait moduler le statut HRD [162].

En plus des considérations techniques vis-à-vis des potentiels FP/FN, les CDx actuels, bien que prédictifs à l'échelle populationnelle ne le sont pas nécessairement à l'échelle d'une patiente. En d'autres termes, certaines patientes pourront présenter une réponse aux PARPi tout en étant étiquetés HRP, alors que d'autres ne présenteront pas de réponse initiale en dépit d'un statut HRD. Ainsi, ceci soulève les limites de considérer le statut HRD selon une approche behavioriste « *magic blackbox* » avec une dichotomie simplifiée HRD *vs* HRP. En atteste le fait que la majorité des RCT préalablement décrits ont montré un effet plus important des PARPi en contexte *BRCA\** qu'en contexte *BRCAness*. Cette dichotomie est aussi à l'œuvre concernant les gènes, selon une approche « muté » *vs* « non muté ». De fait, il existe au sein d'un même gène des divergences cliniques selon le type de mutation pathogène. Pour exemple, chez les patientes porteuses de *gBRCA2\** et atteintes d'EOC, il a été montré que seules les mutations affectant le domaine de liaison de BRCA2 avec RAD51 conduisaient à une amélioration de l'OS [163]. Dans la même perspective, une étude s'étant focalisée sur les longues répondeuses à l'olaparib a rapporté que les mutations touchant ce domaine de BRCA2 étaient enrichies au sein de ce groupe [164]. Inversement, certaines patientes et notamment celles porteuses d'une mutation *CDK12* présentent un faible LOH en dépit d'un statut HRD [92].

Pour ce qui est du contexte clinique, plusieurs aspects sont à discuter. Tout d'abord, relevons que la majorité des RCT incluait des patientes en C/PR, sélectionnant ainsi des populations spécifiques présentant un profil de sensibilité aux platines et donc un biais potentiel vers une plus grande sensibilité aux PARPi [165,166].

Concernant la 1<sup>ère</sup> ligne de maintenance, les résultats de PRIMA interrogent puisqu'une amélioration de la PFS subsiste (bien que modérée) en contexte HRP. Ceci pourrait s'expliquer en partie par un effet « *HRD-unrelated* » [167]. Pour la 2<sup>nde</sup> ligne de maintenance, il apparaît que la prescription des PARPi (hors situation française) se fait sans recherche d'une altération moléculaire préalable, soulevant la limite d'une évaluation à ce stade, avec toujours la présence de la nécessité d'une platino-sensibilité et d'un statut C/PR.

Enfin, l'essai QUADRA a montré que bien que le statut *BRCA*\* gardait une pertinence en termes d'ORR, le statut Pt-S constituait un marqueur prédictif de l'efficacité du niraparib dans les lignes tardives, contrairement à un statut HRD/*BRCA*<sup>wt</sup>.

Pour revenir sur la pertinence du seuil, le  $\text{GIS}_{\text{MG}} \geq 42$  soulève également des questions quant à sa pertinence clinique. En effet, un seuil binaire unique « *one number fits all* » majore le risque de mauvaise classification des patientes et de la prescription ultérieure d'un PARPi. Ceci est d'autant plus important lorsque nous considérons des situations distinctes telles que le traitement de maintenance de 1<sup>ère</sup> ligne *versus* une monothérapie de 4<sup>ème</sup> ligne. En effet, les tumeurs avec un statut HRD maintenu au gré de leur évolution sont sujettes à une accumulation des cicatrices génomiques et donc à une augmentation du GIS.

Ce dernier point soulevé constitue un des principaux écueils des CDx actuels évaluant le statut HRD. En effet, les scores basés sur le GIS (via le  $\text{GIS}_{\text{MG}}$  et le  $\text{LOH}_{\text{FM}}$ ) reposent sur des cicatrices génomiques accumulées au fil du temps, reflétant un historique d'HRD, quel que soit le statut actuel. Outre les limites classiques des biomarqueurs que sont la sensibilité, la spécificité et les FP/FN, le GIS intègre les notions de temporalité et donc d'hétérogénéité temporelle, en sus de l'hétérogénéité tumorale.

Les biopsies au diagnostic reflètent une tumeur naïve de traitement ; cependant, la séquence thérapeutique va moduler le statut moléculaire des tumeurs et des métastases, pouvant conduire à des résultats discordants avec l'évaluation initiale [168–173]. Ainsi, plus une patiente sera éloignée du traitement de première ligne, plus le risque de discordance entre le GIS initial et le statut réel sera théoriquement élevé. La problématique sera d'autant plus importante lors des lignes ultérieures, puisque les tumeurs qui auront reversé leur statut HRD vers un HRP maintiendront néanmoins un GIS élevé.

Cette discordance apparente entre un statut HRD (*i.e.* *tBRCA*\* et/ou  $\text{LOH}_{\text{FM}}/\text{GIS}_{\text{MG}}$  supérieur à un seuil défini) et une inefficacité de PARPi peut être la conséquence de plusieurs mécanismes. Celui le plus caractérisé à ce jour est l'apparition de mutations de réversion de *BRCA1/2*. En effet, il a été montré que la présence de ces réversions conduisait à une résistance aux PARPi via une restauration de la fonctionnalité de la recombinaison homologue [174]. Ainsi, en se basant sur la cohorte ARIEL2, il a été montré que la présence de mutations de réversion de *BRCA1/2* directement dans le ctDNA était prédictive d'une résistance au rucaparib [175]. Fait intéressant, il apparaît que le pouvoir de réversion de *BRCA*\* n'est pas un acquis universel.

En effet, alors que l'hyperméthylation du promoteur *BRCA1* est une marque épigénétique « facilement » éliminable, les LR et pertes bi-alléliques sont considérés comme quasi-irréversibles et pourraient concourir à expliquer une réponse prolongée aux PARPi chez certaines patientes [164,176]. Par-delà *BRCA1/2*, d'autres mécanismes tels que la restauration secondaire de *RAD51C/D* ont été rapportés comme prédictifs d'inefficacité des PARPi [177].

Bien que cela dépasse largement le cadre des perspectives cliniques, notons que de nombreux mécanismes de résistance primitive/acquise aux PARPi ont été décrits (*e.g.* mutations de *PARP1*, surexpression de miRNA ou de la protéine d'efflux MDR1) sur des lignées cellulaires ou des modèles murins [178–181]. De plus, il a été proposé d'appréhender le choix entre HR et NHEJ/MMEJ comme un *continuum* intégrant l'influence épigénétique au sens large [182].

Pour complexifier davantage l'analyse, une discordance entre sensibilité aux sels de platine et aux PARPi a été mise en évidence. Celle-ci peut être la conséquence d'une résistance acquise induite par le traitement initial à base de sels de platine conduisant à une sélection/expansion des clones résistants. Cependant, un sous-ensemble spécifique de patientes Pt-S et résistantes aux PARPi a été décrite, caractérisées à l'échelle moléculaire par la présence d'une voie NER mutée [183].

En résumé, bien que la définition du statut HRD en se basant sur *BRCA\** et sur le GIS ait conduit à une amélioration substantielle du pronostic des patientes via une prescription plus personnalisée des PARPi, plusieurs dimensions nécessiteraient d'être intégrées à l'avenir afin de proposer une « médecine individualisée ».

## **X - Perspectives d'évolution concernant l'évaluation du statut HRD**

Les perspectives d'évolution des CDx afin de contrecarrer les limites précédemment discutées peuvent s'aborder selon deux versants : technique (*i.e.* quelles technologies développer ?) et médical (*i.e.* quelle approche employer selon le contexte clinique ?).

Concernant les innovations technologiques, 3 axes de recherche peuvent se dégager : de nouveaux outils moléculaires, l'utilisation de tests fonctionnels (*i.e.* tests dynamiques fournissant en « temps-réel » le statut HRD) et des approches plus globales et innovantes que nous proposerons.

L'un des principaux écueils potentiels qu'il convient de considérer vis-à-vis d'un biomarqueur développé en recherche fondamentale/translationalnelle (par-delà toute prouesse technologique et performance) est sa faisabilité en pratique clinique, en incluant les contraintes de ressources techniques et économiques.

Par exemple, des études de *metabolomics* ou encore la mise en culture de sphéroïdes ont montré que les tumeurs HRD présentent un profil spécifique ; néanmoins, ces techniques semblent difficilement extrapolables à ce jour vers une application en routine clinique [107,184]. Nous focaliserons donc notre propos sur des approches qui pourraient relativement rapidement déboucher vers une applicabilité clinique.

Plusieurs stratégies ont été développées en recherche afin de proposer des alternatives à MC-CDx et à F1-CDx, avec notamment la possibilité d'un accès plus aisé, moins onéreux et non limité à 2 entreprises privées, source de controverse [24,120,165]. En sus de ces considérations, l'idée est de pouvoir améliorer l'identification des patientes qui pourraient bénéficier des PARPi, tout en écartant celles qui n'en retireraient que les toxicités. Bien que les quelques approches décrites ci-après se basent aussi sur l'instabilité génomique (avec donc les mêmes limites que les tests actuels, au 1<sup>er</sup> rang l'aspect irréversible des *genomic scars*), elles présentent quelques caractéristiques d'intérêt.

La *signature 3* a montré une bonne corrélation tant avec le statut HRD qu'avec la sensibilité aux sels de platine [90]. L'outil *Signature Multivariate Analysis* (SigMA) permet de détecter les signatures mutationnelles associées au statut HRD directement à partir de l'analyse d'un panel de gènes ciblés ; ainsi, une évolution de ce système pourrait se baser

sur les données obtenues lors des séquençages de panels de gènes effectués en routine clinique dans le parcours des patientes [185]. *HRDetect* est basé sur le séquençage pangénomique et sur l'incorporation de 6 signatures distinctes liées au HRD ; ce test très prometteur permet de prédire avec une sensibilité proche de 100 % la présence d'un déficit en *BRCA1/2* [186]. Récemment, il a été montré que *HRDetect* surpasse le LOH<sub>FM</sub> du F1-CDx et est tout aussi efficace que GIS<sub>MG</sub> pour l'identification des tumeurs HRD [187].

Un autre domaine pertinent est l'analyse des LR ; en effet, la présence d'une amplification de *CCNE1* et *EMSY* est associée à un statut HRP et HRD, respectivement [29,71,188]. D'autres candidats, tels que la suppression de *RAD50* et de *RB1* ou encore l'amplification de *BRD4* pourraient améliorer la détection du HRD [69,189,190].

Actuellement, les mutations *HRR genes* (hormis *RAD51C/D*) fournissent des résultats contradictoires. Ceci peut être dû à une absence d'aspect prédictif ou au fait que la prévalence de ces mutations est bien plus faible que *BRCA\**. Ainsi, pouvoir tirer des différences significatives impliquerait un recrutement de patientes plus large ou ciblé spécifiquement sur l'altération des *HRR genes* hors-*BRCA*. A ce titre, l'étude GREAT (NCT04027868) portée par le groupe GINECO et dont le rationnel est le développement d'une base clinicobiologique en vue d'effectuer une corrélation entre caractéristiques cliniques (dont la progression sous PARPi) et altérations génomiques pourrait permettre d'y répondre en partie. De plus, une autre hypothèse d'intérêt semble être l'aspect clonal *vs* sous-clonal de ces mutations ; il a été récemment montré que les mutations dans les *HRR genes* n'étaient associées à une platino-sensibilité et à une augmentation de l'OS que si elles étaient clonales [191].

Sur le versant épigénétique, les profils de méthylation de *BRCA1* et dans une moindre mesure de *BRCA2* ne devraient pas être négligés, bien qu'ils ne soient pas systématiquement examinés. Comme discuté précédemment, la fréquence de méthylation de ces gènes est loin d'être anecdotique, cependant une harmonisation des pratiques et une standardisation des processus techniques s'avérerait nécessaire pour déployer cette approche en routine. Il en va de même pour la méthylation du promoteur de *RAD51C*, associée à la sensibilité aux PARPi, qui doit cependant être homozygote pour conduire à ce phénotype [192]. Plusieurs études ont évalué les méthylomes des HGSOc et ont révélé des profils de méthylation distincts liés à un statut Pt-S ou inversement à une résistance primitive/acquise ; ceux-ci pourraient constituer des biomarqueurs putatifs à évaluer dans le cadre de PARPi [193–195].

Contrairement à l'évaluation des causes et/ou des conséquences du HRD, les tests fonctionnels ont pour rationnel l'évaluation directe du processus lui-même. Ainsi, ils portent en eux un intérêt potentiel majeur, permettant d'outrepasser certaines limites des tests actuels (*e.g.* mutations de réversion, *genomic scars* irréversibles).

De manière analogue aux tests évaluant le GIS et faisant donc abstraction des causes (ou en d'autres termes contourner la question « telle altération moléculaire provoque-t-elle assurément un phénotype HRD ? »), les tests fonctionnels font abstraction à la fois des causes et des conséquences et se focalisent spécifiquement sur l'état fonctionnel ou non de la recombinaison homologue sur un échantillon donné. Notons dès lors qu'à l'instar des CDx actuels, ces tests ne prédisent pas par définition une éventuelle résistance aux PARPi via un mécanisme *HRD-unrelated*.

L'une des techniques à plus fort potentiel d'applicabilité en pratique clinique est le *REcombination Test CAPacity* (RECAP) [196]. Pour rappel, lorsqu'un DSB se produit, celui-ci peut se résoudre par un mécanisme HR ; dans ce cas, la protéine RAD51 (qui est une des effectrices en aval de BRCA1/2) va venir se fixer sur les DSB afin de faciliter l'invasion des chromatides sœurs. Ainsi, la formation des « *RAD51 foci* » peut être mesurée, fournissant une évaluation directe du processus et de sa dysfonction (quelle qu'en soit la cause). L'évaluation du statut HRD via cette approche a été initialement développée *in cellulo* puis par des approches de xéno greffes, dans le but de prédire la sensibilité des patientes aux sels de platine et aux PARPi [197–200]. L'un des principaux inconvénients du test RECAP classique était qu'il nécessitait du tissu frais comme matériau de départ, ainsi que l'induction artificielle de DSB puis la visualisation de la formation des *RAD51 foci*, limitant ainsi son applicabilité. Cependant, en se basant sur le fait que les cellules tumorales HRD présentent un niveau spontané élevé de DSB, une évolution de ces tests a récemment émergé. Un test optimisé (RAD51-FFPE) a été développé, réalisable directement sur des tissus FFPE [201–203]. Un seuil fonctionnel d'HRD a été proposé, permettant de détecter les tumeurs *BRCA\** et HRD dans 90 % et 87 % des cas, respectivement. La prochaine étape sera donc son évaluation clinique via un RCT afin d'évaluer ses performances en tant que biomarqueur prédictif.



Pour ce qui est des projets de recherche translationnelle, quelques pistes d'intérêt méritent d'être soulevées.

Au-delà de la focalisation sur un seul type d'altérations, il pourrait être pertinent de rechercher et développer une carte d'identité du HRD selon une approche « *multiomics* » (*i.e.* intégrant les données de génome/exome, LR, transcriptome, miRNome, protéome, méthylome et protéome) et fonctionnelle, dans la même dynamique que les données du TCGA mais centrée sur le statut HRD ; ceci permettrait dans un second temps de caractériser de manière plus fine le processus et de rechercher de nouveaux sets de biomarqueurs corrélés positivement [204,205]. A partir de cette 1<sup>ère</sup> étape, il serait ensuite possible de développer un outil multi-entrées fait de biomarqueurs distincts à forte valeur prédictive, afin de proposer selon une approche de type nomogramme moléculaire une probabilité d'efficacité des PARPi [206–209].

Le séquençage du ctDNA, déjà validé par le test FoundationOne-Liquid CDx®, permet une évaluation directe du statut *tBRCA\** [210]. L'analyse itérative de *BRCA1/2* dans le ctDNA pourrait ainsi fournir des données sur la résistance primitive ou acquise aux PARPi selon la présence de mutations de réversion, comme ceci a déjà été montré [146,175]. L'essai ARIEL4 (NCT02855944) discuté ci-après a tenté en partie d'intégrer cette considération.

Toujours en ce qui concerne les « biopsies liquides », une méthode qui pourrait être pertinente serait l'évaluation de l'instabilité génomique directement dans un prélèvement sanguin. Bien que non faite actuellement sur ctDNA via le FoundationOne-Liquid CDx®, quelques articles ont déjà montré la faisabilité technique d'évaluation des LR sur sang [211–213]. Il en va de même pour les miRNA, pour lesquels des signatures moléculaires associées au diagnostic précoce d'EOC et au pronostic ont été développées ; ainsi ils pourraient servir de biomarqueurs pour évaluer le statut HRD [214–217]. Enfin, l'ascite présente chez de nombreuses patientes atteintes d'HGSOC pourrait être une source de cellules tumorales analysables, d'accès plus facile qu'une biopsie classique [218]. Globalement, les biopsies liquides pourraient constituer une méthode facile à utiliser pour le prélèvement itératif [219].

En proposant une approche plus translationnelle teintée d'une perspective médicale, plusieurs pistes de réflexion peuvent aussi être déployées.

À l'échelle des patientes porteuses d'HGSOC, plusieurs nomogrammes ont été développés, visant à aider les cliniciens à avoir une estimation du pronostic et de la platino-sensibilité [220–224]. De plus, un nomogramme a aussi été validé pour évaluer la réponse à l'olaparib chez les patientes avec un EOC en rechute et éligibles à un traitement de maintenance par olaparib [225]. Ceci ouvre donc la voie à développer et valider des nomogrammes « histobiocliniques » intégrant données histologiques, moléculaires et cliniques, ceci pour une prescription plus individualisée des PARPi. Dans cette dynamique, il a été rapporté sur le plan histologique des niveaux plus élevés d'infiltration par des lymphocytes T CD8+ en contexte *gBRCA\**; de plus, les patientes HGSOC avec HRD ont des taux d'infiltrat tumoral par des lymphocytes T CD3+ plus élevés [226].

Bien qu'actuellement limités à la recherche, les approches de *radiomics* et de *deep learning* pourraient aider les cliniciens à encore améliorer la prise en charge des HGSOC dans un avenir proche [227,228].

De manière plus ciblée, des approches distinctes sont à considérer selon que nous sommes en situation de maintenance 1<sup>ère</sup> ligne ou au-delà, dans la perspective de proposer une meilleure sélection des patientes pouvant tirer le maximum de bénéfice des PARPi.

La question du choix entre évaluation du *gBRCA* et/ou du *tBRCA* et ou du statut HRD directement sera discuté ultérieurement, tout comme les questions relevant du contexte français spécifiquement.

### Concernant la 1<sup>ère</sup> ligne :

Les CDx nécessiteraient une amélioration des *pipelines* afin de proposer une analyse plus approfondie des LR, qui de fait représentent une partie non négligeable des altérations *BRCA1* et *BRCA2* ; notons tout de même qu'avec une approche de type MC-CDx, la non détection d'un LR est tout de même compensée par un GIS<sub>MG</sub> élevé, permettant de classer l'échantillon comme HRD [65,229].

L'évaluation du statut HRD devrait à l'avenir considérer le type d'altération *BRCA1/2* retrouvée et son aspect prédictif sur l'efficacité des PARPi. En effet, une dichotomie est proposée actuellement selon un statut muté pathogène *vs wild-type*. Cependant, comme ceci a été montré pour *BRCA2*, toutes les mutations ne sont pas « égales » [163]. Ceci nécessiterait de prime abord un travail de recherche translationnelle afin d'évaluer l'aspect prédictif des mutations de *BRCA1/2*, selon le domaine fonctionnel protéique touché.

L'intégration des signatures épigénétiques (miRNA, protéome et transcriptome) nécessiterait une standardisation avant de pouvoir être mise en application clinique, notamment au vu de l'aspect dynamique de celles-ci.

Comme discuté précédemment, l'approche *magic 42* conduit à un dilemme pour de nombreux cliniciens dans la perspective de prescription de PARPi en contexte *BRCA<sup>wt</sup>* : par-delà les AMM et les recommandations, quelle stratégie adopter face à un GIS<sub>MG</sub> de 40 ? ou inversement de 44 ?

Évidemment, la notion de seuil est un prérequis pour la pratique clinique. Cependant, alors que pour des valeurs biologiques de routine telles que la numération sanguine, la créatininémie ou encore le dosage des marqueurs tumoraux le contexte clinique jouit d'une certaine importance, le seuil proposé ici n'autorise pas ceci pour le clinicien. De plus, l'approche *one size fits all* qui dans le cas du GIS<sub>MG</sub> était fondée sur une cohorte mixte d'EOC et de cancers du sein pourrait être approfondie, avec une adaptation du seuil selon la situation clinique, voire une approche plus nuancée comme un score de probabilité.

Pour les 5-10 % d'échantillons pour lesquels un score GIS<sub>MG</sub> univoque n'est pas obtenu, il apparaît nécessaire que des biomarqueurs supplémentaires soient développés et validés pour la pratique clinique. Nous pourrions par exemple proposer l'ajout de l'évaluation de l'amplification *EMSY*, responsable d'environ 5 % des cas. Inversement, par-delà la définition des patientes éligibles aux PARPi, l'utilisation de biomarqueurs avec une excellente

valeur prédictive négative pourrait être déployée. L'amplification *CCNE1* en représente l'archétype, puisqu'il s'agit d'un *driver* oncogénique retrouvé dans environ 20 % des HGSOc et quasi-exclusivement associé à un statut HRP [29,72].

Fait intéressant, en sus d'être prédictif d'une sensibilité aux PARPi, l'évaluation du statut HRD pourrait également être utile pour aider à la décision de prescription du bevacizumab. En effet, même si en population globale l'ajout du bevacizumab au doublet de chimiothérapie classique n'augmente pas l'OS, les patientes avec des mutations de *BRCA1/2* et mêmes celles avec un statut HRD semblent en bénéficier [230].

Bien que très prometteurs, les tests RAD51-FFPE nécessiteront une validation en essai clinique comme biomarqueurs prédictifs puis d'un déploiement au sein des plateformes d'anatomopathologie [202].

Idéalement, il pourrait être pertinent de développer un nomogramme intégrant des données cliniques/pathologiques (*i.e.* stade FIGO, réponse complète ou partielle au platine, chirurgie de cytoréduction complète ou non) et biologiques (*i.e.* statut *gBRCA/tBRCA*, type de mutation, présence de mutations de réversion,  $GIS_{MG}$ /  $LOH_{FM}$ , normalisation du [CA-125], marqueurs épigénétiques, tests fonctionnels), de manière analogue au *HScore* utilisé en pratique clinique afin d'aider les cliniciens à estimer le risque individuel de syndrome d'activation macrophagique [231]. Citons aussi le *CA-125 ELIMination rate constant K (KELIM)*, consistant en une modélisation de la cinétique d'évolution du [CA-125] durant les premiers cycles de chimiothérapie de 1<sup>ère</sup> ligne, permettant de prédire l'efficacité de celle-ci [232].

Enfin, dans une dynamique temporelle, il semblerait pertinent de considérer une évaluation itérative de la présence de mutations de réversion de *tBRCA* par des moyens non invasifs tels que le ctDNA, dans une perspective de détection précoce de l'apparition d'une résistance aux PARPi. En effet, l'utilisation des PARPi en 1<sup>ère</sup> ligne est actuellement recommandée pour une durée de 2 ans pour l'olaparib et de 3 ans pour le niraparib. Ces molécules ont un impact non négligeable sur les patientes, que ce soit en termes de qualité de vie ou de toxicité hématologique du traitement, avec notamment un risque majoré de syndrome myélodysplasique [233,234]. Ceci permettrait donc de considérer l'arrêt précoce de la course thérapeutique en contexte d'apparition d'une mutation de réversion.

## Concernant la 2<sup>nde</sup> ligne et au-delà :

Les PARPi ne nécessitent actuellement pas d'altération moléculaire préalable à leur prescription en 2<sup>nde</sup> ligne (hormis l'olaparib en France, *cf. infra*). Ceci soulève deux hypothèses principales (non mutuellement exclusives) : soit le statut HRD est futile (ou mal évalué) dans ce contexte, soit les PARPi exercent des fonctions *HRD-unrelated*.

Un nomogramme a été validé récemment pour les patientes avec *tBRCA\** afin de guider la prescription de l'olaparib, par-delà l'AMM ; celui-ci inclut le [CA-125], le PFI, la présence d'une maladie mesurable et le nombre de lignes reçues de sels de platine [235]. Dans cette dynamique, nous pourrions considérer un nomogramme plus exhaustif, intégrant le type d'altération *BRCA1/2* (avec notamment l'aspect prédictif de la mutation) et d'autres biomarqueurs dynamiques.

Par ailleurs, il apparaît plus que nécessaire d'intégrer des considérations évolutives avec la recherche de mutations de réversion sur le ctDNA ou via les *RAD51 foci*.

Cette perspective évolutive devrait également être considérée vis-à-vis des scores d'instabilité génomique que sont le LOH<sub>FM</sub> et le GIS<sub>MG</sub>. En effet, il a été récemment montré en se basant sur les données du TCGA que le GIS<sub>MG</sub> et ses constituants tendaient à augmenter entre maladie initiale et en rechute [236]. Par conséquent, l'analyse de la dynamique du GIS pourrait permettre de déceler les patientes présentant un statut HRD persistant (*i.e.* celles avec une augmentation du GIS entre biopsie initiale et à la rechute).

En ce qui concerne les traitements de 3<sup>ème</sup> ligne et au-delà, une analyse plus approfondie de la corrélation entre le type d'altération *BRCA1/2* et la sensibilité aux PARPi est nécessaire, puisque l'ORR est loin d'être absolu en dépit d'un statut muté [119]. Dans ces contextes, d'après l'étude QUADRA, le GIS<sub>MG</sub> apparaît plus anecdotique, notamment en contexte *BRCA<sup>wt</sup>*.

Enfin, dans une perspective de recherche clinique, il conviendra de reconsidérer les outils actuels et à venir à l'aune des nouvelles stratégies thérapeutiques.

Bien qu'une revue exhaustive des RCT en cours ou récemment publiés évaluant les PARPi dans les HGSOc dépasse la thématique de ce manuscrit, soulevons quelques axes.

Tout d'abord, l'essai de phase IIIb OReO ENGOT-Ov-38 (NCT03106987) s'est intéressé à la pertinence d'un retraitement d'entretien par olaparib *vs* placebo (ratio 2:1) ; les résultats ont été présentés au congrès de l'ESMO 2021 [237]. 220 patientes lourdement prétraitées ont été recrutées et séparées en 2 cohortes selon le statut *BRCA*\* : 112 *BRCA*\* (74 olaparib et 38 placebo), tandis que 108 patientes étaient *BRCA*<sup>wt</sup> (72 olaparib et 36 placebo). Fait intéressant, cet essai a rapporté des résultats positifs quel que soit le statut mutationnel de *BRCA1/2*. En contexte *BRCA*\*, la PFS médiane était de 4,3 *vs* 2,8 mois (HR 0,57 ; IC95 0,37-0,87 ; p = 0,022), tandis que pour la cohorte *BRCA*<sup>wt</sup> elle était de 5,3 *vs* 2,8 mois (HR 0,43 ; IC95 0,26-0,71 ; p = 0,002). Ce travail princeps ouvre donc la voie au «*PARPi rechallenge*» et nécessitera certainement de réadapter les biomarqueurs existants.

L'essai ARIEL4 (NCT02855944) tout récemment publié a pour sa part montré la supériorité du rucaparib *vs* chimiothérapie chez des patientes atteintes d'EOC *tBRCA*\* en rechute et ayant reçu au moins deux lignes de chimiothérapie [238]. Les patientes pouvaient être Pt-S ou Pt-R. En cas de statut Pt-R ou de sensibilité partielle, les patientes recevaient du paclitaxel alors qu'en situation de Pt-S authentique, le traitement était une mono- ou bi-thérapie à base de sels de platine. 930 patientes ont été évaluées pour *BRCA* et 349 patientes ont été randomisées (2:1 ; rucaparib n = 233 ; chimiothérapie standard n=116). Les co-CJP étaient la PFS dans la population sans mutation de réversion *tBRCA*\* (rucaparib n = 220 ; chimiothérapie n = 105) et dans la population entière. Les 2 CJP se sont retrouvés statistiquement améliorés, avec 7,4 *vs* 5,7 mois (HR 0,64 ; IC95 0,49-0,84 ; p = 0,0010) en excluant les mutations de réversion et 7,4 *vs* 5,7 mois (HR 0,67 IC95 0,52-0,86 ; p = 0,0017) en population entière. Cet essai, contrairement aux précédents au-delà de la 2<sup>nd</sup>e ligne qui étaient monobras, a ainsi directement comparé un PARPi à une chimiothérapie. Il ouvre ainsi la voie au traitement direct par PARPi (ici le rucaparib) en contexte d'EOC en rechute.

Les premiers essais d'immunothérapie via les inhibiteurs de *checkpoint* immunitaire (ICPI) avaient donné des résultats mitigés, que ce soit en monothérapie ou en combinaison à de la chimiothérapie [239]. Néanmoins, de multiples RCT sont actuellement en cours de recrutement, basés notamment sur une combinaison de PARPi et d'ICPI : citons notamment le RCT de phase III ATHENA (NCT03522246) [240]. Cet essai concerne les patientes en 1<sup>ère</sup> ligne de maintenance et se décompose en 2 évaluations indépendantes : ATHENA-MONO (rucaparib *vs* placebo) et ATHENA-COMBO (nivolumab + rucaparib *vs* placebo + rucaparib). Les résultats positifs d'ATHENA-MONO, retrouvant dans la population HRD une PFS de 28,7 mois pour le rucaparib *vs* 11,3 mois pour le placebo ( $p = 0,0004$ ) viennent d'être communiqués par ClovisOncology et devraient être présentés au congrès de l'ASCO 2022 [241]. Ceci pourrait conduire à terme à positionner le rucaparib en 1<sup>ère</sup> ligne de maintenance. L'essai à 3 bras DUO-O (NCT03737643), toujours en 1<sup>ère</sup> ligne de maintenance, cherche à évaluer l'efficacité de l'adjonction de durvalumab + niraparib (*vs* durvalumab + placebo *vs* double placebo) à une maintenance classique par bevacizumab, spécifiquement chez des patientes *tBRCA<sup>w</sup>*. 2 co-CJP seront utilisés : la PFS en population entière et spécifiquement chez les patientes avec un statut HRD.

L'essai PAOLA1 avait comparé le bevacizumab + olaparib au bevacizumab + placebo ; il ne contenait cependant pas de 3<sup>ème</sup> bras olaparib + placebo (ce qui aurait permis d'évaluer l'impact direct d'une adjonction du bevacizumab). L'essai NIRVANA1 (NCT05183984) permettra d'y répondre d'une certaine manière, puisqu'il comparera le niraparib + bevacizumab *vs* niraparib + placebo en traitement d'entretien de 1<sup>ère</sup> ligne des patientes atteintes d'EOC avancé tout statut HRD inclus, en réponse complète après un traitement initial par chirurgie + chimiothérapie +/- bevacizumab, avec comme CJP la PFS.

L'approche de proposition d'une seconde chirurgie de cytoréduction lors de la 1<sup>ère</sup> rechute fait partie du panel thérapeutique qu'il est possible de proposer à certaines patientes [10,11]. Jusqu'alors, les études de 2<sup>nde</sup> ligne et au-delà avaient proposé une séquence par chimiothérapie +/- PARPi. L'étude MITO35B (NCT05255471) recrute des patientes en rechute après une 1<sup>ère</sup> ligne classique (chirurgie, chimiothérapie, PARPi) et ayant reçu une 2<sup>nde</sup> chirurgie ; l'objectif est de comparer selon la PFS l'olaparib *vs* une chimiothérapie classique (*i.e.* doublet à base de sels de platine) au décours de cette chirurgie.

Enfin, dans une perspective de contrecarrer la résistance primaire ou acquise aux PARPi, de nouvelles combinaisons de molécules sont à l'œuvre [242]. Le rationnel ici serait de sensibiliser les tumeurs HRP ou de « resensibiliser » les tumeurs initialement HRD et qui ont adopté évolutivement un phénotype HRP. Pour exemple, l'essai de phase II EUDARIO (NCT03783949) évalue l'intérêt du ganetespib (qui est un inhibiteur de HSP90 conduisant à une sensibilisation des cellules HRP aux PARPi) +/- du niraparib chez des patientes en rechute d'EOC. Notons que la majorité des essais actuels sont de phase I/II.

Ainsi, une multiplicité de perspectives thérapeutiques sont à l'œuvre, dont certaines intègrent pleinement une évaluation de *BRCA* et/ou du statut HRD.



## XI - Contextualisation à la situation française : synthèse des AMM

Comme ceci a pu être observé dans d'autres localisations cancéreuses ainsi qu'en dehors du monde de l'Oncologie, une autorisation de l'EMA n'est pas nécessairement synonyme d'avis positif au remboursement par la Haute Autorité de Santé (HAS). Par ailleurs, les indications exactes de remboursement peuvent varier entre EMA et HAS, comme ceci existe entre EMA et FDA. De manière synthétique, il existe actuellement (au 31<sup>er</sup> mars 2022) des particularités françaises pour le remboursement des PARPi dans les EOC (**tableau 3**).

Altération requise	EOC avancé Maintenance de 1 <sup>ère</sup> ligne <sup>1</sup>	EOC en 1 <sup>ère</sup> rechute Maintenance de 2 <sup>nde</sup> ligne <sup>2</sup>
tBRCA*	Olaparib <sup>3</sup> (EMA 2019 ; HAS 2019)	Olaparib (EMA 2018 ; HAS 2015)
HRD+	Olaparib + bevacizumab (EMA 2020 ; HAS 2021)	
Aucune	Niraparib (EMA 2020 ; HAS 2021)	Niraparib (EMA 2017 ; HAS 2018) Rucaparib (EMA 2019 ; HAS 2019)

### Tableau 3 : synthèse des remboursements validés par la Haute Autorité de Santé

Abréviations : AMM = autorisation de mise sur le marché ; EMA = *European Medicine Agency* ; EOC = cancer épithélial de l'ovaire (y compris les cancers primitifs du péritoine et des trompes de Fallope, sauf mention contraire) ; HAS = Haute Autorité de Santé ; HRD+ = présence d'un déficit en recombinaison homologue (*tBRCA\** et/ou instabilité génomique) ; *tBRCA\** = présence d'une mutation tumorale (germinale ou somatique) de *BRCA1* ou *BRCA2*.

Remarques : Les dates entre parenthèses correspondent aux années d'AMM de l'EMA puis d'avis favorable au remboursement par la HAS. Pour plus de clarté, l'autorisation la plus large est présentée ici.

<sup>1</sup> Les patientes doivent être en réponse complète/partielle à une chimiothérapie à base de sels de platine. <sup>2</sup> Les patientes doivent être en réponse complète/partielle à une chimiothérapie à base de sels de platine et platino-sensibles. <sup>3</sup> Cette autorisation est limitée aux cancers de l'ovaire uniquement et ne mentionne pas expressément la notion de haut grade.

Concernant le traitement de maintenance de 1<sup>ère</sup> ligne :

- l'olaparib est remboursé « pour les cancers de l'ovaire avec une mutation de *BRCA1/2* » (avis du 11/12/2019) d'après l'essai SOLO1 ; ce remboursement ne se restreint pas à l'histologie épithéliale mais se borne aux primitifs ovariens.
- l'olaparib en association au bevacizumab est remboursé « pour le traitement d'entretien des patientes adultes atteintes d'un cancer épithélial avancé (stades FIGO III et IV) de haut grade de l'ovaire, des trompes de Fallope ou péritonéal primitif et qui sont en réponse partielle ou complète à une 1<sup>ère</sup> ligne de traitement associant une chimiothérapie à base de platine au bevacizumab et dont le cancer est associé à un statut positif de la déficience en recombinaison homologue (HRD), défini par une mutation des gènes *BRCA1/2* et/ou une instabilité génomique » (avis du 07/04/2021), d'après l'essai PAOLA1. Comme pour l'AMM de l'EMA, il n'est pas fait référence spécifiquement ici à un type de test permettant d'évaluer l'instabilité génomique. Actuellement, cette combinaison est prise en charge au titre de l'accès précoce (article L.162-16-5-1 du Code de la Sécurité sociale).
- le niraparib est remboursé pour « pour le traitement d'entretien de patientes adultes atteintes d'un cancer épithélial avancé (stades FIGO III et IV) de haut grade de l'ovaire, des trompes de Fallope ou péritonéal primitif, qui sont en réponse (réponse complète ou partielle) à une première ligne de chimiothérapie à base de platine » (avis du 03/03/2021) d'après l'essai PRIMA.

Pour la monothérapie de maintenance en 2<sup>nde</sup> ligne, les remboursements sont :

- l'olaparib « pour le traitement d'entretien des patientes adultes atteintes d'un cancer épithélial sévère de haut grade de l'ovaire, des trompes de Fallope ou péritonéal primitif, récidivant et sensible au platine avec une mutation du gène BRCA (germinale et/ou somatique) et qui sont en réponse (complète ou partielle) à une chimiothérapie à base de platine » (avis du 03/06/2015) d'après l'essai SOLO2. Notons ici une divergence avec les AMM de la FDA et de l'EMA, qui n'étaient soumises à aucun prérequis moléculaire. Selon la HAS, le remboursement se restreint aux patientes présentant un statut mutationnel *tBRCA\**.
- Le niraparib « en monothérapie pour le traitement d'entretien de patientes adultes atteintes d'un cancer épithélial sévère de haut grade de l'ovaire, des trompes de

Fallope ou péritonéal primitif, sensible au platine et récidivant, qui sont en réponse (complète ou partielle) à une chimiothérapie à base de platine » (avis du 13/06/2018) d'après l'essai NOVA.

- Le rucaparib « en monothérapie pour le traitement d'entretien de patientes adultes atteintes d'un cancer épithélial de l'ovaire, de la trompe de Fallope ou péritonéal primitif, de haut grade, récidivant, sensible au platine, qui sont en réponse (complète ou partielle) à une chimiothérapie à base de platine » (avis du 09/10/2019) d'après l'essai ARIEL3.

Au-delà de la 2<sup>nd</sup>e ligne, l'olaparib et le niraparib n'avaient reçu qu'un aval de la FDA. Concernant le rucaparib, alors que l'EMA avait donné son feu vert, la HAS a considéré dans son avis du 09/10/2019 que l'intérêt clinique était insuffisant pour justifier son remboursement dans l'indication « traitement de 3<sup>e</sup> ligne ou plus chez des patientes avec une mutation du gène BRCA après deux lignes antérieures ou plus de chimiothérapie à base de platine et qui ne peuvent pas tolérer une autre chimiothérapie à base de platine ».

Ainsi, la situation actuelle permet une prescription de PARPi en 1<sup>ère</sup> et 2<sup>nd</sup>e lignes de traitement d'entretien pour toutes les patientes avec HGSOE et étant en C/PR, avec la nuance pour la seconde ligne de présenter une platino-sensibilité. Le panel de molécules disponibles permet quel que soit le statut de la patiente d'avoir au moins accès à une des molécules. Néanmoins, bien qu'une patiente avec un statut HRP puisse bénéficier du niraparib en 1<sup>ère</sup> ligne, la pertinence de cette prescription sera à considérer au vu gain modéré sur la PFS, à mettre en balance avec les toxicités non négligeables des PARPi [233,234]. Cet aspect a été mis en exergue dans les recommandations internationales de l'ESMO et plus récemment dans des recommandations nationales [25,27].

La prochaine section discutera donc de l'articulation entre remboursements des molécules, pertinence de leur prescription et évaluation du statut HRD (*BRCA* et GIS).

## XII – *BRCA*, HRD et PARPi : quelle stratégie en France ?

Concernant la prise en charge au diagnostic, plusieurs paramètres nécessitent d'être considérées. L'évaluation du statut HRD (par la recherche de mutations de *BRCA1/2* et/ou via le MC-CDx) est devenue un fait incontournable de la prise en charge initiale des patientes atteintes de HGSOc, validée par les recommandations internationales [21,24,25,30].

La première question à se poser est de savoir quelle analyse effectuer initialement, entre donner la priorité à une recherche germinale et/ou tumorale (couplée ou non à l'évaluation systématique du statut HRD).

A ce titre, plusieurs stratégies sont possibles :

La 1<sup>ère</sup> (holistique), la plus coûteuse et mobilisatrice en termes de ressources humaines consista à lancer en parallèle une analyse *gBRCA\** et *tBRCA\** +/- GIS. Celle-ci présente l'avantage de l'exhaustivité et de contourner les limites inhérentes à chaque technique isolée.

La 2<sup>nde</sup> (du germinale au somatique) consiste à privilégier de prime abord un séquençage de *gBRCA* et d'aller secondairement à une analyse du statut *tBRCA* +/- GIS. Pour rappel, l'analyse de *gBRCA\** représente le *gold standard*, notamment en termes de qualité d'ADN et de possibilité de détection des LR. Par ailleurs, la détection de *gBRCA\** implique en aval la mise en place de mesures prophylactiques, que ce soit pour la patiente et pour ses apparentés. Cependant, ceci implique une contrainte de temps et logistique, puisqu'il y a une nécessité d'accès au parcours de soin en Oncogénétique et en plateforme de Biologie Moléculaire. Pour information, le circuit standard nécessitait environ 28 semaines en France en 2019 (*i.e.* circuit comprenant : obtention d'un rendez-vous en consultation d'oncogénétique, prélèvement, analyse, rendu des résultats) [243]. Notons qu'il existe une possibilité de circuit rapide en 1-2 mois, appelé *fast-track process*. De plus, l'approche sans « *a priori* » mutationnel des gènes *BRCA1/2* implique un séquençage et une analyse de l'entièreté de leur séquence. Pour rappel, environ 5-10 % des mutations de *BRCA1/2* sont exclusivement somatiques et l'absence de *gBRCA\** n'écarte pas pour autant un statut HRD, puisque les *BRCAness* constituent approximativement 20 % des cas.

La 3<sup>ème</sup> (du tumoral au germinale) consiste cette fois à privilégier une analyse tumorale 1<sup>ère</sup> +/- couplée à une analyse germinale dans un 2<sup>nd</sup> temps. L'idée ici est d'axer premièrement sur l'aspect théranostique du prélèvement tumoral et de proposer dans un 2<sup>ème</sup> temps une analyse germinale en cas de découverte de *tBRCA\**. Les limites sont cependant multiples (*i.e.* qualité et quantité du prélèvement tumoral variables, difficulté de détection des LR) . Ainsi, il est possible de passer à côté d'une authentique mutation *gBRCA\**, notamment en cas de LR. Ce risque existe aussi en se fiant uniquement à l'histoire familiale pour discerner une affection héréditaire d'une sporadique ; en effet, il a été estimé qu'en moyenne 40 % (8-77 % selon les études) des patientes au diagnostic d'EOC et porteuses d'une mutation *gBRCA\** ne présentaient pas d'histoire familiale ni ne rentraient dans les critères d'orientation vers un conseil génétique [34]. En revanche, en considérant le critère de fluidité des parcours de soins, l'approche tumorale 1<sup>ère</sup> permet d'effectuer un *screening*. En cas de découverte de mutation *tBRCA\**, une orientation systématique vers un conseil génétique s'avère nécessaire selon l'Article L1130-2 du Code de la Santé Publique (version en vigueur au 04 août 2021). Toujours selon ce même article « la personne est informée de la possibilité d'une telle orientation avant la réalisation d'un examen destiné à analyser ses caractéristiques génétiques somatiques et susceptible de révéler des caractéristiques génétiques constitutionnelles ».

Concernant l'évaluation du statut HRD par une analyse de l'instabilité génomique, notons que seul le test MC-CDx est proposé actuellement. Ainsi, l'analyse du GIS<sub>MG</sub>, peut s'élaborer selon 2 stratégies possibles qui ont été déployées dans différents laboratoires français : une approche en parallèle ou en séquentiel. L'approche en parallèle consiste à effectuer l'analyse de *BRCA1/2* sur site et à envoyer le prélèvement pour test du GIS<sub>MG</sub> à MyriadGenetics. La seconde approche consiste à n'envoyer un prélèvement à MyriadGenetics qu'en cas de statut *tBRCA<sup>wt</sup>*, afin de s'assurer que la patiente ne présente pas de statut *tBRCA<sup>wt</sup>/HRD* (qui pourrait la faire bénéficier d'un PARPi pour la 1<sup>ère</sup> ligne de maintenance).

Ce dernier point, à savoir l'envoi de lames blanches de prélèvements tumoraux directement en vue d'une analyse externalisée par MyriadGenetics a été source de controverses à de nombreux égards. La technologie d'évaluation du GIS<sub>MG</sub> étant actuellement la propriété exclusive de MyriadGenetics, il s'avère obligatoire de faire appel à leur expertise.

Cette approche est non faisable *in situ* actuellement et a un coût non négligeable (4040\$ aux USA). Ainsi, AstraZeneca a mis en place depuis l'obtention de l'ATUc de la combinaison bevacizumab + olaparib en 1<sup>ère</sup> ligne de maintenance un parcours d'envoi et de prise en charge à titre gracieux du test HRD de MyriadGenetics.

Cette situation a conduit le 7 décembre 2020 à la publication d'une lettre commune du Groupe Francophone de Cytogénomique Oncologique (GFCO), de la Société Française de Pathologie (SFP), du Conseil National Professionnel d'Anatomie et Cytologie Pathologiques (CNPath) et des laboratoires d'oncogénétique labellisés par l'INCa à publier un communiqué vis-à-vis de la mise à disposition de ces tests.

Les points d'intérêt soulevés sont les suivants :

- Le test myChoice CDx PLUS® de MyriadGenetics correspond à un acte partagé de biologie médicale et d'anatomocytopathologie. De fait, bien que MyriadGenetics sous-traite les phases analytiques et post-analytiques, le Biologiste/Pathologiste reste responsable de l'analyse dans sa globalité selon la réglementation en vigueur. Il ne dispose cependant d'aucun élément de contrôle sur la régularité de l'ensemble des processus concourant aux résultats de l'analyse. Une possibilité de gestion de cette problématique réside dans la mise en place d'une convention de sous-traitance.

- Par ailleurs, alors que le test initial commercialisé était le myChoice CDx ® (évaluant *BRCA1/2* et le GIS<sub>MG</sub>), un *upgrade* automatique vers le myChoice CDx PLUS® (effectuant en sus une analyse de 13 gènes supplémentaires : *ATM, BARD1, BRIP1, CDK12, CHEK1, CHEK2, FANCL, PALB2, PPP2R2A, RAD51B, RAD51C, RAD51D* et *RAD54L*) a été effectué. De fait, l'*upgrade* de ce CDx correspond à l'AMM de la FDA pour l'olaparib dans le cancer de la prostate résistant à la castration ayant progressé sous enzalutamide ou abiraterone ; en effet, cette prescription est soumise à la présence d'une mutation dans un de ces *HRR genes*. De fait, l'analyse dans le contexte d'un EOC n'est pas liée à l'AMM de l'olaparib + bevacizumab. Par ailleurs, l'analyse systématique de *BRCA1/2* n'a pas lieu d'être au vu de la faisabilité dans les laboratoires français. Ceci a conduit à un compte-rendu se restreignant au score HRD.

Concernant la non-faisabilité du test en dehors des laboratoires de MyriadGenetics, plusieurs stratégies sont à l'œuvre :

- Développer des tests analogues, notamment en faisant appel aux ressources humaines et financières publiques. Un consortium européen est actuellement constitué afin de proposer une évaluation de l'instabilité génomique sans être soumis à une délégation de tâche.
- Déployer directement le test propriétaire de MyriadGenetics, afin de pouvoir réaliser celui-ci en Europe, avec un *workflow* plus fluide et un maintien du parcours via des institutions publiques européennes. Cette approche a déjà été effectuée au laboratoire de Pathologie Moléculaire du Professeur Carsten Denkert à Marburg en Allemagne.
- Intégrer la patiente au sein d'un essai clinique. Comme discuté précédemment, l'étude de cohorte GREAT, ayant pour ambition d'évaluer les caractéristiques cliniques des patientes avec un EOC selon la présence d'altérations moléculaires, inclut une évaluation du statut HRD.

Les différents avantages et inconvénients de chaque stratégie ayant été abordés, intéressons-nous à la stratégie recommandée selon les différentes instances.

#### Positionnement des recommandations américaines :

Selon les recommandations de l'ASCO *Germline and Somatic Tumor Testing in Epithelial Ovarian Cancer : ASCO Guideline* (2019) [30] : « toutes les femmes diagnostiquées avec un EOC devraient se voir proposer un test génétique germlinal pour *BRCA1/2* et d'autres gènes de susceptibilité au cancer de l'ovaire, quelles que soient leurs caractéristiques cliniques ou leurs antécédents familiaux de cancer » et « l'analyse des tumeurs pour les variants somatiques de *BRCA1/2* pathogènes ou probablement pathogènes doit être effectué chez les femmes qui ne sont pas porteuses d'un variant *BRCA1/2* pathogène ou probablement pathogène de la lignée germinale ». Ceci doit être fait « au moment du diagnostic » et pour celles « qui n'ont pas bénéficié de test de lignée germinale au moment du diagnostic » elles «devraient se voir proposer un test génétique de la lignée germinale dès que possible ». A noter que cette recommandation avançait « aucune recommandation ne peut être formulée à l'appui des tests tumoraux de routine à l'aide des tests HRD actuellement disponibles. Les

tests actuels évaluant le HRD ont été appliqués pour stratifier les femmes atteintes d'un cancer de l'ovaire ».

Cependant, toujours selon l'ASCO, via un second panel d'experts *PARP Inhibitors in the Management of Ovarian Cancer: ASCO Guideline (2020)* « l'ajout de l'olaparib au traitement d'entretien par le bevacizumab peut être proposé aux patientes atteintes d'un EOC (HGSOC ou endométrioïde) de stade III-IV et avec la présence de variants germinaux ou somatiques pathogènes ou probablement pathogènes des gènes *BRCA1* ou *BRCA2* et/ou d'une instabilité génomique, comme déterminé par Myriad myChoice CDx, et qui ont eu une réponse partielle ou complète à l'association chimiothérapie plus bevacizumab». De même, « le traitement par une monothérapie PARPi doit être proposé aux patientes présentant un EOC récurrent qui n'ont pas encore reçu de PARPi et dont la tumeur présente une instabilité génomique, telle que déterminée par Myriad myChoice CDx, et n'a pas récidivé dans les 6 mois suivant le traitement à base de platine ».

#### Positionnement des recommandations européennes :

D'après l'*ESMO recommendations on predictive biomarker testing for homologous recombination deficiency and PARP inhibitor benefit in ovarian cancer (2020)* [24] « dans le cadre de la maintenance de 1<sup>ère</sup> ligne, l'analyse de *BRCA* germinale/somatique est systématiquement recommandée pour identifier les patientes avec un HGSOC qui devraient recevoir un PARPi » et « il est raisonnable d'utiliser un test HRD basé sur les cicatrices génomiques validé pour établir l'ampleur des avantages conférés par l'utilisation de PARPi dans les HGSOC avec des gènes *BRCA1/2<sup>Mt</sup>*». Notons que selon cette recommandation, le MC-CDx de MG jouit d'un niveau de preuve I, alors que pour le LOH<sub>FM</sub> de FM il est de II. De plus, toujours selon cette recommandation « les tests d'évaluation des mutations *BRCA* [germinale (niveau de preuve I), tumorale (niveau de preuve I) et somatique (niveau de preuve I/II)] présentent une bonne validité clinique en identifiant systématiquement les sous-groupe de patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire qui bénéficient le plus des avantages d'une thérapie par PARPi », « il existe actuellement une quantité insuffisante de preuves pour déterminer la validité clinique des *HRR* genes hors *BRCA* pour prédire une réponse aux PARPi» et « il n'y a actuellement pas suffisamment de preuves pour déterminer la validité clinique de l'analyse de la méthylation du promoteur *BRCA1* ou *RAD51C* pour prédire le bénéfice des PARPi ». Enfin, notons que les limites des tests actuels sont aussi soulevées,



puisque « un biomarqueur HRD optimisé doit être développé pour le problème de l'évolution des cancers et fournir une analyse en temps réel du statut de la recombinaison homologue ».

Dans la même dynamique, un addendum des recommandations de l'ESMO *Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up* (2021) concernant la prise en charge des EOC [25] a avancé que « toutes les patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire de haut grade doivent bénéficier d'un test de dépistage des mutations *BRCA1/2* au moment du diagnostic » et que « le test d'instabilité génomique (HRD) est recommandé ».

D'après le consensus d'experts européens, coordonné par la Société Française de Médecine Prédictive et Personnalisée (SFMPP) *Clinical practice guidelines for BRCA1 and BRCA2 genetic testing* (2021) « une proposition systématique de test de *gBRCA* devrait être proposée à toutes les patientes avec un EOC non-*borderline* non-mucineux selon un processus accéléré » et « une évaluation du *tBRCA\** additionnelle est licite en cas d'absence de mutation germinale ».

Enfin, un panel d'experts européens a récemment publié un *European Experts Consensus: BRCA/Homologous Recombination Deficiency Testing in First-Line Ovarian Cancer* (2022) [120]. Concernant *BRCA* « le test *tBRCA* doit être effectué lors du diagnostic initial » ou « lors de la rechute (si non effectué plus tôt) ». De plus, « le test *BRCA* germinale et/ou tumoral doit être utilisé (dans l'un ou l'autre ordre) ». Concernant les tests HRD, ils « peuvent être utilisés soit après, mais de préférence en même temps que l'évaluation de *BRCA* ». En synthèse, ils avancent que « le statut *BRCA* germinale et/ou tumoral et, en cas de *BRCA wild-type*, la recherche d'un statut tumoral HRD doit être déterminé après le diagnostic initial et idéalement avant la fin de la chimiothérapie de première ligne » et que « les tests génétiques germinaux devraient faire partie intégrante des parcours de soins des patientes ». Enfin, ils soulèvent de même la nécessité « de développer de nouveaux tests HRD alternatifs validés ».

En synthèse, nous voyons donc qu'alors que la SFMPP se positionne de manière analogue aux recommandations de l'ASCO avec une évaluation germinale systématique, l'ESMO positionne sur un même plan les analyses germinale et somatique.

En nous intéressant maintenant aux recommandations nationales, deux principaux axes existent : celles émanant de l'Institut National du Cancer (INCa) et les recommandations de pratiques professionnelles (RPC) des Cours de Saint-Paul de Vence pour le Groupe d'Investigateurs National des Études des Cancers Ovariens et du sein (GINECO) [9,33,244].

Selon les recommandations françaises de l'INCa *Inhibiteurs de PARP : préconisations pour un parcours en génétique oncologique* (2019) [244]:

Au diagnostic (statut *BRCA* inconnu), « le point d'entrée sera la recherche de mutation des gènes *BRCA* dans la tumeur de la personne malade (génétique tumorale) », « l'examen complet des gènes *BRCA* en génétique tumorale doit respecter un délai de six semaines, de la prescription initiale par l'équipe clinique à la réception du résultat par cette même équipe ». De plus « si une mutation des gènes *BRCA* a été identifiée, il oriente systématiquement la personne malade vers l'équipe d'oncogénétique afin de programmer une consultation d'oncogénétique ». Ainsi, le circuit en génétique constitutionnelle est restreint aux personnes chez lesquelles une mutation *tBRCA\** a été identifiée, hors situations spécifiques.

Selon l'INCa, ces situations incluent les patientes « atteintes d'un cancer de l'ovaire diagnostiqué avant 70 ans » et/ou « présentant des critères familiaux évocateurs d'une prédisposition génétique au cancer ». Dans ce cas, un parcours en parallèle en oncogénétique constitutionnelle est recommandé.

2 situations existent : soit une mutation *tBRCA\** a été identifiée au préalable au sein de la tumeur, auquel cas « un examen ciblé est mis en oeuvre afin de rechercher cette mutation sur le plan constitutionnel », soit un examen complet d'un panel de gènes est mené (*BRCA1, BRCA2, PALB2, TP53, CDH1, PTEN, RAD51C, RAD51D, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM*), d'après les recommandations françaises de Moretta et collègues [245].

Selon les recommandations françaises conjointes FRANCOGYN, CNGOF, SFOG et GINECO/ARCAGY, sous l'égide de l'INCa *Conduites à tenir initiales devant des patientes atteintes d'un cancer épithélial de l'ovaire* (2019) [9] « pour permettre la prescription de l'olaparib aux patientes mutées *BRCA1* ou *BRCA2* atteintes d'un cancer de l'ovaire, de la trompe ou du péritoine primitif de haut grade et de stade avancé, il est recommandé de rechercher la mutation *BRCA1* ou *BRCA2* dès le diagnostic, donc au moment de la coelioscopie

initiale d'évaluation ». Elles se réfèrent par ailleurs explicitement aux recommandations de l'INCa concernant le parcours en oncogénétique tumorale/constitutionnelle.

Enfin, plus récemment, une des RPC des Cours de Saint-Paul de Vence *Diagnostic histologique et moléculaire des cancers de l'ovaire* (2021) s'est intéressée spécifiquement à la stratégie de recherche de *BRCA* et du statut HRD.

En se fiant à ces RPC nationales en vigueur, la stratégie préconisée reprend dans les grandes lignes les recommandations de l'INCa [33], puisque « l'examen complet des gènes *BRCA* est effectué dès le primo- diagnostic, et en premier sur la tumeur. Le résultat doit être rendu dans un délai de 6 semaines, compte tenu de l'implication thérapeutique ». De plus, « à ce jour, en pratique en l'absence d'anomalie du gène *BRCA*, il est recommandé de faire la recherche du score HRD afin de sélectionner la population qui va bénéficier le plus des PARPi. Chez les patientes chez qui il est envisagé une chimiothérapie associée à du bévacizumab, la recherche d'HRD dès le diagnostic (actuellement conditionnée par la recherche avec le test Myriad selon les critères d'une autorisation temporaire d'utilisation [ATU] de cohorte) permet ainsi de rajouter de l'olaparib ».

Ceci consiste donc à effectuer de prime abord l'évaluation du *tBRCA* en circuit rapide, en restreignant l'évaluation du HRD aux patientes *wild-type*, hormis celles pour lesquelles un projet d'olaparib + bevacizumab est envisagé (auquel cas, une approche en parallèle *tBRCA*/HRD est recommandée). Par ailleurs, en contexte *tBRCA\**, une consultation d'oncogénétique est indiquée.

En se référant aux recommandations de l'INCa de 2019, les recommandations de Saint-Paul de Vence de 2021 mettent aussi en avant l'orientation vers une consultation d'oncogénétique en cas de contexte évocateur d'une prédisposition génétique au cancer, même si une mutation tumorale n'est pas identifiée. Les contextes évocateurs reprennent ceux de l'INCa (antécédent personnel : âge < 70 ans ou antécédent de cancer du sein ; familial : agrégation de cancers du sein et/ou de l'ovaire dans la même branche parentale, voire de la prostate, du pancréas, ceci à des âges précoces).

Ainsi, ces dernières RPC ont permis de proposer une approche relativement consensuelle en dépit de certaines divergences avec les recommandations américaines/européennes. Les évolutions des tests et de la valeur prédictive des différents biomarqueurs actuels et à venir pourraient mener à leur évolution prochaine.

### XIII - Conclusions

Les carcinomes épithéliaux ovariens de haut grade (HGSOC), forme la plus fréquente et la plus agressive des cancers de l'ovaire, représentant ainsi un défi important pour la recherche ainsi que pour les cliniciens. Ces cancers sont caractérisés dans près de la moitié des cas par une altération de la recombinaison homologe (HRD).

Sur le versant causal, le statut HRD repose principalement sur des altérations génétiques de *BRCA1/2*, expliquant plus de la moitié des cas (que ce soit via des mutations ponctuelles, des altérations de type grands réarrangements ou encore via la méthylation du promoteur de *BRCA1*). Par-delà *BRCA1/2*, il existe toute une panoplie d'autres causes menant au phénotype HRD, englobées sous le concept de « *BRCAness* ».

En conséquence, un statut HRD conduit à des effets spécifiques tant moléculaires (*e.g.* instabilité génomique) que cliniques (*e.g.* sensibilité accrue aux sels de platine et aux inhibiteurs de PARP).

À la suite d'essais cliniques princeps ayant montré un impact majeur sur l'évolution des patientes atteintes d'HGSOC, 3 inhibiteurs de la PARP (olaparib, niraparib et rucaparib) ont reçu l'approbation des instances de régulation américaine et européenne (FDA/EMA).

Afin d'évaluer le statut HRD des patientes, des tests compagnons (CDx) ont été développés et validés, basés notamment sur une analyse de *BRCA1/2* +/- une évaluation de l'instabilité génomique, qui est une des conséquences moléculaires du statut HRD.

Cependant ces tests souffrent de multiples limites techniques, médicales et économiques ; ceci a ainsi soulevé un certain nombre d'interrogations. En effet, bien que l'évaluation du statut HRD soit recommandée pour aider dans le choix du traitement de maintenance de 1<sup>ère</sup> ligne le plus adapté, sa pertinence en tant que biomarqueur prédictif reste encore un sujet de controverses pour les cliniciens.

Pour répondre à ceci, plusieurs axes de recherche sont à l'œuvre. Des stratégies prometteuses telles que l'utilisation de tests fonctionnels évaluant en temps réel le statut HRD sont actuellement en cours de développement.

Les stratégies en cours et à venir devraient appréhender le statut HRD selon une perspective évolutive, en intégrant notamment les concepts d'hétérogénéité tumorale, de résistance primitive ou acquise aux PARPi ainsi que d'autres paramètres cliniques et biologiques afin de s'orienter vers une médecine individualisée.

## Références

1. Sung, H.; Ferlay, J.; Siegel, R.L.; Laversanne, M.; Soerjomataram, I.; Jemal, A.; Bray, F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA. Cancer J. Clin.* **2021**, *71*, 209–249, doi:10.3322/caac.21660.
2. Cowppli-Bony, A.; Colonna, M.; Ligier, K.; Jooste, V.; Defosse, G.; Monnereau, A.; Amadeo, B.; Arveux, P.; Baldi, I.; Bara, S.; et al. Épidémiologie descriptive des cancers en France métropolitaine : incidence, survie et prévalence. *Bull. Cancer (Paris)* **2019**, *106*, 617–634, doi:10.1016/j.bulcan.2018.11.016.
3. Prat, J. Ovarian Carcinomas: Five Distinct Diseases with Different Origins, Genetic Alterations, and Clinicopathological Features. *Virchows Arch* **2012**, *460*, 237–249, doi:10.1007/s00428-012-1203-5.
4. Lheureux, S.; Gourley, C.; Vergote, I.; Oza, A.M. Epithelial Ovarian Cancer. *Lancet* **2019**, *393*, 1240–1253.
5. Salazar, C.; Campbell, I.G.; Gorringer, K.L. When Is “Type I” Ovarian Cancer Not “Type I”? Indications of an Out-Dated Dichotomy. *Front Oncol* **2018**, *8*, 654, doi:10.3389/fonc.2018.00654.
6. Otsuka, I. Mechanisms of High-Grade Serous Carcinogenesis in the Fallopian Tube and Ovary: Current Hypotheses, Etiologic Factors, and Molecular Alterations. *Int J Mol Sci* **2021**, *22*, doi:10.3390/ijms22094409.
7. Berek, J.S.; Kehoe, S.T.; Kumar, L.; Friedlander, M. Cancer of the Ovary, Fallopian Tube, and Peritoneum. *Int J Gynaecol Obstet* **2018**, *143 Suppl 2*, 59–78, doi:10.1002/ijgo.12614.
8. Matz, M.; Coleman, M.P.; Carreira, H.; Salmeron, D.; Chirlaque, M.D.; Allemani, C.; Concord Working Group Worldwide Comparison of Ovarian Cancer Survival: Histological Group and Stage at Diagnosis (CONCORD-2). *Gynecol Oncol* **2017**, *144*, 396–404, doi:10.1016/j.ygyno.2016.11.019.
9. Lavoue, V.; Huchon, C.; Akladios, C.; Alfonsi, P.; Bakrin, N.; Ballester, M.; Bendifallah, S.; Bolze, P.A.; Bonnet, F.; Bourgin, C.; et al. Management of Epithelial Cancer of the Ovary, Fallopian Tube, and Primary Peritoneum. Long Text of the Joint French Clinical Practice Guidelines Issued by FRANCOGYN, CNGOF, SFOG, and GINECO-ARCAGY, and Endorsed by INCa. Part 1: Diagnostic Exploration and Staging, Surgery, Perioperative Care, and Pathology. *J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod.* **2019**, *48*, 369–378, doi:10.1016/j.jogoh.2019.03.017.
10. Classe, J.-M.; Joly, F.; Lécuru, F.; Morice, P.; Pomel, C.; Selle, F.; You, B. Prise En

Charge Chirurgicale Du Cancer Épithélial de l’ovaire – Première Ligne et Première Rechute. *Bull. Cancer (Paris)* **2021**, *108*, S13–S21, doi:10.1016/S0007-4551(21)00583-X.

11. Thomas, Q.D.; Quesada, S.; D’Hondt, V.; Belaroussi, I.; Laas, E.; Classe, J.-M.; Fabbro, M.; Colombo, P.-E.; Fiteni, F. Combinaison de la chirurgie et du traitement médical du cancer de l’ovaire : y a-t-il une stratégie optimale ? *Bull. Cancer (Paris)* **2022**, *109*, 197–215, doi:10.1016/j.bulcan.2021.11.013.

12. Perren, T.J.; Swart, A.M.; Pfisterer, J.; Ledermann, J.A.; Pujade-Lauraine, E.; Kristensen, G.; Carey, M.S.; Beale, P.; Cervantes, A.; Kurzeder, C.; et al. A Phase 3 Trial of Bevacizumab in Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2011**, *365*, 2484–2496, doi:10.1056/NEJMoa1103799.

13. Pujade-Lauraine, E.; Hilpert, F.; Weber, B.; Reuss, A.; Poveda, A.; Kristensen, G.; Sorio, R.; Vergote, I.; Witteveen, P.; Bamias, A.; et al. Bevacizumab Combined with Chemotherapy for Platinum-Resistant Recurrent Ovarian Cancer: The AURELIA Open-Label Randomized Phase III Trial. *J Clin Oncol* **2014**, *32*, 1302–1308, doi:10.1200/JCO.2013.51.4489.

14. Aghajanian, C.; Blank, S.V.; Goff, B.A.; Judson, P.L.; Teneriello, M.G.; Husain, A.; Sovak, M.A.; Yi, J.; Nycum, L.R. OCEANS: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Trial of Chemotherapy with or without Bevacizumab in Patients with Platinum-Sensitive Recurrent Epithelial Ovarian, Primary Peritoneal, or Fallopian Tube Cancer. *J Clin Oncol* **2012**, *30*, 2039–2045, doi:10.1200/JCO.2012.42.0505.

15. Oza, A.M.; Cook, A.D.; Pfisterer, J.; Embleton, A.; Ledermann, J.A.; Pujade-Lauraine, E.; Kristensen, G.; Carey, M.S.; Beale, P.; Cervantes, A.; et al. Standard Chemotherapy with or without Bevacizumab for Women with Newly Diagnosed Ovarian Cancer (ICON7): Overall Survival Results of a Phase 3 Randomised Trial. *Lancet Oncol* **2015**, *16*, 928–936, doi:10.1016/S1470-2045(15)00086-8.

16. Tewari, K.S.; Burger, R.A.; Enserro, D.; Norquist, B.M.; Swisher, E.M.; Brady, M.F.; Bookman, M.A.; Fleming, G.F.; Huang, H.; Homesley, H.D.; et al. Final Overall Survival of a Randomized Trial of Bevacizumab for Primary Treatment of Ovarian Cancer. *J Clin Oncol* **2019**, *37*, 2317–2328, doi:10.1200/JCO.19.01009.

17. Wu, P.-Y.; Cheng, Y.-M.; Shen, M.-R.; Chen, Y.-C.; Huang, Y.-F.; Chou, C.-Y. Real-World Study of Adding Bevacizumab to Chemotherapy for Ovarian, Tubal, and Peritoneal Cancer as Front-Line or Relapse Therapy (ROBOT): 8-Year Experience. *Front. Oncol.* **2020**, *10*, 1095, doi:10.3389/fonc.2020.01095.

18. Liu, S.; Kasherman, L.; Fazelzad, R.; Wang, L.; Bouchard-Fortier, G.; Lheureux, S.; Krzyzanowska, M.K. The Use of Bevacizumab in the Modern Era of Targeted Therapy for Ovarian

Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Gynecol. Oncol.* **2021**, *161*, 601–612, doi:10.1016/j.ygyno.2021.01.028.

19. Gogineni, V.; Morand, S.; Staats, H.; Royfman, R.; Devanaboyina, M.; Einloth, K.; Dever, D.; Stanbery, L.; Aaron, P.; Manning, L.; et al. Current Ovarian Cancer Maintenance Strategies and Promising New Developments. *J Cancer* **2021**, *12*, 38–53, doi:10.7150/jca.49406.

20. Washington, C.R.; Moore, K.N. PARP Inhibitors in the Treatment of Ovarian Cancer: A Review. *Curr Opin Obstet Gynecol* **2021**, *33*, 1–6, doi:10.1097/gco.0000000000000675.

21. Tew, W.P.; Lacchetti, C.; Ellis, A.; Maxian, K.; Banerjee, S.; Bookman, M.; Jones, M.B.; Lee, J.M.; Lheureux, S.; Liu, J.F.; et al. PARP Inhibitors in the Management of Ovarian Cancer: ASCO Guideline. *J Clin Oncol* **2020**, *38*, 3468–3493, doi:10.1200/JCO.20.01924.

22. Madariaga, A.; Bonilla, L.; McMullen, M.; Oza, A.M.; Lheureux, S. Efficacy and Safety Updates of Poly ADP-Ribose Polymerase (PARP) Inhibitor Maintenance in Ovarian Cancer from ASCO 2020. *Int J Gynecol Cancer* **2020**, *30*, 1256–1257, doi:10.1136/ijgc-2020-001723.

23. Colombo, N.; Sessa, C.; du Bois, A.; Ledermann, J.; McCluggage, W.G.; McNeish, I.; Morice, P.; Pignata, S.; Ray-Coquard, I.; Vergote, I.; et al. ESMO-ESGO Consensus Conference Recommendations on Ovarian Cancer: Pathology and Molecular Biology, Early and Advanced Stages, Borderline Tumours and Recurrent Disease. *Ann Oncol* **2019**, *30*, 672–705, doi:10.1093/annonc/mdz062.

24. Miller, R.E.; Leary, A.; Scott, C.L.; Serra, V.; Lord, C.J.; Bowtell, D.; Chang, D.K.; Garsed, D.W.; Jonkers, J.; Ledermann, J.A.; et al. ESMO Recommendations on Predictive Biomarker Testing for Homologous Recombination Deficiency and PARP Inhibitor Benefit in Ovarian Cancer. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **2020**, *31*, 1606–1622, doi:10.1016/j.annonc.2020.08.2102.

25. Colombo, N.; Ledermann, J.A. Updated Treatment Recommendations for Newly Diagnosed Epithelial Ovarian Carcinoma from the ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann. Oncol.* **2021**, *32*, 1300–1303, doi:10.1016/j.annonc.2021.07.004.

26. Lavoue, V.; Huchon, C.; Akladios, C.; Alfonsi, P.; Bakrin, N.; Ballester, M.; Bendifallah, S.; Bolze, P.A.; Bonnet, F.; Bourgin, C.; et al. Management of Epithelial Cancer of the Ovary, Fallopian Tube, Primary Peritoneum. Long Text of the Joint French Clinical Practice Guidelines Issued by FRANCOGYN, CNGOF, SFOG, GINECO-ARCAGY, Endorsed by INCa. (Part 2: Systemic, Intraperitoneal Treatment, Elderly Patients, Fertility Preservation, Follow-Up). *J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod.* **2019**, *48*, 379–386, doi:10.1016/j.jogoh.2019.03.018.

27. Selle, F.; Alexandre, J.; Prulhière, K.; Kalbacher, E.; Ray-Coquard, I.; Leary, A. Traitement Médical de Première Ligne Du Cancer Épithélial de l’ovaire de Haut Grade. *Bull. Cancer (Paris)* **2021**, *108*, S5–S12, doi:10.1016/S0007-4551(21)00582-8.

28. Pautier, P.; Motte-Rouge, T. de la; Lécuru, F.; Classe, J.-M.; Ferron, G.; Floquet, A.; Kurtz, J.E.; Freyer, G.; Hardy-Bessard, A.-C. Prise En Charge Médicale de La Récidive Du Cancer Épithélial de l'ovaire. *Bull. Cancer (Paris)* **2021**, *108*, S22–S32, doi:10.1016/S0007-4551(21)00584-1.
29. Cancer Genome Atlas Research, N. Integrated Genomic Analyses of Ovarian Carcinoma. *Nature* **2011**, *474*, 609–615, doi:10.1038/nature10166.
30. Konstantinopoulos, P.A.; Lacchetti, C.; Annunziata, C.M. Germline and Somatic Tumor Testing in Epithelial Ovarian Cancer: ASCO Guideline Summary. *JCO Oncol Pr.* **2020**, *16*, e835–e838, doi:10.1200/JOP.19.00773.
31. Kuchenbaecker, K.B.; Hopper, J.L.; Barnes, D.R.; Phillips, K.A.; Mooij, T.M.; Roos-Blom, M.J.; Jervis, S.; van Leeuwen, F.E.; Milne, R.L.; Andrieu, N.; et al. Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *JAMA* **2017**, *317*, 2402–2416, doi:10.1001/jama.2017.7112.
32. Hartman, M.; Czene, K.; Reilly, M.; Bergh, J.; Ligiou, P.; Trichopoulos, D.; Adami, H.-O.; Hall, P. Genetic Implications of Bilateral Breast Cancer: A Population Based Cohort Study. *Lancet Oncol.* **2005**, *6*, 377–382, doi:10.1016/S1470-2045(05)70174-1.
33. Genestie, C.; Gladieff, L.; Frère-Belda, M.-A.L.; Lortholary, A.; Vaur, D.; Treilleux, I.; Lyonnet, D.S. Diagnostic Histologique et Moléculaire Des Cancers de l'ovaire – Recommandations Pour La Pratique Clinique Saint-Paul 2021. *Bull. Cancer (Paris)* **2021**, *108*, S33–S38, doi:10.1016/S0007-4551(21)00585-3.
34. Pujol, P.; Barberis, M.; Beer, P.; Friedman, E.; Piulats, J.M.; Capoluongo, E.D.; Garcia Foncillas, J.; Ray-Coquard, I.; Penault-Llorca, F.; Foulkes, W.D.; et al. Clinical Practice Guidelines for BRCA1 and BRCA2 Genetic Testing. *Eur. J. Cancer* **2021**, *146*, 30–47, doi:10.1016/j.ejca.2020.12.023.
35. Hartmann, L.C.; Lindor, N.M. The Role of Risk-Reducing Surgery in Hereditary Breast and Ovarian Cancer. *N Engl J Med* **2016**, *374*, 454–468, doi:10.1056/NEJMra1503523.
36. Hansmann, T.; Pliushch, G.; Leubner, M.; Kroll, P.; Endt, D.; Gehrig, A.; Preisler-Adams, S.; Wieacker, P.; Haaf, T. Constitutive Promoter Methylation of BRCA1 and RAD51C in Patients with Familial Ovarian Cancer and Early-Onset Sporadic Breast Cancer. *Hum Mol Genet* **2012**, *21*, 4669–4679, doi:10.1093/hmg/dds308.
37. Tabano, S.; Azzollini, J.; Pesenti, C.; Lovati, S.; Costanza, J.; Fontana, L.; Peissel, B.; Miozzo, M.; Manoukian, S. Analysis of BRCA1 and RAD51C Promoter Methylation in Italian Families at High-Risk of Breast and Ovarian Cancer. *Cancers Basel* **2020**, *12*, doi:10.3390/cancers12040910.



38. Norquist, B.M.; Harrell, M.I.; Brady, M.F.; Walsh, T.; Lee, M.K.; Gulsuner, S.; Bernards, S.S.; Casadei, S.; Yi, Q.; Burger, R.A.; et al. Inherited Mutations in Women With Ovarian Carcinoma. *JAMA Oncol* **2016**, *2*, 482–490, doi:10.1001/jamaoncol.2015.5495.
39. Walsh, T.; Casadei, S.; Lee, M.K.; Pennil, C.C.; Nord, A.S.; Thornton, A.M.; Roeb, W.; Agnew, K.J.; Stray, S.M.; Wickramanayake, A.; et al. Mutations in 12 Genes for Inherited Ovarian, Fallopian Tube, and Peritoneal Carcinoma Identified by Massively Parallel Sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2011**, *108*, 18032–18037, doi:10.1073/pnas.1115052108.
40. Ryan, N.A.J.; Bolton, J.; McVey, R.J.; Evans, D.G.; Crosbie, E.J. BRCA and Lynch Syndrome-Associated Ovarian Cancers Behave Differently. *Gynecol Oncol Rep* **2017**, *22*, 108–109, doi:10.1016/j.gore.2017.11.007.
41. Moschetta, M.; George, A.; Kaye, S.B.; Banerjee, S. BRCA Somatic Mutations and Epigenetic BRCA Modifications in Serous Ovarian Cancer. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **2016**, *27*, 1449–1455, doi:10.1093/annonc/mdw142.
42. Ahmed, A.A.; Etemadmoghadam, D.; Temple, J.; Lynch, A.G.; Riad, M.; Sharma, R.; Stewart, C.; Fereday, S.; Caldas, C.; Defazio, A.; et al. Driver Mutations in TP53 Are Ubiquitous in High Grade Serous Carcinoma of the Ovary. *J Pathol* **2010**, *221*, 49–56, doi:10.1002/path.2696.
43. Chien, J.; Sicotte, H.; Fan, J.B.; Humphray, S.; Cunningham, J.M.; Kalli, K.R.; Oberg, A.L.; Hart, S.N.; Li, Y.; Davila, J.I.; et al. TP53 Mutations, Tetraploidy and Homologous Recombination Repair Defects in Early Stage High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Nucleic Acids Res* **2015**, *43*, 6945–6958, doi:10.1093/nar/gkv111.
44. Gonzalez, D.; Stenzinger, A. Homologous Recombination Repair Deficiency (HRD): From Biology to Clinical Exploitation. *Genes. Chromosomes Cancer* **2021**, *60*, 299–302, doi:10.1002/gcc.22939.
45. Hanahan, D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov.* **2022**, *12*, 31–46, doi:10.1158/2159-8290.CD-21-1059.
46. Jiang, M.; Jia, K.; Wang, L.; Li, W.; Chen, B.; Liu, Y.; Wang, H.; Zhao, S.; He, Y.; Zhou, C. Alterations of DNA Damage Repair in Cancer: From Mechanisms to Applications. *Ann Transl Med* **2020**, *8*, 1685, doi:10.21037/atm-20-2920.
47. Santana Dos Santos, E.; Lallemand, F.; Petitalot, A.; Caputo, S.M.; Rouleau, E. HRness in Breast and Ovarian Cancers. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, doi:10.3390/ijms21113850.
48. Chang, H.H.Y.; Pannunzio, N.R.; Adachi, N.; Lieber, M.R. Non-Homologous DNA End Joining and Alternative Pathways to Double-Strand Break Repair. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2017**, *18*, 495–506, doi:10.1038/nrm.2017.48.
49. Mirman, Z.; de Lange, T. 53BP1: A DSB Escort. *Genes Dev* **2020**, *34*, 7–23,

doi:10.1101/gad.333237.119.

50. Patterson-Fortin, J.; D'Andrea, A.D. Exploiting the Microhomology-Mediated End-Joining Pathway in Cancer Therapy. *Cancer Res* **2020**, *80*, 4593–4600, doi:10.1158/0008-5472.CAN-20-1672.

51. Wright, W.D.; Shah, S.S.; Heyer, W.D. Homologous Recombination and the Repair of DNA Double-Strand Breaks. *J Biol Chem* **2018**, *293*, 10524–10535, doi:10.1074/jbc.TM118.000372.

52. Wu, S.; Zhou, J.; Zhang, K.; Chen, H.; Luo, M.; Lu, Y.; Sun, Y.; Chen, Y. Molecular Mechanisms of PALB2 Function and Its Role in Breast Cancer Management. *Front. Oncol.* **2020**, *10*, 301, doi:10.3389/fonc.2020.00301.

53. Royfman, R.; Whiteley, E.; Noe, O.; Morand, S.; Creeden, J.; Stanbery, L.; Hamouda, D.; Nemunaitis, J. BRCA1/2 Signaling and Homologous Recombination Deficiency in Breast and Ovarian Cancer. *Future Oncol. Lond. Engl.* **2021**, doi:10.2217/fon-2021-0072.

54. Lukas, J.; Lukas, C.; Bartek, J. More than Just a Focus: The Chromatin Response to DNA Damage and Its Role in Genome Integrity Maintenance. *Nat Cell Biol* **2011**, *13*, 1161–1169, doi:10.1038/ncb2344.

55. Bekker-Jensen, S.; Mailand, N. Assembly and Function of DNA Double-Strand Break Repair Foci in Mammalian Cells. *DNA Repair Amst* **2010**, *9*, 1219–1228, doi:10.1016/j.dnarep.2010.09.010.

56. Redon, C.E.; Weyemi, U.; Parekh, P.R.; Huang, D.; Burrell, A.S.; Bonner, W.M. Gamma-H2AX and Other Histone Post-Translational Modifications in the Clinic. *Biochim Biophys Acta* **2012**, *1819*, 743–756, doi:10.1016/j.bbagr.2012.02.021.

57. Lord, C.J.; Ashworth, A. BRCAness Revisited. *Nat Rev Cancer* **2016**, *16*, 110–120, doi:10.1038/nrc.2015.21.

58. Santana Dos Santos, E.; Lallemand, F.; Petitalot, A.; Caputo, S.M.; Rouleau, E. HRness in Breast and Ovarian Cancers. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, doi:10.3390/ijms21113850.

59. Hatano, Y.; Tamada, M.; Matsuo, M.; Hara, A. Molecular Trajectory of BRCA1 and BRCA2 Mutations. *Front Oncol* **2020**, *10*, 361, doi:10.3389/fonc.2020.00361.

60. Cunningham, J.M.; Cicek, M.S.; Larson, N.B.; Davila, J.; Wang, C.; Larson, M.C.; Song, H.; Dicks, E.M.; Harrington, P.; Wick, M.; et al. Clinical Characteristics of Ovarian Cancer Classified by BRCA1, BRCA2, and RAD51C Status. *Sci. Rep.* **2014**, *4*, 4026, doi:10.1038/srep04026.

61. Knudson, A.G. Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1971**, *68*, 820–823, doi:10.1073/pnas.68.4.820.

62. Austria, T.; Marion, C.; Yu, V.; Widschwendter, M.; Hinton, D.R.; Dubeau, L. Mechanism of Cytokinesis Failure in Ovarian Cystadenomas with Defective BRCA1 and P53

Pathways. *Int J Cancer* **2018**, *143*, 2932–2942, doi:10.1002/ijc.31659.

63. Maxwell, K.N.; Wubbenhorst, B.; Wenz, B.M.; De Sloover, D.; Pluta, J.; Emery, L.; Barrett, A.; Kraya, A.A.; Anastopoulos, I.N.; Yu, S.; et al. BRCA Locus-Specific Loss of Heterozygosity in Germline BRCA1 and BRCA2 Carriers. *Nat Commun* **2017**, *8*, 319, doi:10.1038/s41467-017-00388-9.

64. Moschetta, M.; George, A.; Kaye, S.B.; Banerjee, S. BRCA Somatic Mutations and Epigenetic BRCA Modifications in Serous Ovarian Cancer. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **2016**, *27*, 1449–1455, doi:10.1093/annonc/mdw142.

65. Ewing, A.; Meynert, A.; Churchman, M.; Grimes, G.R.; Hollis, R.L.; Herrington, C.S.; Rye, T.; Bartos, C.; Croy, I.; Ferguson, M.; et al. Structural Variants at the BRCA1/2 Loci Are a Common Source of Homologous Recombination Deficiency in High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *Clin Cancer Res* **2021**, *27*, 3201–3214, doi:10.1158/1078-0432.CCR-20-4068.

66. Pennington, K.P.; Walsh, T.; Harrell, M.I.; Lee, M.K.; Pennil, C.C.; Rendi, M.H.; Thornton, A.; Norquist, B.M.; Casadei, S.; Nord, A.S.; et al. Germline and Somatic Mutations in Homologous Recombination Genes Predict Platinum Response and Survival in Ovarian, Fallopian Tube, and Peritoneal Carcinomas. *Clin Cancer Res* **2014**, *20*, 764–775, doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-2287.

67. Riaz, N.; Blecua, P.; Lim, R.S.; Shen, R.; Higginson, D.S.; Weinhold, N.; Norton, L.; Weigelt, B.; Powell, S.N.; Reis-Filho, J.S. Pan-Cancer Analysis of Bi-Allelic Alterations in Homologous Recombination DNA Repair Genes. *Nat Commun* **2017**, *8*, 857, doi:10.1038/s41467-017-00921-w.

68. Hodgson, D.R.; Dougherty, B.A.; Lai, Z.; Fielding, A.; Grinsted, L.; Spencer, S.; O'Connor, M.J.; Ho, T.W.; Robertson, J.D.; Lanchbury, J.S.; et al. Candidate Biomarkers of PARP Inhibitor Sensitivity in Ovarian Cancer beyond the BRCA Genes. *Br J Cancer* **2018**, *119*, 1401–1409, doi:10.1038/s41416-018-0274-8.

69. Zhang, M.; Liu, G.; Xue, F.; Edwards, R.; Sood, A.K.; Zhang, W.; Yang, D. Copy Number Deletion of RAD50 as Predictive Marker of BRCAness and PARP Inhibitor Response in BRCA Wild Type Ovarian Cancer. *Gynecol Oncol* **2016**, *141*, 57–64, doi:10.1016/j.ygyno.2016.01.004.

70. Hughes-Davies, L.; Huntsman, D.; Ruas, M.; Fuks, F.; Bye, J.; Chin, S.-F.; Milner, J.; Brown, L.A.; Hsu, F.; Gilks, B.; et al. EMSY Links the BRCA2 Pathway to Sporadic Breast and Ovarian Cancer. *Cell* **2003**, *115*, 523–535, doi:10.1016/S0092-8674(03)00930-9.

71. Hollis, R.L.; Churchman, M.; Michie, C.O.; Rye, T.; Knight, L.; McCavigan, A.; Perren, T.; Williams, A.R.W.; McCluggage, W.G.; Kaplan, R.S.; et al. High EMSY Expression

Defines a BRCA-like Subgroup of High-Grade Serous Ovarian Carcinoma with Prolonged Survival and Hypersensitivity to Platinum. *Cancer* **2019**, *125*, 2772–2781, doi:10.1002/cncr.32079.

72. Stronach, E.A.; Paul, J.; Timms, K.M.; Hughes, E.; Brown, K.; Neff, C.; Perry, M.; Gutin, A.; El-Bahrawy, M.; Steel, J.H.; et al. Biomarker Assessment of HR Deficiency, Tumor BRCA1/2 Mutations, and CCNE1 Copy Number in Ovarian Cancer: Associations with Clinical Outcome Following Platinum Monotherapy. *Mol Cancer Res* **2018**, *16*, 1103–1111, doi:10.1158/1541-7786.mcr-18-0034.

73. Esteller, M.; Silva, J.M.; Dominguez, G.; Bonilla, F.; Matias-Guiu, X.; Lerma, E.; Bussaglia, E.; Prat, J.; Harkes, I.C.; Repasky, E.A.; et al. Promoter Hypermethylation and BRCA1 Inactivation in Sporadic Breast and Ovarian Tumors. *J Natl Cancer Inst* **2000**, *92*, 564–569, doi:10.1093/jnci/92.7.564.

74. Kalachand, R.D.; Stordal, B.; Madden, S.; Chandler, B.; Cunningham, J.; Goode, E.L.; Ruscito, I.; Braicu, E.I.; Sehouli, J.; Ignatov, A.; et al. BRCA1 Promoter Methylation and Clinical Outcomes in Ovarian Cancer: An Individual Patient Data Meta-Analysis. *J Natl Cancer Inst* **2020**, *112*, 1190–1203, doi:10.1093/jnci/djaa070.

75. Sahnane, N.; Carnevali, I.; Formenti, G.; Casarin, J.; Facchi, S.; Bombelli, R.; Di Lauro, E.; Memoli, D.; Salvati, A.; Rizzo, F.; et al. BRCA Methylation Testing Identifies a Subset of Ovarian Carcinomas without Germline Variants That Can Benefit from PARP Inhibitor. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, doi:10.3390/ijms21249708.

76. Potapova, A.; Hoffman, A.M.; Godwin, A.K.; Al-Saleem, T.; Cairns, P. Promoter Hypermethylation of the PALB2 Susceptibility Gene in Inherited and Sporadic Breast and Ovarian Cancer. *Cancer Res.* **2008**, *68*, 998–1002, doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-2418.

77. Niu, L.; Ni, H.; Hou, Y.; Du, Q.; Li, H. MiR-509-3p Enhances Platinum Drug Sensitivity in Ovarian Cancer. *Gene* **2019**, *686*, 63–67, doi:10.1016/j.gene.2018.11.011.

78. Wang, T.; Hao, D.; Yang, S.; Ma, J.; Yang, W.; Zhu, Y.; Weng, M.; An, X.; Wang, X.; Li, Y.; et al. MiR-211 Facilitates Platinum Chemosensitivity by Blocking the DNA Damage Response (DDR) in Ovarian Cancer. *Cell Death Dis.* **2019**, *10*, 495, doi:10.1038/s41419-019-1715-x.

79. Xu, Q.-F.; Tang, Y.-X.; Wang, X. LncRNA EBIC Promoted Proliferation, Metastasis and Cisplatin Resistance of Ovarian Cancer Cells and Predicted Poor Survival in Ovarian Cancer Patients. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **2018**, *22*, 4440–4447, doi:10.26355/eurrev\_201807\_15495.

80. Clapier, C.R. Sophisticated Conversations between Chromatin and Chromatin Remodelers, and Dissonances in Cancer. *Int J Mol Sci* **2021**, *22*, doi:10.3390/ijms22115578.

81. Hammond, C.M.; Strømme, C.B.; Huang, H.; Patel, D.J.; Groth, A. Histone Chaperone Networks Shaping Chromatin Function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2017**, *18*, 141–158,

doi:10.1038/nrm.2016.159.

82. Bekker-Jensen, S.; Mailand, N. Assembly and Function of DNA Double-Strand Break Repair Foci in Mammalian Cells. *DNA Repair Amst* **2010**, *9*, 1219–1228, doi:10.1016/j.dnarep.2010.09.010.

83. Harding, S.M.; Greenberg, R.A. Choreographing the Double Strand Break Response: Ubiquitin and SUMO Control of Nuclear Architecture. *Front Genet* **2016**, *7*, 103, doi:10.3389/fgene.2016.00103.

84. Shrivastav, M.; De Haro, L.P.; Nickoloff, J.A. Regulation of DNA Double-Strand Break Repair Pathway Choice. *Cell Res* **2008**, *18*, 134–147, doi:10.1038/cr.2007.111.

85. Pfister, S.X.; Ahrabi, S.; Zalmas, L.P.; Sarkar, S.; Aymard, F.; Bachrati, C.Z.; Helleday, T.; Legube, G.; La Thangue, N.B.; Porter, A.C.; et al. SETD2-Dependent Histone H3K36 Trimethylation Is Required for Homologous Recombination Repair and Genome Stability. *Cell Rep* **2014**, *7*, 2006–2018, doi:10.1016/j.celrep.2014.05.026.

86. Alexandrov, L.B.; Nik-Zainal, S.; Wedge, D.C.; Aparicio, S.A.; Behjati, S.; Biankin, A.V.; Bignell, G.R.; Bolli, N.; Borg, A.; Borresen-Dale, A.L.; et al. Signatures of Mutational Processes in Human Cancer. *Nature* **2013**, *500*, 415–421, doi:10.1038/nature12477.

87. Alexandrov, L.B.; Nik-Zainal, S.; Wedge, D.C.; Campbell, P.J.; Stratton, M.R. Deciphering Signatures of Mutational Processes Operative in Human Cancer. *Cell Rep* **2013**, *3*, 246–259, doi:10.1016/j.celrep.2012.12.008.

88. Alexandrov, L.B.; Kim, J.; Haradhvala, N.J.; Huang, M.N.; Tian Ng, A.W.; Wu, Y.; Boot, A.; Covington, K.R.; Gordenin, D.A.; Bergstrom, E.N.; et al. The Repertoire of Mutational Signatures in Human Cancer. *Nature* **2020**, *578*, 94–101, doi:10.1038/s41586-020-1943-3.

89. Zamborszky, J.; Szikriszt, B.; Gervai, J.Z.; Pipek, O.; Poti, A.; Krzystanek, M.; Ribli, D.; Szalai-Gindl, J.M.; Csabai, I.; Szallasi, Z.; et al. Loss of BRCA1 or BRCA2 Markedly Increases the Rate of Base Substitution Mutagenesis and Has Distinct Effects on Genomic Deletions. *Oncogene* **2017**, *36*, 5085–5086, doi:10.1038/onc.2017.213.

90. Polak, P.; Kim, J.; Braunstein, L.Z.; Karlic, R.; Haradhavala, N.J.; Tiao, G.; Rosebrock, D.; Livitz, D.; Kubler, K.; Mouw, K.W.; et al. A Mutational Signature Reveals Alterations Underlying Deficient Homologous Recombination Repair in Breast Cancer. *Nat Genet* **2017**, *49*, 1476–1486, doi:10.1038/ng.3934.

91. Hillman, R.T.; Chisholm, G.B.; Lu, K.H.; Futreal, P.A. Genomic Rearrangement Signatures and Clinical Outcomes in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *J Natl Cancer Inst* **2018**, *110*, doi:10.1093/jnci/djx176.

92. Vanderstichele, A.; Busschaert, P.; Olbrecht, S.; Lambrechts, D.; Vergote, I. Genomic

Signatures as Predictive Biomarkers of Homologous Recombination Deficiency in Ovarian Cancer. *Eur J Cancer* **2017**, *86*, 5–14, doi:10.1016/j.ejca.2017.08.029.

93. Hasty, P.; Montagna, C. Chromosomal Rearrangements in Cancer: Detection and Potential Causal Mechanisms. *Mol Cell Oncol* **2014**, *1*, doi:10.4161/mco.29904.

94. Ledermann, J.A.; Drew, Y.; Kristeleit, R.S. Homologous Recombination Deficiency and Ovarian Cancer. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990* **2016**, *60*, 49–58, doi:10.1016/j.ejca.2016.03.005.

95. Stefansson, O.A.; Jonasson, J.G.; Johannsson, O.T.; Olafsdottir, K.; Steinarsdottir, M.; Valgeirsdottir, S.; Eyfjord, J.E. Genomic Profiling of Breast Tumours in Relation to BRCA Abnormalities and Phenotypes. *Breast Cancer Res* **2009**, *11*, R47, doi:10.1186/bcr2334.

96. Lips, E.H.; Laddach, N.; Savola, S.P.; Vollebergh, M.A.; Oonk, A.M.; Imholz, A.L.; Wessels, L.F.; Wesseling, J.; Nederlof, P.M.; Rodenhuis, S. Quantitative Copy Number Analysis by Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MLPA) of BRCA1-Associated Breast Cancer Regions Identifies BRCAness. *Breast Cancer Res* **2011**, *13*, R107, doi:10.1186/bcr3049.

97. Abkevich, V.; Timms, K.M.; Hennessy, B.T.; Potter, J.; Carey, M.S.; Meyer, L.A.; Smith-McCune, K.; Broaddus, R.; Lu, K.H.; Chen, J.; et al. Patterns of Genomic Loss of Heterozygosity Predict Homologous Recombination Repair Defects in Epithelial Ovarian Cancer. *Br. J. Cancer* **2012**, *107*, 1776–1782, doi:10.1038/bjc.2012.451.

98. Birbak, N.J.; Wang, Z.C.; Kim, J.Y.; Eklund, A.C.; Li, Q.; Tian, R.; Bowman-Colin, C.; Li, Y.; Greene-Colozzi, A.; Iglehart, J.D.; et al. Telomeric Allelic Imbalance Indicates Defective DNA Repair and Sensitivity to DNA-Damaging Agents. *Cancer Discov* **2012**, *2*, 366–375, doi:10.1158/2159-8290.CD-11-0206.

99. Popova, T.; Manie, E.; Rieunier, G.; Caux-Moncoutier, V.; Tirapo, C.; Dubois, T.; Delattre, O.; Sigal-Zafrani, B.; Bollet, M.; Longy, M.; et al. Ploidy and Large-Scale Genomic Instability Consistently Identify Basal-like Breast Carcinomas with BRCA1/2 Inactivation. *Cancer Res* **2012**, *72*, 5454–5462, doi:10.1158/0008-5472.CAN-12-1470.

100. Timms, K.M.; Abkevich, V.; Hughes, E.; Neff, C.; Reid, J.; Morris, B.; Kalva, S.; Potter, J.; Tran, T.V.; Chen, J.; et al. Association of BRCA1/2 Defects with Genomic Scores Predictive of DNA Damage Repair Deficiency among Breast Cancer Subtypes. *Breast Cancer Res* **2014**, *16*, 475, doi:10.1186/s13058-014-0475-x.

101. Peng, G.; Chun-Jen Lin, C.; Mo, W.; Dai, H.; Park, Y.Y.; Kim, S.M.; Peng, Y.; Mo, Q.; Siwko, S.; Hu, R.; et al. Genome-Wide Transcriptome Profiling of Homologous Recombination DNA Repair. *Nat Commun* **2014**, *5*, 3361, doi:10.1038/ncomms4361.

102. Konstantinopoulos, P.A.; Spentzos, D.; Karlan, B.Y.; Taniguchi, T.; Fountzilas, E.; Francoeur, N.; Levine, D.A.; Cannistra, S.A. Gene Expression Profile of BRCAness That Correlates

with Responsiveness to Chemotherapy and with Outcome in Patients with Epithelial Ovarian Cancer. *J Clin Oncol* **2010**, *28*, 3555–3561, doi:10.1200/JCO.2009.27.5719.

103. Zhang, H.; Liu, T.; Zhang, Z.; Payne, S.H.; Zhang, B.; McDermott, J.E.; Zhou, J.-Y.; Petyuk, V.A.; Chen, L.; Ray, D.; et al. Integrated Proteogenomic Characterization of Human High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Cell* **2016**, *166*, 755–765, doi:10.1016/j.cell.2016.05.069.

104. Thomas, S.N.; Chen, L.; Liu, Y.; Höti, N.; Zhang, H. Targeted Proteomic Analyses of Histone H4 Acetylation Changes Associated with Homologous-Recombination-Deficient High-Grade Serous Ovarian Carcinomas. *J Proteome Res* **2017**, *16*, 3704–3710, doi:10.1021/acs.jproteome.7b00405.

105. Mukhopadhyay, A.; Plummer, E.R.; Elattar, A.; Soohoo, S.; Uzir, B.; Quinn, J.E.; McCluggage, W.G.; Maxwell, P.; Aneke, H.; Curtin, N.J.; et al. Clinicopathological Features of Homologous Recombination-Deficient Epithelial Ovarian Cancers: Sensitivity to PARP Inhibitors, Platinum, and Survival. *Cancer Res.* **2012**, *72*, 5675–5682, doi:10.1158/0008-5472.can-12-0324.

106. Fuh, K.; Mullen, M.; Blachut, B.; Stover, E.; Konstantinopoulos, P.; Liu, J.; Matulonis, U.; Khabele, D.; Mosammaparast, N.; Vindigni, A. Homologous Recombination Deficiency Real-Time Clinical Assays, Ready or Not? *Gynecol. Oncol.* **2020**, *159*, 877–886, doi:10.1016/j.ygyno.2020.08.035.

107. Lahiguera, Á.; Hyroššová, P.; Figueras, A.; Garzón, D.; Moreno, R.; Soto-Cerrato, V.; McNeish, I.; Serra, V.; Lazaro, C.; Barretina, P.; et al. Tumors Defective in Homologous Recombination Rely on Oxidative Metabolism: Relevance to Treatments with PARP Inhibitors. *EMBO Mol Med* **2020**, *12*, e11217, doi:10.15252/emmm.201911217.

108. Matsushita, H.; Hasegawa, K.; Oda, K.; Yamamoto, S.; Asada, K.; Karasaki, T.; Yabuno, A.; Nishijima, A.; Nejo, T.; Kobayashi, Y.; et al. Neoantigen Load and HLA-Class I Expression Identify a Subgroup of Tumors with a T-Cell-Inflamed Phenotype and Favorable Prognosis in Homologous Recombination-Proficient High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *J Immunother Cancer* **2020**, *8*, doi:10.1136/jitc-2019-000375.

109. Strickland, K.C.; Howitt, B.E.; Shukla, S.A.; Rodig, S.; Ritterhouse, L.L.; Liu, J.F.; Garber, J.E.; Chowdhury, D.; Wu, C.J.; D’Andrea, A.D.; et al. Association and Prognostic Significance of BRCA1/2-Mutation Status with Neoantigen Load, Number of Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Expression of PD-1/PD-L1 in High Grade Serous Ovarian Cancer. *Oncotarget* **2016**, *7*, 13587–13598, doi:10.18632/oncotarget.7277.

110. Foo, T.; George, A.; Banerjee, S. PARP Inhibitors in Ovarian Cancer: An Overview of the Practice-Changing Trials. *Genes. Chromosomes Cancer* **2021**, *60*, 385–397, doi:10.1002/gcc.22935.

111. Konstantinopoulos, P.A.; Ceccaldi, R.; Shapiro, G.I.; D'Andrea, A.D. Homologous Recombination Deficiency: Exploiting the Fundamental Vulnerability of Ovarian Cancer. *Cancer Discov* **2015**, *5*, 1137–1154, doi:10.1158/2159-8290.CD-15-0714.
112. Setton, J.; Zinda, M.; Riaz, N.; Durocher, D.; Zimmermann, M.; Koehler, M.; Reis-Filho, J.S.; Powell, S.N. Synthetic Lethality in Cancer Therapeutics: The Next Generation. *Cancer Discov* **2021**, *11*, 1626–1635, doi:10.1158/2159-8290.CD-20-1503.
113. Demeny, M.A.; Virag, L. The PARP Enzyme Family and the Hallmarks of Cancer Part 1. Cell Intrinsic Hallmarks. *Cancers Basel* **2021**, *13*, doi:10.3390/cancers13092042.
114. Vyas, S.; Matic, I.; Uchima, L.; Rood, J.; Zaja, R.; Hay, R.T.; Ahel, I.; Chang, P. Family-Wide Analysis of Poly(ADP-Ribose) Polymerase Activity. *Nat Commun* **2014**, *5*, 4426, doi:10.1038/ncomms5426.
115. Milanesio, M.C.; Giordano, S.; Valabrega, G. Clinical Implications of DNA Repair Defects in High-Grade Serous Ovarian Carcinomas. *Cancers* **2020**, *12*, doi:10.3390/cancers12051315.
116. List of Cleared or Approved Companion Diagnostic Devices (In Vitro and Imaging Tools) Available online: <https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/list-cleared-or-approved-companion-diagnostic-devices-in-vitro-and-imaging-tools> (accessed on 12 December 2021).
117. Haunschild, C.E.; Tewari, K.S. The Current Landscape of Molecular Profiling in the Treatment of Epithelial Ovarian Cancer. *Gynecol. Oncol.* **2021**, *160*, 333–345, doi:10.1016/j.ygyno.2020.09.043.
118. Rebbeck, T.R.; Friebel, T.M.; Friedman, E.; Hamann, U.; Huo, D.; Kwong, A.; Olah, E.; Olopade, O.I.; Solano, A.R.; Teo, S.H.; et al. Mutational Spectrum in a Worldwide Study of 29,700 Families with BRCA1 or BRCA2 Mutations. *Hum Mutat* **2018**, *39*, 593–620, doi:10.1002/humu.23406.
119. Kim, G.; Ison, G.; McKee, A.E.; Zhang, H.; Tang, S.; Gwise, T.; Sridhara, R.; Lee, E.; Tzou, A.; Philip, R.; et al. FDA Approval Summary: Olaparib Monotherapy in Patients with Deleterious Germline BRCA-Mutated Advanced Ovarian Cancer Treated with Three or More Lines of Chemotherapy. *Clin Cancer Res* **2015**, *21*, 4257–4261, doi:10.1158/1078-0432.CCR-15-0887.
120. Vergote, I.; González-Martín, A.; Ray-Coquard, I.; Harter, P.; Colombo, N.; Pujol, P.; Lorusso, D.; Mirza, M.R.; Brasiuniene, B.; Madry, R.; et al. European Experts Consensus: BRCA/Homologous Recombination Deficiency Testing in First-Line Ovarian Cancer. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **2022**, *33*, 276–287, doi:10.1016/j.annonc.2021.11.013.
121. FoundationFocus™ CDxBRCA LOH - SUMMARY OF SAFETY AND EFFECTIVENESS DATA (SSED) Available online:



- [https://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/pdf16/P160018S001B.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf16/P160018S001B.pdf) (accessed on 1 October 2021).
122. FoundationFocus™ CDxBRCA - SUMMARY OF SAFETY AND EFFECTIVENESS DATA (SSED) Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/pdf16/P160018B.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf16/P160018B.pdf) (accessed on 1 October 2021).
123. FoundationOne®CDx - SUMMARY OF SAFETY AND EFFECTIVENESS DATA (SSED) Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/pdf17/P170019S017B.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf17/P170019S017B.pdf) (accessed on 1 October 2021).
124. Ford, L.; Wolford, J.E.; Brown, S.M.; Randall, L.M. A Profile on the FoundationFocus CDxBRCA Tests. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **2020**, *20*, 285–292, doi:10.1080/14737159.2020.1701438.
125. Swisher, E.M.; Lin, K.K.; Oza, A.M.; Scott, C.L.; Giordano, H.; Sun, J.; Konecny, G.E.; Coleman, R.L.; Tinker, A.V.; O'Malley, D.M.; et al. Rucaparib in Relapsed, Platinum-Sensitive High-Grade Ovarian Carcinoma (ARIEL2 Part 1): An International, Multicentre, Open-Label, Phase 2 Trial. *Lancet Oncol* **2017**, *18*, 75–87, doi:10.1016/S1470-2045(16)30559-9.
126. Balasubramaniam, S.; Beaver, J.A.; Horton, S.; Fernandes, L.L.; Tang, S.; Horne, H.N.; Liu, J.; Liu, C.; Schrieber, S.J.; Yu, J.; et al. FDA Approval Summary: Rucaparib for the Treatment of Patients with Deleterious BRCA Mutation-Associated Advanced Ovarian Cancer. *Clin Cancer Res* **2017**, *23*, 7165–7170, doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-1337.
127. Coleman, R.L.; Oza, A.M.; Lorusso, D.; Aghajanian, C.; Oaknin, A.; Dean, A.; Colombo, N.; Weberpals, J.I.; Clamp, A.; Scambia, G.; et al. Rucaparib Maintenance Treatment for Recurrent Ovarian Carcinoma after Response to Platinum Therapy (ARIEL3): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial. *Lancet Lond. Engl.* **2017**, *390*, 1949–1961, doi:10.1016/s0140-6736(17)32440-6.
128. Woodhouse, R.; Li, M.; Hughes, J.; Delfosse, D.; Skoletsy, J.; Ma, P.; Meng, W.; Dewal, N.; Milbury, C.; Clark, T.; et al. Clinical and Analytical Validation of FoundationOne Liquid CDx, a Novel 324-Gene CfDNA-Based Comprehensive Genomic Profiling Assay for Cancers of Solid Tumor Origin. *PLOS ONE* **2020**, *15*, e0237802, doi:10.1371/journal.pone.0237802.
129. Mills, G.B.; Timms, K.M.; Reid, J.E.; Gutin, A.S.; Krivak, T.C.; Hennessy, B.; Paul, J.; Brown, R.; Lanchbury, J.S.; Stronach, E.A. Homologous Recombination Deficiency Score Shows Superior Association with Outcome Compared with Its Individual Score Components in Platinum-Treated Serous Ovarian Cancer. *Gynecol. Oncol.* **2016**, *141*, 2–3, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2016.04.034>.
130. Telli, M.L.; Timms, K.M.; Reid, J.; Hennessy, B.; Mills, G.B.; Jensen, K.C.; Szallasi, Z.; Barry, W.T.; Winer, E.P.; Tung, N.M.; et al. Homologous Recombination Deficiency (HRD) Score Predicts Response to Platinum-Containing Neoadjuvant Chemotherapy in Patients with Triple-

Negative Breast Cancer. *Clin Cancer Res* **2016**, *22*, 3764–3773, doi:10.1158/1078-0432.CCR-15-2477.

131. Ray-Coquard, I.; Pautier, P.; Pignata, S.; Pérol, D.; González-Martín, A.; Berger, R.; Fujiwara, K.; Vergote, I.; Colombo, N.; Mäenpää, J.; et al. Olaparib plus Bevacizumab as First-Line Maintenance in Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *381*, 2416–2428, doi:10.1056/NEJMoa1911361.

132. González-Martín, A.; Pothuri, B.; Vergote, I.; DePont Christensen, R.; Graybill, W.; Mirza, M.R.; McCormick, C.; Lorusso, D.; Hoskins, P.; Freyer, G.; et al. Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *381*, 2391–2402, doi:10.1056/NEJMoa1910962.

133. Coleman, R.L.; Fleming, G.F.; Brady, M.F.; Swisher, E.M.; Steffensen, K.D.; Friedlander, M.; Okamoto, A.; Moore, K.N.; Efrat Ben-Baruch, N.; Werner, T.L.; et al. Veliparib with First-Line Chemotherapy and as Maintenance Therapy in Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *381*, 2403–2415, doi:10.1056/NEJMoa1909707.

134. Del Campo, J.M.; Matulonis, U.A.; Malander, S.; Provencher, D.; Mahner, S.; Follana, P.; Waters, J.; Berek, J.S.; Woie, K.; Oza, A.M.; et al. Niraparib Maintenance Therapy in Patients With Recurrent Ovarian Cancer After a Partial Response to the Last Platinum-Based Chemotherapy in the ENGOT-OV16/NOVA Trial. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **2019**, *37*, 2968–2973, doi:10.1200/jco.18.02238.

135. Wilson, M.K.; Pujade-Lauraine, E.; Aoki, D.; Mirza, M.R.; Lorusso, D.; Oza, A.M.; du Bois, A.; Vergote, I.; Reuss, A.; Bacon, M.; et al. Fifth Ovarian Cancer Consensus Conference of the Gynecologic Cancer InterGroup: Recurrent Disease. *Ann. Oncol.* **2017**, *28*, 727–732, doi:10.1093/annonc/mdw663.

136. Bryant, H.E.; Schultz, N.; Thomas, H.D.; Parker, K.M.; Flower, D.; Lopez, E.; Kyle, S.; Meuth, M.; Curtin, N.J.; Helleday, T. Specific Killing of BRCA2-Deficient Tumours with Inhibitors of Poly(ADP-Ribose) Polymerase. *Nature* **2005**, *434*, 913–917, doi:10.1038/nature03443.

137. Farmer, H.; McCabe, N.; CJ, Lord Targeting the DNA Repair Defect In.

138. Fong, P.C.; Boss, D.S.; Yap, T.A.; Tutt, A.; Wu, P.; Mergui-Roelvink, M.; Mortimer, P.; Swaisland, H.; Lau, A.; O'Connor, M.J.; et al. Inhibition of Poly(ADP-Ribose) Polymerase in Tumors from BRCA Mutation Carriers. *N Engl J Med* **2009**, *361*, 123–134, doi:10.1056/NEJMoa0900212.

139. Moore, K.; Colombo, N.; Scambia, G.; Kim, B.G.; Oaknin, A.; Friedlander, M.; Lisyanskaya, A.; Floquet, A.; Leary, A.; Sonke, G.S.; et al. Maintenance Olaparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *379*, 2495–2505,

doi:10.1056/NEJMoa1810858.

140. Banerjee, S.; Moore, K.N.; Colombo, N.; Scambia, G.; Kim, B.-G.; Oaknin, A.; Friedlander, M.; Lisyanskaya, A.; Floquet, A.; Leary, A.; et al. Maintenance Olaparib for Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer and a BRCA Mutation (SOLO1/GOG 3004): 5-Year Follow-up of a Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial. *Lancet Oncol.* **2021**, *22*, 1721–1731, doi:10.1016/S1470-2045(21)00531-3.

141. Mirza, M.R.; Monk, B.J.; Herrstedt, J.; Oza, A.M.; Mahner, S.; Redondo, A.; Fabbro, M.; Ledermann, J.A.; Lorusso, D.; Vergote, I.; et al. Niraparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive, Recurrent Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2016**, *375*, 2154–2164, doi:10.1056/NEJMoa1611310.

142. Ledermann, J.; Harter, P.; Gourley, C.; Friedlander, M.; Vergote, I.; Rustin, G.; Scott, C.; Meier, W.; Shapira-Frommer, R.; Safra, T.; et al. Olaparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive Relapsed Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2012**, *366*, 1382–1392, doi:10.1056/NEJMoa1105535.

143. Pujade-Lauraine, E.; Ledermann, J.A.; Selle, F.; Gebski, V.; Penson, R.T.; Oza, A.M.; Korach, J.; Huzarski, T.; Poveda, A.; Pignata, S.; et al. Olaparib Tablets as Maintenance Therapy in Patients with Platinum-Sensitive, Relapsed Ovarian Cancer and a BRCA1/2 Mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): A Double-Blind, Randomised, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial. *Lancet Oncol.* **2017**, *18*, 1274–1284, doi:10.1016/s1470-2045(17)30469-2.

144. Domchek, S.M.; Aghajanian, C.; Shapira-Frommer, R.; Schmutzler, R.K.; Audeh, M.W.; Friedlander, M.; Balmaña, J.; Mitchell, G.; Fried, G.; Stemmer, S.M.; et al. Efficacy and Safety of Olaparib Monotherapy in Germline BRCA1/2 Mutation Carriers with Advanced Ovarian Cancer and Three or More Lines of Prior Therapy. *Gynecol. Oncol.* **2016**, *140*, 199–203, doi:10.1016/j.ygyno.2015.12.020.

145. Oza, A.M.; Tinker, A.V.; Oaknin, A.; Shapira-Frommer, R.; McNeish, I.A.; Swisher, E.M.; Ray-Coquard, I.; Bell-McGuinn, K.; Coleman, R.L.; O'Malley, D.M.; et al. Antitumor Activity and Safety of the PARP Inhibitor Rucaparib in Patients with High-Grade Ovarian Carcinoma and a Germline or Somatic BRCA1 or BRCA2 Mutation: Integrated Analysis of Data from Study 10 and ARIEL2. *Gynecol Oncol* **2017**, *147*, 267–275, doi:10.1016/j.ygyno.2017.08.022.

146. Swisher, E.M.; Kwan, T.T.; Oza, A.M.; Tinker, A.V.; Ray-Coquard, I.; Oaknin, A.; Coleman, R.L.; Aghajanian, C.; Konecny, G.E.; O'Malley, D.M.; et al. Molecular and Clinical Determinants of Response and Resistance to Rucaparib for Recurrent Ovarian Cancer Treatment in ARIEL2 (Parts 1 and 2). *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 2487, doi:10.1038/s41467-021-22582-6.

147. Moore, K.N.; Secord, A.A.; Geller, M.A.; Miller, D.S.; Cloven, N.; Fleming, G.F.;

Wahner Hendrickson, A.E.; Azodi, M.; DiSilvestro, P.; Oza, A.M.; et al. Niraparib Monotherapy for Late-Line Treatment of Ovarian Cancer (QUADRA): A Multicentre, Open-Label, Single-Arm, Phase 2 Trial. *Lancet Oncol.* **2019**, *20*, 636–648, doi:10.1016/s1470-2045(19)30029-4.

148. Tattersall, A.; Ryan, N.; Wiggans, A.J.; Rogozińska, E.; Morrison, J. Poly(ADP-Ribose) Polymerase (PARP) Inhibitors for the Treatment of Ovarian Cancer. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2022**, *2*, CD007929, doi:10.1002/14651858.CD007929.pub4.

149. Kirsten M Timms; Gordon B. Mills; Michael Perry; Alexander Gutin; Jerry Lanchbury; Robert Brown Comparison of Genomic Instability Test Scores Used for Predicting PARP Activity in Ovarian Cancer. *J. Clin. Oncol.* **2020**, *38*, 1586–1586, doi:10.1200/JCO.2020.38.15\_suppl.1586.

150. Horowitz, M.; Esakov, E.; Rose, P.; Reizes, O. Signaling within the Epithelial Ovarian Cancer Tumor Microenvironment: The Challenge of Tumor Heterogeneity. *Ann Transl Med* **2020**, *8*, 905, doi:10.21037/atm-2019-cm-08.

151. Chandrasekaran, D.; Sobocan, M.; Blyuss, O.; Miller, R.E.; Evans, O.; Crusz, S.M.; Mills-Baldock, T.; Sun, L.; Hammond, R.F.L.; Gaba, F.; et al. Implementation of Multigene Germline and Parallel Somatic Genetic Testing in Epithelial Ovarian Cancer: SIGNPOST Study. *Cancers Basel* **2021**, *13*, doi:10.3390/cancers13174344.

152. Hong, J.; Lee, J.; Kwon, M.; Kim, J.Y.; Kim, J.W.; Ahn, J.S.; Im, Y.H.; Park, Y.H. Local Laboratory Testing of Germline BRCA Mutations vs. Myriad: A Single-Institution Experience in Korea. *Diagn. Basel* **2021**, *11*, doi:10.3390/diagnostics11020370.

153. Gradishar, W.; Johnson, K.; Brown, K.; Mundt, E.; Manley, S. Clinical Variant Classification: A Comparison of Public Databases and a Commercial Testing Laboratory. *Oncologist* **2017**, *22*, 797–803, doi:10.1634/theoncologist.2016-0431.

154. Balmana, J.; Digiovanni, L.; Gaddam, P.; Walsh, M.F.; Joseph, V.; Stadler, Z.K.; Nathanson, K.L.; Garber, J.E.; Couch, F.J.; Offit, K.; et al. Conflicting Interpretation of Genetic Variants and Cancer Risk by Commercial Laboratories as Assessed by the Prospective Registry of Multiplex Testing. *J Clin Oncol* **2016**, *34*, 4071–4078, doi:10.1200/JCO.2016.68.4316.

155. Kurian, A.W.; Ward, K.C.; Howlader, N.; Deapen, D.; Hamilton, A.S.; Mariotto, A.; Miller, D.; Penberthy, L.S.; Katz, S.J. Genetic Testing and Results in a Population-Based Cohort of Breast Cancer Patients and Ovarian Cancer Patients. *J Clin Oncol* **2019**, *37*, 1305–1315, doi:10.1200/JCO.18.01854.

156. Takaya, H.; Nakai, H.; Takamatsu, S.; Mandai, M.; Matsumura, N. Homologous Recombination Deficiency Status-Based Classification of High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 2757, doi:10.1038/s41598-020-59671-3.

157. Schwarz, R.F.; Ng, C.K.; Cooke, S.L.; Newman, S.; Temple, J.; Piskorz, A.M.; Gale,

D.; Sayal, K.; Murtaza, M.; Baldwin, P.J.; et al. Spatial and Temporal Heterogeneity in High-Grade Serous Ovarian Cancer: A Phylogenetic Analysis. *PLoS Med* **2015**, *12*, e1001789, doi:10.1371/journal.pmed.1001789.

158. Lee, J.Y.; Yoon, J.K.; Kim, B.; Kim, S.; Kim, M.A.; Lim, H.; Bang, D.; Song, Y.S. Tumor Evolution and Intratumor Heterogeneity of an Epithelial Ovarian Cancer Investigated Using Next-Generation Sequencing. *BMC Cancer* **2015**, *15*, 85, doi:10.1186/s12885-015-1077-4.

159. Hunt, A.L.; Bateman, N.W.; Barakat, W.; Makohon-Moore, S.; Hood, B.L.; Conrads, K.A.; Zhou, M.; Calvert, V.; Pierobon, M.; Loffredo, J.; et al. Extensive Three-Dimensional Intratumor Proteomic Heterogeneity Revealed by Multiregion Sampling in High-Grade Serous Ovarian Tumor Specimens. *iScience* **2021**, *24*, 102757, doi:10.1016/j.isci.2021.102757.

160. Matei, D.; Nephew, K.P. Epigenetic Attire in Ovarian Cancer: The Emperor's New Clothes. *Cancer Res.* **2020**, *80*, 3775–3785, doi:10.1158/0008-5472.can-19-3837.

161. Turinetto, M.; Scotto, G.; Tuninetti, V.; Giannone, G.; Valabrega, G. The Role of PARP Inhibitors in the Ovarian Cancer Microenvironment: Moving Forward From Synthetic Lethality. *Front Oncol* **2021**, *11*, 689829, doi:10.3389/fonc.2021.689829.

162. Lecuelle, J.; Boidot, R.; Mananet, H.; Derangere, V.; Albuissou, J.; Goussot, V.; Arnould, L.; Tharin, Z.; Ray Coquard, I.; Ghiringhelli, F.; et al. TCR Clonality and Genomic Instability Signatures as Prognostic Biomarkers in High Grade Serous Ovarian Cancer. *Cancers Basel* **2021**, *13*, doi:10.3390/cancers13174394.

163. Labidi-Galy, S.I.; Olivier, T.; Rodrigues, M.; Ferraioli, D.; Derbel, O.; Bodmer, A.; Petignat, P.; Rak, B.; Chopin, N.; Tredan, O.; et al. Location of Mutation in BRCA2 Gene and Survival in Patients with Ovarian Cancer. *Clin Cancer Res* **2018**, *24*, 326–333, doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-2136.

164. Lheureux, S.; Lai, Z.; Dougherty, B.A.; Runswick, S.; Hodgson, D.R.; Timms, K.M.; Lanchbury, J.S.; Kaye, S.; Gourley, C.; Bowtell, D.; et al. Long-Term Responders on Olaparib Maintenance in High-Grade Serous Ovarian Cancer: Clinical and Molecular Characterization. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **2017**, *23*, 4086–4094, doi:10.1158/1078-0432.ccr-16-2615.

165. Ngoi, N.Y.L.; Tan, D.S.P. The Role of Homologous Recombination Deficiency Testing in Ovarian Cancer and Its Clinical Implications: Do We Need It? *ESMO Open* **2021**, *6*, 100144, doi:10.1016/j.esmoop.2021.100144.

166. Washington, C.R.; Moore, K.N. PARP Inhibitors in the Treatment of Ovarian Cancer: A Review. *Curr Opin Obstet Gynecol* **2021**, *33*, 1–6, doi:10.1097/gco.0000000000000675.

167. Demeny, M.A.; Virag, L. The PARP Enzyme Family and the Hallmarks of Cancer Part

2: Hallmarks Related to Cancer Host Interactions. *Cancers Basel* **2021**, *13*, doi:10.3390/cancers13092057.

168. Nath, A.; Cosgrove, P.A.; Mirsafian, H.; Christie, E.L.; Pflieger, L.; Copeland, B.; Majumdar, S.; Cristea, M.C.; Han, E.S.; Lee, S.J.; et al. Evolution of Core Archetypal Phenotypes in Progressive High Grade Serous Ovarian Cancer. *Nat Commun* **2021**, *12*, 3039, doi:10.1038/s41467-021-23171-3.

169. Masoodi, T.; Siraj, S.; Siraj, A.K.; Azam, S.; Qadri, Z.; Parvathareddy, S.K.; Tulbah, A.; Al-Dayel, F.; AlHusaini, H.; AlOmar, O.; et al. Genetic Heterogeneity and Evolutionary History of High-Grade Ovarian Carcinoma and Matched Distant Metastases. *Br J Cancer* **2020**, *122*, 1219–1230, doi:10.1038/s41416-020-0763-4.

170. McPherson, A.; Roth, A.; Laks, E.; Masud, T.; Bashashati, A.; Zhang, A.W.; Ha, G.; Biele, J.; Yap, D.; Wan, A.; et al. Divergent Modes of Clonal Spread and Intraperitoneal Mixing in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Nat Genet* **2016**, *48*, 758–767, doi:10.1038/ng.3573.

171. Lambrechts, S.; Smeets, D.; Moisse, M.; Braicu, E.I.; Vanderstichele, A.; Zhao, H.; Van Nieuwenhuysen, E.; Berns, E.; Sehouli, J.; Zeillinger, R.; et al. Genetic Heterogeneity after First-Line Chemotherapy in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Eur J Cancer* **2016**, *53*, 51–64, doi:10.1016/j.ejca.2015.11.001.

172. Bashashati, A.; Ha, G.; Tone, A.; Ding, J.; Prentice, L.M.; Roth, A.; Rosner, J.; Shumansky, K.; Kalloger, S.; Senz, J.; et al. Distinct Evolutionary Trajectories of Primary High-Grade Serous Ovarian Cancers Revealed through Spatial Mutational Profiling. *J Pathol* **2013**, *231*, 21–34, doi:10.1002/path.4230.

173. Cooke, S.L.; Ng, C.K.; Melnyk, N.; Garcia, M.J.; Hardcastle, T.; Temple, J.; Langdon, S.; Huntsman, D.; Brenton, J.D. Genomic Analysis of Genetic Heterogeneity and Evolution in High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *Oncogene* **2010**, *29*, 4905–4913, doi:10.1038/onc.2010.245.

174. Klotz, D.M.; Wimberger, P. Overcoming PARP Inhibitor Resistance in Ovarian Cancer: What Are the Most Promising Strategies? *Arch Gynecol Obstet* **2020**, *302*, 1087–1102, doi:10.1007/s00404-020-05677-1.

175. Lin, K.K.; Harrell, M.I.; Oza, A.M.; Oaknin, A.; Ray-Coquard, I.; Tinker, A.V.; Helman, E.; Radke, M.R.; Say, C.; Vo, L.T.; et al. BRCA Reversion Mutations in Circulating Tumor DNA Predict Primary and Acquired Resistance to the PARP Inhibitor Rucaparib in High-Grade Ovarian Carcinoma. *Cancer Discov* **2019**, *9*, 210–219, doi:10.1158/2159-8290.CD-18-0715.

176. Li, H.; Liu, Z.Y.; Wu, N.; Chen, Y.C.; Cheng, Q.; Wang, J. PARP Inhibitor Resistance: The Underlying Mechanisms and Clinical Implications. *Mol Cancer* **2020**, *19*, 107, doi:10.1186/s12943-020-01227-0.

177. Kondrashova, O.; Nguyen, M.; Shield-Artin, K.; Tinker, A.V.; Teng, N.N.H.; Harrell, M.I.; Kuiper, M.J.; Ho, G.Y.; Barker, H.; Jasin, M.; et al. Secondary Somatic Mutations Restoring RAD51C and RAD51D Associated with Acquired Resistance to the PARP Inhibitor Rucaparib in High-Grade Ovarian Carcinoma. *Cancer Discov* **2017**, *7*, 984–998, doi:10.1158/2159-8290.CD-17-0419.
178. Belotserkovskaya, R.; Raga Gil, E.; Lawrence, N.; Butler, R.; Clifford, G.; Wilson, M.D.; Jackson, S.P. PALB2 Chromatin Recruitment Restores Homologous Recombination in BRCA1-Deficient Cells Depleted of 53BP1. *Nat Commun* **2020**, *11*, 819, doi:10.1038/s41467-020-14563-y.
179. Xu, G.; Chapman, J.R.; Brandsma, I.; Yuan, J.; Mistrik, M.; Bouwman, P.; Bartkova, J.; Gogola, E.; Warmerdam, D.; Barazas, M.; et al. REV7 Counteracts DNA Double-Strand Break Resection and Affects PARP Inhibition. *Nature* **2015**, *521*, 541–544, doi:10.1038/nature14328.
180. Pettitt, S.J.; Krastev, D.B.; Brandsma, I.; Drean, A.; Song, F.; Aleksandrov, R.; Harrell, M.I.; Menon, M.; Brough, R.; Campbell, J.; et al. Genome-Wide and High-Density CRISPR-Cas9 Screens Identify Point Mutations in PARP1 Causing PARP Inhibitor Resistance. *Nat Commun* **2018**, *9*, 1849, doi:10.1038/s41467-018-03917-2.
181. Meghani, K.; Fuchs, W.; Detappe, A.; Drane, P.; Gogola, E.; Rottenberg, S.; Jonkers, J.; Matulonis, U.; Swisher, E.M.; Konstantinopoulos, P.A.; et al. Multifaceted Impact of MicroRNA 493-5p on Genome-Stabilizing Pathways Induces Platinum and PARP Inhibitor Resistance in BRCA2-Mutated Carcinomas. *Cell Rep* **2018**, *23*, 100–111, doi:10.1016/j.celrep.2018.03.038.
182. Gonzalez, D.; Stenzinger, A. Homologous Recombination Repair Deficiency (HRD): From Biology to Clinical Exploitation. *Genes. Chromosomes Cancer* **2021**, *60*, 299–302, doi:10.1002/gcc.22939.
183. Ceccaldi, R.; O'Connor, K.W.; Mouw, K.W.; Li, A.Y.; Matulonis, U.A.; D'Andrea, A.D.; Konstantinopoulos, P.A. A Unique Subset of Epithelial Ovarian Cancers with Platinum Sensitivity and PARP Inhibitor Resistance. *Cancer Res* **2015**, *75*, 628–634, doi:10.1158/0008-5472.CAN-14-2593.
184. Sheta, R.; Bachvarova, M.; Plante, M.; Renaud, M.C.; Sebastianelli, A.; Gregoire, J.; Navarro, J.M.; Perez, R.B.; Masson, J.Y.; Bachvarov, D. Development of a 3D Functional Assay and Identification of Biomarkers, Predictive for Response of High-Grade Serous Ovarian Cancer (HGSOC) Patients to Poly-ADP Ribose Polymerase Inhibitors (PARPis): Targeted Therapy. *J. Transl. Med.* **2020**, *18*, 439, doi:10.1186/s12967-020-02613-4.
185. Gulhan, D.C.; Lee, J.J.; Melloni, G.E.M.; Cortes-Ciriano, I.; Park, P.J. Detecting the Mutational Signature of Homologous Recombination Deficiency in Clinical Samples. *Nat Genet* **2019**,

51, 912–919, doi:10.1038/s41588-019-0390-2.

186. Davies, H.; Glodzik, D.; Morganello, S.; Yates, L.R.; Staaf, J.; Zou, X.; Ramakrishna, M.; Martin, S.; Boyault, S.; Sieuwerts, A.M.; et al. HRDetect Is a Predictor of BRCA1 and BRCA2 Deficiency Based on Mutational Signatures. *Nat Med* **2017**, *23*, 517–525, doi:10.1038/nm.4292.

187. Sztupinski, Z.; Diossy, M.; Borcsok, J.; Prosz, A.; Cornelius, N.; Kjeldsen, M.K.; Mirza, M.R.; Szallasi, Z. Comparative Assessment of Diagnostic Homologous Recombination Deficiency-Associated Mutational Signatures in Ovarian Cancer. *Clin Cancer Res* **2021**, doi:10.1158/1078-0432.CCR-21-0981.

188. Chan, A.M.; Enwere, E.; McIntyre, J.B.; Wilson, H.; Nwaroh, C.; Wiebe, N.; Ou, Y.; Liu, S.; Wiedemeyer, K.; Rambau, P.F.; et al. Combined CCNE1 High-Level Amplification and Overexpression Is Associated with Unfavourable Outcome in Tubo-Ovarian High-Grade Serous Carcinoma. *J Pathol Clin Res* **2020**, *6*, 252–262, doi:10.1002/cjp2.168.

189. Goundiam, O.; Gestraud, P.; Popova, T.; De la Motte Rouge, T.; Fourchette, V.; Gentien, D.; Hupe, P.; Becette, V.; Houdayer, C.; Roman-Roman, S.; et al. Histo-Genomic Stratification Reveals the Frequent Amplification/Overexpression of CCNE1 and BRD4 Genes in Non-BRCAness High Grade Ovarian Carcinoma. *Int J Cancer* **2015**, *137*, 1890–1900, doi:10.1002/ijc.29568.

190. da Costa, A.; do Canto, L.M.; Larsen, S.J.; Ribeiro, A.R.G.; Stecca, C.E.; Petersen, A.H.; Aagaard, M.M.; de Brot, L.; Baumbach, J.; Baiocchi, G.; et al. Genomic Profiling in Ovarian Cancer Retreated with Platinum Based Chemotherapy Presented Homologous Recombination Deficiency and Copy Number Imbalances of CCNE1 and RB1 Genes. *BMC Cancer* **2019**, *19*, 422, doi:10.1186/s12885-019-5622-4.

191. Luo, S.; Zhang, Y.; Yang, Y.; Zhu, S.; Liu, W.; Zhu, J.; Liang, X.; Jiang, Z.; Sun, S.; Hou, X.; et al. Clonal Tumor Mutations in Homologous Recombination Genes Predict Favorable Clinical Outcome in Ovarian Cancer Treated with Platinum-Based Chemotherapy. *Gynecol Oncol* **2020**, *158*, 66–76, doi:10.1016/j.ygyno.2020.04.695.

192. Nesic, K.; Kondrashova, O.; Hurley, R.M.; McGehee, C.D.; Vandenberg, C.J.; Ho, G.Y.; Lieschke, E.; Dall, G.; Bound, N.; Shield-Artin, K.; et al. Acquired RAD51C Promoter Methylation Loss Causes PARP Inhibitor Resistance in High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *Cancer Res* **2021**, *81*, 4709–4722, doi:10.1158/0008-5472.CAN-21-0774.

193. Hua, T.; Kang, S.; Li, X.F.; Tian, Y.J.; Li, Y. DNA Methylome Profiling Identifies Novel Methylated Genes in Epithelial Ovarian Cancer Patients with Platinum Resistance. *J Obstet Gynaecol Res* **2021**, *47*, 1031–1039, doi:10.1111/jog.14634.

194. Cardenas, H.; Fang, F.; Jiang, G.; Perkins, S.M.; Zhang, C.; Emerson, R.E.; Hutchins,



G.; Keer, H.N.; Liu, Y.; Matei, D.; et al. Methylomic Signatures of High Grade Serous Ovarian Cancer. *Epigenetics* **2020**, 1–16, doi:10.1080/15592294.2020.1853402.

195. Tomar, T.; Alkema, N.G.; Schreuder, L.; Meersma, G.J.; de Meyer, T.; van Criekinge, W.; Klip, H.G.; Fiegl, H.; van Nieuwenhuysen, E.; Vergote, I.; et al. Methylome Analysis of Extreme Chemosensitive Patients Identifies Novel Markers of Platinum Sensitivity in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *BMC Med* **2017**, *15*, 116, doi:10.1186/s12916-017-0870-0.

196. van Wijk, L.M.; Vermeulen, S.; Meijers, M.; van Diest, M.F.; Ter Haar, N.T.; de Jonge, M.M.; Solleveld-Westerink, N.; van Wezel, T.; van Gent, D.C.; Kroep, J.R.; et al. The RECAP Test Rapidly and Reliably Identifies Homologous Recombination-Deficient Ovarian Carcinomas. *Cancers* **2020**, *12*, doi:10.3390/cancers12102805.

197. Mukhopadhyay, A.; Elattar, A.; Cerbinskaite, A.; Wilkinson, S.J.; Drew, Y.; Kyle, S.; Los, G.; Hostomsky, Z.; Edmondson, R.J.; Curtin, N.J. Development of a Functional Assay for Homologous Recombination Status in Primary Cultures of Epithelial Ovarian Tumor and Correlation with Sensitivity to Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibitors. *Clin Cancer Res* **2010**, *16*, 2344–2351, doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-2758.

198. Shah, M.M.; Dobbin, Z.C.; Nowsheen, S.; Wielgos, M.; Katre, A.A.; Alvarez, R.D.; Konstantinopoulos, P.A.; Yang, E.S.; Landen, C.N. An Ex Vivo Assay of XRT-Induced Rad51 Foci Formation Predicts Response to PARP-Inhibition in Ovarian Cancer. *Gynecol. Oncol.* **2014**, *134*, 331–337, doi:10.1016/j.ygyno.2014.05.009.

199. Tumati, M.; Hietanen, S.; Hynninen, J.; Pietilä, E.; Färkkilä, A.; Kaipio, K.; Roering, P.; Huhtinen, K.; Alkods, A.; Li, Y.; et al. A Functional Homologous Recombination Assay Predicts Primary Chemotherapy Response and Long-Term Survival in Ovarian Cancer Patients. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **2018**, *24*, 4482–4493, doi:10.1158/1078-0432.ccr-17-3770.

200. Patterson, M.J.; Sutton, R.E.; Forrest, I.; Sharrock, R.; Lane, M.; Kaufmann, A.; O'Donnell, R.; Edmondson, R.J.; Wilson, B.T.; Curtin, N.J. Assessing the Function of Homologous Recombination DNA Repair in Malignant Pleural Effusion (MPE) Samples. *Br J Cancer* **2014**, *111*, 94–100, doi:10.1038/bjc.2014.261.

201. Cruz, C.; Castroviejo-Bermejo, M.; Gutierrez-Enriquez, S.; Llop-Guevara, A.; Ibrahim, Y.H.; Gris-Oliver, A.; Bonache, S.; Morancho, B.; Bruna, A.; Rueda, O.M.; et al. RAD51 Foci as a Functional Biomarker of Homologous Recombination Repair and PARP Inhibitor Resistance in Germline BRCA-Mutated Breast Cancer. *Ann Oncol* **2018**, *29*, 1203–1210, doi:10.1093/annonc/mdy099.

202. Castroviejo-Bermejo, M.; Cruz, C.; Llop-Guevara, A.; Gutierrez-Enriquez, S.; Ducy, M.; Ibrahim, Y.H.; Gris-Oliver, A.; Pellegrino, B.; Bruna, A.; Guzman, M.; et al. A RAD51 Assay

Feasible in Routine Tumor Samples Calls PARP Inhibitor Response beyond BRCA Mutation. *EMBO Mol Med* **2018**, *10*, doi:10.15252/emmm.201809172.

203. van Wijk, L.M.; Kramer, C.J.H.; Vermeulen, S.; Ter Haar, N.T.; de Jonge, M.M.; Kroep, J.R.; de Kroon, C.D.; Gaarenstroom, K.N.; Vrieling, H.; Bosse, T.; et al. The RAD51-FFPE Test; Calibration of a Functional Homologous Recombination Deficiency Test on Diagnostic Endometrial and Ovarian Tumor Blocks. *Cancers Basel* **2021**, *13*, doi:10.3390/cancers13122994.

204. Kieffer, Y.; Bonneau, C.; Popova, T.; Rouzier, R.; Stern, M.H.; Mehta-Grigoriou, F. Clinical Interest of Combining Transcriptomic and Genomic Signatures in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Front Genet* **2020**, *11*, 219, doi:10.3389/fgene.2020.00219.

205. Biswas, N.; Kumar, K.; Bose, S.; Bera, R.; Chakrabarti, S. Analysis of Pan-Omics Data in Human Interactome Network (APODHIN). *Front Genet* **2020**, *11*, 589231, doi:10.3389/fgene.2020.589231.

206. Kadkhoda, S.; Darbeheshti, F.; Tavakkoly-Bazzaz, J. Identification of Dysregulated MiRNAs-Genes Network in Ovarian Cancer: An Integrative Approach to Uncover the Molecular Interactions and Onco-mechanisms. *Cancer Rep Hoboken* **2020**, *3*, e1286, doi:10.1002/cnr2.1286.

207. Fu, A.; Chang, H.R.; Zhang, Z.F. Integrated Multiomic Predictors for Ovarian Cancer Survival. *Carcinogenesis* **2018**, *39*, 860–868, doi:10.1093/carcin/bgy055.

208. Lee, S.; Zhao, L.; Rojas, C.; Bateman, N.W.; Yao, H.; Lara, O.D.; Celestino, J.; Morgan, M.B.; Nguyen, T.V.; Conrads, K.A.; et al. Molecular Analysis of Clinically Defined Subsets of High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Cell Rep* **2020**, *31*, 107502, doi:10.1016/j.celrep.2020.03.066.

209. Li, M.; Balch, C.; Montgomery, J.S.; Jeong, M.; Chung, J.H.; Yan, P.; Huang, T.H.; Kim, S.; Nephew, K.P. Integrated Analysis of DNA Methylation and Gene Expression Reveals Specific Signaling Pathways Associated with Platinum Resistance in Ovarian Cancer. *BMC Med Genomics* **2009**, *2*, 34, doi:10.1186/1755-8794-2-34.

210. Vidula, N.; Rich, T.A.; Sartor, O.; Yen, J.; Hardin, A.; Nance, T.; Lilly, M.B.; Nezami, M.A.; Patel, S.P.; Carneiro, B.A.; et al. Routine Plasma-Based Genotyping to Comprehensively Detect Germline, Somatic, and Reversion BRCA Mutations among Patients with Advanced Solid Tumors. *Clin Cancer Res* **2020**, *26*, 2546–2555, doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-2933.

211. Yu, M.; Zhu, Y.; Teng, L.; Cui, J.; Su, Y. Can Circulating Cell-Free DNA or Circulating Tumor DNA Be a Promising Marker in Ovarian Cancer? *J Oncol* **2021**, *2021*, 6627241, doi:10.1155/2021/6627241.

212. Thusgaard, C.F.; Korsholm, M.; Koldby, K.M.; Kruse, T.A.; Thomassen, M.; Jochumsen, K.M. Epithelial Ovarian Cancer and the Use of Circulating Tumor DNA: A Systematic Review. *Gynecol. Oncol.* **2021**, *161*, 884–895, doi:10.1016/j.ygyno.2021.04.020.

213. Paracchini, L.; Beltrame, L.; Grassi, T.; Inglesi, A.; Fruscio, R.; Landoni, F.; Ippolito, D.; Delle Marchette, M.; Paderno, M.; Adorni, M.; et al. Genome-Wide Copy-Number Alterations in Circulating Tumor DNA as a Novel Biomarker for Patients with High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Clin Cancer Res* **2021**, *27*, 2549–2559, doi:10.1158/1078-0432.CCR-20-3345.
214. Kandimalla, R.; Wang, W.; Yu, F.; Zhou, N.; Gao, F.; Spillman, M.; Moukova, L.; Slaby, O.; Salhia, B.; Zhou, S.; et al. OCaMIR-A Noninvasive, Diagnostic Signature for Early-Stage Ovarian Cancer: A Multi-Cohort Retrospective and Prospective Study. *Clin Cancer Res* **2021**, *27*, 4277–4286, doi:10.1158/1078-0432.CCR-21-0267.
215. Ghafouri-Fard, S.; Shoorei, H.; Taheri, M. MiRNA Profile in Ovarian Cancer. *Exp Mol Pathol* **2020**, *113*, 104381, doi:10.1016/j.yexmp.2020.104381.
216. Yoshida, K.; Yokoi, A.; Kato, T.; Ochiya, T.; Yamamoto, Y. The Clinical Impact of Intra- and Extracellular MiRNAs in Ovarian Cancer. *Cancer Sci.* **2020**, *111*, 3435–3444, doi:10.1111/cas.14599.
217. Zuberi, M.; Mir, R.; Khan, I.; Javid, J.; Guru, S.A.; Bhat, M.; Sumi, M.P.; Ahmad, I.; Masroor, M.; Yadav, P.; et al. The Promising Signatures of Circulating MicroRNA-145 in Epithelial Ovarian Cancer Patients. *Microna* **2020**, *9*, 49–57, doi:10.2174/2211536608666190225111234.
218. Choi, Y.J.; Rhee, J.K.; Hur, S.Y.; Kim, M.S.; Lee, S.H.; Chung, Y.J.; Kim, T.M.; Lee, S.H. Intraindividual Genomic Heterogeneity of High-Grade Serous Carcinoma of the Ovary and Clinical Utility of Ascitic Cancer Cells for Mutation Profiling. *J Pathol* **2017**, *241*, 57–66, doi:10.1002/path.4819.
219. Paracchini, L.; D’Incalci, M.; Marchini, S. Liquid Biopsy in the Clinical Management of High-Grade Serous Epithelial Ovarian Cancer-Current Use and Future Opportunities. *Cancers* **2021**, *13*, doi:10.3390/cancers13102386.
220. Lee, C.K.; Simes, R.J.; Brown, C.; Lord, S.; Wagner, U.; Plante, M.; Vergote, I.; Pisano, C.; Parma, G.; Burges, A.; et al. Prognostic Nomogram to Predict Progression-Free Survival in Patients with Platinum-Sensitive Recurrent Ovarian Cancer. *Br J Cancer* **2011**, *105*, 1144–1150, doi:10.1038/bjc.2011.364.
221. Previs, R.A.; Bevis, K.S.; Huh, W.; Tillmanns, T.; Perry, L.; Moore, K.; Chapman, J.; McClung, C.; Kiet, T.; Java, J.; et al. A Prognostic Nomogram to Predict Overall Survival in Women with Recurrent Ovarian Cancer Treated with Bevacizumab and Chemotherapy. *Gynecol Oncol* **2014**, *132*, 531–536, doi:10.1016/j.ygyno.2014.01.036.
222. Paik, E.S.; Sohn, I.; Baek, S.Y.; Shim, M.; Choi, H.J.; Kim, T.J.; Choi, C.H.; Lee, J.W.; Kim, B.G.; Lee, Y.Y.; et al. Nomograms Predicting Platinum Sensitivity, Progression-Free Survival, and Overall Survival Using Pretreatment Complete Blood Cell Counts in Epithelial Ovarian Cancer.

*Cancer Res Treat* **2017**, *49*, 635–642, doi:10.4143/crt.2016.282.

223. Rose, P.G.; Java, J.J.; Salani, R.; Geller, M.A.; Secord, A.A.; Tewari, K.S.; Bender, D.P.; Mutch, D.G.; Friedlander, M.L.; Van Le, L.; et al. Nomogram for Predicting Individual Survival After Recurrence of Advanced-Stage, High-Grade Ovarian Carcinoma. *Obstet Gynecol* **2019**, *133*, 245–254, doi:10.1097/AOG.0000000000003086.

224. Kim, S.I.; Song, M.; Hwangbo, S.; Lee, S.; Cho, U.; Kim, J.H.; Lee, M.; Kim, H.S.; Chung, H.H.; Suh, D.S.; et al. Development of Web-Based Nomograms to Predict Treatment Response and Prognosis of Epithelial Ovarian Cancer. *Cancer Res Treat* **2019**, *51*, 1144–1155, doi:10.4143/crt.2018.508.

225. Tjokrowidjaja, A.; Friedlander, M.; Lord, S.J.; Asher, R.; Rodrigues, M.; Ledermann, J.A.; Matulonis, U.A.; Oza, A.M.; Bruchim, I.; Huzarski, T.; et al. Prognostic Nomogram for Progression-Free Survival in Patients with BRCA Mutations and Platinum-Sensitive Recurrent Ovarian Cancer on Maintenance Olaparib Therapy Following Response to Chemotherapy. *Eur J Cancer* **2021**, *154*, 190–200, doi:10.1016/j.ejca.2021.06.024.

226. McAlpine, J.N.; Porter, H.; Kobel, M.; Nelson, B.H.; Prentice, L.M.; Kalloger, S.E.; Senz, J.; Milne, K.; Ding, J.; Shah, S.P.; et al. BRCA1 and BRCA2 Mutations Correlate with TP53 Abnormalities and Presence of Immune Cell Infiltrates in Ovarian High-Grade Serous Carcinoma. *Mod Pathol* **2012**, *25*, 740–750, doi:10.1038/modpathol.2011.211.

227. Hwangbo, S.; Kim, S.I.; Kim, J.H.; Eoh, K.J.; Lee, C.; Kim, Y.T.; Suh, D.S.; Park, T.; Song, Y.S. Development of Machine Learning Models to Predict Platinum Sensitivity of High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *Cancers Basel* **2021**, *13*, doi:10.3390/cancers13081875.

228. Nougaret, S.; McCague, C.; Tibermacine, H.; Vargas, H.A.; Rizzo, S.; Sala, E. Radiomics and Radiogenomics in Ovarian Cancer: A Literature Review. *Abdom Radiol NY* **2021**, *46*, 2308–2322, doi:10.1007/s00261-020-02820-z.

229. How, J.A.; Jazaeri, A.A.; Fellman, B.; Daniels, M.S.; Penn, S.; Solimeno, C.; Yuan, Y.; Schmeler, K.; Lanchbury, J.S.; Timms, K.; et al. Modification of Homologous Recombination Deficiency Score Threshold and Association with Long-Term Survival in Epithelial Ovarian Cancer. *Cancers* **2021**, *13*, doi:10.3390/cancers13050946.

230. Tewari, K.S.; Burger, R.A.; Enserro, D.; Norquist, B.M.; Swisher, E.M.; Brady, M.F.; Bookman, M.A.; Fleming, G.F.; Huang, H.; Homesley, H.D.; et al. Final Overall Survival of a Randomized Trial of Bevacizumab for Primary Treatment of Ovarian Cancer. *J Clin Oncol* **2019**, *37*, 2317–2328, doi:10.1200/JCO.19.01009.

231. Fardet, L.; Galicier, L.; Lambotte, O.; Marzac, C.; Aumont, C.; Chahwan, D.; Coppo, P.; Hejblum, G. Development and Validation of the HScore, a Score for the Diagnosis of Reactive

Hemophagocytic Syndrome. *Arthritis Rheumatol. Hoboken NJ* **2014**, *66*, 2613–2620, doi:10.1002/art.38690.

232. Lauby, A.; Colombaro, O.; Corbaux, P.; Peron, J.; Van Wagenveld, L.; Gertych, W.; Bakrin, N.; Descargues, P.; Lopez, J.; Kepenekian, V.; et al. The Increasing Prognostic and Predictive Roles of the Tumor Primary Chemosensitivity Assessed by CA-125 Elimination Rate Constant K (KELIM) in Ovarian Cancer: A Narrative Review. *Cancers* **2021**, *14*, 98, doi:10.3390/cancers14010098.

233. Poort, H.; Fenton, A.T.H.R.; Thompson, E.; Dinardo, M.M.; Liu, J.F.; Arch, J.J.; Wright, A.A. Lived Experiences of Women Reporting Fatigue during PARP Inhibitor Maintenance Treatment for Advanced Ovarian Cancer: A Qualitative Study. *Gynecol. Oncol.* **2021**, *160*, 227–233, doi:10.1016/j.ygyno.2020.10.034.

234. Morice, P.-M.; Leary, A.; Dolladille, C.; Chrétien, B.; Poulain, L.; González-Martín, A.; Moore, K.; O'Reilly, E.M.; Ray-Coquard, I.; Alexandre, J. Myelodysplastic Syndrome and Acute Myeloid Leukaemia in Patients Treated with PARP Inhibitors: A Safety Meta-Analysis of Randomised Controlled Trials and a Retrospective Study of the WHO Pharmacovigilance Database. *Lancet Haematol.* **2021**, *8*, e122–e134, doi:10.1016/S2352-3026(20)30360-4.

235. Tjokrowidjaja, A.; Friedlander, M.; Lord, S.J.; Asher, R.; Rodrigues, M.; Ledermann, J.A.; Matulonis, U.A.; Oza, A.M.; Bruchim, I.; Huzarski, T.; et al. Prognostic Nomogram for Progression-Free Survival in Patients with BRCA Mutations and Platinum-Sensitive Recurrent Ovarian Cancer on Maintenance Olaparib Therapy Following Response to Chemotherapy. *Eur J Cancer* **2021**, *154*, 190–200, doi:10.1016/j.ejca.2021.06.024.

236. Su, R.; Liu, Y.; Wu, X.; Xiang, J.; Xi, X. Dynamically Accumulating Homologous Recombination Deficiency Score Served as an Important Prognosis Factor in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Front. Mol. Biosci.* **2021**, *8*, 762741, doi:10.3389/fmolb.2021.762741.


237. Pujade-Lauraine, E.; Selle, F.; Scambia, G.; Asselain, B.; Marmé, F.; Lindemann, K.; Colombo, N.; Madry, R.; Glasspool, R.M.; Dubot, C.; et al. LBA33 Maintenance Olaparib Rechallenge in Patients (Pts) with Ovarian Carcinoma (OC) Previously Treated with a PARP Inhibitor (PARPi): Phase IIIb OReO/ENGOT Ov-38 Trial. *Ann. Oncol.* **2021**, *32*, S1308–S1309, doi:10.1016/j.annonc.2021.08.2110.

238. Kristeleit, R.; Lisyanskaya, A.; Fedenko, A.; Dvorkin, M.; de Melo, A.C.; Shparyk, Y.; Rakhmatullina, I.; Bondarenko, I.; Colombo, N.; Svintsitskiy, V.; et al. Rucaparib versus Standard-of-Care Chemotherapy in Patients with Relapsed Ovarian Cancer and a Deleterious BRCA1 or BRCA2 Mutation (ARIEL4): An International, Open-Label, Randomised, Phase 3 Trial. *Lancet Oncol.* **2022**, *23*, 465–478, doi:10.1016/S1470-2045(22)00122-X.

239. Barber, E.; Matei, D. Immunotherapy in Ovarian Cancer: We Are Not There Yet. *Lancet Oncol* **2021**, *22*, 903–905, doi:10.1016/S1470-2045(21)00303-X.
240. Monk, B.J.; Coleman, R.L.; Fujiwara, K.; Wilson, M.K.; Oza, A.M.; Oaknin, A.; O'Malley, D.M.; Lorusso, D.; Westin, S.N.; Safra, T.; et al. ATHENA (GOG-3020/ENGOT-Ov45): A Randomized, Phase III Trial to Evaluate Rucaparib as Monotherapy (ATHENA-MONO) and Rucaparib in Combination with Nivolumab (ATHENA-COMBO) as Maintenance Treatment Following Frontline Platinum-Based Chemotherapy in Ovarian Cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer Off. J. Int. Gynecol. Cancer Soc.* **2021**, *31*, 1589–1594, doi:10.1136/ijgc-2021-002933.
241. Clovis Oncology's Rubraca® (Rucaparib) Significantly Improves Progression-Free Survival In First-Line Maintenance Treatment In Women With Ovarian Cancer Regardless Of Their Biomarker Status In Phase 3 ATHENA-MONO Trial.
242. Goel, N.; Foxall, M.E.; Scalise, C.B.; Wall, J.A.; Arend, R.C. Strategies in Overcoming Homologous Recombination Proficiency and PARP Inhibitor Resistance. *Mol. Cancer Ther.* **2021**, *20*, 1542–1549, doi:10.1158/1535-7163.MCT-20-0992.
243. © Oncogénétique En 2019 /Consultations & Laboratoires, Collection Appui à La Décision, Institut National Du Cancer, Juin 2021.
244.  
<Inhibiteurs\_PARP\_preconisation\_pour\_un\_parcours\_en\_genetique\_oncologique\_mel\_2019\_1104.Pdf>.
245. Moretta, J.; Berthet, P.; Bonadona, V.; Caron, O.; Cohen-Haguenaer, O.; Colas, C.; Corsini, C.; Cusin, V.; De Pauw, A.; Delnatte, C.; et al. Recommandations françaises du Groupe Génétique et Cancer pour l'analyse en panel de gènes dans les prédispositions héréditaires au cancer du sein ou de l'ovaire. *Bull. Cancer (Paris)* **2018**, *105*, 907–917, doi:10.1016/j.bulcan.2018.08.003.

Review

# Toward More Comprehensive Homologous Recombination Deficiency Assays in Ovarian Cancer, Part 1: Technical Considerations

Stanislas Quesada <sup>1,2,\*</sup>, Michel Fabbro <sup>1,3</sup>  and Jérôme Solassol <sup>2,3,4</sup> 

<sup>1</sup> Medical Oncology Department, Institut Régional du Cancer de Montpellier (ICM), 34298 Montpellier, France; michel.fabbro@icm.unicancer.fr

<sup>2</sup> Faculty of Medicine, University of Montpellier, 34090 Montpellier, France; j-solassol@chu-montpellier.fr

<sup>3</sup> Montpellier Research Cancer Institute (IRCM), Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) U1194, University of Montpellier, 34298 Montpellier, France

<sup>4</sup> Department of Pathology and Onco-Biology, Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Montpellier, 34295 Montpellier, France

\* Correspondence: stanislas.quesada@icm.unicancer.fr

**Simple Summary:** High-grade serous ovarian cancer (HGSOC) is the most frequent and lethal form of ovarian cancer and is associated with homologous recombination deficiency (HRD) in 50% of cases. This specific alteration is associated with sensitivity to PARP inhibitors (PARPis). Despite vast prognostic improvements due to PARPis, current molecular assays assessing HRD status suffer from several limitations, and there is an urgent need for a more accurate evaluation. In these companion reviews (Part 1: Technical considerations; Part 2: Medical perspectives), we develop an integrative review to provide physicians and researchers involved in HGSOC management with a holistic perspective, from translational research to clinical applications.



**Citation:** Quesada, S.; Fabbro, M.; Solassol, J. Toward More Comprehensive Homologous Recombination Deficiency Assays in Ovarian Cancer, Part 1: Technical Considerations. *Cancers* **2022**, *14*, 1132. <https://doi.org/10.3390/cancers14051132>

Academic Editor: Anna E. Lokshin

Received: 21 January 2022

Accepted: 22 February 2022

Published: 23 February 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** High-grade serous ovarian cancer (HGSOC), the most frequent and lethal form of ovarian cancer, exhibits homologous recombination deficiency (HRD) in 50% of cases. In addition to mutations in *BRCA1* and *BRCA2*, which are the best known thus far, defects can also be caused by diverse alterations to homologous recombination-related genes or epigenetic patterns. HRD leads to genomic instability (genomic scars) and is associated with PARP inhibitor (PARPi) sensitivity. HRD is currently assessed through *BRCA1/2* analysis, which produces a genomic instability score (GIS). However, despite substantial clinical achievements, FDA-approved companion diagnostics (CDx) based on GISs have important limitations. Indeed, despite the use of GIS in clinical practice, the relevance of such assays remains controversial. Although international guidelines include companion diagnostics as part of HGSOC frontline management, they also underscore the need for more powerful and alternative approaches for assessing patient eligibility to PARP inhibitors. In these companion reviews, we review and present evidence to date regarding HRD definitions, achievements and limitations in HGSOC. Part 1 is dedicated to technical considerations and proposed perspectives that could lead to a more comprehensive and dynamic assessment of HR, while Part 2 provides a more integrated approach for clinicians.

**Keywords:** high-grade serous ovarian cancer; homologous recombination deficiency; BRCA; genomic scars; HRD assays; PARP inhibitors

## 1. Introduction

High-grade serous ovarian cancer (HGSOC) is the most frequent and lethal form of epithelial ovarian cancer (EOC) [1]. Despite substantial improvement in the clinical management of HGSOC, the all-stage 5-year overall survival (OS) rate remains at approximately 40% [2–4]. Thus, a better understanding of this disease is urgently required, from molecular

deciphering to new therapeutic molecules. As such, a novel class of molecules, called polyadenosine diphosphate-ribose polymerase (PARP) inhibitors, emerged during the last decade. PARP inhibitors (PARPis) are based on homologous recombination deficiency (HRD), a molecular alteration that affects approximately 50% of HGSOC cases. In parallel with PARPi development, HRD assays have been developed to provide clinicians with accurate estimates of homologous recombination status. As such, PARPis, coupled with HRD assays, led to substantial improvements in HGSOC prognosis [5].

However, HRD assays remain controversial, notably due to their technical and medical relevance [6,7]. By bridging the gap between molecular and clinical considerations, these companion reviews will present the evidence to date regarding HRD definitions, achievements and limitations in EOC, with the aim of providing physicians and researchers involved in HGSOC management with a holistic perspective, from translational research to clinics. Part 1 focuses on molecular and technical considerations, describing: 1. the main components of HRD through a dichotomic approach (i.e., causes and consequences); 2. the rationale, development and technical performance of current HRD assays; and 3. the limitations inherent to current HRD assays and the axes of research and proposed perspectives that could lead to a more comprehensive and dynamic assessment of HRD, with the aim of improving its predictive value. The companion paper (Part 2) focuses on clinical considerations and, notably, the impact of PARPis in the clinic.

## 2. From Ovarian Cancer Genetics to Homologous Recombination Defects

### 2.1. HGSOC Predispositions: Germline Alterations and Affected Pathways

Discoveries in observational studies and family studies led to the determination of genetic factors involved in EOC risk, notably those associated with the so-called hereditary breast and ovarian cancer (HBOC) syndrome caused by germline mutations in *BRCA1* or *BRCA2* (*BRCA1/2*). Based on The Cancer Genome Atlas (TCGA) database, it is estimated that 15–20% of HGSOC patients carry a germline mutation in *BRCA1/2* genes, leading to a cumulative risk of developing EOC by the age of 80 years of 44% and 17%, respectively, versus 1.4% in the general population [8,9]. *BRCA1* mutation carriers exhibit OC at a younger age than *BRCA2* mutation carriers. The high prevalence of *BRCA1/2* mutations led to the formulation of international guidelines to integrate genetic testing, or at least genetic counseling, upon EOC diagnosis, particularly in the context of a familial history of OC [10–13]. Furthermore, prophylactic risk-reducing bilateral salpingo-oophorectomy has been shown to be an effective prevention strategy in germline *BRCA1/2* carriers [14]. It also should be noted that *BRCA2* germline mutation increases the risk of prostate and pancreatic cancers [8,13]. A few cases of constitutive epimutations (i.e., aberrant hypermethylation) of the *BRCA1* promoter have been reported [15,16]. Other germline mutations have also been described, such as *RAD51C*, *RAD51D*, *PALB2*, *BARD1* or *BRIP1*, representing a cumulative frequency of approximately 5% [17,18]. Notably, inherited mutations in mismatch repair genes (mainly *hMLH1*, *hMSH2*, *hMSH6* and *PMS2*), which lead to Lynch syndrome, are also known to increase the risk of OC, although they mainly exhibit endometrioid histology [19]. Beyond germline alterations, EOC depends on a few crucial pathways. Indeed, *TP53* (which encodes the tumor suppressor p53) is mutated in approximately 96% of HGSOC cases and is considered an early event and driver mutation of cancer progression [20,21]. Data from TCGA have shown recurrent mutations in a restricted set of genes: *BRCA1*, *BRCA2*, *NF1*, *RB1* and *CDK12* [9]. Furthermore, HGSOC is also characterized by frequent chromosomal instability through DNA gain/loss, leading to tumor suppressor gene (TSG) loss and oncogene amplification [22].

Strikingly, several genes altered in HGSOC are involved in DNA repair through the homologous recombination (HR) process. Briefly, single-strand breaks (SSB) are processed through the base excision repair (BER) mechanism, mainly involving PARP proteins (of whom PARP1 is the most characterized). When facing double-strand break (DSB), cells will use different repair mechanisms: homologous recombination (HR), non-homologous end joining (NHEJ) and microhomology-mediated end joining (MMEJ). While the HR process



leads to faithful DNA repair by using a homologous template, end resects are directly ligated by NHEJ, potentially leading to small insertions/deletions (indels). MMEJ also leads to specific indels, which are longer than the ones occurring during NHEJ [23].

## 2.2. BRCA1 and BRCA2: Key Players in EOC

At the genetic level, alterations to *BRCA1* and *BRCA2* are the most frequent and best characterized alterations in the HR pathway. Indeed, both germline and somatic deleterious mutations in *BRCA1/2* genes (referred to as *gBRCA\** and *sBRCA\**, respectively) have been shown to promote HGSOC [9,24]. *BRCA1/2* play key roles in genome integrity maintenance and their alteration are an early event in the EOC carcinogenetic process; indeed, the loss of the first allele of *BRCA1* (or *BRCA2*) is a facilitating event for *TP53* loss, both of them leading to EOC development [25]. The most frequent and well-known alterations are short mutations in *BRCA1/2* genes, leading to coding sequence disruption (through missense, nonsense or frameshift mutations) that subsequently inactivate proteins or result in dominant-negative mutations [26]. According to the two-hit Knudson hypothesis, in the context of *gBRCA\**, all the cells in the patient already carry an inactive copy of *BRCA* (the first hit); thus, the loss of the second allele (the second hit), which mainly occurs through loss of heterozygosity (LOH), is the only step needed to produce HRD [27]. In contrast, patients without *gBRCA\** need two hits to develop HRD. *gBRCA1\** and *gBRCA2\** are estimated to occur in 8% and 6% of HGSOC cases, respectively. Furthermore, *sBRCA1\** and *sBRCA2\** are found in an additional 4% and 3% of cases, respectively [9,28]. Notably, it has been suggested that *BRCA1* haploinsufficiency due to *gBRCA1\** could be sufficient to initiate tumorigenesis through the *TP53* mutation, without needing a second hit [29]. This hypothesis is supported by the fact that retention of the normal allele (i.e., absence of LOH) has been reported to occur in 7% and 16% of HGSOC cases that carry *gBRCA1\** or *gBRCA2\**, respectively [30]. Nevertheless, in the context of *sBRCA\**, LOH is considered to be near-universal; additionally, a few studies have reported that short mutations could be an alternative second hit [31,32].

Recently, multimegabase large rearrangements (LRs) at the *BRCA1/2* loci have been suggested to lead to HRD, accounting for approximately 16% of patients [33]. Owing to their different structures, the *BRCA1* and *BRCA2* proteins exhibit distinct functions in the cell. Aside from HR, in which the role of *BRCA2* remains unclear, *BRCA1* exhibits a variety of functions in the cell, such as cell cycle regulation, chromatin remodeling, replication fork protection and apoptosis [34,35].

In addition to direct alterations to DNA sequences, epigenetic mechanisms can also lead to loss of expression of *BRCA1*. Indeed, *BRCA1* promoter methylation ( $-CpG+$ ) has been characterized for decades [36]. Data from TCGA revealed that the *BRCA1-CpG+* mechanism leads to HRD in approximately 11% of HGSOC cases [9]. According to a meta-analysis based on 16 studies, *BRCA1-CpG+* is found in approximately 16% of EOCs [37]. A recent study, which analyzed 88 EOCs, found *BRCA1-CpG+* and *BRCA2-CpG+* in 19.3% and 4.6% of the cases, respectively [38]. This latter finding could imply that *BRCA2-CpG+* is a cause of HRD, although it has been classically considered a quite rare event. Interestingly, *BRCA* mutations and *BRCA1-CpG+* are almost mutually exclusive [9].

## 2.3. Beyond BRCA: The BRCAness Concept

Although initially described with *BRCA1/2\**, HRD was later characterized in the context of wild-type *BRCA* (*BRCA<sup>wt</sup>*); therefore, the so-called “BRCAness” phenotype, encompassing any HRD not caused by a direct *BRCA* alteration, was identified [39]. In *BRCA<sup>wt</sup>*, biallelic mutations in HR genes that lead to BRCAness have been described. They represent approximately 5% of cases and mainly concern mutations to *RAD51C*, *RAD51D*, *BRIP1* and *PALB2* [40–42]. In addition to point mutations, LRs that affect genes other than *BRCA1/2*, such as *RAD50* and *NBS1*, have been reported [43]. Furthermore, HRD can be the consequence of EMSY (a *BRCA2*-interacting transcriptional repressor) amplification, an alteration found in approximately 5% of cases [44,45]. Notably, a specific subset of HGSOC cases

exhibits *CCNE1* amplification, a molecular carcinogenetic pathway associated with HR proficiency and a poor prognosis [46].

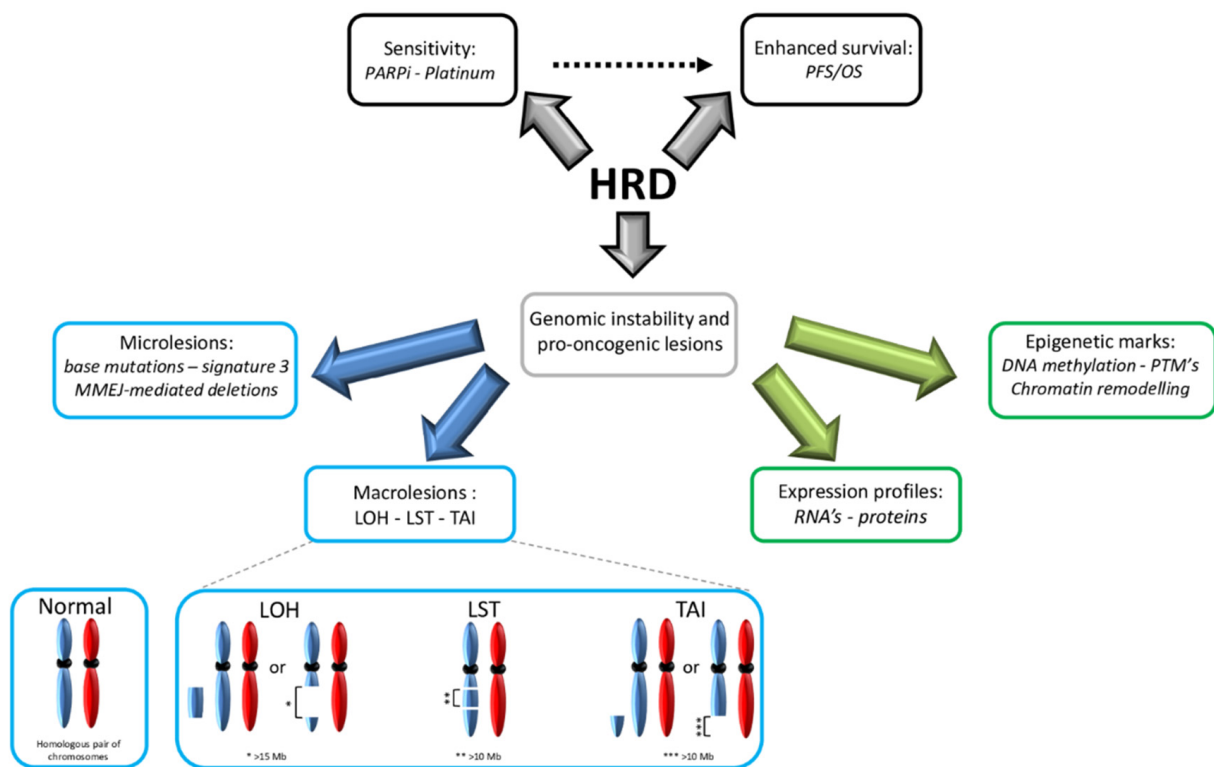
In addition to BRCAness due to genetic mutations, promoter methylation in other HR genes, such as *RAD51C* and *PALB2*, has been described in HGSOE [26,47]. Apart from protein-coding RNAs, the role that microRNAs (miRNAs), typically studied in the regulation of gene expression through translation inhibition and mRNA degradation, play in the carcinogenetic process has begun to emerge, with specific miRNA signatures associated with OC [48,49]. Deregulation of some miRNAs, such as miR-509-3p and miR-211, through HR inhibition, has been implicated in platinum-sensitive (Pt-S) cancers [50,51]. Long noncoding RNAs (lncRNAs), which exhibit a wide range of physiological functions, such as transcription regulation and scaffolding within cells, have been linked to OC risk, carcinogenesis and prognosis [52,53]. For instance, *PCAT-1* leads to HRD in prostate cancer by suppressing *BRCA2* [54]. Although several lncRNAs have been shown to be involved in HR, their actual etiologic impact on HRD still needs to be assessed in EOC [55]. Interestingly, it has been suggested that miRNA and lncRNAs deregulations are caused by alterations in methylation, implying crosstalk between these two epigenetic processes.

Chromatin dynamics rely mainly on posttranslational modifications (PTMs), nucleosome positioning and spatial genome organization; these modifications are involved in complex crosstalk with DNA methylation [56]. Currently, there is no clinical proof that such epigenetic modifications can directly lead to HRD in the context of OC [57]. However, as chromatin can act as a gene silencer and a barrier to efficient DNA repair, it appears plausible that chromatin remodeling could partly explain (or at least participate in) HRD in OC [58]. Indeed, several histone PTMs have been described in the context of DSBs, notably participating in the selection between the HR and NHEJ pathways [59,60]. Interestingly, H2AX phosphorylation at serine 139 (the so-called  $\gamma$ -H2AX) is considered the hallmark of DSBs [61]. H4K16 acetylation and H3K36 trimethylation act synergistically and are required for HR after a DSB; loss of these markers leads to inefficient HR [62,63]. Bromodomain-containing protein 9 (BRD9), which has been shown to be mutated in EOC, is essential for acetylation of *RAD54* and its interaction with *RAD54* is likewise necessary for efficient HR [64].

In conclusion, although not easily translatable to routine clinical practice, many of the intricate epigenetic mechanisms involved in HR and its deficiency have been described thus far.

#### 2.4. Consequences of HRD

Owing to the democratization of next-generation sequencing (NGS), intensive oncological research has been conducted to investigate correlations between specific cancer types and distinct sets of DNA alterations (the “mutation signature”). In addition to histomolecular correlations, data on specific carcinogens (e.g., tobacco smoke) and tumor aggressiveness have led to molecular classifications [65,66]. Thus, the consequences of HRD can be classified into three different categories: DNA alterations, epigenetic markers and functional phenotypes (Figure 1).



**Figure 1. Genomic instability as a consequence of HRD.** HRD shows genomic instability and pro-oncogenic lesions responsible for multiple genetic (blue squares) and epigenetic (green squares) events characterizing tumor progression and defining PARPi sensitivity and survival enhancement (black squares). Signature 3 refers to a specific base substitution pattern, which is the consequence of HRD. Abbreviations are as follows: HRD: homologous recombination deficiency; LOH: loss of heterozygosity; LST: large-scale transition; MMEJ: microhomology-mediated end-joining; OS: overall survival; PFS: progression-free survival; PARPi: poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase inhibitor; PTM: posttranslational modification; TAI: telomere allelic imbalance.

#### 2.4.1. Genetics

DNA alterations can be divided into two classes: microlesions (affecting a single to a few nucleotides) and macroleisions (affecting larger DNA regions, up to megabases). At the microlesional scale, *BRCA* alterations (caused by *gBRCA1/2\**, *sBRCA1/2\** or *BRCA1-CpG+*) lead to a specific base substitution pattern, named “signature 3” [67–69]. In contrast to the other defined signatures, the *BRCA1/2\**-associated signature exhibits a relatively equal distribution of different base substitutions (i.e., transitions and transversions) that are quite homogeneous across the gene. Furthermore, it is characterized by a high number of microhomology-mediated deletions, which are consequences of HRD and the compensatory use of the MMEJ mechanism. Interestingly, *BRCA1/2\** leads to a seven-fold increase in base mutagenesis through HRD, thus promoting oncogenesis and intratumoral heterogeneity [70]. In addition to *BRCA* alterations, signature 3 has been observed in other HR-related genes, leading to a *BRCAness* molecular signature [71–73]. Notably, this signature is not present in the context of incomplete inactivation of HR-related genes [35].

At the (sub)chromosomal scale, HRD leads to gross rearrangements and aberrations [74]. Several types of LR have been described as consequences of HRD. Branded with the generic term “genomic scars”, they constitute a permanent fingerprint of HRD-related global genomic instability [75]. The literature tends to use “mutational signatures” and “genomic scars” to refer to microlesions and macroleisions, respectively; however, these are interchangeable. HRD leads to a specific panel of copy number alterations through deletions, duplications, inversions and translocations. Indeed, *BRCA1/2\** breast tumors

exhibit a specific genomic profile in array comparative genomic hybridization (aCGH), a profile that can also be found in tumors that exhibit *BRCAness* [76,77].

More precisely, three types of alterations are enriched in tumors with HRD: LOH, large-scale state transitions (LSTs) and telomere allelic imbalance (TAI). *Stricto sensu*, LOH is an allelic imbalance (i.e., loss of equilibrium between paternal and maternal alleles); it can be either “copy defective” (i.e., a simple loss of one of the alleles and subsequent haploidy in a given locus) or “copy neutral” (i.e., no loss of diploidy) [78]. In the context of HRD, LOH refers to deletions >15 megabases (Mb) but less than a whole chromosome [79]. TAI is defined as an allelic imbalance >11 Mb in subtelomeric regions [80]. Conversely, LST refers to an allelic imbalance >10 Mb in size between adjacent genomic regions, a phenomenon caused by translocations and insertions/deletions [81]. Notably, in the context of HRD, these alterations are found across the genome, and their global enrichment is reflected in the global genomic instability score (GIS) [82].

#### 2.4.2. Epigenetic Markers

In addition to genetic alterations, HRD is also associated with epigenetic alterations. However, the link between cause and consequence is harder to establish for epigenetic alterations. Indeed, the different HRD-related epigenetic alterations can precede, maintain or occur after an HRD phenotype develops.

The simplest layer of epigenetics is based on specific gene expression profiles (GEPs), secondary to DNA mutations [83]. Most of the studies assessing epigenetics to date have been performed in the context of *BRCA*\*. Seminal studies have shown specific GEPs are associated with *BRCA*\* tumors, with a distinct panel depending on the gene affected (*BRCA1*\* versus *BRCA2*\*) and on the etiology (germinal versus sporadic); intriguingly, a partial overlap exists among these and a subset of *BRCA*<sup>wt</sup> HGSOC cases, suggesting a common HRD-associated GEP [84–86]. A 60-gene-specific panel associated with *BRCAness* has been described [87]. Specifically, HRD exhibits a distinct core GEP [88]. Notably, in the context of *gBRCA1*\*, even healthy fallopian tissue exhibits a specific GEP, suggesting an epigenome-modifying influence [89,90]. The partial divergence observed between *BRCA1*\* and *BRCA2*\* tumors probably relies on the pleiotropic function of *BRCA1*, which is not restricted to DSB management [91,92].

Several epigenetic markers have been associated with HRD. Importantly, *BRCA1* has been shown to negatively regulate Polycomb-repressive complex 2, a major chromatin remodeling enzyme involved in stem cell-state maintenance through transcriptional repression of histone H3K27 trimethylation [93,94]. Following HRD, tumors exhibit specific PTMs, with lower levels of H4K12/16-acetylation and overexpression of histone deacetylase 6 [95,96]. In patients with *gBRCA1/2*\*, apparently “normal” fallopian tissue still carries a reprogrammed epigenome with a specific methylome [97]. The inefficiency of HR leads to a lack of RAD51 recruitment at DSB sites (the so-called “RAD51 foci”) [98,99]. Furthermore, a subnetwork of 30 co-expressed proteins distinguishes HRD versus non-HRD HGSOC [96].

#### 2.4.3. Functional Consequences

At the functional level, HRD tumors are metabolically distinct; indeed, they rely more on oxidative phosphorylation than glycolysis [100]. Owing to error-prone DSB processing, HRD tumors have a higher tumor mutational burden (TMB), neoantigen load and HLA-I expression [101]. This is in accordance with the increase in tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes and the higher expression of PD-1/PD-L1 proteins observed in *BRCA1/2*\* HGSOC, reflecting an “immunologically hot” phenotype [102].

Clinically, HRD tumors tend to be more sensitive to platinum-based regimens and PARPis, although differences exist depending on the underlying HRD mechanism [98,103]. Platinum-based treatments mainly rely on DSB generation via crosslinks with DNA, a phenomenon that is highly toxic to cells in the context of HRD [104]. In terms of PARPis, the sensitivity of HRD tumors is based on their synthetic lethality (SL). This concept relies on the fact that cancer cells harbor gene defects that are not lethal per se, but that become

lethal when combined with a defect in another gene [105]. When using PARPis, SL occurs because of the inability of HRD tumors to manage DSBs. Some PARPs (a large family of 17 proteins that participates in several cellular pathways through the ADP-ribose PTM and whose deregulation is implicated in carcinogenesis) are involved in DNA repair. PARP1, which is the most characterized PARP, plays a key role in SSB repair mainly through BER, although its role in MMEJ has recently been described [106,107]. Consequently, PARPis impairs the BER pathway, leading to SSB accumulation and progression to DSBs. In HR-proficient cells, these DSBs will be processed, allowing continued cell viability. In contrast, HRD cells accumulate DSBs, ultimately leading to apoptosis. Interestingly, recent studies have shown that PARPis have other roles, such as stalling the replication fork, stalling or trapping PARP1 on DNA (leading to protein-DNA adducts) and subsequent cell death in HRD cells [108]. In the context of HGSOc, seminal studies showed both in vivo and in vitro a specific SL occurring with PARPis in a BRCA-deficient context [109,110]. Subsequently, this breakthrough class of agents started to emerge in randomized clinical trials with substantial improvements in patients with HRD HGSOc, leading to approval of three molecules to date: olaparib, niraparib and rucaparib. Clinical considerations will be developed in Part 2 of this review. Noteworthy, HRD HGSOc spontaneously tends to have improved progression-free survival (PFS) and OS, which is in part due to better treatment responses [111].

Consequently, an accurate evaluation of the HRD status of cases remains essential, for both prognosis and theranostics.

### 3. HRD Companion Assays in Clinical Practice

Owing to the potent impact of HRD status on HGSOc management, several assays have been developed for HRD evaluation; while some have been used in research thus far, others are currently used as “companion diagnostic” (CDx) assays prior to PARPi prescription. This section will focus on clinically validated and/or routinely used tests (Table 1), while tests currently under investigation will be discussed in the fourth part of this review. This review will only focus on technical considerations (performances and limitations of each test), while the clinical considerations (i.e., the relevance of evaluating HRD status as a biomarker for PARPi prescription and response) will be detailed in the related paper. To date, three CDx assays have currently received FDA approval for OC [112]. HRD evaluation mainly relies on two strategies (following the cause *versus* consequences dichotomy): searching for mutations in HR-related genes (mainly BRCA\*); the causes of HRD) and/or the presence of “genomic scars” (the consequences of HRD).



**Table 1.** Current FDA-approved CDx for HRD evaluation in ovarian cancer.

CDx Test	Sample Requirement	BRCA1/2 Analyses <sup>1</sup>	BRCA1/2 Technical Concerns and Limits of Detection (LOD) <sup>1</sup>	GIS Evaluation <sup>1</sup>	GIS LOD <sup>1</sup>	HRD + Cutoff <sup>1</sup>	Cost (in \$)	FDA Approvals
BRACAnalysis® (MG)	• 5–7 mL (blood)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• gBRCA</li> <li>• Targeting:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- full coding sequence</li> <li>- flanking regions</li> </ul> </li> <li>• PCR + Sanger on AB® ABI3730 (SNV, indels)</li> <li>• Multiplex PCR with BART® pipeline (LR)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• sBRCA* are not detected</li> <li>• Less detected alterations:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- LR</li> <li>- deletions &gt; 40 bp</li> <li>- insertions &gt; 10 bp</li> </ul> </li> </ul>	NA	NA	NA	0–295 <sup>2</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2014: OC with ≥3 L → OLA (gBRCA*)</li> <li>• 2018: aEOC in P/CR → OLA (1Lm; gBRCA*)</li> <li>• 2018: rEOC if ≥2 L → RUCA (gBRCA*)</li> </ul>
MyChoice® (MG)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FFPE</li> <li>• Block/≥10 slides</li> <li>• ≥25 mm<sup>2</sup></li> <li>• ≥20% tumor cells</li> <li>• DNA: 30–200 ng</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• tBRCA</li> <li>• Hybridization-based capture + NGS</li> <li>• Illumina® HiSeq2500</li> <li>• Customized pipeline:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Indels</li> <li>- SNV</li> <li>- LR (exons + promoters)</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No distinction between sBRCA* and gBRCA*</li> <li>• Less detected alterations:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- indels &gt; 25 bp</li> <li>- whole gene deletions</li> </ul> </li> <li>• Allele frequency LOD's:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- ≈7% (SNV)</li> <li>- ≈6% (&lt;10 bp indels)</li> <li>- ≈30% (≥3 exons LR)</li> <li>- ≈50% (1–2 exons LR)</li> </ul> </li> </ul>	Pangenomic LST+LOH +TAI	≥30%	GIS ≥ 42 and/or tBRCA*	4040	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2019: rEOC (≥3 L/Pt-s) → NIRA (HRD+)</li> <li>• 2020: aEOC in C/PR → OLA + bevacizumab (1Lm; HRD+)</li> </ul>
FoundationOne® <sup>3</sup> (FM)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FFPE</li> <li>• Block/≥10 slides</li> <li>• ≥25 mm<sup>2</sup></li> <li>• ≥20% tumor cells</li> <li>• DNA: 50–1000 ng</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• tBRCA</li> <li>• Hybridization-based capture + NGS</li> <li>• Illumina® HiSeq4000</li> <li>• Customized pipeline:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Indels</li> <li>- SNV</li> <li>- LR (coding exons)</li> <li>- Rearrangements</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No distinction between sBRCA* and gBRCA*</li> <li>• Poorly detected alterations:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- &gt;13 bp indels</li> <li>- polyT regions</li> <li>- specific LR (≥1 exon indels, inversions, transversions, HD)</li> </ul> </li> <li>• Allele frequency LOD's:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- ≈6% (SNV, ≥12 bp indels in non-repetitive regions)</li> <li>- ≈15% (homopolymer regions)</li> <li>- ≈8% (BRCA2 HD)</li> <li>- ≈20% (rearrangements)</li> </ul> </li> </ul>	Pangenomic LOH	≥35%	LOH ≥ 165800 and/or tBRCA*	165800	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2016: rEOC with ≥2L<sup>4</sup> → RUCA (tBRCA*)</li> <li>• 2018: aEOC in P/CR → OLA (1Lm; tBRCA*)</li> <li>• 2018: rEOC in C/PR<sup>5</sup> → RUCA (2Lm)</li> </ul>

Abbreviations are as follows: 1Lm = first-line maintenance; 2Lm = second-line maintenance; ≥2 L = 2 or more previous lines of chemotherapy; ≥3 L = 3 or more previous lines of chemotherapy; aEOC = advanced epithelial ovarian cancer (including primitive peritoneal and fallopian tube cancers); CDx = companion diagnostic; C/PR = complete/partial response to platinum-based chemotherapy; FFPE = formalin-fixed paraffin-embedded; FM = FoundationMedicine; gBRCA = germline BRCA; GIS = genomic instability score; HD: homozygous deletion; HRD (+) = homologous recombination deficiency (positive); LOH = loss of heterozygosity; MG = MyriadGenetics; NA = not applicable; NIRA: niraparib; OC = ovarian cancer; OLA: olaparib; Pt-s = platinum-sensitive; rEOC = recurrent epithelial ovarian cancer (including primitive peritoneal and fallopian tube cancers); RUCA: rucaparib; tBRCA = tumoral BRCA. Nota bene: <sup>1</sup> data is presented according to the technical information provided by the manufacturers and laboratory validation studies; complementary technical information, particularly for clinical validation studies, is provided within the text. <sup>2</sup> The cost of BRACAnalysis® CDx is highly dependent on medical insurance coverage in the USA. <sup>3</sup> The F1-CDx also detects microlesions and macrolesions in 324 genes, selected gene rearrangements, and MSI and TMB. <sup>4</sup> In this context, FoundationOne Liquid CDx (performed on a whole blood sample) is also FDA-approved but does not provide LOH evaluation. <sup>5</sup> In this context, rucaparib is not biomarker-driven, but a positive HRD status is predictive of its efficacy and indicates improved progression-free survival.

### 3.1. BRCA Mutations

Currently, the mutation statuses of *BRCA1* and *BRCA2* can be either evaluated through gene-specific (i.e., *BRCA1/2* targeted sequencing) or multipanel testing, the latter detecting potentially targetable non-BRCA alterations. Based on central sequencing confirmation, the *gBRCA* tests provided by different companies have been shown to produce reliable results concerning molecular alterations, with a concordance of >95% [113]. The rate of variants of unknown significance (VUS), which was originally 84% during initial *BRCA* testing development, has dropped to approximately 10% due to VUS reclassification and refinement, notably through the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA

(CIMBA) [114]. However, non-*BRCA* HR-related genes, when used in some randomized controlled trials (RCTs) evaluating PARPis or Pt-S in HGSOC, have produced conflicting results and are currently under investigation [11,12,40,42].

Depending on the context, *BRCA* analysis can be performed either in blood samples (i.e., constitutive) or directly within the tumor (*tBRCA*). While detection of *gBRCA\** in blood samples generally implies altered *BRCA* within the tumor, the presence of a mutation within the tumor (i.e., *tBRCA\**) from formalin-fixed paraffin-embedded tissue (FFPE) can be due either to *sBRCA\** or *gBRCA\**. Current international guidelines and practices recommend *tBRCA\** testing, at a minimum, for newly diagnosed HGSOC, though systematic *gBRCA* evaluation recommendations vary between guidelines [10,11,22,115,116].

As *gBRCA\** represents the vast majority of *tBRCA\** and has important implications for the hereditary risk of breast and ovarian cancers (HBOC) and screening of patient relatives, current guidelines systematically recommend referral to genetic counseling upon *tBRCA\** detection [11,12,115,116]. Evaluation of *gBRCA* needs to be performed both at the micro- and macro-lesion scales, as LR constitutes a non-negligible fraction of *BRCA* alterations. Following the decision of the USA Supreme Court concerning the ineligibility of *BRCA* gene sequencing patents, many institutes and companies have developed their own assays [117].

MyriadGenetics (MG), which initially characterized the sequence of *BRCA*, developed the BRACAnalysis<sup>®</sup> CDx in accordance with its extensive experience with BRACAnalysis<sup>®</sup> of HBOC [118]. In 2014, BRACAnalysis<sup>®</sup> CDx (BA-CDx) became the first FDA-approved CDx, along with olaparib, for treating patients with *gBRCA\** advanced OC who previously received  $\geq 3$  lines of chemotherapy [119]. BA-CDx relies on sequencing genomic DNA obtained from whole blood samples collected in EDTA. The entire coding sequences of the *BRCA1/2* genes are included (as well as promoter regions and intron/exon boundaries). Point mutations and short indels are analyzed with polymerase chain reaction (PCR) and Sanger sequencing, while large rearrangements (LR-including deletions/duplications) are detected with multiplex PCR and a proprietary system entitled BART<sup>®</sup> CDx.

There are five different classifications of results: positive for a deleterious mutation; genetic variant-suspected deleterious; genetic variant, favor polymorphism; genetic VUS; and no mutation detected. The VUS classification is the one of highest concern for geneticists and oncologists, with a moving interpretation according to scientific discoveries. MG uses its own private database, which relies on its extensive experience with *BRCA* analysis for determining hereditary cancer risk and variant classifications.

To MG (consistent with the American College of Medical Genetics and Genomics recommendations), mutations are considered deleterious if they fall in one of the following categories: nonsense and frameshift mutations occurring at/or before the last known deleterious amino acid position of the affected gene; deletions/duplications of entire exons; LR leading to frameshifts; and mutations/LR based on the data derived from the linkage analysis of high-risk families, functional assays, biochemical evidence, statistical evidence, and/or demonstration of abnormal mRNA transcript processing [120]. MG classification is performed by a committee of experts (i.e., board-certified laboratory and medical directors, research scientists, genetic counselors and variant support specialists) and further enriches their proprietary database [121].

According to the technical information given by MG, analytical validation studies (i.e., nonclinical studies) of BA-CDx were performed on a set of 110 samples containing single nucleotide variants (SNVs), deletions of up to 40 base pairs (bp) and insertions of up to 10 bp, with a validated NGS-based assay as comparator [121]. Agreement analyses included 100% positive percent agreement (PPA), negative percent agreement (NPA), and overall percent agreement (OPA). BART<sup>®</sup> CDx accuracy was evaluated by using a validated microarray assay on a set of 103 patients (with 29 samples positive for a large rearrangement in *BRCA1* or *BRCA2*). BART<sup>®</sup> CDx yielded valid results for 98 samples, with concordance between the 2 tests for 97 samples (the discordant sample was identified as duplication by BART<sup>®</sup> CDx and triplication by the reference assay) [121].

Clinical validation was performed on samples from several studies that evaluated the effect of PARPi on OC. Notably, a subset of 61 samples from Study 42 (NCT01078662), initially tested locally, was retrospectively tested with BA-CDx, and provided a 96.7% (59/61) concordance rate (the 2 discordant samples included 1 sample without a callable result with BA-CDx and another with a different variant classification result). Patients from the SOLO1 RCT (NCT01844986) enrolled either through prospectively testing with BA-CDx (n = 181) or local testing (n = 210). Of these 210 patients, 208 were retrospectively tested, and concordance was achieved for 207 of them (98.5%) [113,121].

The main limitation of the BA-CDx assay is that it only detects *gBRCA\**; as *gBRCA\** represents approximately 70% of *BRCA*-mutated patients; a negative BA-CDx result does not rule out *sBRCA\**. Other limitations of the BA-CDx include the lack of general detection of insertions that differ from duplications and unequal allele amplification (and subsequent false-negative results) from rare polymorphisms under primer sites [121]. BA-CDx is currently FDA-approved as a CDx assay in three distinct situations where *gBRCA\** evaluation is required prior to PARPi prescription, as detailed in Table 1.

### 3.2. Genomic Scars

Two commercially available CDx assays have been prospectively validated for the evaluation of genomic scars thus far: FoundationFocus CDxBRCA-LOH<sup>®</sup> (FF-CDx) from FoundationMedicine (FM) and MyChoice CDx<sup>®</sup> (MC-CDx) from MG [11,22]. Both tests combine *tBRCA* sequencing and genomic scarring evaluation. As *BRCA* analysis is performed on tumoral tissue, it does not distinguish between *gBRCA\** and *tBRCA\**.

FF-CDx is based on comprehensive (i.e., including characterization of point mutations and indels) deep NGS, and thus has a >95% sensitivity and >99% positive predictive value; the starting material is FFPE, either in block form or on at least 10 unstained slides, with a minimum of 20% malignant tissue for *BRCA1/2* analysis [122,123]. It relies on whole-genome shotgun library construction and hybridization-based capture, amplification and sequencing of the constructed library. Interestingly, while the capture process targets approximately 1.5 Mb of the human genome (including all coding exons of 310 cancer-related genes, introns or noncoding regions of 35 genes and >3500 SNVs located throughout the genome), the FF-CDx only reports results for *BRCA1/2*, raising the question of “lost data”. Subsequently, *tBRCA1/2\** (including SNVs and indels up to 13 bp) are detected through a custom analysis pipeline, with a 5% mutation allele frequency (MAF) cutoff (lowered to 1% for SNVs and 3% for indels mutations in hotspots). *tBRCA\** is considered deleterious when it leads to premature stop codons (PSCs) anywhere in *BRCA1/2* coding regions (with the exception of the *BRCA2* PSC at position K3326 and 3' downstream), splice site alterations (defined as mutations at intron/exon junctions, ±2 bp from exon starts/ends) or deleterious missense alterations (according to the curated list based on the Breast Cancer Information Core database).

An analytical validation study of FF-CDx was performed on a set of 36 *tBRCA\** (including SNVs, deletions up to 12 bp and insertions up to 4 bp) and 44 *tBRCA* wild-type (*tBRCA<sup>wt</sup>*) samples, with a validated NGS-based assay as a comparator. Agreement analyses were as follows: 100% PPA, 94.9% NPA and 97.3% OPA. The limits of detection (LODs, defined as the minimal allele frequency necessary to detect a given lesion) vary by type of alteration: 6% for SNVs and indels ≥12 bp in non-repetitive regions and 15.3% for deletions in homopolymer regions. Clinical validation was performed on a subset of the samples from Study 10 (NCT01482715) and the ARIEL2 (NCT01891344) study. The clinical bridging study, which compared FF-CDx versus local testing for *BRCA1/2* evaluation, was performed on 67 samples and showed 97% PPA, 100% NPA and 97.9% OPA [124]. LOH was calculated through an almost genome-wide (i.e., the 22 pairs of autosomes) analysis of the >3500 SNVs detected in the hybridization-based capture process, leading to a global score that reflected the percentage of genomic LOH. Tumors were defined as “LOH high” (≥16%) or “LOH low” (<16%), corresponding to HRD-positive (HRD+) and HRD-negative (HRD-) statuses, respectively [125]. Notably, a positive HRD result was



produced if the tumor was “LOH high” and/or exhibited a *tBRCA\**. Laboratory validation of the LOH component of the assay indicated the LOD was  $\geq 35\%$  DNA tumor content for a reliable analysis; furthermore, the accuracy of the LOH evaluation (calculated through inter-run reproducibility) was lower when the LOH value approached the 16% cutoff. Notably, “LOH high” initially had a different cutoff ( $\geq 14\%$ ), as it was defined through TCGA analysis for the ARIEL2 study [126].

Interestingly, the FF-CDx evolved in parallel with RCTs that evaluated the PARPi rucaparib. Indeed, FoundationMedicine initially proposed a test entitled FoundationFocus CDxBRCA© that only focused on *tBRCA* alterations (point mutations and short indels); this test received FDA approval in 2016, along with the PARPi rucaparib, for patients with *tBRCA\**-associated advanced OC with  $\geq 2$  lines of chemotherapy [127]. This test subsequently included LOH analysis following the ARIEL2 and ARIEL3 (NCT01968213) studies that evaluated rucaparib, with the aim of determining the HRD status of patients with mutations beyond *tBRCA\**; the LOH analysis was performed with FM T5 NGS, which is an assay developed for clinical trials and has the same characteristics as the marketed FF-CDx [126,128]. Interestingly, 6% (ARIEL2) and 8.7% (ARIEL3) of the LOH evaluations provided inconclusive results.

Importantly, FF-CDx is no longer available as a stand-alone assay but is provided within the more general FoundationOne CDx© (F1-CDx), driving a comprehensive multi cancer analysis. Indeed, beyond the *tBRCA\** and LOH evaluations, F1-CDx can detect mutations in a panel of 324 genes captured through the hybridization-based process, including copy number alterations, TMB, MSI and specific gene rearrangements [22]. The results are provided in three classes: CDx claims, cancer mutations with evidence of clinical significance, and cancer mutations with potential clinical significance. Comparison with the LOH evaluation of FF-CDx produced 97.5% PPA, 95.1% NPA and 96.7% OPA.

According to its technical information, the F1-CDx assay allows LR identification; however, its concordance with other validated methods has not been evaluated. Consequently, confirmatory validation is required upon copy number alterations that affect *BRCA* (except for whole *BRCA1/2* homozygous deletion). Furthermore, although this test theoretically has an LOD of  $>20\%$  tumor purity for LR (importantly, this value is given for all HR pathway genes), the clinical bridging study using the SOLO1 (which only enrolled patients with *tBRCA\**) samples gave conflicting results. Indeed, 368 (94.1%) patients from SOLO1 were retrospectively tested, and 335 had a valid F1-CDx result. Of these 335 patients, a deleterious mutation in *BRCA1/2* was not confirmed in 22 cases. Twelve of these discrepancies were due to differences in variant classification (i.e., different criteria between F1-CDx and local testing assays); the remaining 10 patients actually had LR ( $\geq 1$  exon deletions or duplications), indicating a substantial lack of sensitivity for LR detection from the F1-CDx assay; however, this resulted in FDA approval of F1-CDx as a CDx for this indication [129]. Recently, FoundationMedicine has marketed the FoundationOne Liquid® CDx for detecting *tBRCA\** (with a parallel analysis of the 324-gene panel) directly in a blood sample; however, this test does not detect LOH and has only been validated prior to rucaparib treatment [130]. It should be noted that multigene panel testing, although time- and cost-efficient due to its comprehensive content, also increases the risk of detecting VUS. Interestingly, although FF-CDx for *tBRCA\** detection is a prerequisite for PARPi prescription for two distinct indications in OC, the third FDA-approved indication (HRD evaluation prior to rucaparib maintenance as a second-line treatment) is not biomarker-driven. Indeed, a positive HRD status is considered predictive of efficacy and to indicate enhanced PFS.

The development of MC-CDx, which is supported by MG’s expertise with BRACAnalysis®, has also advanced; its GIS calculation differs from that of FF-CDx. The correlation between LOH, LST and TAI with *BRCA1/2\** and Pt-S has been previously described [80–82]; subsequently, the superiority of the correlation among these three measurements was shown in comparison to each individual component [131]. Consequently, the GIS (proprietary score of MG- GIS<sub>MG</sub>) consists of the unweighted numeric sum of LOH, LST and TAI. HRD positivity is currently defined by a GIS<sub>MG</sub>  $\geq 42$  and/or *tBRCA1/2\**. The GIS<sub>MG</sub>  $\geq 42$  threshold

was set following the analysis of a training cohort that consisted of 497 chemotherapy-naïve BC patients and 561 EOC patients whose *BRCA1/2* status was known. Thus, by evaluating HRD scores in this cohort, the  $GIS_{MC}$  positivity cutoff was predefined with a 95% sensitivity for detecting tumors with *BRCA1/2*\* or *BRCA-CpG+*; this test was then evaluated for its ability to identify Pt-S triple-negative BC (TNBC) in a neoadjuvant setting [132].

Following its initial validation in TNBC, MC-CDx was investigated in several RCTs, such as PRIMA, VELIA and PAOLA-1, which evaluated PARPis (niraparib, veliparib and olaparib, respectively) in EOC [133–135]. Importantly, similar to FF-CDx, the GIS positivity threshold of MC-CDx ( $GIS_{MC}$ ) has been set at different values. Indeed, while it was initially proposed at  $GIS_{MC} \geq 42$ , another cutoff of  $GIS_{MC} \geq 33$  (corresponding to the first percentile of HRD scores observed in *tBRCA1/2*\* tumors) has also been used, such as in the VELIA trial, with the goal of avoiding false-negatives [42,46,134].

Similar to FF-CDx, MC-CDx relies on a multistep process based on hybridization-based capture and NGS (i.e., fragmentation, end repair and adenylation, adapter ligation, library construction/amplification, hybridization and capture, sequencing and data analysis). The hybridization process was performed through a custom Agilent SureSelect® capture array consisting of pangenomic probes at 54091 SNV sites and 685 probes for *BRCA1/2* exons and exon boundaries. Normalized base and exon coverage of *BRCA1/2* were calculated to detect LRs. MC-CDx exhibited a less sensitive performance in *BRCA1/2*\* detection (notably for LRs) than BA-CDx, as it is performed through NGS and on biopsies (implying tissue heterogeneity). Indeed, indels >25 bp were less frequently detected than whole gene duplications/deletions. The LODs were as follows: 7.2% for an SNV, 6.6% for a <10 bp deletion, 6.3% for a <10 bp insertion, 5.9% for a  $\geq 10$  bp deletion, 30% for  $\geq 3$  exons LR and 50% for 1–2 exons LR.

For BA-CDx, MC-CDx uses the MG proprietary classification score for variant classification. Comparison with a validated NGS-based assay on 209 FFPE clinical specimens from cancer patients (5 *tBRCA1/2*\*  $GIS_{MC}$  −; 71 *tBRCA1/2*<sup>WT</sup>  $GIS_{MC}$  −; 66 *tBRCA1/2*\*  $GIS_{MC}$  +; 61 *tBRCA1/2*<sup>WT</sup>  $GIS_{MC}$  +) indicated 99.9% PPA (95% lower limit confidence of 99.7%), 100% NPA for *BRCA1/2* SNVs/indels and 100% OPA for *tBRCA* LR. Concordance analysis gave high fidelity results, both for GIS status (98.5% OPA, 97.4% NPA and 98.1% OPA) and HRD status (98.5% OPA, 98.6% NPA and 98.5% OPA). In 136 FFPE samples harboring *tBRCA1/2*<sup>WT</sup>, a 0% false-positive rate was observed, and a MAF threshold of 5% was defined, as no spurious variants were observed above this cutoff. The MC-CDx results were not affected by necrosis of the tumor area up to 60%.

The SOLO1 sample (n = 391), already tested with BA-CDx (in whole blood) for *gBRCA*\*, retrospectively provided clinical validation of MC-CDx. FFPE DNA samples from 298 patients were used: 284 patients were confirmed to carry *tBCRA*\*, 8 were not, and 6 samples failed the test. Pathogenic LR, which was detected at the germline level by BA-CDx in 15 patients produced the following results within the tumors: detection in 12 (80%) cases, absence of detection in 1 (6.7%) case because of the known limit of MC-CDx detection and 2 (13.3%) unanalyzable samples because of the poor quality of the tumor specimens. In the almost “real-life” conditions of clinical trials, MC-CDx indicated an unknown HRD status in 10–20% of patients: 10% (46/463 patients-all causes) in QUADRA (NCT02354586), 12% (137/1140 patients-all causes) in VELIA (NCT02470585), 15% (54/350; 26 inconclusive results and 28 inadequate/missing specimens) in NOVA (NCT01847274), 20% (163/806; 70 inconclusive results and 93 inadequate/insufficient specimens) in PAOLA-1 (NCT02477644) and 15% (111/733; 80 inconclusive results and 31 inadequate/insufficient specimens) in PRIMA (NCT02655016). Notably, when focusing on trials that detailed the cause of the lack of HRD information (i.e., NOVA, PAOLA-1 and PRIMA) and by examining only the missing data caused by failed tests (i.e., inconclusive results in tested patients), it appears that MC-CDx fails to provide a valid result in 8.1–11.4% of tests.

As a consequence of this prospective validation, which was based on RCTs and will be detailed in the companion paper (Part 2), these two FDA-approved assays led to a better definition of therapeutic sensitivity (notably for PARPis) and have been included as

part of the EOC management in the European Society for Medical Oncology (ESMO) and American Society of Clinical Oncology (ASCO) recommendations [11,115].

#### 4. HRD Definitions: Current Technical Concerns and Perspectives

Despite yielding considerable progress in HGSOC management (which is detailed in the companion paper), validated HRD assays currently suffer from several technical limitations that can be schematically categorized as preanalytical, analytical or postanalytical. Furthermore, medical considerations, which will be developed in the companion paper, should also be assessed.

##### 4.1. Technical Concerns

The technical concerns can be further divided into three categories: preanalytical, analytical and postanalytical. First, the different FDA-validated HRD assays (i.e., BA-CDx, MC-CDx and F1-CDx) do not exhibit the same performance on clinical samples and are therefore not interchangeable. When comparing MC-CDx (positive if  $\geq 42\%$ ), the percentage of LOH (analogous to the measurement of HRD status through F1-CDx; positive if  $\geq 16\%$ ) and an 11-gene panel (consisting of genes involved in the HR pathway; positive if a pathogenic variant is found), it appears that many HRD+ patients (according to MC-CDx) are not detected through the other methods. Indeed, up to 46% of HRD+ (MC-CDx) patients were missed by the percentage of LOH and the 11-gene panel. Moreover, using a lower cutoff (i.e., GIS  $\geq 33\%$ ), such as used in the VELIA trial, resulted in missing up to 61% of patients [136].

##### 4.1.1. Preanalytical

According to the different RCTs, approximately 5–10% of samples are unfit for HRD processing. This can be the consequence of insufficient starting material, paucity of tumor cellularity, or poor quality or degraded specimens.

Another aspect that should be considered is sample heterogeneity, which occurs at two distinct levels. Typically, a processed sample exhibits  $< 100\%$  tumor cellularity, meaning that the analysis will include a fraction of normal tissue that can interfere with HRD evaluation, either by lowering the GIS or preventing *tBRCA\** detection; importantly, this limit does not exist for *gBRCA\**, as all cells harbor the mutation. Moreover, each tumor exhibits different lineages and clonal evolutions, with possible discordant HRD statuses. In recent years, tumor heterogeneity has emerged as a cornerstone of treatment resistance, including resistance to platinum and PARPis. This intratumoral heterogeneity is also present between distinct tumors, for instance, between primary and secondary lesions [137].

##### 4.1.2. Analytical

BA-CDx, while being the gold standard for *gBRCA* analysis, detects only germinal mutations and consequently fails to detect *sBRCA\**, which occurs in approximately 30% of *BRCA*-mutated HGSOC cases. Therefore, a negative result from the BA-CDx blood test does not rule out the presence of *sBRCA\**.

Setting aside BA-CDx, the tumoral HRD assays suffer from high LODs (explained in the companion review). While manufacturers indicate that a minimum value of 20% tumor cellularity is required for processing, at least 30–35% tumor cellularity is needed to evaluate GIS (or risk a false-negative). Furthermore, beyond the LODs related to tumor cellularity, HRD assays evaluating *tBRCA\** barely detect LRs, although LRs are present in up to 16% of HGSOC patients, thus leading to false *tBRCA<sup>wt</sup>* statuses [33]. Recently, SIGNPOST showed that approximately 20% of *gBRCA\** was missed by the initial *tBRCA\** assessment, with the stunning revelation that none of the LRs of the cohort (representing 11% of *gBRCA\**) were detected by the *tBRCA\** evaluation [138].

#### 4.1.3. Postanalytical

Even if the starting material is sufficient for the requirements of the manufacturer, approximately 5–10% of processed samples still give inconclusive results regarding the HRD status. For *BRCA1/2* genes, the main concern is misclassification. Although recent years have led to an improved understanding of the functions and molecular alterations of *BRCA1/2* (and consequently to more accurate classifications), discrepancies still exist within databases [139–141]. While the accumulation of data led to important refinements in the classification of *BRCA* mutations, and despite the synchronization of classification according to guidelines and data sharing, reclassification still frequently occurs [142]. In addition to clear pathogenic variants, “likely pathogenic” variants are frequently included in RCTs and in FDA/EMA approval, although the latter does not result in absolute proof of its pathogenic nature. Importantly, some variants are considered “pathogenic” based on a proven deleterious effect observed in a germline context. This “pathogenic” status is then extrapolated to *sBRCA\**; however, *gBRCA\** and *sBRCA\** may have distinct effects at both the molecular and cellular levels, just as *BRCA1* and *BRCA2* do not share exactly the same functions. Furthermore, *tBRCA* analysis does not define zygosity; indeed, *tBRCA\** can be homozygous and/or heterozygous in the sample, potentially leading to distinct effects. Orthogonal to clinical considerations, F1-CDx (which analyses over 300 genes unrelated to HR and other DNA alterations) also assesses “off-target” multigene testing, raising the risk of detecting VUS without increasing the possibility of detecting pathogenic variants (and subsequently proposing targeted therapy) [143].

At the GIS level, as discussed in the previous section and in the companion paper, defining the ideal threshold value is a matter of heated debate. Indeed, beyond providing the most accurate and precise HRD assay, the main risk of using an unfit threshold is misclassification. This falls into two categories: false-positives (FP) and false-negatives (FN). An FP represents an HRD-positive result when the sample was actually HRD-negative (or HR-proficient); an FN is when an HRD-positive sample is labeled HRD-negative. In MC-CDx, the test is positive if the  $GIS_{MC}$  is  $\geq 42$  (initially validated with TNBC and corresponding to a 95% sensitivity for detecting tumors with *BRCA* alterations); this test has been evaluated with different cutoffs. For instance, in the VELIA trial, a lower cutoff ( $GIS \geq 33$ ) was used, with the aim of preventing FNs. Moreover, within *BRCA^{wt}* patients, HRD is not a predictive biomarker for PARPi sensitivity. Conversely, a retrospective study based on TCGA data and using a backward strategy (i.e., moving from GIS-based stratification toward clinical/molecular data) showed that using a threshold of  $GIS \geq 63$  led to accurate HGSOc classification among the subtypes, correlating well with prognosis and the presence of *BRCA1/2\** [144]. Consequently, the “magic 42” still needs to be more precisely defined, with potential variation according to tumor type and clinical context.

Aside from these technical issues, medical considerations should also be taken into account, particularly the timing of HRD evaluation, to obtain a broader perspective. These considerations will be developed in Part 2 of this review.

#### 4.2. Emerging Strategies for Accurate and Dynamic Assessment of HRD

Emerging strategies for HRD assessment mainly occur along three axes: molecular tools for HRD assessment, dynamic assays (i.e., functional assays) for evaluating HRD status, and more global strategies (including nomograms). One of the main considerations for refining HRD evaluation, beyond its relevance, is that a biomarker described in basic research should be feasible in clinical practice, taking technical, economic and temporal issues into account. For instance, metabolomics studies or spheroid cultures have shown that HRD tumors exhibit a specific profile; nevertheless, to date, these techniques appear unfit for routine clinical application [100,145].

Several strategies regarding molecular assays to determine HRD have been deployed, with various results. Notably, the primary aim is improved identification of patients who would benefit from frontline treatment with PARPis, as these drugs suffer the same limitations as existing CDx (i.e., genomic scars). Many private companies have developed



their own tools, but they will not be discussed here, as those tools failed to show better results than those of MC-CDx. However, some interesting tools will be outlined. Signature 3, which is based on SNVs, correlates with HRD and platinum sensitivity [71]. A relevant tool, entitled Signature Multivariate Analysis (SigMA), allows HRD-associated mutational signatures to be detected directly from targeted gene panels [146]. HRDetect, which is based on whole-genome sequencing and the incorporation of six distinct HRD-related signatures that predict *BRCA1/2* alterations, is a promising assay that provides almost 100% detection sensitivity [147]. Both signature 3 and HRDetect are “backward strategies”, meaning that they predict a *BRCA1/2* status from secondary molecular signatures. A recent paper showed that HRDetect outperforms %LOH (F1-CDx) and is equally efficient as GIS<sub>MC</sub> for HRD identification [148]. Another emerging field is represented by the analysis of LRs; biomarkers, such as *CCNE1* and *ESMY* amplifications within LRs are associated with HR proficiency and deficiency, respectively [9,45,149]. Furthermore, specific profiles of LRs are associated with better prognosis and with Pt-S, implying potent sensitivity to PARPi [150,151]. Other promising candidates, such as *RAD50* deletion, *RB1* loss and *BRD4* amplification, could improve HRD detection [43,152,153].

While mutations in non-*BRCA* HRR-related genes provide conflicting results (only homozygous deletion in *PTEN* or *CHK1* is putatively associated with HRD), a more accurate evaluation could come from integrating clonal composition [144]. Indeed, by integrating NGS metrics (i.e., determining if variants correspond to clonal or subclonal mutations), it was recently shown that mutations in HRR-related genes were associated with OS and Pt-S only if they were clonal [154].

At the epigenetic level, *BRCA1* (and, to a lesser extent, *BRCA2*) methylation profiles should not be overlooked, although they are not routinely examined. The frequency of methylation is not anecdotal, as it has been reported in 19.3% (*BRCA1*) and 4.6% (*BRCA2*) of 92 *BRCA<sup>wt</sup>* cases, according to a retrospective study. Acquired loss of *RAD51C* promoter methylation is associated with PARPi resistance: more precisely, the presence of heterozygous methylation leads to resistance, while homozygous methylation leads to sensitivity [155]. Several studies have assessed HGSOC methylomes and revealed distinct methylation profiles linked to Pt-S or, conversely, primary/secondary platinum resistance (Pt-R); these could constitute putative biomarkers to evaluate in the context of PARPi [156–158].

Beyond deciphering specific alterations, such as DNA mutations or epigenetic markers, comprehensive approaches that collect and assemble common genomic, epigenomic and functional data would result in better molecular dissection and the development of new biomarkers [159,160]. Indeed, by developing multilayer (i.e., genome/exome, SVs, transcriptome, miRNome, proteome, methylome and proteome) and integrated molecular identity cards (“multiomics”), such as that performed by the TCGA but with a more HRD-oriented view, we could subsequently select “core biomarkers” with higher sensitivities and specificities, leading to a more accurate evaluation of HRD status [161–164]. As such, rather than extensive and expensive approaches that would be difficult to translate to clinical practice, we could define a subset of distinct biomarkers through distinct techniques that would increase the sensitivity/specificity of current CDx assays and decrease the number of inconclusive cases.

Sequencing ctDNA in blood samples, which has already been validated by the F1 L-CDx assay, allows direct evaluation of a *tBRCA1/2* status [165]. In the near future, an iterative analysis could provide clues as to primitive or secondary resistance, depending on the presence of reverse mutations, as it has been shown that they are associated with resistance to PARPi [166]. One method would be via direct assessment of GIS in blood samples. Although it is not currently performed on ctDNA, intriguing papers have shown that it is feasible to analyze SVs in blood [167–169]. The molecular signatures of miRNAs present in blood samples have been detected and showed an association with early OC and prognosis, thus demonstrating their feasibility as potent surrogate markers for HRD [170–173]. Furthermore, other serum biomarkers are under study and currently debated, but their translation into clinical practice seems difficult [174]. Moreover, ascitic cancer cells should

be considered, as they provide a means to obtain material with less invasive processes than biopsies; these cells are easily obtained and well represent the mutations (including SVs), DNA methylation and intratumoral heterogeneity found in EOC [175]. Thus, “liquid biopsies” could represent an easy-to-use method for iterative sampling [176].

At the functional level, several techniques have been developed in the past decade with the aim of evaluating the actual HRD status [99]. Indeed, apart from investigating the causes (e.g., DNA mutations) and consequences (e.g., genomic scars) of HRD, functional assays directly monitor the process itself. Functional tests can potentially overcome the inherent limits of current assays, which require either a genetic alteration (i.e., affecting non-*BRCA* HR-related genes) or the calculation of GIS (which reflects a history of HRD). However, similar to current CDx assays, they do not predict the sensitivity of HRD-unrelated PARPi.

One of the techniques with a high potential for clinical applications is the REcombination CAPacity (RECAP) assay [177]. When a DSB occurs and is managed with HR, RAD51 (one of the downstream effectors of *BRCA1/2*) attaches to these sites to facilitate sister chromatid invasion. Thus, measuring RAD51 nuclear foci provides a direct evaluation of the efficiency of HR, irrespective of its etiology. In the context of HRD, these foci are absent.

HRD evaluation through RAD51 foci was initially developed in the laboratory and subsequently applied in different protocols, as ex vivo or through patient-derived xenograft assays, to predict patient sensitivity to platinum/PARPi and OS [178–181]. One of the main drawbacks of the RECAP assay is that it requires fresh tissue as the starting material as well as the induction of DNA damage, since the test relies on tissue irradiation and subsequent visualization of foci formation (with distinct cutoffs of foci corresponding to functional or deficient HR), limiting its application in clinics (as tumoral tissue is frequently processed as FFPE). However, as HRD tumor cells exhibit spontaneous important DSBs, an evolution of these assays has emerged. Though originally focused on BC samples, the assay was subsequently directly performed on FFPE samples, showing a correlation between RAD51 foci and HRD status [182,183]. Recently, an adaptation to ovarian and endometrial cancer FFPE tissues, entitled RAD51-FFPE, was developed [184]. Interestingly, RAD51-FFPE paved the way for clinical applications by optimizing the test via calibration of a threshold corresponding to functional HRD. This led to high sensitivity, as it allowed *BRCA*-deficient and HRD tumors to be detected in 90% and 87% of cases, respectively. Therefore, the next step will be its integration into clinical studies to evaluate its performance as a predictive biomarker.

## 5. Synthesis and Concluding Remarks

HGSOC, the most frequent and aggressive form of OC, represents an important challenge for researchers and clinicians. Half of these cases show HRD, which has specific causes and consequences. In terms of etiology, HRD is mainly caused by genetic and epigenetic alterations, with *BRCA1* and *BRCA2* best characterized thus far. In addition to *BRCA1/2*, many other lesions are involved in the etiology of HRD, leading to the development of the *BRCAness* phenotype. HRD has specific consequences at both molecular (e.g., genomic instability) and clinical (e.g., PARP inhibitor sensitivity) levels.

Based on its prevalence and its theranostics potency, HRD represents a major molecular factor that must be understood to improve HGSOC management. Three CDx assays currently have FDA approval for the identification of HRD status, helping physicians prescribe PARP inhibitors. However, there is an urgent need for novel assays, such as functional assays, to be developed and integrated into RCTs for clinical validation.

**Author Contributions:** S.Q. wrote this review with inputs from M.F. and J.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** Montpellier University Hospital.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Prat, J. Ovarian Carcinomas: Five Distinct Diseases with Different Origins, Genetic Alterations, and Clinicopathological Features. *Virchows Arch.* **2012**, *460*, 237–249. [[CrossRef](#)]
2. Matz, M.; Coleman, M.P.; Carreira, H.; Salmeron, D.; Chirlaque, M.D.; Allemani, C.; Concord Working Group. Worldwide Comparison of Ovarian Cancer Survival: Histological Group and Stage at Diagnosis (CONCORD-2). *Gynecol. Oncol.* **2017**, *144*, 396–404. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Matz, M.; Coleman, M.P.; Sant, M.; Chirlaque, M.D.; Visser, O.; Gore, M.; Allemani, C.; Bouzbid, S.; Hamdi-Chérif, M.; Zaidi, Z.; et al. The Histology of Ovarian Cancer: Worldwide Distribution and Implications for International Survival Comparisons (CONCORD-2). *Gynecol. Oncol.* **2017**, *144*, 405–413. [[CrossRef](#)]
4. Pujade-Lauraine, E.; Hilpert, F.; Weber, B.; Reuss, A.; Poveda, A.; Kristensen, G.; Sorio, R.; Vergote, I.; Witteveen, P.; Bamias, A.; et al. Bevacizumab Combined with Chemotherapy for Platinum-Resistant Recurrent Ovarian Cancer: The AURELIA Open-Label Randomized Phase III Trial. *J. Clin. Oncol.* **2014**, *32*, 1302–1308. [[CrossRef](#)]
5. Gonzalez, D.; Stenzinger, A. Homologous Recombination Repair Deficiency (HRD): From Biology to Clinical Exploitation. *Genes Chromosomes Cancer* **2021**, *60*, 299–302. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Ngoi, N.Y.L.; Tan, D.S.P. The Role of Homologous Recombination Deficiency Testing in Ovarian Cancer and Its Clinical Implications: Do We Need It? *ESMO Open* **2021**, *6*, 100144. [[CrossRef](#)]
7. McMullen, M.; Karakasis, K.; Oza, A.M. Moving Beyond BRCA-Incorporating Molecular Assays into Ovarian Cancer Trials. *Clin. Cancer Res.* **2020**, *26*, 5271–5273. [[CrossRef](#)]
8. Kuchenbaecker, K.B.; Hopper, J.L.; Barnes, D.R.; Phillips, K.A.; Mooij, T.M.; Roos-Blom, M.J.; Jervis, S.; van Leeuwen, F.E.; Milne, R.L.; Andrieu, N.; et al. Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *JAMA* **2017**, *317*, 2402–2416. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Cancer Genome Atlas Research, N. Integrated Genomic Analyses of Ovarian Carcinoma. *Nature* **2011**, *474*, 609–615. [[CrossRef](#)]
10. Colombo, N.; Sessa, C.; du Bois, A.; Ledermann, J.; McCluggage, W.G.; McNeish, I.; Morice, P.; Pignata, S.; Ray-Coquard, I.; Vergote, I.; et al. ESMO-ESGO Consensus Conference Recommendations on Ovarian Cancer: Pathology and Molecular Biology, Early and Advanced Stages, Borderline Tumours and Recurrent Disease. *Ann. Oncol.* **2019**, *30*, 672–705. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Miller, R.E.; Leary, A.; Scott, C.L.; Serra, V.; Lord, C.J.; Bowtell, D.; Chang, D.K.; Garsed, D.W.; Jonkers, J.; Ledermann, J.A.; et al. ESMO Recommendations on Predictive Biomarker Testing for Homologous Recombination Deficiency and PARP Inhibitor Benefit in Ovarian Cancer. *Ann. Oncol.* **2020**, *31*, 1606–1622. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Vergote, I.; González-Martín, A.; Ray-Coquard, I.; Harter, P.; Colombo, N.; Pujol, P.; Lorusso, D.; Mirza, M.R.; Brasiuniene, B.; Madry, R.; et al. European Experts Consensus: BRCA/Homologous Recombination Deficiency Testing in First-Line Ovarian Cancer. *Ann. Oncol.* **2021**, S0923753421048286. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Pujol, P.; Barberis, M.; Beer, P.; Friedman, E.; Piulats, J.M.; Capoluongo, E.D.; Garcia Foncillas, J.; Ray-Coquard, I.; Penault-Llorca, F.; Foulkes, W.D.; et al. Clinical Practice Guidelines for BRCA1 and BRCA2 Genetic Testing. *Eur. J. Cancer* **2021**, *146*, 30–47. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Hartmann, L.C.; Lindor, N.M. The Role of Risk-Reducing Surgery in Hereditary Breast and Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2016**, *374*, 454–468. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Hansmann, T.; Pliushch, G.; Leubner, M.; Kroll, P.; Endt, D.; Gehrig, A.; Preisler-Adams, S.; Wieacker, P.; Haaf, T. Constitutive Promoter Methylation of BRCA1 and RAD51C in Patients with Familial Ovarian Cancer and Early-Onset Sporadic Breast Cancer. *Hum. Mol. Genet.* **2012**, *21*, 4669–4679. [[CrossRef](#)]
16. Tabano, S.; Azzollini, J.; Pesenti, C.; Lovati, S.; Costanza, J.; Fontana, L.; Peissel, B.; Miozzo, M.; Manoukian, S. Analysis of BRCA1 and RAD51C Promoter Methylation in Italian Families at High-Risk of Breast and Ovarian Cancer. *Cancers* **2020**, *12*, 910. [[CrossRef](#)]
17. Norquist, B.M.; Harrell, M.I.; Brady, M.F.; Walsh, T.; Lee, M.K.; Gulsuner, S.; Bernards, S.S.; Casadei, S.; Yi, Q.; Burger, R.A.; et al. Inherited Mutations in Women With Ovarian Carcinoma. *JAMA Oncol.* **2016**, *2*, 482–490. [[CrossRef](#)]
18. Walsh, T.; Casadei, S.; Lee, M.K.; Pennil, C.C.; Nord, A.S.; Thornton, A.M.; Roeb, W.; Agnew, K.J.; Stray, S.M.; Wickramanayake, A.; et al. Mutations in 12 Genes for Inherited Ovarian, Fallopian Tube, and Peritoneal Carcinoma Identified by Massively Parallel Sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 18032–18037. [[CrossRef](#)]
19. Ryan, N.A.J.; Bolton, J.; McVey, R.J.; Evans, D.G.; Crosbie, E.J. BRCA and Lynch Syndrome-Associated Ovarian Cancers Behave Differently. *Gynecol. Oncol. Rep.* **2017**, *22*, 108–109. [[CrossRef](#)]
20. Ahmed, A.A.; Etemadmoghadam, D.; Temple, J.; Lynch, A.G.; Riad, M.; Sharma, R.; Stewart, C.; Fereday, S.; Caldas, C.; Defazio, A.; et al. Driver Mutations in TP53 Are Ubiquitous in High Grade Serous Carcinoma of the Ovary. *J. Pathol.* **2010**, *221*, 49–56. [[CrossRef](#)]
21. Chien, J.; Sicotte, H.; Fan, J.B.; Humphray, S.; Cunningham, J.M.; Kalli, K.R.; Oberg, A.L.; Hart, S.N.; Li, Y.; Davila, J.I.; et al. TP53 Mutations, Tetraploidy and Homologous Recombination Repair Defects in Early Stage High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Nucleic Acids Res.* **2015**, *43*, 6945–6958. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Haunschild, C.E.; Tewari, K.S. The Current Landscape of Molecular Profiling in the Treatment of Epithelial Ovarian Cancer. *Gynecol. Oncol.* **2021**, *160*, 333–345. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Caracciolo, D.; Riillo, C.; Di Martino, M.T.; Tagliaferri, P.; Tassone, P. Alternative Non-Homologous End-Joining: Error-Prone DNA Repair as Cancer’s Achilles’ Heel. *Cancers* **2021**, *13*, 1392. [[CrossRef](#)]

24. Knijnenburg, T.A.; Wang, L.; Zimmermann, M.T.; Chambwe, N.; Gao, G.F.; Cherniack, A.D.; Fan, H.; Shen, H.; Way, G.P.; Greene, C.S.; et al. Genomic and Molecular Landscape of DNA Damage Repair Deficiency across The Cancer Genome Atlas. *Cell Rep.* **2018**, *23*, 239–254.e6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Otsuka, I. Mechanisms of High-Grade Serous Carcinogenesis in the Fallopian Tube and Ovary: Current Hypotheses, Etiologic Factors, and Molecular Alterations. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 4409. [[CrossRef](#)]
26. Cunningham, J.M.; Cicek, M.S.; Larson, N.B.; Davila, J.; Wang, C.; Larson, M.C.; Song, H.; Dicks, E.M.; Harrington, P.; Wick, M.; et al. Clinical Characteristics of Ovarian Cancer Classified by BRCA1, BRCA2, and RAD51C Status. *Sci. Rep.* **2014**, *4*, 4026. [[CrossRef](#)]
27. Knudson, A.G. Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1971**, *68*, 820–823. [[CrossRef](#)]
28. Moschetta, M.; George, A.; Kaye, S.B.; Banerjee, S. BRCA Somatic Mutations and Epigenetic BRCA Modifications in Serous Ovarian Cancer. *Ann. Oncol.* **2016**, *27*, 1449–1455. [[CrossRef](#)]
29. Austria, T.; Marion, C.; Yu, V.; Widschwendter, M.; Hinton, D.R.; Dubeau, L. Mechanism of Cytokinesis Failure in Ovarian Cystadenomas with Defective BRCA1 and P53 Pathways. *Int. J. Cancer* **2018**, *143*, 2932–2942. [[CrossRef](#)]
30. Maxwell, K.N.; Wubbenhorst, B.; Wenz, B.M.; De Sloover, D.; Pluta, J.; Emery, L.; Barrett, A.; Kraya, A.A.; Anastopoulos, I.N.; Yu, S.; et al. BRCA Locus-Specific Loss of Heterozygosity in Germline BRCA1 and BRCA2 Carriers. *Nat. Commun.* **2017**, *8*, 319. [[CrossRef](#)]
31. Kechin, A.A.; Boyarskikh, U.A.; Ermolenko, N.A.; Tyulyandina, A.S.; Lazareva, D.G.; Avdalyan, A.M.; Tyulyandin, S.A.; Kushlinskii, N.E.; Filipenko, M.L. Loss of Heterozygosity in BRCA1 and BRCA2 Genes in Patients with Ovarian Cancer and Probability of Its Use for Clinical Classification of Variations. *Bull. Exp. Biol. Med.* **2018**, *165*, 94–100. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Timms, K.; Brown, J.S.; Hodgson, D.R.; Barrett, J.C.; Milenkova, T.; Ledermann, J.A.; Gourley, C.; Pujade-Lauraine, E.; Perry, M.; Gutin, A.; et al. Locus-Specific Loss of Heterozygosity (LOH) in BRCA1/2 Mutated (MBRCA) Ovarian Tumors from the SOLO2 (NCT01874353) and Study 19 (NCT00753545) Clinical Trials. *J. Clin. Oncol.* **2018**, *36*, 5563. [[CrossRef](#)]
33. Ewing, A.; Meynert, A.; Churchman, M.; Grimes, G.R.; Hollis, R.L.; Herrington, C.S.; Rye, T.; Bartos, C.; Croy, I.; Ferguson, M.; et al. Structural Variants at the BRCA1/2 Loci Are a Common Source of Homologous Repair Deficiency in High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *Clin. Cancer Res.* **2021**, *27*, 3201–3214. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Santana Dos Santos, E.; Lallemand, F.; Petitalot, A.; Caputo, S.M.; Rouleau, E. HRness in Breast and Ovarian Cancers. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 3850. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Hatano, Y.; Tamada, M.; Matsuo, M.; Hara, A. Molecular Trajectory of BRCA1 and BRCA2 Mutations. *Front. Oncol.* **2020**, *10*, 361. [[CrossRef](#)]
36. Esteller, M.; Silva, J.M.; Dominguez, G.; Bonilla, F.; Matias-Guiu, X.; Lerma, E.; Bussaglia, E.; Prat, J.; Harkes, I.C.; Repasky, E.A.; et al. Promoter Hypermethylation and BRCA1 Inactivation in Sporadic Breast and Ovarian Tumors. *J. Natl. Cancer Inst.* **2000**, *92*, 564–569. [[CrossRef](#)]
37. Kalachand, R.D.; Stordal, B.; Madden, S.; Chandler, B.; Cunningham, J.; Goode, E.L.; Ruscito, I.; Braicu, E.I.; Sehouli, J.; Ignatov, A.; et al. BRCA1 Promoter Methylation and Clinical Outcomes in Ovarian Cancer: An Individual Patient Data Meta-Analysis. *J. Natl. Cancer Inst.* **2020**, *112*, 1190–1203. [[CrossRef](#)]
38. Sahnane, N.; Carnevali, I.; Formenti, G.; Casarin, J.; Facchi, S.; Bombelli, R.; Di Lauro, E.; Memoli, D.; Salvati, A.; Rizzo, F.; et al. BRCA Methylation Testing Identifies a Subset of Ovarian Carcinomas without Germline Variants That Can Benefit from PARP Inhibitor. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 9708. [[CrossRef](#)]
39. Lord, C.J.; Ashworth, A. BRCAness Revisited. *Nat. Rev. Cancer* **2016**, *16*, 110–120. [[CrossRef](#)]
40. Pennington, K.P.; Walsh, T.; Harrell, M.I.; Lee, M.K.; Pennil, C.C.; Rendi, M.H.; Thornton, A.; Norquist, B.M.; Casadei, S.; Nord, A.S.; et al. Germline and Somatic Mutations in Homologous Recombination Genes Predict Platinum Response and Survival in Ovarian, Fallopian Tube, and Peritoneal Carcinomas. *Clin. Cancer Res.* **2014**, *20*, 764–775. [[CrossRef](#)]
41. Riaz, N.; Bleuca, P.; Lim, R.S.; Shen, R.; Higginson, D.S.; Weinhold, N.; Norton, L.; Weigelt, B.; Powell, S.N.; Reis-Filho, J.S. Pan-Cancer Analysis of Bi-Allelic Alterations in Homologous Recombination DNA Repair Genes. *Nat. Commun.* **2017**, *8*, 857. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Hodgson, D.R.; Dougherty, B.A.; Lai, Z.; Fielding, A.; Grinsted, L.; Spencer, S.; O'Connor, M.J.; Ho, T.W.; Robertson, J.D.; Lanchbury, J.S.; et al. Candidate Biomarkers of PARP Inhibitor Sensitivity in Ovarian Cancer beyond the BRCA Genes. *Br. J. Cancer* **2018**, *119*, 1401–1409. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Zhang, M.; Liu, G.; Xue, F.; Edwards, R.; Sood, A.K.; Zhang, W.; Yang, D. Copy Number Deletion of RAD50 as Predictive Marker of BRCAness and PARP Inhibitor Response in BRCA Wild Type Ovarian Cancer. *Gynecol. Oncol.* **2016**, *141*, 57–64. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Hughes-Davies, L.; Huntsman, D.; Ruas, M.; Fuks, F.; Bye, J.; Chin, S.-F.; Milner, J.; Brown, L.A.; Hsu, F.; Gilks, B.; et al. EMSY Links the BRCA2 Pathway to Sporadic Breast and Ovarian Cancer. *Cell* **2003**, *115*, 523–535. [[CrossRef](#)]
45. Hollis, R.L.; Churchman, M.; Michie, C.O.; Rye, T.; Knight, L.; McCavigan, A.; Perren, T.; Williams, A.R.W.; McCluggage, W.G.; Kaplan, R.S.; et al. High EMSY Expression Defines a BRCA-like Subgroup of High-Grade Serous Ovarian Carcinoma with Prolonged Survival and Hypersensitivity to Platinum. *Cancer* **2019**, *125*, 2772–2781. [[CrossRef](#)]
46. Stronach, E.A.; Paul, J.; Timms, K.M.; Hughes, E.; Brown, K.; Neff, C.; Perry, M.; Gutin, A.; El-Bahrawy, M.; Steel, J.H.; et al. Biomarker Assessment of HR Deficiency, Tumor BRCA1/2 Mutations, and CCNE1 Copy Number in Ovarian Cancer: Associations with Clinical Outcome Following Platinum Monotherapy. *Mol. Cancer Res.* **2018**, *16*, 1103–1111. [[CrossRef](#)]



47. Potapova, A.; Hoffman, A.M.; Godwin, A.K.; Al-Saleem, T.; Cairns, P. Promoter Hypermethylation of the PALB2 Susceptibility Gene in Inherited and Sporadic Breast and Ovarian Cancer. *Cancer Res.* **2008**, *68*, 998–1002. [[CrossRef](#)]
48. Dahiya, N.; Sherman-Baust, C.A.; Wang, T.-L.; Davidson, B.; Shih, I.-M.; Zhang, Y.; Wood, W.; Becker, K.G.; Morin, P.J. MicroRNA Expression and Identification of Putative MiRNA Targets in Ovarian Cancer. *PLoS ONE* **2008**, *3*, e2436. [[CrossRef](#)]
49. Iorio, M.V.; Visone, R.; Di Leva, G.; Donati, V.; Petrocca, F.; Casalini, P.; Taccioli, C.; Volinia, S.; Liu, C.-G.; Alder, H.; et al. MicroRNA Signatures in Human Ovarian Cancer. *Cancer Res.* **2007**, *67*, 8699–8707. [[CrossRef](#)]
50. Niu, L.; Ni, H.; Hou, Y.; Du, Q.; Li, H. MiR-509-3p Enhances Platinum Drug Sensitivity in Ovarian Cancer. *Gene* **2019**, *686*, 63–67. [[CrossRef](#)]
51. Wang, T.; Hao, D.; Yang, S.; Ma, J.; Yang, W.; Zhu, Y.; Weng, M.; An, X.; Wang, X.; Li, Y.; et al. MiR-211 Facilitates Platinum Chemosensitivity by Blocking the DNA Damage Response (DDR) in Ovarian Cancer. *Cell Death Dis.* **2019**, *10*, 495. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Reid, B.M.; Permeth, J.B.; Chen, Y.A.; Teer, J.K.; Monteiro, A.N.; Chen, Z.; Tyrer, J.; Berchuck, A.; Chenevix-Trench, G.; Doherty, J.A.; et al. Integration of Population-Level Genotype Data with Functional Annotation Reveals Over-Representation of Long Noncoding RNAs at Ovarian Cancer Susceptibility Loci. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* **2017**, *26*, 116–125. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Seborova, K.; Vaclavikova, R.; Rob, L.; Soucek, P.; Vodicka, P. Non-Coding RNAs as Biomarkers of Tumor Progression and Metastatic Spread in Epithelial Ovarian Cancer. *Cancers* **2021**, *13*, 1839. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Prensner, J.R.; Chen, W.; Iyer, M.K.; Cao, Q.; Ma, T.; Han, S.; Sahu, A.; Malik, R.; Wilder-Romans, K.; Navone, N.; et al. PCAT-1, a Long Noncoding RNA, Regulates BRCA2 and Controls Homologous Recombination in Cancer. *Cancer Res.* **2014**, *74*, 1651–1660. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Papaspyropoulos, A.; Lagopati, N.; Mourkioti, I.; Angelopoulou, A.; Kyriazis, S.; Lontos, M.; Gorgoulis, V.; Kotsinas, A. Regulatory and Functional Involvement of Long Non-Coding RNAs in DNA Double-Strand Break Repair Mechanisms. *Cells* **2021**, *10*, 1506. [[CrossRef](#)]
56. Matei, D.; Nephew, K.P. Epigenetic Attire in Ovarian Cancer: The Emperor’s New Clothes. *Cancer Res.* **2020**, *80*, 3775–3785. [[CrossRef](#)]
57. Clapier, C.R. Sophisticated Conversations between Chromatin and Chromatin Remodelers, and Dissonances in Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 5578. [[CrossRef](#)]
58. Hammond, C.M.; Strømme, C.B.; Huang, H.; Patel, D.J.; Groth, A. Histone Chaperone Networks Shaping Chromatin Function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2017**, *18*, 141–158. [[CrossRef](#)]
59. Bekker-Jensen, S.; Mailand, N. Assembly and Function of DNA Double-Strand Break Repair Foci in Mammalian Cells. *DNA Repair* **2010**, *9*, 1219–1228. [[CrossRef](#)]
60. Harding, S.M.; Greenberg, R.A. Choreographing the Double Strand Break Response: Ubiquitin and SUMO Control of Nuclear Architecture. *Front. Genet.* **2016**, *7*, 103. [[CrossRef](#)]
61. Redon, C.E.; Weyemi, U.; Parekh, P.R.; Huang, D.; Burrell, A.S.; Bonner, W.M. Gamma-H2AX and Other Histone Post-Translational Modifications in the Clinic. *Biochim. Biophys. Acta* **2012**, *1819*, 743–756. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Shrivastav, M.; De Haro, L.P.; Nickoloff, J.A. Regulation of DNA Double-Strand Break Repair Pathway Choice. *Cell Res.* **2008**, *18*, 134–147. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Pfister, S.X.; Ahrabi, S.; Zalmas, L.P.; Sarkar, S.; Aymard, F.; Bachrati, C.Z.; Helleday, T.; Legube, G.; La Thangue, N.B.; Porter, A.C.; et al. SETD2-Dependent Histone H3K36 Trimethylation Is Required for Homologous Recombination Repair and Genome Stability. *Cell Rep.* **2014**, *7*, 2006–2018. [[CrossRef](#)]
64. Zhou, Q.; Huang, J.; Zhang, C.; Zhao, F.; Kim, W.; Tu, X.; Zhang, Y.; Nowsheen, S.; Zhu, Q.; Deng, M.; et al. The Bromodomain Containing Protein BRD-9 Orchestrates RAD51-RAD54 Complex Formation and Regulates Homologous Recombination-Mediated Repair. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 2639. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Cree, I.A.; Indave Ruiz, B.I.; Zavadil, J.; McKay, J.; Olivier, M.; Kozlakidis, Z.; Lazar, A.J.; Hyde, C.; Holdenrieder, S.; Hastings, R.; et al. The International Collaboration for Cancer Classification and Research. *Int. J. Cancer* **2021**, *148*, 560–571. [[CrossRef](#)]
66. Joseph, L. The Clinical Utility of Molecular Genetic Cancer Profiling. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **2016**, *16*, 827–838. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Alexandrov, L.B.; Nik-Zainal, S.; Wedge, D.C.; Aparicio, S.A.; Behjati, S.; Biankin, A.V.; Bignell, G.R.; Bolli, N.; Borg, A.; Borresen-Dale, A.L.; et al. Signatures of Mutational Processes in Human Cancer. *Nature* **2013**, *500*, 415–421. [[CrossRef](#)]
68. Alexandrov, L.B.; Nik-Zainal, S.; Wedge, D.C.; Campbell, P.J.; Stratton, M.R. Deciphering Signatures of Mutational Processes Operative in Human Cancer. *Cell Rep.* **2013**, *3*, 246–259. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Alexandrov, L.B.; Kim, J.; Haradhvala, N.J.; Huang, M.N.; Tian Ng, A.W.; Wu, Y.; Boot, A.; Covington, K.R.; Gordenin, D.A.; Bergstrom, E.N.; et al. The Repertoire of Mutational Signatures in Human Cancer. *Nature* **2020**, *578*, 94–101. [[CrossRef](#)]
70. Zamborszky, J.; Szikriszt, B.; Gervai, J.Z.; Pipek, O.; Poti, A.; Krzystanek, M.; Ribli, D.; Szalai-Gindl, J.M.; Csabai, I.; Szallasi, Z.; et al. Loss of BRCA1 or BRCA2 Markedly Increases the Rate of Base Substitution Mutagenesis and Has Distinct Effects on Genomic Deletions. *Oncogene* **2017**, *36*, 5085–5086. [[CrossRef](#)]

71. Polak, P.; Kim, J.; Braunstein, L.Z.; Karlic, R.; Haradhavala, N.J.; Tiao, G.; Rosebrock, D.; Livitz, D.; Kubler, K.; Mouw, K.W.; et al. A Mutational Signature Reveals Alterations Underlying Deficient Homologous Recombination Repair in Breast Cancer. *Nat. Genet.* **2017**, *49*, 1476–1486. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Hillman, R.T.; Chisholm, G.B.; Lu, K.H.; Futreal, P.A. Genomic Rearrangement Signatures and Clinical Outcomes in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* **2018**, *110*, 265–272. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Vanderstichele, A.; Busschaert, P.; Olbrecht, S.; Lambrechts, D.; Vergote, I. Genomic Signatures as Predictive Biomarkers of Homologous Recombination Deficiency in Ovarian Cancer. *Eur. J. Cancer* **2017**, *86*, 5–14. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Hasty, P.; Montagna, C. Chromosomal Rearrangements in Cancer: Detection and Potential Causal Mechanisms. *Mol. Cell Oncol.* **2014**, *1*, e29904. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Ledermann, J.A.; Drew, Y.; Kristeleit, R.S. Homologous Recombination Deficiency and Ovarian Cancer. *Eur. J. Cancer* **2016**, *60*, 49–58. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Stefansson, O.A.; Jonasson, J.G.; Johannsson, O.T.; Olafsdottir, K.; Steinarsdottir, M.; Valgeirsdottir, S.; Eyfjord, J.E. Genomic Profiling of Breast Tumours in Relation to BRCA Abnormalities and Phenotypes. *Breast Cancer Res.* **2009**, *11*, R47. [[CrossRef](#)]
77. Lips, E.H.; Laddach, N.; Savola, S.P.; Vollebergh, M.A.; Oonk, A.M.; Imholz, A.L.; Wessels, L.F.; Wesseling, J.; Nederlof, P.M.; Rodenhuis, S. Quantitative Copy Number Analysis by Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MLPA) of BRCA1-Associated Breast Cancer Regions Identifies BRCAness. *Breast Cancer Res.* **2011**, *13*, R107. [[CrossRef](#)]
78. Yu, C.C.; Qiu, W.; Juang, C.S.; Mansukhani, M.M.; Halmos, B.; Su, G.H. Mutant Allele Specific Imbalance in Oncogenes with Copy Number Alterations: Occurrence, Mechanisms, and Potential Clinical Implications. *Cancer Lett.* **2017**, *384*, 86–93. [[CrossRef](#)]
79. Abkevich, V.; Timms, K.M.; Hennessy, B.T.; Potter, J.; Carey, M.S.; Meyer, L.A.; Smith-McCune, K.; Broaddus, R.; Lu, K.H.; Chen, J.; et al. Patterns of Genomic Loss of Heterozygosity Predict Homologous Recombination Repair Defects in Epithelial Ovarian Cancer. *Br. J. Cancer* **2012**, *107*, 1776–1782. [[CrossRef](#)]
80. Birkbak, N.J.; Wang, Z.C.; Kim, J.Y.; Eklund, A.C.; Li, Q.; Tian, R.; Bowman-Colin, C.; Li, Y.; Greene-Colozzi, A.; Iglehart, J.D.; et al. Telomeric Allelic Imbalance Indicates Defective DNA Repair and Sensitivity to DNA-Damaging Agents. *Cancer Discov.* **2012**, *2*, 366–375. [[CrossRef](#)]
81. Popova, T.; Manie, E.; Rieunier, G.; Caux-Moncoutier, V.; Tirapo, C.; Dubois, T.; Delattre, O.; Sigal-Zafrani, B.; Bollet, M.; Longy, M.; et al. Ploidy and Large-Scale Genomic Instability Consistently Identify Basal-like Breast Carcinomas with BRCA1/2 Inactivation. *Cancer Res.* **2012**, *72*, 5454–5462. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
82. Timms, K.M.; Abkevich, V.; Hughes, E.; Neff, C.; Reid, J.; Morris, B.; Kalva, S.; Potter, J.; Tran, T.V.; Chen, J.; et al. Association of BRCA1/2 Defects with Genomic Scores Predictive of DNA Damage Repair Deficiency among Breast Cancer Subtypes. *Breast Cancer Res.* **2014**, *16*, 475. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
83. Reavis, H.D.; Drapkin, R. The Tubal Epigenome—An Emerging Target for Ovarian Cancer. *Pharmacol. Ther.* **2020**, *210*, 107524. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
84. Jazaeri, A.A.; Yee, C.J.; Sotiriou, C.; Brantley, K.R.; Boyd, J.; Liu, E.T. Gene Expression Profiles of BRCA1-Linked, BRCA2-Linked, and Sporadic Ovarian Cancers. *J. Natl. Cancer Inst.* **2002**, *94*, 990–1000. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
85. Spentzos, D.; Levine, D.A.; Ramoni, M.F.; Joseph, M.; Gu, X.; Boyd, J.; Libermann, T.A.; Cannistra, S.A. Gene Expression Signature with Independent Prognostic Significance in Epithelial Ovarian Cancer. *J. Clin. Oncol.* **2004**, *22*, 4700–4710. [[CrossRef](#)]
86. Spentzos, D.; Levine, D.A.; Kolia, S.; Otu, H.; Boyd, J.; Libermann, T.A.; Cannistra, S.A. Unique Gene Expression Profile Based on Pathologic Response in Epithelial Ovarian Cancer. *J. Clin. Oncol.* **2005**, *23*, 7911–7918. [[CrossRef](#)]
87. Konstantinopoulos, P.A.; Spentzos, D.; Karlan, B.Y.; Taniguchi, T.; Fountzilias, E.; Francoeur, N.; Levine, D.A.; Cannistra, S.A. Gene Expression Profile of BRCAness That Correlates with Responsiveness to Chemotherapy and with Outcome in Patients with Epithelial Ovarian Cancer. *J. Clin. Oncol.* **2010**, *28*, 3555–3561. [[CrossRef](#)]
88. Peng, G.; Chun-Jen Lin, C.; Mo, W.; Dai, H.; Park, Y.Y.; Kim, S.M.; Peng, Y.; Mo, Q.; Siwko, S.; Hu, R.; et al. Genome-Wide Transcriptome Profiling of Homologous Recombination DNA Repair. *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 3361. [[CrossRef](#)]
89. George, S.H.; Greenaway, J.; Milea, A.; Clary, V.; Shaw, S.; Sharma, M.; Virtanen, C.; Shaw, P.A. Identification of Abrogated Pathways in Fallopian Tube Epithelium from BRCA1 Mutation Carriers. *J. Pathol.* **2011**, *225*, 106–117. [[CrossRef](#)]
90. Veskima, K.; Staff, S.; Tabaro, F.; Nykter, M.; Isola, J.; Maenpaa, J. Microarray Analysis of Differentially Expressed Genes in Ovarian and Fallopian Tube Epithelium from Risk-Reducing Salpingo-Oophorectomies. *Genes Chromosomes Cancer* **2015**, *54*, 276–287. [[CrossRef](#)]
91. George, J.; Alsop, K.; Etemadmoghadam, D.; Hondow, H.; Mikeska, T.; Dobrovic, A.; deFazio, A.; for the Australian Ovarian Cancer Study Group; Smyth, G.K.; Levine, D.A.; et al. Nonequivalent Gene Expression and Copy Number Alterations in High-Grade Serous Ovarian Cancers with BRCA1 and BRCA2 Mutations. *Clin. Cancer Res.* **2013**, *19*, 3474–3484. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
92. Arakelyan, A.; Melkonyan, A.; Hakobyan, S.; Boyarskih, U.; Simonyan, A.; Nersisyan, L.; Nikoghosyan, M.; Filipenko, M.; Binder, H. Transcriptome Patterns of BRCA1- and BRCA2- Mutated Breast and Ovarian Cancers. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 1266. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
93. Wang, L.; Zeng, X.; Chen, S.; Ding, L.; Zhong, J.; Zhao, J.C.; Wang, L.; Sarver, A.; Koller, A.; Zhi, J.; et al. BRCA1 Is a Negative Modulator of the PRC2 Complex. *EMBO J.* **2013**, *32*, 1584–1597. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
94. Onder, T.T.; Kara, N.; Cherry, A.; Sinha, A.U.; Zhu, N.; Bernt, K.M.; Cahan, P.; Marcarci, B.O.; Unternaehrer, J.; Gupta, P.B.; et al. Chromatin-Modifying Enzymes as Modulators of Reprogramming. *Nature* **2012**, *483*, 598–602. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

95. Zhang, H.; Liu, T.; Zhang, Z.; Payne, S.H.; Zhang, B.; McDermott, J.E.; Zhou, J.-Y.; Petyuk, V.A.; Chen, L.; Ray, D.; et al. Integrated Proteogenomic Characterization of Human High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Cell* **2016**, *166*, 755–765. [CrossRef]
96. Thomas, S.N.; Chen, L.; Liu, Y.; Höti, N.; Zhang, H. Targeted Proteomic Analyses of Histone H4 Acetylation Changes Associated with Homologous-Recombination-Deficient High-Grade Serous Ovarian Carcinomas. *J. Proteome Res.* **2017**, *16*, 3704–3710. [CrossRef]
97. Bartlett, T.E.; Chindera, K.; McDermott, J.; Breeze, C.E.; Cooke, W.R.; Jones, A.; Reisel, D.; Karegodar, S.T.; Arora, R.; Beck, S.; et al. Epigenetic Reprogramming of Fallopian Tube Fimbriae in BRCA Mutation Carriers Defines Early Ovarian Cancer Evolution. *Nat. Commun.* **2016**, *7*, 11620. [CrossRef]
98. Mukhopadhyay, A.; Plummer, E.R.; Elattar, A.; Soohoo, S.; Uzir, B.; Quinn, J.E.; McCluggage, W.G.; Maxwell, P.; Aneke, H.; Curtin, N.J.; et al. Clinicopathological Features of Homologous Recombination-Deficient Epithelial Ovarian Cancers: Sensitivity to PARP Inhibitors, Platinum, and Survival. *Cancer Res.* **2012**, *72*, 5675–5682. [CrossRef]
99. Fuh, K.; Mullen, M.; Blachut, B.; Stover, E.; Konstantinopoulos, P.; Liu, J.; Matulonis, U.; Khabele, D.; Mosammaparast, N.; Vindigni, A. Homologous Recombination Deficiency Real-Time Clinical Assays, Ready or Not? *Gynecol. Oncol.* **2020**, *159*, 877–886. [CrossRef]
100. Lahiguera, Á.; Hyroššová, P.; Figueras, A.; Garzón, D.; Moreno, R.; Soto-Cerrato, V.; McNeish, I.; Serra, V.; Lazaro, C.; Barretina, P.; et al. Tumors Defective in Homologous Recombination Rely on Oxidative Metabolism: Relevance to Treatments with PARP Inhibitors. *EMBO Mol. Med.* **2020**, *12*, e11217. [CrossRef]
101. Matsushita, H.; Hasegawa, K.; Oda, K.; Yamamoto, S.; Asada, K.; Karasaki, T.; Yabuno, A.; Nishijima, A.; Nejo, T.; Kobayashi, Y.; et al. Neoantigen Load and HLA-Class I Expression Identify a Subgroup of Tumors with a T-Cell-Inflamed Phenotype and Favorable Prognosis in Homologous Recombination-Proficient High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *J. Immunother. Cancer* **2020**, *8*, e000375. [CrossRef] [PubMed]
102. Strickland, K.C.; Howitt, B.E.; Shukla, S.A.; Rodig, S.; Ritterhouse, L.L.; Liu, J.F.; Garber, J.E.; Chowdhury, D.; Wu, C.J.; D’Andrea, A.D.; et al. Association and Prognostic Significance of BRCA1/2-Mutation Status with Neoantigen Load, Number of Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Expression of PD-1/PD-L1 in High Grade Serous Ovarian Cancer. *Oncotarget* **2016**, *7*, 13587–13598. [CrossRef] [PubMed]
103. Foo, T.; George, A.; Banerjee, S. PARP Inhibitors in Ovarian Cancer: An Overview of the Practice-Changing Trials. *Genes Chromosomes Cancer* **2021**, *60*, 385–397. [CrossRef]
104. Konstantinopoulos, P.A.; Ceccaldi, R.; Shapiro, G.I.; D’Andrea, A.D. Homologous Recombination Deficiency: Exploiting the Fundamental Vulnerability of Ovarian Cancer. *Cancer Discov.* **2015**, *5*, 1137–1154. [CrossRef]
105. Setton, J.; Zinda, M.; Riaz, N.; Durocher, D.; Zimmermann, M.; Koehler, M.; Reis-Filho, J.S.; Powell, S.N. Synthetic Lethality in Cancer Therapeutics: The Next Generation. *Cancer Discov.* **2021**, *11*, 1626–1635. [CrossRef]
106. Demeny, M.A.; Virag, L. The PARP Enzyme Family and the Hallmarks of Cancer Part 1. Cell Intrinsic Hallmarks. *Cancers* **2021**, *13*, 2042. [CrossRef] [PubMed]
107. Vyas, S.; Matic, I.; Uchima, L.; Rood, J.; Zaja, R.; Hay, R.T.; Ahel, I.; Chang, P. Family-Wide Analysis of Poly(ADP-Ribose) Polymerase Activity. *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 4426. [CrossRef]
108. Demeny, M.A.; Virag, L. The PARP Enzyme Family and the Hallmarks of Cancer Part 2: Hallmarks Related to Cancer Host Interactions. *Cancers* **2021**, *13*, 2057. [CrossRef]
109. Bryant, H.E.; Schultz, N.; Thomas, H.D.; Parker, K.M.; Flower, D.; Lopez, E.; Kyle, S.; Meuth, M.; Curtin, N.J.; Helleday, T. Specific Killing of BRCA2-Deficient Tumours with Inhibitors of Poly(ADP-Ribose) Polymerase. *Nature* **2005**, *434*, 913–917. [CrossRef]
110. Farmer, H.; McCabe, N.; Lord, C.J.; Tutt, A.N.J.; Johnson, D.A.; Richardson, T.B.; Santarosa, M.; Dillon, K.J.; Hickson, I.; Knights, C.; et al. Targeting the DNA Repair Defect in BRCA Mutant Cells as a Therapeutic Strategy. *Nature* **2005**, *434*, 917–921. [CrossRef]
111. Milanesio, M.C.; Giordano, S.; Valabrega, G. Clinical Implications of DNA Repair Defects in High-Grade Serous Ovarian Carcinomas. *Cancers* **2020**, *12*, 1315. [CrossRef] [PubMed]
112. List of Cleared or Approved Companion Diagnostic Devices (In Vitro and Imaging Tools). Available online: <https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/list-cleared-or-approved-companion-diagnostic-devices-in-vitro-and-imaging-tools> (accessed on 12 December 2021).
113. Gunderson, C.C.; Moore, K.N. BRCAAnalysis CDx as a Companion Diagnostic Tool for Lynparza. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **2015**, *15*, 1111–1116. [CrossRef] [PubMed]
114. Rebbeck, T.R.; Friebel, T.M.; Friedman, E.; Hamann, U.; Huo, D.; Kwong, A.; Olah, E.; Olopade, O.I.; Solano, A.R.; Teo, S.H.; et al. Mutational Spectrum in a Worldwide Study of 29,700 Families with BRCA1 or BRCA2 Mutations. *Hum. Mutat.* **2018**, *39*, 593–620. [CrossRef]
115. Tew, W.P.; Lacchetti, C.; Ellis, A.; Maxian, K.; Banerjee, S.; Bookman, M.; Jones, M.B.; Lee, J.M.; Lheureux, S.; Liu, J.F.; et al. PARP Inhibitors in the Management of Ovarian Cancer: ASCO Guideline. *J. Clin. Oncol.* **2020**, *38*, 3468–3493. [CrossRef] [PubMed]
116. Konstantinopoulos, P.A.; Lacchetti, C.; Annunziata, C.M. Germline and Somatic Tumor Testing in Epithelial Ovarian Cancer: ASCO Guideline Summary. *JCO Oncol. Pract.* **2020**, *16*, e835–e838. [CrossRef] [PubMed]
117. Nelson, H.D.; Pappas, M.; Cantor, A.; Haney, E.; Holmes, R. Risk Assessment, Genetic Counseling, and Genetic Testing for BRCA-Related Cancer in Women: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA* **2019**, *322*, 666–685. [CrossRef]





118. Baldwin, A.L.; Cook-Deegan, R. Constructing Narratives of Heroism and Villainy: Case Study of Myriad's BRCAAnalysis((R)) Compared to Genentech's Herceptin((R)). *Genome Med.* **2013**, *5*, 8. [CrossRef]
119. Kim, G.; Ison, G.; McKee, A.E.; Zhang, H.; Tang, S.; Gwise, T.; Sridhara, R.; Lee, E.; Tzou, A.; Philip, R.; et al. FDA Approval Summary: Olaparib Monotherapy in Patients with Deleterious Germline BRCA-Mutated Advanced Ovarian Cancer Treated with Three or More Lines of Chemotherapy. *Clin. Cancer Res.* **2015**, *21*, 4257–4261. [CrossRef]
120. Daly, M.B.; Pilarski, R.; Berry, M.; Buys, S.S.; Farmer, M.; Friedman, S.; Garber, J.E.; Kauff, N.D.; Khan, S.; Klein, C.; et al. NCCN Guidelines Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian, Version 2.2017. *J. Natl. Compr. Cancer Netw.* **2017**, *15*, 9–20. [CrossRef]
121. BRCAAnalysis CDx® Technical Information. Available online: <https://s3.amazonaws.com/myriad-web/BRCAAnalysisCDxTS.pdf> (accessed on 1 October 2021).
122. FoundationFocus™ CDxBRCA LOH—Summary of Safety and Effectiveness Data (SSED). Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/pdf16/P160018S001B.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf16/P160018S001B.pdf) (accessed on 1 October 2021).
123. FoundationFocus™ CDxBRCA—Summary of Safety and Effectiveness DATA (SSED). Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/pdf16/P160018B.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf16/P160018B.pdf) (accessed on 1 October 2021).
124. Frampton, G.M.; Fichtenholtz, A.; Otto, G.A.; Wang, K.; Downing, S.R.; He, J.; Schnall-Levin, M.; White, J.; Sanford, E.M.; An, P.; et al. Development and Validation of a Clinical Cancer Genomic Profiling Test Based on Massively Parallel DNA Sequencing. *Nat. Biotechnol.* **2013**, *31*, 1023–1031. [CrossRef]
125. Ford, L.; Wolford, J.E.; Brown, S.M.; Randall, L.M. A Profile on the FoundationFocus CDxBRCA Tests. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **2020**, *20*, 285–292. [CrossRef] [PubMed]
126. Swisher, E.M.; Lin, K.K.; Oza, A.M.; Scott, C.L.; Giordano, H.; Sun, J.; Konecny, G.E.; Coleman, R.L.; Tinker, A.V.; O'Malley, D.M.; et al. Rucaparib in Relapsed, Platinum-Sensitive High-Grade Ovarian Carcinoma (ARIEL2 Part 1): An International, Multicentre, Open-Label, Phase 2 Trial. *Lancet Oncol.* **2017**, *18*, 75–87. [CrossRef]
127. Balasubramaniam, S.; Beaver, J.A.; Horton, S.; Fernandes, L.L.; Tang, S.; Horne, H.N.; Liu, J.; Liu, C.; Schrieber, S.J.; Yu, J.; et al. FDA Approval Summary: Rucaparib for the Treatment of Patients with Deleterious BRCA Mutation-Associated Advanced Ovarian Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2017**, *23*, 7165–7170. [CrossRef] [PubMed]
128. Coleman, R.L.; Oza, A.M.; Lorusso, D.; Aghajanian, C.; Oaknin, A.; Dean, A.; Colombo, N.; Weberpals, J.I.; Clamp, A.; Scambia, G.; et al. Rucaparib Maintenance Treatment for Recurrent Ovarian Carcinoma after Response to Platinum Therapy (ARIEL3): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial. *Lancet* **2017**, *390*, 1949–1961. [CrossRef]
129. FoundationOne® CDx—Summary of Safety and Effectiveness Data (SSED). Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/pdf17/P170019S017B.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf17/P170019S017B.pdf) (accessed on 1 October 2021).
130. Woodhouse, R.; Li, M.; Hughes, J.; Delfosse, D.; Skoletsky, J.; Ma, P.; Meng, W.; Dewal, N.; Milbury, C.; Clark, T.; et al. Clinical and Analytical Validation of FoundationOne Liquid CDx, a Novel 324-Gene CfDNA-Based Comprehensive Genomic Profiling Assay for Cancers of Solid Tumor Origin. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0237802. [CrossRef]
131. Mills, G.B.; Timms, K.M.; Reid, J.E.; Gutin, A.S.; Krivak, T.C.; Hennessy, B.; Paul, J.; Brown, R.; Lanchbury, J.S.; Stronach, E.A. Homologous Recombination Deficiency Score Shows Superior Association with Outcome Compared with Its Individual Score Components in Platinum-Treated Serous Ovarian Cancer. *Gynecol. Oncol.* **2016**, *141*, 2–3. [CrossRef]
132. Telli, M.L.; Timms, K.M.; Reid, J.; Hennessy, B.; Mills, G.B.; Jensen, K.C.; Szallasi, Z.; Barry, W.T.; Winer, E.P.; Tung, N.M.; et al. Homologous Recombination Deficiency (HRD) Score Predicts Response to Platinum-Containing Neoadjuvant Chemotherapy in Patients with Triple-Negative Breast Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2016**, *22*, 3764–3773. [CrossRef]
133. Ray-Coquard, I.; Pautier, P.; Pignata, S.; Pérol, D.; González-Martín, A.; Berger, R.; Fujiwara, K.; Vergote, I.; Colombo, N.; Mäenpää, J.; et al. Olaparib plus Bevacizumab as First-Line Maintenance in Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *381*, 2416–2428. [CrossRef]
134. Coleman, R.L.; Fleming, G.F.; Brady, M.F.; Swisher, E.M.; Steffensen, K.D.; Friedlander, M.; Okamoto, A.; Moore, K.N.; Efrat Ben-Baruch, N.; Werner, T.L.; et al. Veliparib with First-Line Chemotherapy and as Maintenance Therapy in Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *381*, 2403–2415. [CrossRef]
135. González-Martín, A.; Pothuri, B.; Vergote, I.; DePont Christensen, R.; Graybill, W.; Mirza, M.R.; McCormick, C.; Lorusso, D.; Hoskins, P.; Freyer, G.; et al. Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *381*, 2391–2402. [CrossRef]
136. Timms, K.M.; Mills, G.B.; Perry, M.; Gutin, A.; Lanchbury, J.; Brown, R. Comparison of Genomic Instability Test Scores Used for Predicting PARP Activity in Ovarian Cancer. *J. Clin. Oncol.* **2020**, *38*, 1586. [CrossRef]
137. Horowitz, M.; Esakov, E.; Rose, P.; Reizes, O. Signaling within the Epithelial Ovarian Cancer Tumor Microenvironment: The Challenge of Tumor Heterogeneity. *Ann. Transl. Med.* **2020**, *8*, 905. [CrossRef] [PubMed]
138. Chandrasekaran, D.; Sobocan, M.; Blyuss, O.; Miller, R.E.; Evans, O.; Crusz, S.M.; Mills-Baldock, T.; Sun, L.; Hammond, R.F.L.; Gaba, F.; et al. Implementation of Multigene Germline and Parallel Somatic Genetic Testing in Epithelial Ovarian Cancer: SIGNPOST Study. *Cancers* **2021**, *13*, 4344. [CrossRef] [PubMed]
139. Hong, J.; Lee, J.; Kwon, M.; Kim, J.Y.; Kim, J.W.; Ahn, J.S.; Im, Y.H.; Park, Y.H. Local Laboratory Testing of Germline BRCA Mutations vs. Myriad: A Single-Institution Experience in Korea. *Diagnostics* **2021**, *11*, 370. [CrossRef]
140. Gradishar, W.; Johnson, K.; Brown, K.; Mundt, E.; Manley, S. Clinical Variant Classification: A Comparison of Public Databases and a Commercial Testing Laboratory. *Oncologist* **2017**, *22*, 797–803. [CrossRef]

141. Balmana, J.; Digiovanni, L.; Gaddam, P.; Walsh, M.F.; Joseph, V.; Stadler, Z.K.; Nathanson, K.L.; Garber, J.E.; Couch, F.J.; Offit, K.; et al. Conflicting Interpretation of Genetic Variants and Cancer Risk by Commercial Laboratories as Assessed by the Prospective Registry of Multiplex Testing. *J. Clin. Oncol.* **2016**, *34*, 4071–4078. [[CrossRef](#)]
142. Ha, H.I.; Ryu, J.S.; Shim, H.; Kong, S.Y.; Lim, M.C. Reclassification of BRCA1 and BRCA2 Variants Found in Ovarian Epithelial, Fallopian Tube, and Primary Peritoneal Cancers. *J. Gynecol. Oncol.* **2020**, *31*, e83. [[CrossRef](#)]
143. Kurian, A.W.; Ward, K.C.; Howlander, N.; Deapen, D.; Hamilton, A.S.; Mariotto, A.; Miller, D.; Penberthy, L.S.; Katz, S.J. Genetic Testing and Results in a Population-Based Cohort of Breast Cancer Patients and Ovarian Cancer Patients. *J. Clin. Oncol.* **2019**, *37*, 1305–1315. [[CrossRef](#)]
144. Takaya, H.; Nakai, H.; Takamatsu, S.; Mandai, M.; Matsumura, N. Homologous Recombination Deficiency Status-Based Classification of High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 2757. [[CrossRef](#)]
145. Sheta, R.; Bachvarova, M.; Plante, M.; Renaud, M.C.; Sebastianelli, A.; Gregoire, J.; Navarro, J.M.; Perez, R.B.; Masson, J.Y.; Bachvarov, D. Development of a 3D Functional Assay and Identification of Biomarkers, Predictive for Response of High-Grade Serous Ovarian Cancer (HGSOC) Patients to Poly-ADP Ribose Polymerase Inhibitors (PARPis): Targeted Therapy. *J. Transl. Med.* **2020**, *18*, 439. [[CrossRef](#)]
146. Gulhan, D.C.; Lee, J.J.; Melloni, G.E.M.; Cortes-Ciriano, I.; Park, P.J. Detecting the Mutational Signature of Homologous Recombination Deficiency in Clinical Samples. *Nat. Genet.* **2019**, *51*, 912–919. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
147. Davies, H.; Glodzik, D.; Morganello, S.; Yates, L.R.; Staaf, J.; Zou, X.; Ramakrishna, M.; Martin, S.; Boyault, S.; Sieuwerts, A.M.; et al. HRDetect Is a Predictor of BRCA1 and BRCA2 Deficiency Based on Mutational Signatures. *Nat. Med.* **2017**, *23*, 517–525. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
148. Sztupinszki, Z.; Diossy, M.; Borcsok, J.; Prosz, A.; Cornelius, N.; Kjeldsen, M.K.; Mirza, M.R.; Szallasi, Z. Comparative Assessment of Diagnostic Homologous Recombination Deficiency-Associated Mutational Signatures in Ovarian Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2021**, *27*, 5681–5687. [[CrossRef](#)]
149. Chan, A.M.; Enwere, E.; McIntyre, J.B.; Wilson, H.; Nwaroh, C.; Wiebe, N.; Ou, Y.; Liu, S.; Wiedemeyer, K.; Rambau, P.F.; et al. Combined CCNE1 High-Level Amplification and Overexpression Is Associated with Unfavourable Outcome in Tubo-Ovarian High-Grade Serous Carcinoma. *J. Pathol. Clin. Res.* **2020**, *6*, 252–262. [[CrossRef](#)]
150. Graf, R.P.; Eskander, R.; Brueggeman, L.; Stupack, D.G. Association of Copy Number Variation Signature and Survival in Patients with Serous Ovarian Cancer. *JAMA Netw. Open* **2021**, *4*, e2114162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
151. Macintyre, G.; Goranova, T.E.; De Silva, D.; Ennis, D.; Piskorz, A.M.; Eldridge, M.; Sie, D.; Lewsley, L.A.; Hanif, A.; Wilson, C.; et al. Copy Number Signatures and Mutational Processes in Ovarian Carcinoma. *Nat. Genet.* **2018**, *50*, 1262–1270. [[CrossRef](#)]
152. Goundiam, O.; Gestraud, P.; Popova, T.; De la Motte Rouge, T.; Fourchette, V.; Gentien, D.; Hupe, P.; Becette, V.; Houdayer, C.; Roman-Roman, S.; et al. Histo-Genomic Stratification Reveals the Frequent Amplification/Overexpression of CCNE1 and BRD4 Genes in Non-BRCAness High Grade Ovarian Carcinoma. *Int. J. Cancer* **2015**, *137*, 1890–1900. [[CrossRef](#)]
153. Da Costa, A.; do Canto, L.M.; Larsen, S.J.; Ribeiro, A.R.G.; Stecca, C.E.; Petersen, A.H.; Aagaard, M.M.; de Brot, L.; Baumbach, J.; Baiocchi, G.; et al. Genomic Profiling in Ovarian Cancer Retreated with Platinum Based Chemotherapy Presented Homologous Recombination Deficiency and Copy Number Imbalances of CCNE1 and RB1 Genes. *BMC Cancer* **2019**, *19*, 422. [[CrossRef](#)]
154. Luo, S.; Zhang, Y.; Yang, Y.; Zhu, S.; Liu, W.; Zhu, J.; Liang, X.; Jiang, Z.; Sun, S.; Hou, X.; et al. Clonal Tumor Mutations in Homologous Recombination Genes Predict Favorable Clinical Outcome in Ovarian Cancer Treated with Platinum-Based Chemotherapy. *Gynecol. Oncol.* **2020**, *158*, 66–76. [[CrossRef](#)]
155. Nestic, K.; Kondrashova, O.; Hurley, R.M.; McGehee, C.D.; Vandenberg, C.J.; Ho, G.Y.; Lieschke, E.; Dall, G.; Bound, N.; Shield-Artin, K.; et al. Acquired RAD51C Promoter Methylation Loss Causes PARP Inhibitor Resistance in High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *Cancer Res.* **2021**, *81*, 4709–4722. [[CrossRef](#)]
156. Hua, T.; Kang, S.; Li, X.F.; Tian, Y.J.; Li, Y. DNA Methylome Profiling Identifies Novel Methylated Genes in Epithelial Ovarian Cancer Patients with Platinum Resistance. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* **2021**, *47*, 1031–1039. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
157. Cardenas, H.; Fang, F.; Jiang, G.; Perkins, S.M.; Zhang, C.; Emerson, R.E.; Hutchins, G.; Keer, H.N.; Liu, Y.; Matei, D.; et al. Methylomic Signatures of High Grade Serous Ovarian Cancer. *Epigenetics* **2020**, *16*, 1201–1216. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
158. Tomar, T.; Alkema, N.G.; Schreuder, L.; Meersma, G.J.; de Meyer, T.; van Criekinge, W.; Klip, H.G.; Fiegl, H.; van Nieuwenhuysen, E.; Vergote, I.; et al. Methylome Analysis of Extreme Chemosensitive Patients Identifies Novel Markers of Platinum Sensitivity in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *BMC Med.* **2017**, *15*, 116. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
159. Kieffer, Y.; Bonneau, C.; Popova, T.; Rouzier, R.; Stern, M.H.; Mechta-Grigoriou, F. Clinical Interest of Combining Transcriptomic and Genomic Signatures in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Front. Genet.* **2020**, *11*, 219. [[CrossRef](#)]
160. Biswas, N.; Kumar, K.; Bose, S.; Bera, R.; Chakrabarti, S. Analysis of Pan-Omics Data in Human Interactome Network (APODHIN). *Front. Genet.* **2020**, *11*, 589231. [[CrossRef](#)]
161. Kadkhoda, S.; Darbeheshti, F.; Tavakkoly-Bazzaz, J. Identification of Dysregulated MiRNAs-Genes Network in Ovarian Cancer: An Integrative Approach to Uncover the Molecular Interactions and Onco-mechanisms. *Cancer Rep.* **2020**, *3*, e1286. [[CrossRef](#)]
162. Fu, A.; Chang, H.R.; Zhang, Z.F. Integrated Multiomic Predictors for Ovarian Cancer Survival. *Carcinogenesis* **2018**, *39*, 860–868. [[CrossRef](#)]
163. Lee, S.; Zhao, L.; Rojas, C.; Bateman, N.W.; Yao, H.; Lara, O.D.; Celestino, J.; Morgan, M.B.; Nguyen, T.V.; Conrads, K.A.; et al. Molecular Analysis of Clinically Defined Subsets of High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Cell Rep.* **2020**, *31*, 107502. [[CrossRef](#)]

164. Li, M.; Balch, C.; Montgomery, J.S.; Jeong, M.; Chung, J.H.; Yan, P.; Huang, T.H.; Kim, S.; Nephew, K.P. Integrated Analysis of DNA Methylation and Gene Expression Reveals Specific Signaling Pathways Associated with Platinum Resistance in Ovarian Cancer. *BMC Med. Genom.* **2009**, *2*, 34. [[CrossRef](#)]
165. Vidula, N.; Rich, T.A.; Sartor, O.; Yen, J.; Hardin, A.; Nance, T.; Lilly, M.B.; Nezami, M.A.; Patel, S.P.; Carneiro, B.A.; et al. Routine Plasma-Based Genotyping to Comprehensively Detect Germline, Somatic, and Reversion BRCA Mutations among Patients with Advanced Solid Tumors. *Clin. Cancer Res.* **2020**, *26*, 2546–2555. [[CrossRef](#)]
166. Christie, E.L.; Fereday, S.; Doig, K.; Pattnaik, S.; Dawson, S.J.; Bowtell, D.D.L. Reversion of BRCA1/2 Germline Mutations Detected in Circulating Tumor DNA From Patients with High-Grade Serous Ovarian Cancer. *J. Clin. Oncol.* **2017**, *35*, 1274–1280. [[CrossRef](#)]
167. Yu, M.; Zhu, Y.; Teng, L.; Cui, J.; Su, Y. Can Circulating Cell-Free DNA or Circulating Tumor DNA Be a Promising Marker in Ovarian Cancer? *J. Oncol.* **2021**, *2021*, 6627241. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
168. Thusgaard, C.F.; Korsholm, M.; Koldby, K.M.; Kruse, T.A.; Thomassen, M.; Jochumsen, K.M. Epithelial Ovarian Cancer and the Use of Circulating Tumor DNA: A Systematic Review. *Gynecol. Oncol.* **2021**, *161*, 884–895. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
169. Paracchini, L.; Beltrame, L.; Grassi, T.; Inglesi, A.; Fruscio, R.; Landoni, F.; Ippolito, D.; Delle Marchette, M.; Paderno, M.; Adorni, M.; et al. Genome-Wide Copy-Number Alterations in Circulating Tumor DNA as a Novel Biomarker for Patients with High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2021**, *27*, 2549–2559. [[CrossRef](#)]
170. Kandimalla, R.; Wang, W.; Yu, F.; Zhou, N.; Gao, F.; Spillman, M.; Moukova, L.; Slaby, O.; Salhia, B.; Zhou, S.; et al. OCaMIR-A Noninvasive, Diagnostic Signature for Early-Stage Ovarian Cancer: A Multi-Cohort Retrospective and Prospective Study. *Clin. Cancer Res.* **2021**, *27*, 4277–4286. [[CrossRef](#)]
171. Ghafouri-Fard, S.; Shoorei, H.; Taheri, M. MiRNA Profile in Ovarian Cancer. *Exp. Mol. Pathol.* **2020**, *113*, 104381. [[CrossRef](#)]
172. Yoshida, K.; Yokoi, A.; Kato, T.; Ochiya, T.; Yamamoto, Y. The Clinical Impact of Intra- and Extracellular MiRNAs in Ovarian Cancer. *Cancer Sci.* **2020**, *111*, 3435–3444. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
173. Zuberi, M.; Mir, R.; Khan, I.; Javid, J.; Guru, S.A.; Bhat, M.; Sumi, M.P.; Ahmad, I.; Masroor, M.; Yadav, P.; et al. The Promising Signatures of Circulating MicroRNA-145 in Epithelial Ovarian Cancer Patients. *Microna* **2020**, *9*, 49–57. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
174. Atallah, G.A.; Abd Aziz, N.H.; Teik, C.K.; Shafiee, M.N.; Kampan, N.C. New Predictive Biomarkers for Ovarian Cancer. *Diagnostics* **2021**, *11*, 465. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
175. Choi, Y.J.; Rhee, J.K.; Hur, S.Y.; Kim, M.S.; Lee, S.H.; Chung, Y.J.; Kim, T.M.; Lee, S.H. Intraindividual Genomic Heterogeneity of High-Grade Serous Carcinoma of the Ovary and Clinical Utility of Ascitic Cancer Cells for Mutation Profiling. *J. Pathol.* **2017**, *241*, 57–66. [[CrossRef](#)]
176. Paracchini, L.; D’Incalci, M.; Marchini, S. Liquid Biopsy in the Clinical Management of High-Grade Serous Epithelial Ovarian Cancer-Current Use and Future Opportunities. *Cancers* **2021**, *13*, 2386. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
177. Van Wijk, L.M.; Vermeulen, S.; Meijers, M.; van Diest, M.F.; Ter Haar, N.T.; de Jonge, M.M.; Solleveld-Westerink, N.; van Wezel, T.; van Gent, D.C.; Kroep, J.R.; et al. The RECAP Test Rapidly and Reliably Identifies Homologous Recombination-Deficient Ovarian Carcinomas. *Cancers* **2020**, *12*, 2805. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
178. Mukhopadhyay, A.; Elattar, A.; Cerbinskaite, A.; Wilkinson, S.J.; Drew, Y.; Kyle, S.; Los, G.; Hostomsky, Z.; Edmondson, R.J.; Curtin, N.J. Development of a Functional Assay for Homologous Recombination Status in Primary Cultures of Epithelial Ovarian Tumor and Correlation with Sensitivity to Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibitors. *Clin. Cancer Res.* **2010**, *16*, 2344–2351. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
179. Shah, M.M.; Dobbins, Z.C.; Nowsheen, S.; Wielgos, M.; Katre, A.A.; Alvarez, R.D.; Konstantinopoulos, P.A.; Yang, E.S.; Landen, C.N. An Ex Vivo Assay of XRT-Induced Rad51 Foci Formation Predicts Response to PARP-Inhibition in Ovarian Cancer. *Gynecol. Oncol.* **2014**, *134*, 331–337. [[CrossRef](#)]
180. Tumiat, M.; Hietanen, S.; Hynninen, J.; Pietilä, E.; Färkkilä, A.; Kaipio, K.; Roering, P.; Huhtinen, K.; Alkods, A.; Li, Y.; et al. A Functional Homologous Recombination Assay Predicts Primary Chemotherapy Response and Long-Term Survival in Ovarian Cancer Patients. *Clin. Cancer Res.* **2018**, *24*, 4482–4493. [[CrossRef](#)]
181. Patterson, M.J.; Sutton, R.E.; Forrest, I.; Sharrock, R.; Lane, M.; Kaufmann, A.; O’Donnell, R.; Edmondson, R.J.; Wilson, B.T.; Curtin, N.J. Assessing the Function of Homologous Recombination DNA Repair in Malignant Pleural Effusion (MPE) Samples. *Br. J. Cancer* **2014**, *111*, 94–100. [[CrossRef](#)]
182. Cruz, C.; Castroviejo-Bermejo, M.; Gutierrez-Enriquez, S.; Llop-Guevara, A.; Ibrahim, Y.H.; Gris-Oliver, A.; Bonache, S.; Morancho, B.; Bruna, A.; Rueda, O.M.; et al. RAD51 Foci as a Functional Biomarker of Homologous Recombination Repair and PARP Inhibitor Resistance in Germline BRCA-Mutated Breast Cancer. *Ann. Oncol.* **2018**, *29*, 1203–1210. [[CrossRef](#)]
183. Castroviejo-Bermejo, M.; Cruz, C.; Llop-Guevara, A.; Gutierrez-Enriquez, S.; Ducy, M.; Ibrahim, Y.H.; Gris-Oliver, A.; Pellegrino, B.; Bruna, A.; Guzman, M.; et al. A RAD51 Assay Feasible in Routine Tumor Samples Calls PARP Inhibitor Response beyond BRCA Mutation. *EMBO Mol. Med.* **2018**, *10*, e9172. [[CrossRef](#)]
184. Van Wijk, L.M.; Kramer, C.J.H.; Vermeulen, S.; Ter Haar, N.T.; de Jonge, M.M.; Kroep, J.R.; de Kroon, C.D.; Gaarenstroom, K.N.; Vrieling, H.; Bosse, T.; et al. The RAD51-FFPE Test; Calibration of a Functional Homologous Recombination Deficiency Test on Diagnostic Endometrial and Ovarian Tumor Blocks. *Cancers* **2021**, *13*, 2994. [[CrossRef](#)]

Review

# Toward More Comprehensive Homologous Recombination Deficiency Assays in Ovarian Cancer Part 2: Medical Perspectives

Stanislas Quesada <sup>1,2,\*</sup>, Michel Fabbro <sup>1,3</sup>  and Jérôme Solassol <sup>2,3,4</sup> 

<sup>1</sup> Medical Oncology Department, Institut Régional du Cancer de Montpellier (ICM), 34298 Montpellier, France; michel.fabbro@icm.unicancer.fr

<sup>2</sup> Faculty of Medicine, University of Montpellier, 34090 Montpellier, France; j-solassol@chu-montpellier.fr

<sup>3</sup> Montpellier Research Cancer Institute (IRCM), Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) U1194, University of Montpellier, 34298 Montpellier, France

<sup>4</sup> Department of Pathology and Onco-Biology, Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Montpellier, 34295 Montpellier, France

\* Correspondence: stanislas.quesada@icm.unicancer.fr

**Simple Summary:** High-grade serous ovarian cancer (HGSOC—the most frequent and aggressive form of ovarian cancer) represents an important challenge for clinicians. Half of HGSOC cases exhibit homologous recombination deficiency (HRD), mainly through alterations in *BRCA1* and *BRCA2*. This leads to sensitivity to PARP inhibitors, a novel class of breakthrough molecules that improved HGSOC prognoses. To date, three companion diagnostic assays have received FDA approval for the evaluation of HRD status, but their use remains controversial. In this companion review (Part 1: Technical considerations; Part 2: Medical perspectives), we develop an integrative perspective, from translational research to clinical application, that could help physicians and researchers manage HGSOC.



**Citation:** Quesada, S.; Fabbro, M.; Solassol, J. Toward More Comprehensive Homologous Recombination Deficiency Assays in Ovarian Cancer Part 2: Medical Perspectives. *Cancers* **2022**, *14*, 1098. <https://doi.org/10.3390/cancers14041098>

Academic Editors: Anna E. Lokshin and Maciej Zyliz

Received: 21 January 2022

Accepted: 20 February 2022

Published: 21 February 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** High-grade serous ovarian cancer (HGSOC) is the most frequent and aggressive form of ovarian cancer, representing an important challenge for clinicians. Half of HGSOC cases have homologous recombination deficiency (HRD), which has specific causes (mainly alterations in *BRCA1/2*, but also other alterations encompassed by the *BRCAness* concept) and consequences, both at molecular (e.g., genomic instability) and clinical (e.g., sensitivity to PARP inhibitor) levels. Based on its prevalence and clinical impact, HRD status merits investigation. To date, three PARP inhibitors have received FDA/EMA approval. For some approvals, the presence of specific molecular alterations is required. Three companion diagnostic (CDx) assays based on distinct technical and medical considerations have received FDA approval to date. However, their use remains controversial due to their technical and medical limitations. In this companion and integrated review, we take a “bench-to bedside” perspective on HRD definition and evaluation in the context of HGSOC. Part 1 of the review adopts a molecular perspective regarding technical considerations and the development of CDx. Part 2 focuses on the clinical impact of HRD evaluation, primarily through currently validated CDx and prescription of PARP inhibitors, outlining achievements, limitations and medical perspectives.

**Keywords:** high-grade serous ovarian cancer; homologous recombination deficiency; PARP inhibitors; olaparib; niraparib; rucaparib; companion diagnostic assays

## 1. Introduction

Ovarian cancer (which encompasses cancers of the ovaries, fallopian tubes and peritoneum) arises from epithelial cells in 90% of cases, leading to epithelial ovarian cancer; conversely, non-epithelial cancers comprise germ cell tumors, sarcomas, lymphomas and tumors from the granulosa. The term “epithelial ovarian cancer” actually encompasses a heterogeneous group (considering histology and molecular patterns) of cancers, including



high-grade serous (HGSOC, which accounts for 70% of cases), endometrioid (10%), clear cell (10%), mucinous (3%) and low-grade serous (<5%) carcinomas [1]. Epithelial ovarian cancers have been divided into type I and II cancers: type I includes endometriosis-related tumors (i.e., endometrioid and clear cell carcinomas), mucinous and low-grade serous carcinomas, while type II includes HGSOCs, undifferentiated carcinomas and carcinosarcomas (these two last classes represent less than 1% of ovarian cancers and are not “epithelial” per se). Interestingly, recent molecular data have challenged this classification system [2]. Each epithelial ovarian cancer subtype has its own features, with distinct epidemiology, genetic risk factors and molecular alterations of carcinogenesis, treatment and prognosis [3,4].

HGSOC is both the most frequent and most lethal subtype. Because of the initial asymptomatic nature of this disease, approximately 75% of patients with epithelial ovarian cancer are initially diagnosed at an advanced stage. This corresponds to stage III–IV cancer, according to the International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) staging system. Late-stage diagnosis has a huge impact on prognosis: while the all-stage 5-year overall survival rate is approximately 40%, there is substantial variation between stages I–II and stages III–IV (80–95% versus 10–30% 5-year overall survivals, respectively) [5–7]. For late-stage HGSOC, frontline standard treatment mainly includes cytoreductive surgery with taxane-/platinum-based systemic therapy, either through primary debulking surgery or neoadjuvant chemotherapy, which produces an excellent initial response in 70% of patients, a condition defined as platinum sensitivity. Unfortunately, approximately 75% of patients experience recurrence within 3 years, with subsequent platinum resistance, inevitably leading to incurable disease and death [5].

As a consequence, in an effort to improve HGSOC outcomes, targeted therapies have been developed. Bevacizumab, a monoclonal antibody initially developed for metastatic colorectal cancer and which targets vascular epithelial growth factor (VEGF), has been shown to be effective for median progression-free disease (PFS) improvement when used concomitantly with chemotherapy and as maintenance in first-line therapy as well as during HGSOC relapse [8–10]. However, bevacizumab does not have a clear effect on overall survival, with only one retrospective analysis suggesting this possibility [11]. In addition to anti-VEGF drugs, a novel class of medication emerged during the past decade, the poly(adenosine diphosphate-ribose) polymerase (PARP) inhibitors, which had a substantial effect on HGSOC prognoses [12,13].

As discussed in the companion paper (Part 1), half of HGSOC cases are characterized by homologous recombination deficiency (HRD), which is one of the predictive markers for PARPi efficiency. HRD can be investigated through dual perspectives: causes and consequence.

In terms of etiology, the main cause of HRD is bi-allelic inactivation of *BRCA1* or *BRCA2* (*BRCA1/2*) genes by either germline (*gBRCA\**) plus somatic (*sBRCA\**) loss or both functional alleles somatically. Short mutations (single nucleotide or short insertions/deletions) in *BRCA1/2* within the tumor (*tBRCA\**), which can reveal either *gBRCA\** or *sBRCA\** are estimated to be present in approximately 20–25% of cases [14,15]. Furthermore, aberrant methylation of the *BRCA1* promoter (*BRCA1-CpG+*) is reported in approximately 11–15% of HGSOC cases [14,16]. Notably, multimegabase large rearrangements (LRs, also known as structural variants, or SVs) at the *BRCA1/2* loci, leading to HRD, have been reported in approximately 15% of patients [17]. Moreover, HRD can occur in wild-type *BRCA* (*BRCA<sup>wt</sup>*), giving rise to the concept of “BRCAness” (i.e., an HRD phenotype whose cause is not a direct *BRCA* mutation) [18]. Briefly, BRCAness can be caused by biallelic mutations in some homologous recombination-related (HRR) genes, *EMSY* amplification or epigenetic alterations [19–25]. Apart from *BRCA1/2*, the following list of HRR genes is currently considered as the best characterized to date: *ATM*, *BARD1*, *BRIP*, *CDK1*, *PALB*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PPP2R2A*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D* and *RAD54L* [4,14,19,20].

Schematically, HRD consequences can be classified into three categories: DNA alterations, epigenetic markers and functional phenotypes. DNA mutations are mainly represented by mutational signatures of specific base substitutions and by gross LR and



aberrations [26–29]. Several types of LR have been described as consequences of HRD. Known by the generic term “genomic scars”, they compose a permanent fingerprint of HRD-related global genomic instability [30]. Notably, although “genomic scars” refers to any HRD-related DNA mutation (i.e., encompassing both microlesions and macrolesions), we will restrain this term to large-scale rearrangements as it is used in the literature. Three types of alterations are enriched in tumors with HRD: loss of heterozygosity (LOH), large-scale state transitions (LST) and telomere allelic imbalance (TAI) [31–33]. Notably, in the context of HRD, these alterations are found across the genome, and their global enrichment reflects a global genomic instability score (GIS) [34]. In addition to genetics consequences, HRD also leads to specific epigenetic and functional consequences. Clinically, HRD tumors tend to be more sensitive to platinum-based regimens, and specifically to PARPis, through synthetic lethality. Briefly, synthetic lethality relies on the fact that cancer cells harbor gene defects which are not lethal per se, but which turn lethal when combining with a defect in another gene [35]. PARPi leads to SSB accumulation which progresses to DSB. In the context of HRD, cells will accumulate DSB, ultimately leading to apoptosis [13,36]. HRD HGSOc cases tend to have improved progression-free and overall survivals, which is in part due to better responses to treatment [37]. Consequently, an accurate evaluation of patients’ HRD status is essential for both prognosis and therapeutic choice.

To meet this demand, several companion diagnostic (CDx) assays have been developed and clinically validated, leading to substantial improvements in the management of HGSOc. However, their use remains controversial, notably because they do not assess directly HRD status but their causes and/or their consequences. While Part 1 of this companion review focuses on the molecular and technical considerations of HRD definitions and assessments, Part 2 aims to bridge the gap between technical and clinical perspectives. Thus, we will review: 1. the added value of CDx integration, to date, according to published clinical trials that assessed PARPis, with a bioclinical perspective of molecular status, clinical situation and subsequent approvals; 2. the inherent limits of current CDx assays, notably regarding medical considerations; and 3. proposed perspectives regarding these drawbacks to improve management of HGSOc.

Combined with the companion paper (Part 1), this state-of-the-art and current perspectives review will provide clinicians and researchers with a translational and integrated view of HRD in HGSOc.

## 2. HRD Companion Assays in Clinical Practice

### 2.1. Introduction to CDx Assays

Owing to the potent impact of HRD on HGSOc management, several CDx assays have been developed and validated. While the companion paper focuses on an extensive description of technical considerations (performances and limitations of each test), this paper will detail the clinical side (i.e., the relevance of evaluating HRD status as a biomarker for PARPi prescription and expected treatment response). To date, 3 CDx assays are currently FDA-approved for epithelial ovarian cancer cases: BRCAAnalysis® CDx (BA-CDx), developed and marketed by MyriadGenetics (MG, Salt Lake City, UT, USA), Foundation-Focus CDxBRCA-LOH® (FF-CDx) from FoundationMedicine (Cambridge, MA, USA) and MyChoice CDx® (MC-CDx) from MG [38]. As a reminder, HRD evaluation mainly relies on two strategies: searching for mutations in HR-related genes (mainly *BRCA\**; the causes of HRD) and/or the presence of “genomic scars” (i.e., the consequences of HRD).

BA-CDx relies on *gBRCA* assessment through sequencing genomic DNA obtained from whole blood samples collected in EDTA [39]. BA-CDx is currently FDA-approved for distinct situations (discussed below) where detection of *gBRCA\** is required prior to PARPi prescription.

In addition to BA-CDx, FF-CDx and MC-CDx assays assess both *tBRCA* and genomic scars within the tumor [40,41]. Notably, as *BRCA* analysis is performed on tumoral tissue, it does not distinguish between *gBRCA\** and *tBRCA\**. Genomic scars are evaluated very differently between FF-CDx and MC-CDx.

For MC-CDx, HRD status is based on a proprietary “genomic instability score” (GIS), consisting of the unweighted numeric sum of LOH, LST and TAI. HRD positivity is currently defined by a GIS score  $\geq 42$  and/or *tBRCA1/2\** [42].

For FF-CDx, HRD status is based on genome-wide evaluation of LOH, leading to a global score reflecting the percentage of genomic LOH: tumors are defined as “LOH high” ( $\geq 16\%$ ) or “LOH low” ( $< 16\%$ ), corresponding to HRD positive (HRD+) and negative (HRD−) statuses, respectively [43]. Notably, a positive HRD result is indicated if the tumor is “LOH high” and/or exhibits a *tBRCA\**. Importantly, FF-CDx is no longer available as a stand-alone assay but is included within the more general FoundationOne CDx© (F1-CDx), a comprehensive multicancer analysis with 324-gene panel testing coupled with analysis of tumor mutational burden, microsatellite instability and specific gene rearrangements [41]. In addition, FoundationMedicine recently marketed the FoundationOne Liquid® CDx, which detects *tBRCA\** directly in a blood sample through 324-gene panel testing; this CDx does not evaluate LOH [44]. Although FF-CDx (for *tBRCA\** detection) is required for PARPi prescription in two distinct indications in OC, the third FDA-approved indication (i.e., HRD evaluation prior to rucaparib maintenance in the second-line setting) is not biomarker driven, as HRD positivity is predictive of efficacy and indicates enhanced PFS.

Owing to their clinical impact, FF-CDx and MC-CDx (both FDA-approved assays) have been included as part of epithelial ovarian cancer management in the recommendations of the European Society for Medical Oncology (ESMO) and the American Society of Clinical Oncology (ASCO) [40,45]. However, a recently published expert consensus identified the urgent need to develop new tools that can more accurately assess HRD status in HGSOc cases [46].

## 2.2. Assay Achievements in Clinical Practice: The PARPi Era

### 2.2.1. Introduction to Clinical Trials Assessing PARPis

The past decade led to a breakthrough in the management of OC, mainly owing to the introduction of PARPis. Initial proof-of-concept studies showed that PARP inhibition leads to synthetic lethality in *BRCA*-deficient cells [47,48]. Subsequently, the first clinical studies were performed in patients harboring *gBRCA\** with multitreated tumors (including OC). Patients who were treated with olaparib had objective antitumor activity; specifically, this antitumor activity in *gBRCA\** OC was associated with platinum sensitivity [49]. These encouraging results paved the way for many RCTs on OC and consequently FDA/EMA approvals in distinct clinical contexts and molecular situations (Table 1). Indeed, there are currently three FDA/EMA-approved PARPis for OC management: olaparib (Lynparza®, AstraZeneca, Cambridge, UK), niraparib (Zeluja®, GlaxoSmithKline, Brentford, UK) and rucaparib (Rubraca®, Clovis, Boulder, CO, USA).

This section will describe the main results of RCTs that led to PARPi approval, with a focus on the analyses performed (and the *BRCA* and HRD statuses) when applicable. Importantly, several subgroup analyses of the studies described here were performed as predefined exploratory endpoints; thus, their results should not be taken as absolute. An extensive description (e.g., the clinical characteristics of the enrolled patients) of these clinical studies is beyond the scope of this review and can be found elsewhere. Caution should be used when considering comparisons between these clinical studies, as their eligibility criteria and molecular evaluations differed.

Unless stated otherwise, all FDA/EMA approvals are for advanced/recurrent epithelial ovarian cancer (including primitive peritoneal and fallopian tube cancers); furthermore, the EMA restricts these treatments to high-grade cancers. Notably, frontline and second-line maintenance therapies are based on selected patients who had complete/partial response (C/PR) to platinum-based chemotherapy. These responses are defined through radiology and biology parameters: complete response indicates the disappearance of all measurable/assessable pathologies that were present at the start of chemotherapy and normalization of CA-125 levels, while clinical partial response indicates situations where radiologic evidence of disease and/or an abnormal CA-125 level remained after treatment.

**Table 1.** Current FDA/EMA-approved PARPis in epithelial ovarian cancer according to the molecular context.

Molecular Status <sup>1</sup>	Advanced Epithelial Ovarian Cancer in Complete/Partial Response to Platinum First-Line Maintenance Monotherapy <sup>2</sup>	Recurrent Epithelial Ovarian Cancer in Complete/Partial Response to Platinum Second-Line Maintenance Monotherapy <sup>2</sup>	Recurrent Epithelial Ovarian Cancer ≥Third-Line (3L) Monotherapy
<i>gBRCA</i> *	<b>Olaparib</b> (FDA 2018/EMA 2019; SOLO-1)— <u>BA-CDx</u>		<b>Olaparib</b> after ≥3L—regardless of platinum sensitivity <sup>3</sup> (FDA 2014; STUDY-42)— <u>BA-CDx</u>
<i>tBRCA</i> *	<b>Olaparib</b> (FDA 2018/EMA 2019; SOLO-1)— <u>F1-CDx</u>		<b>Rucaparib</b> after ≥2L—regardless of platinum sensitivity <sup>4</sup> (FDA 2016/EMA 2019; ARIEL-2/STUDY-10)— <u>F1-CDx</u>
HRD+	<b>Olaparib + bevacizumab</b> (FDA 2020/EMA 2020; PAOLA-1)— <u>MC-CDx</u>		<b>Niraparib</b> after ≥3L—potentially platinum sensitive <sup>5</sup> (FDA 2019; QUADRA)— <u>MC-CDx</u>
Biomarker agnostic	<b>Niraparib</b> (FDA 2020/EMA 2020; PRIMA)	<b>Niraparib</b> (FDA 2017/EMA 2017; NOVA) <sup>6</sup> <b>Olaparib</b> (FDA 2017/EMA 2018; SOLO-2/STUDY-19) <b>Rucaparib</b> (FDA 2018/EMA 2019; ARIEL-3)— <u>F1-CDx</u> <sup>7</sup>	

Abbreviations: *gBRCA* = germline *BRCA*; HRD+ = homologous recombination deficiency positive; NA = not applicable; *tBRCA* = tumoral *BRCA*. Remarks: The dates within parentheses correspond to the years of FDA/EMA approvals, followed by the main study that led to these approvals. Underlined text represents FDA-approved CDx. All EMA approvals are for high-grade epithelial ovarian cancers only; furthermore, according to the EMA, niraparib second-line maintenance requires a platinum-sensitivity status. Iterative challenges with PARPis have not been validated thus far. The term “epithelial ovarian cancer” includes primitive peritoneal and fallopian tube cancers. <sup>1</sup> By definition, an approval for HRD+ (corresponding to *tBRCA*+ and/or genomic instability score positivity) includes *gBRCA*\* and *tBRCA*\*; similarly, an approval for *tBRCA*\* includes *gBRCA*\*; for clarity, the approval is provided only once, corresponding to the broadest situation. <sup>2</sup> All maintenance therapies were approved in the context of complete/partial response to platinum-based chemotherapy; furthermore, all PARPis except olaparib + bevacizumab were used as monotherapies. <sup>3</sup> This approval is restricted to ovarian cancers only. <sup>4</sup> Concerning rucaparib in the third-line setting, EMA approval diverges; it is restricted to the third line and for patients who are unable to tolerate further platinum-based chemotherapy. <sup>5</sup> In the context of niraparib, HRD is defined by (1) a *tBRCA* mutation or (2) GIS ≥ 42 in patients with cancer progression more than six months after response to the last platinum-based chemotherapy. <sup>6</sup> EMA approval of niraparib is restricted to epithelial ovarian cancers with platinum-sensitivity in this context. <sup>7</sup> Rucaparib approval in this context is not biomarker driven, but F1-CDx has FDA approval, as a positive HRD status is predictive of efficacy and indicates enhanced progression-free survival.

Clinical studies and market approval started with multitreated OC and progressively reached frontline management. For clarity, this section will be divided into three distinct subsections: frontline management, first recurrence and second recurrence and beyond.

### 2.2.2. Newly Diagnosed Advanced Epithelial Ovarian Cancer: Frontline Treatment

There are several possibilities for first-line treatment given as maintenance monotherapy (1 Lm), depending on the molecular context. Olaparib was evaluated through the SOLO1 (NCT01844986) RCT, which included 391 patients with HGSOE (or nonserous carcinomas in 5% of cases) or high-grade endometrioid carcinomas with *tBRCA*\*, either tested locally (n = 210) or prospectively with BA-CDx (n = 178) or through BGI clinical laboratories (n = 3); notably, 388 patients had *gBRCA*\* [50]. Olaparib had a 70% lower overall risk of cancer progression or death (hazard ratio (HR) = 0.30; 95% confidence interval (CI): 0.23–0.41; *p* < 0.001) compared to the placebo (in a 2:1 ratio; 260 patients received olaparib, and 131 received placebo) once patients had at least a partial response after carboplatin-paclitaxel chemotherapy. This seminal work led to the first FDA and EMA approvals (in 2018 and 2019, respectively) for PARPis as a 1 Lm monotherapy in patients

with *gBRCA*\* or *tBRCA*\* (tested with the FDA-approved BA-CDx and F1-CDx arrays, respectively). Recently, the 5-year follow-up of SOLO1 showed a median PFS of 56 versus 13.8 months (HR = 0.33; 95% CI: 0.25–0.43) with olaparib and the placebo, respectively [51].

The PAOLA-1 (NCT02477644) RCT compared bevacizumab plus olaparib (OlaBeva) versus bevacizumab plus placebo as a 1 Lm [52]. A total of 806 patients with HGSOc (or nonserous carcinomas in 5% of cases) were enrolled and prospectively tested with the MyChoice HRD assay (analogous to the MC-CDx but dedicated to the research field), which allowed a comparison of PFS according to HRD status, after surgery and carboplatin-based chemotherapy. Interestingly, 30% of enrolled patients had a *tBRCA* deleterious mutation, and 50% were HRD+ (with a GIS  $\leq$  42 cutoff score for positivity). OlaBeva led to a median PFS of 22.9 months (versus 16.6 months with bevacizumab alone; HR = 0.59 95% CI: 0.49–0.72;  $p < 0.001$ ). Interestingly, subgroup analyses showed a greater effect of the addition of olaparib in specific populations. In patients with *tBRCA*\*, the median PFS was 37.2 months with OlaBeva versus 21.7 months with bevacizumab alone (HR = 0.31; 95% CI: 0.20–0.47). In the HRD+ patients, the median PFS was 37.2 months with OlaBeva (versus 17.7 months with bevacizumab alone; HR = 0.33; 95% CI: 0.25–0.45). This positive effect persisted even in HRD+ patients that lacked a *BRCA* mutation (28.1 months with OlaBeva versus 16.6 months with bevacizumab alone; HR = 0.43; 95% CI: 0.28–0.66), suggesting that patients with *tBRCA*\* saw the greatest benefit. Anecdotally, the positive effect on PFS was slight in patients with an unknown HRD status but nonexistent in the HRD– patients, suggesting that only the latter did not benefit from treatment with OlaBeva. This led to FDA/EMA approval for olaparib plus bevacizumab in 2020 as a 1 Lm therapy in the HRD+ population, with concomitant FDA approval for the MC-CDx assay. Interestingly, the SOLO1 and PAOLA-1 studies raised the question of whether olaparib alone had an effect in HRD+ patients (irrespective of *tBRCA*\* status), as it was not directly tested.

The PRIMA study (NCT02655016) enrolled 733 patients with macroscopic residual disease and investigated their sensitivity to platinum-based chemotherapy as well as comparing niraparib and a placebo as a 1 Lm monotherapy, both in the context of HRD+ and in the overall population [50]. HRD status was prospectively tested with MC-CDx: 373 (50.9%) patients had HRD+ tumors, of whom 223 (59.7%) had *tBRCA*\*. In the HRD+ group, the median PFS was 21.9 months with niraparib versus 10.4 months with placebo (HR = 0.43; 95% CI: 0.31–0.59;  $p < 0.001$ ). Interestingly, the impact of *BRCA* status was slight in this study, as the PFS was 22.9 months (versus 10.9 months with placebo; HR = 0.40) in patients with *tBRCA*\* and 19.6 months (versus 8.2 months with placebo; HR = 0.50) in patients with *BRCA*<sup>wt</sup>. In patients with HRD negative tumors, the PFS was still slightly higher at 8.1 months (versus 5.4 months with placebo; HR = 0.68). Finally, in the entire sample, niraparib increased the median PFS (13.8 months with niraparib versus 8.2 months with placebo; HR = 0.62; 95% CI: 0.50–0.76;  $p < 0.001$ ). As such, this latter point led to FDA/EMA approvals of 1 Lm niraparib irrespective of biomarker status.

In addition, although it is not FDA/EMA approved yet, veliparib has been tested through the VELIA (NCT02470585) RCT as 1 L throughout (chemotherapy plus veliparib followed by veliparib maintenance) versus chemotherapy, with prospective evaluation of HRD status with MC-CDx [53]. In VELIA, the GIS cutoff was lowered to a  $33 \geq$  GIS cutoff score for positivity to include patients with a putative HRD+ status. The primary endpoint was median PFS: the *tBRCA*\* group exhibited the greatest benefits of veliparib throughout versus chemotherapy (34.7 versus 22.0 months; HR = 0.44; 95% CI: 0.28–0.68;  $p < 0.001$ ), compared to the HRD+ group (31.9 versus 20.5 months; HR = 0.57; 95% CI: 0.43–0.76;  $p < 0.001$ ) and the intention-to-treat (ITT) group (23.5 versus 17.3 months; HR = 0.68; 95% CI 0.56–0.83;  $p < 0.001$ ). Although an exploratory analysis was performed, the HRD– group did not seem to benefit from veliparib (15.0 versus 11.5 months; HR = 0.81; 95% CI: 0.60–1.09).

Overall, PARPis as 1 Lm treatment has become the standard according to American and European clinical guidelines: olaparib is recommended in the context of *tBRCA*\* and olaparib plus bevacizumab is recommended in HRD+ tumors. Furthermore, in HRD–



negative patients (i.e., with proficient HR), niraparib should be considered a maintenance therapy option [45,54,55].

### 2.2.3. Recurrent Epithelial Ovarian Cancer: Second-Line Maintenance

For second-line treatment and beyond, platinum sensitivity is measured by the platinum-free interval, which is the interval from the date of last platinum dose until progressive disease is documented; platinum sensitivity guides second-line treatment with platinum or PARPis. Depending on the duration of remission, recurrence can be “rechallenged” with platinum or PARPis. A platinum-free interval shorter than 6 months is defined as platinum resistance, but a platinum-free interval longer than 6 months refers to a more heterogeneous group, including “true” (i.e.,  $\geq 12$  months) and partial (i.e., within 6–12 months) sensitivity [56].

In the first relapse after initial treatment, recurrent epithelial ovarian cancer has simpler FDA/EMA approvals for PARPi [57]. Indeed, niraparib, olaparib and rucaparib can be used as second-line maintenance monotherapies (2 Lm) in patients with recurrent epithelial ovarian cancer in complete to partial response to platinum-based chemotherapy, independent of molecular status (i.e., *gBRCA\**, *tBRCA\** or HRD+).

The ARIEL3 (NCT01968213) RCT (n = 564) evaluated rucaparib versus placebo as a 2 Lm in a prospective molecularly-defined cohort according to FoundationMedicine T5-NGS testing; furthermore, *gBRCA* status was evaluated through BA-CDx [58]. HRD was considered positive if LOH was  $\geq 16$  and/or in the presence of *tBRCA\**. A total of 564 patients were enrolled, with the following molecular characteristics: 196 with *tBRCA\** (of whom 130 had *gBRCA\**), 158 HRD+ without *tBRCA\**, 161 HRD-negative and 49 undefined. Rucaparib was evaluated through PFS with the use of an ordered step-down procedure for three nested cohorts. Enhanced PFS was described in the three cohorts as follows: *tBRCA\** (16.6 months versus 5.4 months for placebo, HR = 0.23; 95% CI: 0.16–0.34;  $p < 0.0001$ ), HRD+ (13.6 months versus 5.4 months for placebo, HR = 0.32; 95% CI: 0.24–0.42;  $p < 0.0001$ ) and ITT (10.8 months, versus 5.4 months for placebo, HR = 0.32; 95% CI: 0.30–0.45;  $p < 0.0001$ ). Although they were not directly compared, rucaparib seemed to exert a greater effect in the context of HRD+ or *tBRCA\**. Interestingly, the authors reported that more than 30% of HRD– patients still benefited more than a year after rucaparib treatment. Given the ARIEL3 results, rucaparib received FDA/EMA approval as 2 Lm regardless of patient molecular status; F1-CDx later received FDA approval for LOH evaluation, allowing clinicians to determine which patients would benefit the most from this maintenance therapy [59].

The NOVA (NCT01847274) RCT evaluated niraparib as a 2 Lm in two independent cohorts based on *gBRCA* status, as determined by BA-CDx [60]. This resulted in the enrollment of 553 patients: 203 with *gBRCA\** and 350 without *gBRCA\**. The latter group consisted of 162 HRD+ patients, of whom 47 (29.0%) had *tBRCA\**, 134 HRD– and 54 were undetermined for HRD status. Niraparib led to significantly longer PFS in the two distinct cohorts: 21.0 versus 5.5 months in the *gBRCA\** cohort (HR = 0.27; 95% CI 0.17–0.41;  $p < 0.001$ ) and 12.9 versus 3.8 months (HR = 0.38; 95% CI, 0.24–0.59;  $p < 0.001$ ) in the HRD+ non-*gBRCA\** cohort. Subsequently, the global non-*gBRCA\** cohort showed enhanced PFS with 9.3 versus 3.9 months (HR, 0.45; 95% CI: 0.34–0.61;  $p < 0.001$ ). Finally, exploratory analyses showed that in the predefined subgroups (HRD+ with *sBRCA\**, HRD+ without *sBRCA\** and HRD–), niraparib still led to enhanced PFS. Therefore, the NOVA RCT led to niraparib approval as a 2 Lm for epithelial ovarian cancer.

The SOLO2 (NCT01874353) RCT included 295 recurrent epithelial ovarian cancer cases with *gBRCA\** (evaluated through BA-CDx) and showed an improved PFS with olaparib of 19.1 versus 5.5 months (HR = 0.30; 95% CI: 0.22–0.41;  $p < 0.0001$ ) [61]. Furthermore, Study 19 (NCT00753545) randomized 265 patients regardless of *BRCA* mutation and demonstrated an improvement in PFS in patients treated with olaparib versus placebo (HR = 0.35; 95% CI: 0.25–0.49;  $p < 0.0001$ ). These two RCTs led to approval of olaparib as a 2 Lm independent of

molecular status [57]. Notably, according to ARIEL3 and NOVA data, HRD status was not predictive of PARPi benefit; indeed, even HRD- patients still had an improved PFS.

#### 2.2.4. Recurrent Epithelial Ovarian Cancer: Third Line and Beyond

In contrast to their use in 1 Lm and 2 Lm, PARPis in the third line and beyond are used as monotherapies (i.e., not subsequent to platinum-containing chemotherapy). Within the context of recurrent epithelial ovarian cancers already treated with  $\geq 2$  lines of chemotherapy, three PARPis are currently approved but have distinct molecular requirements.

In 2014, olaparib was the first PARPi to ever receive FDA approval for recurrent OC with *gBRCA\**; patients needed to be previously treated with  $\geq 3$  lines of chemotherapy regardless of platinum sensitivity. This approval was based on Study 42 (NCT01078662), a single-arm international trial that enrolled 137 patients previously treated with  $\geq 3$  lines of chemotherapy that carried *gBRCA\**; patients showed an objective response rate of 34% and a median response duration of 7.9 months with olaparib. As described in the previous section, *BRCA* status was initially tested locally to assess patient eligibility and retrospectively evaluated with BA-CDx in a clinical bridging study, leading to its approval as a CDx in this context [39,62].

Rucaparib FDA approval was based on two open-label, single-arm trials, Study 10 (NCT01482715) ( $n = 42$ ) and ARIEL2 (NCT01891344) ( $n = 64$ ) [63,64]. Study 10 was a phase I/II study that evaluated the safety and efficacy of rucaparib (part II recruited OC patients with *gBRCA\** or *tBRCA\** who were previously treated with 2–4 prior lines) through objective response rate and evaluation of median response duration. ARIEL2 was a phase II study that evaluated rucaparib efficacy in OC patients carrying *tBRCA\** (Part I enrolled 204 patients with  $\geq 1$  L and platinum sensitivity, while Part II recruited 111 heavily pretreated patients). Interestingly, patients from ARIEL2 were molecularly categorized into three groups through FoundationMedicine T5 NGS: HRD+ with *tBRCA\**, HRD+ without *tBRCA\** (defined in this study as LOH  $\geq 14\%$  or “LOH high”) and HRD- (LOH  $< 14\%$  or “LOH low”). Patients from Part I included the following: 40 HRD+ patients with *tBRCA\**, 82 HRD+ patients without *tBRCA\**, 70 LOH-low patients and 12 undefined patients. In addition to assessing the efficacy of rucaparib, another aim of the study was to evaluate tumor LOH as a predictive biomarker for rucaparib efficacy. Compared to the LOH-low subgroup (which exhibited a PFS of 5.2 months), PFS was significantly longer in the *tBRCA\** (PFS of 12.8 months, HR = 0.27; 95% CI 0.16–0.44,  $p < 0.0001$ ) and LOH (PFS of 5.7 months, HR = 0.62; 95% CI: 0.42–0.90,  $p < 0.01$ ) subgroups, suggesting the efficacy of rucaparib for patients with *tBRCA\**.

Given the superiority of *tBRCA\** over HRD as a predictor of longer PFS and with the aim of testing broader applications, an amendment to the study protocol was made, leading to the inclusion of heavily pretreated OC patients in Part II of the study. Subsequently, FDA approval of rucaparib was based on a review of efficacy in 106 patients (combining Study 10 and both ARIEL2 cohorts and including patients with recurrent epithelial ovarian cancers carrying *tBRCA\** who received  $\geq 2$  prior platinum-containing lines, including patients with platinum-resistant or refractory status), that found an objective response rate of 54% and a duration of response of 9.2 months. Consequently, analysis of ARIEL2/Study-10 led to the approval of rucaparib in recurrent epithelial ovarian cancers patients with *tBRCA\** previously treated with  $\geq 3$  lines of chemotherapy and regardless of platinum sensitivity. The retrospective analysis of *tBRCA\** by FF-CDx as a clinical bridging study with 67 of patients (and a 96% concordance rate with local testing) led to FDA approval of FF-CDx for identification of patients eligible for rucaparib treatment due to *tBRCA\** detection.

More recently, the QUADRA (NCT02354586) single-arm phase II trial tested niraparib as  $\geq$ fourth line through the inclusion of HGSOc patients pretreated with  $\geq 3$  lines, with different statuses regarding platinum (sensitive, resistant or refractory, defined by the platinum-free interval from last platinum-containing chemotherapy) and tested with MC-CDx [65]. The patients included 63 HRD+ patients with *tBRCA\**, 126 GIS  $\geq 42$  patients without *tBRCA\**, 186 HRD- patients and 44 HRD-undefined patients. Niraparib efficacy

was evaluated according to objective response rate. In the *tBRCA*\* subgroup, patients with platinum sensitivity had a 39% objective response rate, while platinum-resistant and platinum-refractory patients achieved 29% and 19%, respectively. In contrast, 20% of HRD+ patients without *tBRCA*\* with platinum sensitivity achieved a response; this rate dropped to 10% in platinum-resistant/-refractory patients. Of note, HRD-negative/unknown patients exhibited a 3% objective response rate. Consequently, the FDA approved niraparib as  $\geq$ fourth-line monotherapy in patients either carrying *tBRCA*\* or that had GIS  $\geq$  42 and potentially platinum sensitivity (platinum sensitivity was defined in this study as platinum-free interval  $\geq$  6 months).

In conclusion, while *gBRCA/tBRCA* evaluation appears to be a clear prerequisite for  $\geq$ third-line monotherapy with PARPis, the QUADRA study challenges the relevance of HRD status compared to *tBRCA*\* status, as platinum sensitivity appeared more important.

### 3. HRD Evaluation in Clinics: Current Limitations

#### 3.1. General Considerations

Despite producing considerable advances in HGSOc management, HRD validated assays currently suffer from several limitations that fall into two categories: technical or medical concerns (Tables 2 and 3, respectively).

**Table 2.** Technical considerations associated with validated CDx for HRD assessment.

General Consideration	Distinct CDx Are Not Interchangeable
<b>Preanalytical considerations</b>	<p><math>\approx</math>5–10% of specimens are inadequate</p> <p>Sample heterogeneity:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumoral versus normal</li> <li>• Intratumoral heterogeneity</li> </ul>
<b>Analytical considerations</b>	<p>Limit of detection (<i>BRCA1/2</i>):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>&gt;</math>20% tumor cellularity for SNVs</li> <li>• <math>&gt;</math>30–35% tumor cellularity for genomic scars</li> <li>• SVs are poorly detected (apart from BA-CDx)</li> </ul>
<b>Post-analytical considerations</b>	<p><math>\approx</math>5–10% of results are inconclusive</p> <p>GIS positivity thresholds:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• FP (i.e., indicated HRD+ but actually HRD–)</li> <li>• FN (i.e., indicated HRD– but actually HRD+)</li> </ul> <p><i>BRCA</i> mutations (<i>VUS</i> versus pathogenic status)</p>

Abbreviations are as follows: BA-CDx = BRACAnalysis CDx; CDx = companion diagnostic; GIS = genomic instability score; FN = false negative; FP = false positive; HRD (+/–) = homologous recombination deficiency (positive/negative); SNV = single nucleotide variant; SV = structural variant; VUS = variant of unknown significance.

In general, it should be noted that in the US, only MC-CDx and F1-CDx are FDA-approved, restricting this test to private companies in the US market in terms of clinical practice, with a reduction in shared data, especially regarding technical considerations and classification of variants. Furthermore, these CDx do not have negligible costs, ranging from USD 4040 to USD 5800, and the estimated delay between testing and results is approximately 2 weeks. In Europe, EMA approvals do not depend on specific CDx for HRD identification; while private companies (such as MG) exist, institutional laboratories are currently developing their own assays based on GIS, with the aim of providing better patient access, affordability and inter-institutional exchanges. Specifically, an international project driven by the European Network of Gynecological Oncological Trial (ENGOT) is under development. The cost of BA-CDx is low in the US, as genetic testing services for hereditary cancer are covered by most health insurance companies; furthermore, MG provides a financial assistance program.

Beyond these general aspects, clinical considerations of HRD assays occur on at least three distinct levels: the tissue (i.e., the analyzed sample), the result (i.e., the relevance

of HRD as a biomarker) and the clinical context (i.e., the consideration of medical and evolutionary dimensions).

**Table 3.** Medical considerations associated with validated CDx for HRD assessment.

General Consideration	Cost and Access to HRD Assays Currently Restricted to Private Companies
<b>Tissue heterogeneity of HGSOC</b>	Sample heterogeneity: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Intratumoral</li> <li>• Primitive tumor versus metastases</li> </ul> (Epi)genomic context Cellular microenvironment effect
<b>Relevance as a biomarker (PARPi sensitivity)</b>	Patient selection and clinical context (e.g., platinum-sensitivity status) Timing of analysis Limited predictivity of GIS: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Near-threshold scores</li> <li>• Beyond frontline treatment</li> <li>• Out of platinum-sensitive context</li> </ul>
<b>Evolutionary perspective of HGSOC</b>	PARPi resistance: reverse mutations, HRD-unrelated mechanisms Genomic scars are irreversible Iterative analysis and PARPi rechallenge

Abbreviations are as follows: GIS = genomic instability score; HGSOC = high-grade serous ovarian cancer; HRD = homologous recombination deficiency; PARPi = poly(adenosine diphosphate-ribose) polymerase inhibitor.

### 3.2. A Matter of Tissues

As described in the preanalytical section, tumor samples frequently exhibit distinct subclones within tumors, and any given result will be a synthesis of these subclones according to their relative proportions [66–68]. By definition, a biopsy represents only a fraction of the tissue at the site. Thus, a sample could be HRD+ while actually consisting of a mix of HRD+ and HRD– components. This latter component may participate in primitive resistance (or at least reduced sensitivity) to PARPis/platinum salts and/or to recurrence through mechanisms of clonal selection and expansion. Similarly, a discrepancy between primitive tumors and their metastases or even between distinct metastases indicates the complexity of evaluating HRD status and subsequent HGSOC management.

Apart from the HRD evaluation itself, the epigenomic and genomic contexts in an HRD+ sample should be considered. As explained in the first section, many layers of complexity can promote a deficient or proficient HR status. Furthermore, HRD+ tumors are not a homogenous group and require classification that is more precise. While *gBRCA\** or *tBRCA\** with GIS  $\geq 42\%$  in a newly diagnosed HGSOC produces high confidence of the true HRD+ status, the (epi)genomic context also modulates the functional HRD status and should not be overlooked [69]. In parallel with the polygenic risk score that modulates OC risk in patients with *gBRCA\**, a similar score could potentially modulate HRD phenotype [70].

In addition to the tumor itself, the cellular microenvironment should be taken into consideration, although its complexity is clearly beyond the scope of this review. Data suggest that PARPis can exhibit different activity depending on the tumor microenvironment, such as a hypoxic condition, a concept called “contextual synthetic lethality” [71]. Furthermore, a complex interaction exists between microenvironment status and tumor-infiltrating immune cells (and notably T cell receptor clonality) that could modulate the functional effects of HRD [72].



### 3.3. Relevance of HRD Status as a Predictive Biomarker

In addition to technical considerations of false-positive/negative cases (FP/FN), HRD assays, although predictive at the population scale, still suffer from false-positive/negative cases during clinical applications. In other words, some patients will respond to PARPis although they are HRD<sup>−</sup>, while HRD<sup>+</sup> patients will not. Therefore, HRD should not be considered a “black box” with a simplified dichotomy (i.e., proficient versus deficient). For instance, RCTs that evaluated PARPis globally showed a higher effect in the context of *BRCA1/2*<sup>\*</sup> than in the context of *BRCAness*. Relationships between a given gene harboring a pathogenic variant and patient sensitivity to therapeutics should be analyzed further in the future. For instance, in OC patients with *gBRCA2*<sup>\*</sup>, only cases with mutations affecting the RAD51 binding domain exhibited improved overall survival [73]. Furthermore, a study focused on long responders under olaparib maintenance treatment showed that an enrichment of *BRCA2*<sup>\*</sup> affected the RAD51-binding domain within this group [74].

Notably, a vast majority of RCTs assessing PARPis as first and second lines that subsequently led to FDA/EMA approvals included patients who were platinum sensitive (evaluated through complete/partial response to platinum-based chemotherapy regimens), thus selecting specific populations that already exhibited a sensitivity profile close to PARPis [75,76].

In terms of frontline treatment, HRD (through MC-CDx) evaluation in PAOLA-1 patients appeared essential to guide treatment with olaparib plus bevacizumab, but niraparib exerted an effect irrespective of HRD status [52,76,77]. Interestingly, patients from the PRIMA trial were quite different from those from the PAOLA-1 trial, with more advanced cancer and less complete response. Nevertheless, niraparib efficiency could be explained in part by an “HRD-unrelated” effect [78].

Moreover, second-line RCTs for recurrent epithelial ovarian cancers failed to clearly account for CDx, as all PARPis are “biomarker-agnostic” approved. When niraparib was evaluated in the fourth-line setting within the platinum-resistant population (according to the platinum-free interval), *BRCA1/2*<sup>\*</sup> patients still exhibited benefits, but non-*BRCA*<sup>\*</sup> HRD<sup>+</sup> patients showed almost no effect. This emphasizes the importance of platinum status in the latter condition, as it clearly outperformed HRD status as a biomarker for PARPi sensitivity [65]. Conversely, regarding rucaparib and olaparib approvals in the third-line settings, the presence of *BRCA*<sup>\*</sup> (germinal and tumoral, respectively) is the only prerequisite for their prescription, irrespective of patients’ platinum status. These different results emphasize the importance of the timing of GIS evaluation and its variable predictive value.

A GIS threshold of  $\geq 42$  also raises questions as to its clinical relevance. Indeed, a binary cutoff increases the likelihood of missing patients who could benefit from PARPis and selecting patients that would not benefit from PARPis, especially among those with near-threshold values. Furthermore, an identical threshold value has been defined for both frontline and  $\geq$ third-line treatment, but through evolution, HRD tumors will likely increase their GIS by accumulating an increasing number of genomic scars.

### 3.4. An Evolutionary Perspective on HRD Status

The main drawback, as previously explained, is that GIS/LOH scores rely on genomic scars accumulated over time, which are the consequences of past HRD, irrespective of current HRD status. In addition to the classic limitations of a biomarker, such as sensitivity, specificity and FPs/FNs, HRD evaluated via genomic alterations needs to take into account the evolution of HGSOC.

Analysis of initial samples before frontline treatment is not shaped by chemotherapy (which kills sensitive clones and potentially allows the emergence of resistant clones) and classically reveals the “native” state of the tumor; thus, evaluating HRD after several previous lines of chemotherapy leads to possibly irrelevant results [79–84]. Indeed, the sensitivity/resistance switch of cancerous cells is a dynamic phenomenon during clonal expansion from pre-existing clones or through new (epi)mutations. As such, GIS measures

the initial state of the tumor, naïve to treatments; it can be either concordant or discordant with the tumor's current status. The further a patient is from frontline treatment, the higher the risk of discordance between GIS and actual status, as therapies mainly rely on platinum. Indeed, as platinum salts generate DSBs, they will treat clones with HRD but HR proficient clones will be spared. This discordance has been highlighted in the QUADRA study.

Discordance between HRD status (i.e., *tBRCA\** and/or high LOH/GIS) and PARPi efficiency can be the consequence of several mechanisms. The most characterized mechanism is reverse mutation within *BRCA1/2* genes. Indeed, it has been shown that during HGSOc treatment with PARPis, reverse mutations appeared within *BRCA1/2*, leading to restoration of functional proteins and thus an HR-proficient profile, an event correlated with drug resistance [85]. Interestingly, reverse mutations within *BRCA1/2* are not universal. Indeed, a differential "reversion potency" exists between distinct mutation states. Hypermethylation of *BRCA1* promoter, which relies on a dynamic process, is an easily removed epigenetic mark; interestingly, the context of heterozygous methylation is associated with resistance compared with that of homozygous hypermethylation. On the other hand, LRs or biallelic losses of *BRCA1/2* are considered almost irreversible and could explain, at least in part, the prolonged response to PARPis in some patients [74,86]. Point mutations within *BRCA1/2* leading to coding sequence disruption depend on the mutation rate in cancer cells. Interestingly, NHEJ should be viewed as having dual properties: while it is essential for the synthetic lethality of PARPis during DSB generation, it also exerts a promutagenic effect that favors the emergence of resistant clones [87]. Strikingly, *BRCA* reverse mutations present at pretreatment circulating tumoral DNA have been shown to predict resistance to rucaparib [88].

As such, *BRCA\** should not be considered wild-type versus mutated but rather include mechanistic considerations. Although *gBRCA\** and *tBRCA\** carriers appear to exhibit the same benefits from PARPi treatment on a population scale, this requires deeper analysis [89]. Indeed, even the *gBRCA\** pathogenic variant, the strongest biomarker for PARPi sensitivity thus far, should not be considered a definitive biomarker; studies assessing olaparib efficiency in *gBRCA\** carriers showed that the objective response rate was seen in approximately 40% of patients, underscoring the fact that sensitivity to PARPis is a complex phenomenon, with intermingled HRD-related and unrelated pathways [90,91].

In addition to *BRCA*-related HRD, several other mechanisms have been shown to counteract sensitivity to PARPis, such as secondary restoration of *RAD51C/D* [92]. Although it is far beyond the scope of this review, we should note that fundamental research on cell lines or mouse models has described several genetic/epigenetic mechanisms (e.g., PARP1 mutations, miRNA-622 overexpression) that explain PARPi resistance, mainly based on HR restoration, DNA replication fork protection, drug efflux through overexpression of multidrug resistance protein (MDR1) and impact of the tumor microenvironment [93–96]. Evidence-based *in cellulo* research has even suggested that the HR process should be viewed on a continuum, including influences of (epi)genetic modulation (through amplification and/or overexpression) between pathway choices concerning DNA repair [97].

To further complicate the analysis, discordance between sensitivity to platinum salts and PARPis has been shown. This can be the consequence of acquired resistance through platinum treatment. However, a specific subset of patients with platinum sensitivity but no primitive resistance to PARPis, due to mutations in the nucleotide excision repair pathway, has been described [98]. Although described *in cellulo*, defects in the NHEJ pathway lead to rucaparib resistance [99]. In contrast, some patients, notably those carrying *CDK-12* mutations, exhibit a low LOH, contrasting with their HRD profile [100].

In summary, several dimensions should be taken into account when studying these phenomena: primary/acquired resistance, *BRCA*-related/unrelated mutations, the type of *BRCA* alterations, and HRD-related/unrelated resistance mechanisms.

## 4. Emerging Strategies and Perspectives for Accurate and Dynamic Assessment of HRD

### 4.1. Introduction

As described in Part 1 of this companion review, emerging strategies mainly focus on three axes: other molecular tools for HRD assessment (i.e., apart from *BRCA1/2* and LOH/GIS scores), dynamic assays (i.e., functional assays) for evaluating current HRD status and more global strategies (including nomograms). At the patient scale, several predictive nomograms have been developed, aiming to assist clinicians to estimate the prognosis of HGSOC patients in specific situations or with specific platinum sensitivities [101–105]. Interestingly, a nomogram of the predicted PFS upon the addition of maintenance olaparib therapy in patients with recurrent epithelial ovarian cancers with *BRCA*-mutations and platinum sensitivity has recently been validated [106]. Other nomograms with biological (including HRD), pathological and clinical data should be developed and validated for a more specific prescription of PARPi.

From a more integrated perspective, histopathological markers such as tumor infiltrating lymphocytes (TILs) have been shown to be correlated with clinical outcome [107–109]. More precisely, higher levels of CD8+ T cell infiltration have been described in the context of *gBRCA1/2\**, and HGSOC patients with HRD have higher CD3+ TILs [110]. Although they are still in the early stages and restricted to research, radiomics (notably linked with biology through proteomics/radiomics correlations) and artificial intelligence-driven projects could help clinicians improve HGSOC management in the near future [111,112].

The proposed strategies and perspectives according to clinical context (i.e., frontline versus second line and beyond) are summarized in Table 4.

**Table 4.** Emerging strategies for iterative HRD evaluation.

	Advanced Epithelial Ovarian Cancer —First-Line Maintenance	Recurrent Epithelial Ovarian Cancer
Shown to be associated with PARPi sensitivity	Molecular assays (e.g., HRDetect, <i>RAD51C</i> methylation, gene amplification, SVs, non-coding RNAs, transcriptomics, proteomics) Functional assays (e.g., RAD51 foci)	Reverse mutations (e.g., in <i>BRCA1/2</i> ) Nomogram
Research and future strategies	Stepwise approach (i.e., integrate other biomarkers in inconclusive cases) Deeper refinement of HRD status (e.g., type of <i>tBRCA*</i> , GIS thresholds, tumor heterogeneity) Comprehensive PARPi sensitivity score Integrating clinical and biopathological data Through-treatment dynamic markers	More accurate and comprehensive evaluation, such as: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Type of alteration that initially caused HRD</li> <li>• Context-dependent HRD positivity thresholds</li> <li>• GIS dynamics</li> <li>• Mutations in other HRR genes</li> <li>• Functional assays (e.g., RAD51 foci)</li> </ul>

Abbreviations: GIS = genomic instability score; HRD = homologous recombination deficiency; HRR = homologous recombination-related; PARPi = PARP inhibitor; SV = structural variant; *tBRCA* = tumoral *BRCA*.

### 4.2. Frontline Maintenance Perspectives

From a personalized medicine perspective, HRD evaluation should take into account several parameters. MC-CDx represents the current and FDA-approved cornerstone of HRD evaluation. The first question is which analysis we should perform upon the diagnosis of HGSOC, that is, the priority of *gBRCA* or *tBRCA*. Indeed, while current international guidelines recommend *gBRCA* testing for all patients diagnosed with HGSOC, this point raises several questions, such as access to genetic counseling, costs and delay prior to achieving results [113]. Furthermore, a few cases of *gBRCA\** status, but the lack of its presence within tumors, have been described. On the other hand, direct *tBRCA\** assessment through MC-CDx allows a quick answer to eligibility for PARPi, with the possibility to secondarily orient the patient to genetic counseling in case of *tBRCA\**. Thus, the question

raised is: do we need to directly assess GIS (one-step strategy), or should it be performed in case of *tBRCA<sup>wt</sup>* (two-step strategy)?

In addition to establishing this strategy, several refinements should be considered. First, current CDx should modulate their pipelines and integrate a deeper analysis of LRs, which have recently been shown to be an important part of *BRCA1/2* alterations, leading to false negatives if tests are focused on tumor samples [17,114]. Second, HRD evaluation should consider the type of *BRCA* alterations found and their corresponding predictive values. Indeed, *BRCA\** are considered based on their (likely) pathogenic status. However, as shown with *BRCA2*, not all mutations are equal [73]. Other signatures, such as miRNAs, gene expression profiles and proteomics, although they have promising initial results, still suffer from “bench-to-bedside” applications and a lack of “confidence” from the clinical side, as they rely on molecules that are dynamic and not clearly defined, in contrast with genetic mutations. As discussed above, a refinement of HRD could aid clinicians when determining whether to prescribe PARPis: for instance, what should clinicians do when faced with a GIS of 40 or 43? In general, the “one fits all” cutoff should be reconsidered, as distinct pathological processes probably lead to distinct molecular features. Although several GIS cutoffs have been proposed, such as  $\geq 33$  and  $\geq 62$ , it is currently too early to rely on definite values; more results could be reached through use as a grayscale.

For the 10–20% of HRD-inconclusive cases, supplementary biomarkers should be considered; for instance, *EMSY* amplification is one of the HRD-causing alterations. Conversely, *CCNE1* amplification is a specific alteration that is almost exclusive to HRD. As such, this could be a useful biomarker with negative predictive value for sensitivity to PARPis [115,116]. Similarly, indirect assessment with molecular signatures (genetic or epigenetic signatures) associated with platinum resistance could help classify patients with inconclusive or conflicting results [117].

Interestingly, in addition to predicting sensitivity to PARPis, HRD evaluation could also be useful for bevacizumab; indeed, while there is no benefit in overall survival for patients who received bevacizumab compared with that of receiving chemotherapy alone, *BRCA\** and HRD patients appear to benefit [11]. Functional assays and examination of primary RAD51 foci have promising results, but their implementation would require standardization and development within pathology platforms [118]. Ideally, nomograms similar to existing nomograms on recurrent epithelial ovarian cancer and olaparib could be constructed; these would be a “clinician-friendly” method for considering the construction of a comprehensive nomogram that would integrate clinical (e.g., complete versus partial response to platinum, CA125) and biological (e.g., *gBRCA/tBRCA* status, type of mutation, presence of reverse mutations, GIS/LOH, functional assays, comprehensive-omics) data, finding an equilibrium between performance and routine clinical feasibility.

Finally, patients receiving PARPis should receive dynamic assessments, similar to those for other malignancies that are monitored through circulating tumoral DNA. For instance, side effects of PARPis have been described as potential surrogate markers of their efficiency; this could be coupled with circulating tumoral DNA monitoring, such as dynamic evaluation of primary or acquired resistance [119].

#### 4.3. Recurrent Epithelial Ovarian Cancer Perspectives

Currently, FDA-approved PARPis for recurrent epithelial ovarian cancer maintenance are independent of biomarkers. This highlights several hypotheses: either HRD could be irrelevant within this context and/or PARPis could exert functions in an HRD-unrelated manner. Furthermore, it is also possible that current CDx do not appropriately assess HRD status. Thus, the nomogram is a useful tool for treatment choice. To develop higher nomogram accuracy, a more comprehensive version should integrate the type of *BRCA* alteration (if applicable) and other dynamic biomarkers. For instance, integrating evolutionary perspectives with circulating tumoral DNA for detecting reverse mutations and RAD51 foci for determining the actual HRD status could lead to a more relevant evaluation of HRD status and consequently to better patient management.

With respect to third-line treatments and beyond, a deeper analysis is needed of the correlation between the type of *BRCA1/2* alteration and PARPi sensitivity, as all patients treated with olaparib and rucaparib do not exhibit a response [62]. The development of a “clinicomolecular” nomogram could be useful for clinical practice. Strikingly, HRD does not appear to influence niraparib efficiency in the context of *BRCA<sup>wt</sup>*; consequently, more accurate biomarkers are urgently needed.

An evolutionary perspective should also be considered regarding HRD scores such as LOH and GIS. Indeed, these scores should change between primary sampling upon diagnosis and recurrence/metastasis, and in the case of HRD, evolve higher values. Therefore, studies should evaluate GIS dynamics over time, especially in patients already treated with platinum and PARPis and with a higher risk of acquired resistance. Furthermore, a refined GIS cutoff should be determined depending on the clinical context, rather than using  $\geq 42$ , which is designed for naïve patients.

The OReO ENGOT-Ov-38 trial (NCT03106987) focused on olaparib maintenance retreatment versus placebo. It enrolled heavily pretreated patients separated into two cohorts by *BRCA* status; 112 patients were *BRCA\** (74 and 38 received olaparib and placebo, respectively), while 108 patients were *BRCA<sup>wt</sup>* (72 and 36 received olaparib and placebo, respectively). Interestingly, this trial reported positive results irrespective of *BRCA* status. Indeed, the *BRCA\** cohort exhibited a median PFS of 4.3 (olaparib) versus 2.8 months (placebo) (HR = 0.57; 95% CI: 0.37–0.87;  $p = 0.022$ ), while *BRCA<sup>wt</sup>* showed a median PFS of 5.3 (olaparib) versus 2.8 months (placebo) (HR = 0.43; 95% CI: 0.26–0.71;  $p = 0.002$ ). This seminal work paved the way for “PARPi rechallenge” [120] and raised new questions regarding the deciphering of predictive markers.

## 5. Synthesis and Concluding Remarks

HGSOC is the most frequent and aggressive form of ovarian cancer, thus representing an important challenge for translational researchers and clinicians. HRD, an altered pathway present in half of the cases, is predictive of sensitivity to PARPis, a novel class of molecules that have led to substantial improvements in prognosis. HRD is mainly caused by genetic alterations in *BRCA1/2* genes, although other causes (encompassed under the concept of “*BRCAness*”) should not be overlooked. Following seminal clinical trials that exhibited vast improvements in prognosis, three PARP inhibitors (olaparib, niraparib and rucaparib) received FDA/EMA approval. Currently validated CDx assays suffer from several technical and medical limitations that need to be investigated for more relevant integration within clinical applications. While used to determine frontline maintenance treatment, HRD evaluation and its relevance as a predictive biomarker still remains a matter of debate for clinicians. Several axes of research, including integrating tumor heterogeneity and PARP inhibitor resistance, are currently under development. Promising strategies, including functional assays that evaluate present HRD status, should be integrated into clinical studies in the near future. Beyond a simplistic dichotomy (i.e., proficient/deficient status), future studies assessing HRD should consider its causes and consequences from an evolutionary perspective.

**Author Contributions:** S.Q. wrote this review with inputs from M.F. and J.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** Montpellier University Hospital.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Prat, J. Ovarian Carcinomas: Five Distinct Diseases with Different Origins, Genetic Alterations, and Clinicopathological Features. *Virchows Arch.* **2012**, *460*, 237–249. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Salazar, C.; Campbell, I.G.; Gorringer, K.L. When Is “Type I” Ovarian Cancer Not “Type I”? Indications of an Out-Dated Dichotomy. *Front. Oncol.* **2018**, *8*, 654. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



3. Otsuka, I. Mechanisms of High-Grade Serous Carcinogenesis in the Fallopian Tube and Ovary: Current Hypotheses, Etiologic Factors, and Molecular Alterations. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 4409. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Lheureux, S.; Gourley, C.; Vergote, I.; Oza, A.M. Epithelial Ovarian Cancer. *Lancet* **2019**, *393*, 1240–1253. [[CrossRef](#)]
5. Matz, M.; Coleman, M.P.; Carreira, H.; Salmeron, D.; Chirlaque, M.D.; Allemani, C.; Concord Working Group. Worldwide Comparison of Ovarian Cancer Survival: Histological Group and Stage at Diagnosis (CONCORD-2). *Gynecol. Oncol.* **2017**, *144*, 396–404. [[CrossRef](#)]
6. Matz, M.; Coleman, M.P.; Sant, M.; Chirlaque, M.D.; Visser, O.; Gore, M.; Allemani, C.; Bouzbid, S.; Hamdi-Chérif, M.; Zaidi, Z.; et al. The Histology of Ovarian Cancer: Worldwide Distribution and Implications for International Survival Comparisons (CONCORD-2). *Gynecol. Oncol.* **2017**, *144*, 405–413. [[CrossRef](#)]
7. Pujade-Lauraine, E.; Hilpert, F.; Weber, B.; Reuss, A.; Poveda, A.; Kristensen, G.; Sorio, R.; Vergote, I.; Witteveen, P.; Bamias, A.; et al. Bevacizumab Combined with Chemotherapy for Platinum-Resistant Recurrent Ovarian Cancer: The AURELIA Open-Label Randomized Phase III Trial. *J. Clin. Oncol.* **2014**, *32*, 1302–1308. [[CrossRef](#)]
8. Oza, A.M.; Cook, A.D.; Pfisterer, J.; Embleton, A.; Ledermann, J.A.; Pujade-Lauraine, E.; Kristensen, G.; Carey, M.S.; Beale, P.; Cervantes, A.; et al. Standard Chemotherapy with or without Bevacizumab for Women with Newly Diagnosed Ovarian Cancer (ICON7): Overall Survival Results of a Phase 3 Randomised Trial. *Lancet Oncol.* **2015**, *16*, 928–936. [[CrossRef](#)]
9. Aghajanian, C.; Blank, S.V.; Goff, B.A.; Judson, P.L.; Teneriello, M.G.; Husain, A.; Sovak, M.A.; Yi, J.; Nycum, L.R. OCEANS: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Trial of Chemotherapy with or without Bevacizumab in Patients with Platinum-Sensitive Recurrent Epithelial Ovarian, Primary Peritoneal, or Fallopian Tube Cancer. *J. Clin. Oncol.* **2012**, *30*, 2039–2045. [[CrossRef](#)]
10. Oza, A.M.; Cibula, D.; Benzaquen, A.O.; Poole, C.; Mathijssen, R.H.; Sonke, G.S.; Colombo, N.; Špaček, J.; Vuylsteke, P.; Hirte, H.; et al. Olaparib Combined with Chemotherapy for Recurrent Platinum-Sensitive Ovarian Cancer: A Randomised Phase 2 Trial. *Lancet Oncol.* **2015**, *16*, 87–97. [[CrossRef](#)]
11. Tewari, K.S.; Burger, R.A.; Enserro, D.; Norquist, B.M.; Swisher, E.M.; Brady, M.F.; Bookman, M.A.; Fleming, G.F.; Huang, H.; Homesley, H.D.; et al. Final Overall Survival of a Randomized Trial of Bevacizumab for Primary Treatment of Ovarian Cancer. *J. Clin. Oncol.* **2019**, *37*, 2317–2328. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Gogineni, V.; Morand, S.; Staats, H.; Royfman, R.; Devanaboyina, M.; Einloth, K.; Dever, D.; Stanbery, L.; Aaron, P.; Manning, L.; et al. Current Ovarian Cancer Maintenance Strategies and Promising New Developments. *J. Cancer* **2021**, *12*, 38–53. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Foo, T.; George, A.; Banerjee, S. PARP Inhibitors in Ovarian Cancer: An Overview of the Practice-Changing Trials. *Genes Chromosomes Cancer* **2021**, *60*, 385–397. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated Genomic Analyses of Ovarian Carcinoma. *Nature* **2011**, *474*, 609–615. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Moschetta, M.; George, A.; Kaye, S.B.; Banerjee, S. BRCA Somatic Mutations and Epigenetic BRCA Modifications in Serous Ovarian Cancer. *Ann. Oncol.* **2016**, *27*, 1449–1455. [[CrossRef](#)]
16. Kalachand, R.D.; Stordal, B.; Madden, S.; Chandler, B.; Cunningham, J.; Goode, E.L.; Ruscito, I.; Braicu, E.I.; Sehouli, J.; Ignatov, A.; et al. BRCA1 Promoter Methylation and Clinical Outcomes in Ovarian Cancer: An Individual Patient Data Meta-Analysis. *J. Natl. Cancer Inst.* **2020**, *112*, 1190–1203. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Ewing, A.; Meynert, A.; Churchman, M.; Grimes, G.R.; Hollis, R.L.; Herrington, C.S.; Rye, T.; Bartos, C.; Croy, I.; Ferguson, M.; et al. Structural Variants at the BRCA1/2 Loci Are a Common Source of Homologous Recombination Repair Deficiency in High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *Clin. Cancer Res.* **2021**, *27*, 3201–3214. [[CrossRef](#)]
18. Lord, C.J.; Ashworth, A. BRCAness Revisited. *Nat. Rev. Cancer* **2016**, *16*, 110–120. [[CrossRef](#)]
19. Pennington, K.P.; Walsh, T.; Harrell, M.I.; Lee, M.K.; Pennil, C.C.; Rendi, M.H.; Thornton, A.; Norquist, B.M.; Casadei, S.; Nord, A.S.; et al. Germline and Somatic Mutations in Homologous Recombination Genes Predict Platinum Response and Survival in Ovarian, Fallopian Tube, and Peritoneal Carcinomas. *Clin. Cancer Res.* **2014**, *20*, 764–775. [[CrossRef](#)]
20. Riaz, N.; Blecula, P.; Lim, R.S.; Shen, R.; Higginson, D.S.; Weinhold, N.; Norton, L.; Weigelt, B.; Powell, S.N.; Reis-Filho, J.S. Pan-Cancer Analysis of Bi-Allelic Alterations in Homologous Recombination DNA Repair Genes. *Nat. Commun.* **2017**, *8*, 857. [[CrossRef](#)]
21. Hodgson, D.R.; Dougherty, B.A.; Lai, Z.; Fielding, A.; Grinsted, L.; Spencer, S.; O'Connor, M.J.; Ho, T.W.; Robertson, J.D.; Lanchbury, J.S.; et al. Candidate Biomarkers of PARP Inhibitor Sensitivity in Ovarian Cancer beyond the BRCA Genes. *Br. J. Cancer* **2018**, *119*, 1401–1409. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Hughes-Davies, L.; Huntsman, D.; Ruas, M.; Fuks, F.; Bye, J.; Chin, S.-F.; Milner, J.; Brown, L.A.; Hsu, F.; Gilks, B.; et al. EMSY Links the BRCA2 Pathway to Sporadic Breast and Ovarian Cancer. *Cell* **2003**, *115*, 523–535. [[CrossRef](#)]
23. Hollis, R.L.; Churchman, M.; Michie, C.O.; Rye, T.; Knight, L.; McCavigan, A.; Perren, T.; Williams, A.R.W.; McCluggage, W.G.; Kaplan, R.S.; et al. High EMSY Expression Defines a BRCA-like Subgroup of High-Grade Serous Ovarian Carcinoma with Prolonged Survival and Hypersensitivity to Platinum. *Cancer* **2019**, *125*, 2772–2781. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Cunningham, J.M.; Cicek, M.S.; Larson, N.B.; Davila, J.; Wang, C.; Larson, M.C.; Song, H.; Dicks, E.M.; Harrington, P.; Wick, M.; et al. Clinical Characteristics of Ovarian Cancer Classified by BRCA1, BRCA2, and RAD51C Status. *Sci. Rep.* **2014**, *4*, 4026. [[CrossRef](#)]

25. Potapova, A.; Hoffman, A.M.; Godwin, A.K.; Al-Saleem, T.; Cairns, P. Promoter Hypermethylation of the PALB2 Susceptibility Gene in Inherited and Sporadic Breast and Ovarian Cancer. *Cancer Res.* **2008**, *68*, 998–1002. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Hasty, P.; Montagna, C. Chromosomal Rearrangements in Cancer: Detection and Potential Causal Mechanisms. *Mol. Cell. Oncol.* **2014**, *1*, e29904. [[CrossRef](#)]
27. Alexandrov, L.B.; Nik-Zainal, S.; Wedge, D.C.; Aparicio, S.A.; Behjati, S.; Biankin, A.V.; Bignell, G.R.; Bolli, N.; Borg, A.; Borresen-Dale, A.L.; et al. Signatures of Mutational Processes in Human Cancer. *Nature* **2013**, *500*, 415–421. [[CrossRef](#)]
28. Alexandrov, L.B.; Nik-Zainal, S.; Wedge, D.C.; Campbell, P.J.; Stratton, M.R. Deciphering Signatures of Mutational Processes Operative in Human Cancer. *Cell Rep.* **2013**, *3*, 246–259. [[CrossRef](#)]
29. Alexandrov, L.B.; Kim, J.; Haradhvala, N.J.; Huang, M.N.; Tian Ng, A.W.; Wu, Y.; Boot, A.; Covington, K.R.; Gordenin, D.A.; Bergstrom, E.N.; et al. The Repertoire of Mutational Signatures in Human Cancer. *Nature* **2020**, *578*, 94–101. [[CrossRef](#)]
30. Ledermann, J.A.; Drew, Y.; Kristeleit, R.S. Homologous Recombination Deficiency and Ovarian Cancer. *Eur. J. Cancer* **2016**, *60*, 49–58. [[CrossRef](#)]
31. Abkevich, V.; Timms, K.M.; Hennessy, B.T.; Potter, J.; Carey, M.S.; Meyer, L.A.; Smith-McCune, K.; Broaddus, R.; Lu, K.H.; Chen, J.; et al. Patterns of Genomic Loss of Heterozygosity Predict Homologous Recombination Repair Defects in Epithelial Ovarian Cancer. *Br. J. Cancer* **2012**, *107*, 1776–1782. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Birkbak, N.J.; Wang, Z.C.; Kim, J.Y.; Eklund, A.C.; Li, Q.; Tian, R.; Bowman-Colin, C.; Li, Y.; Greene-Colozzi, A.; Iglehart, J.D.; et al. Telomeric Allelic Imbalance Indicates Defective DNA Repair and Sensitivity to DNA-Damaging Agents. *Cancer Discov.* **2012**, *2*, 366–375. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Popova, T.; Manie, E.; Rieunier, G.; Caux-Moncoutier, V.; Tirapo, C.; Dubois, T.; Delattre, O.; Sigal-Zafrani, B.; Bollet, M.; Longy, M.; et al. Ploidy and Large-Scale Genomic Instability Consistently Identify Basal-like Breast Carcinomas with BRCA1/2 Inactivation. *Cancer Res.* **2012**, *72*, 5454–5462. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Timms, K.M.; Abkevich, V.; Hughes, E.; Neff, C.; Reid, J.; Morris, B.; Kalva, S.; Potter, J.; Tran, T.V.; Chen, J.; et al. Association of BRCA1/2 Defects with Genomic Scores Predictive of DNA Damage Repair Deficiency among Breast Cancer Subtypes. *Breast Cancer Res.* **2014**, *16*, 475. [[CrossRef](#)]
35. Setton, J.; Zinda, M.; Riaz, N.; Durocher, D.; Zimmermann, M.; Koehler, M.; Reis-Filho, J.S.; Powell, S.N. Synthetic Lethality in Cancer Therapeutics: The Next Generation. *Cancer Discov.* **2021**, *11*, 1626–1635. [[CrossRef](#)]
36. Mukhopadhyay, A.; Plummer, E.R.; Elattar, A.; Soohoo, S.; Uzir, B.; Quinn, J.E.; McCluggage, W.G.; Maxwell, P.; Aneke, H.; Curtin, N.J.; et al. Clinicopathological Features of Homologous Recombination-Deficient Epithelial Ovarian Cancers: Sensitivity to PARP Inhibitors, Platinum, and Survival. *Cancer Res.* **2012**, *72*, 5675–5682. [[CrossRef](#)]
37. Milanesio, M.C.; Giordano, S.; Valabrega, G. Clinical Implications of DNA Repair Defects in High-Grade Serous Ovarian Carcinomas. *Cancers* **2020**, *12*, 1315. [[CrossRef](#)]
38. List of Cleared or Approved Companion Diagnostic Devices (In Vitro and Imaging Tools). Available online: <https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/list-cleared-or-approved-companion-diagnostic-devices-in-vitro-and-imaging-tools> (accessed on 12 December 2021).
39. BRACAnalysis CDx<sup>®</sup> Technical Information. Available online: <https://s3.amazonaws.com/myriad-web/BRACAnalysisCDxTS.pdf> (accessed on 1 October 2021).
40. Miller, R.E.; Leary, A.; Scott, C.L.; Serra, V.; Lord, C.J.; Bowtell, D.; Chang, D.K.; Garsed, D.W.; Jonkers, J.; Ledermann, J.A.; et al. ESMO Recommendations on Predictive Biomarker Testing for Homologous Recombination Deficiency and PARP Inhibitor Benefit in Ovarian Cancer. *Ann. Oncol.* **2020**, *31*, 1606–1622. [[CrossRef](#)]
41. Haunschild, C.E.; Tewari, K.S. The Current Landscape of Molecular Profiling in the Treatment of Epithelial Ovarian Cancer. *Gynecol. Oncol.* **2021**, *160*, 333–345. [[CrossRef](#)]
42. Telli, M.L.; Timms, K.M.; Reid, J.; Hennessy, B.; Mills, G.B.; Jensen, K.C.; Szallasi, Z.; Barry, W.T.; Winer, E.P.; Tung, N.M.; et al. Homologous Recombination Deficiency (HRD) Score Predicts Response to Platinum-Containing Neoadjuvant Chemotherapy in Patients with Triple-Negative Breast Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2016**, *22*, 3764–3773. [[CrossRef](#)]
43. Ford, L.; Wolford, J.E.; Brown, S.M.; Randall, L.M. A Profile on the FoundationFocus CDxBRCA Tests. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **2020**, *20*, 285–292. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Woodhouse, R.; Li, M.; Hughes, J.; Delfosse, D.; Skoletsky, J.; Ma, P.; Meng, W.; Dewal, N.; Milbury, C.; Clark, T.; et al. Clinical and Analytical Validation of FoundationOne Liquid CDx, a Novel 324-Gene CfDNA-Based Comprehensive Genomic Profiling Assay for Cancers of Solid Tumor Origin. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0237802. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Tew, W.P.; Lacchetti, C.; Ellis, A.; Maxian, K.; Banerjee, S.; Bookman, M.; Jones, M.B.; Lee, J.M.; Lheureux, S.; Liu, J.F.; et al. PARP Inhibitors in the Management of Ovarian Cancer: ASCO Guideline. *J. Clin. Oncol.* **2020**, *38*, 3468–3493. [[CrossRef](#)]
46. Vergote, I.; González-Martín, A.; Ray-Coquard, I.; Harter, P.; Colombo, N.; Pujol, P.; Lorusso, D.; Mirza, M.R.; Brasiuniene, B.; Madry, R.; et al. European Experts Consensus: BRCA/Homologous Recombination Deficiency Testing in First-Line Ovarian Cancer. *Ann. Oncol.* **2021**, *33*, 276–287. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Bryant, H.E.; Schultz, N.; Thomas, H.D.; Parker, K.M.; Flower, D.; Lopez, E.; Kyle, S.; Meuth, M.; Curtin, N.J.; Helleday, T. Specific Killing of BRCA2-Deficient Tumours with Inhibitors of Poly(ADP-Ribose) Polymerase. *Nature* **2005**, *434*, 913–917. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Farmer, H.; McCabe, N.; Lord, C.J.; Tutt, A.N.J.; Johnson, D.A.; Richardson, T.B.; Santarosa, M.; Dillon, K.J.; Hickson, I.; Knights, C.; et al. Targeting the DNA Repair Defect in BRCA Mutant Cells as a Therapeutic Strategy. *Nature* **2005**, *434*, 917–921. [[CrossRef](#)]

49. Fong, P.C.; Boss, D.S.; Yap, T.A.; Tutt, A.; Wu, P.; Mergui-Roelvink, M.; Mortimer, P.; Swaisland, H.; Lau, A.; O'Connor, M.J.; et al. Inhibition of Poly(ADP-Ribose) Polymerase in Tumors from BRCA Mutation Carriers. *N. Engl. J. Med.* **2009**, *361*, 123–134. [[CrossRef](#)]
50. Moore, K.; Colombo, N.; Scambia, G.; Kim, B.G.; Oaknin, A.; Friedlander, M.; Lisyanskaya, A.; Floquet, A.; Leary, A.; Sonke, G.S.; et al. Maintenance Olaparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *379*, 2495–2505. [[CrossRef](#)]
51. Banerjee, S.; Moore, K.N.; Colombo, N.; Scambia, G.; Kim, B.-G.; Oaknin, A.; Friedlander, M.; Lisyanskaya, A.; Floquet, A.; Leary, A.; et al. Maintenance Olaparib for Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer and a BRCA Mutation (SOLO1/GOG 3004): 5-Year Follow-up of a Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial. *Lancet Oncol.* **2021**, *22*, 1721–1731. [[CrossRef](#)]
52. Ray-Coquard, I.; Pautier, P.; Pignata, S.; Pérol, D.; González-Martín, A.; Berger, R.; Fujiwara, K.; Vergote, I.; Colombo, N.; Mäenpää, J.; et al. Olaparib plus Bevacizumab as First-Line Maintenance in Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *381*, 2416–2428. [[CrossRef](#)]
53. Coleman, R.L.; Fleming, G.F.; Brady, M.F.; Swisher, E.M.; Steffensen, K.D.; Friedlander, M.; Okamoto, A.; Moore, K.N.; Efrat Ben-Baruch, N.; Werner, T.L.; et al. Veliparib with First-Line Chemotherapy and as Maintenance Therapy in Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *381*, 2403–2415. [[CrossRef](#)]
54. Colombo, N.; Sessa, C.; du Bois, A.; Ledermann, J.; McCluggage, W.G.; McNeish, I.; Morice, P.; Pignata, S.; Ray-Coquard, I.; Vergote, I.; et al. ESMO-ESGO Consensus Conference Recommendations on Ovarian Cancer: Pathology and Molecular Biology, Early and Advanced Stages, Borderline Tumours and Recurrent Disease. *Ann. Oncol.* **2019**, *30*, 672–705. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Pothuri, B.; O'Cearbhaill, R.; Eskander, R.; Armstrong, D. Frontline PARP Inhibitor Maintenance Therapy in Ovarian Cancer: A Society of Gynecologic Oncology Practice Statement. *Gynecol. Oncol.* **2020**, *159*, 8–12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Pignata, S.; Cecere, S.C.; Du Bois, A.; Harter, P.; Heitz, F. Treatment of Recurrent Ovarian Cancer. *Ann. Oncol.* **2017**, *28*, viii51–viii56. [[CrossRef](#)]
57. Mirza, M.R.; Coleman, R.L.; González-Martín, A.; Moore, K.N.; Colombo, N.; Ray-Coquard, I.; Pignata, S. The Forefront of Ovarian Cancer Therapy: Update on PARP Inhibitors. *Ann. Oncol.* **2020**, *31*, 1148–1159. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Coleman, R.L.; Oza, A.M.; Lorusso, D.; Aghajanian, C.; Oaknin, A.; Dean, A.; Colombo, N.; Weberpals, J.I.; Clamp, A.; Scambia, G.; et al. Rucaparib Maintenance Treatment for Recurrent Ovarian Carcinoma after Response to Platinum Therapy (ARIEL3): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial. *Lancet* **2017**, *390*, 1949–1961. [[CrossRef](#)]
59. FoundationOne<sup>®</sup>CDx—Summary of Safety and Effectiveness Data (SSED). Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/pdf17/P170019S017B.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf17/P170019S017B.pdf) (accessed on 1 October 2021).
60. Mirza, M.R.; Monk, B.J.; Herrstedt, J.; Oza, A.M.; Mahner, S.; Redondo, A.; Fabbro, M.; Ledermann, J.A.; Lorusso, D.; Vergote, I.; et al. Niraparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive, Recurrent Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2016**, *375*, 2154–2164. [[CrossRef](#)]
61. Pujade-Lauraine, E.; Ledermann, J.A.; Selle, F.; Gebski, V.; Penson, R.T.; Oza, A.M.; Korach, J.; Huzarski, T.; Poveda, A.; Pignata, S.; et al. Olaparib Tablets as Maintenance Therapy in Patients with Platinum-Sensitive, Relapsed Ovarian Cancer and a BRCA1/2 Mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): A Double-Blind, Randomised, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial. *Lancet Oncol.* **2017**, *18*, 1274–1284. [[CrossRef](#)]
62. Kim, G.; Ison, G.; McKee, A.E.; Zhang, H.; Tang, S.; Gwise, T.; Sridhara, R.; Lee, E.; Tzou, A.; Philip, R.; et al. FDA Approval Summary: Olaparib Monotherapy in Patients with Deleterious Germline BRCA-Mutated Advanced Ovarian Cancer Treated with Three or More Lines of Chemotherapy. *Clin. Cancer Res.* **2015**, *21*, 4257–4261. [[CrossRef](#)]
63. Swisher, E.M.; Lin, K.K.; Oza, A.M.; Scott, C.L.; Giordano, H.; Sun, J.; Konecny, G.E.; Coleman, R.L.; Tinker, A.V.; O'Malley, D.M.; et al. Rucaparib in Relapsed, Platinum-Sensitive High-Grade Ovarian Carcinoma (ARIEL2 Part 1): An International, Multicentre, Open-Label, Phase 2 Trial. *Lancet Oncol.* **2017**, *18*, 75–87. [[CrossRef](#)]
64. Balasubramaniam, S.; Beaver, J.A.; Horton, S.; Fernandes, L.L.; Tang, S.; Horne, H.N.; Liu, J.; Liu, C.; Schrieber, S.J.; Yu, J.; et al. FDA Approval Summary: Rucaparib for the Treatment of Patients with Deleterious BRCA Mutation-Associated Advanced Ovarian Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2017**, *23*, 7165–7170. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Moore, K.N.; Secord, A.A.; Geller, M.A.; Miller, D.S.; Cloven, N.; Fleming, G.F.; Wahner Hendrickson, A.E.; Azodi, M.; DiSilvestro, P.; Oza, A.M.; et al. Niraparib Monotherapy for Late-Line Treatment of Ovarian Cancer (QUADRA): A Multi-centre, Open-Label, Single-Arm, Phase 2 Trial. *Lancet Oncol.* **2019**, *20*, 636–648. [[CrossRef](#)]
66. Schwarz, R.F.; Ng, C.K.; Cooke, S.L.; Newman, S.; Temple, J.; Piskorz, A.M.; Gale, D.; Sayal, K.; Murtaza, M.; Baldwin, P.J.; et al. Spatial and Temporal Heterogeneity in High-Grade Serous Ovarian Cancer: A Phylogenetic Analysis. *PLoS Med.* **2015**, *12*, e1001789. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Lee, J.Y.; Yoon, J.K.; Kim, B.; Kim, S.; Kim, M.A.; Lim, H.; Bang, D.; Song, Y.S. Tumor Evolution and Intratumor Heterogeneity of an Epithelial Ovarian Cancer Investigated Using Next-Generation Sequencing. *BMC Cancer* **2015**, *15*, 85. [[CrossRef](#)]
68. Hunt, A.L.; Bateman, N.W.; Barakat, W.; Makohon-Moore, S.; Hood, B.L.; Conrads, K.A.; Zhou, M.; Calvert, V.; Pierobon, M.; Loffredo, J.; et al. Extensive Three-Dimensional Intratumor Proteomic Heterogeneity Revealed by Multiregion Sampling in High-Grade Serous Ovarian Tumor Specimens. *iScience* **2021**, *24*, 102757. [[CrossRef](#)]



69. Matei, D.; Nephew, K.P. Epigenetic Attire in Ovarian Cancer: The Emperor's New Clothes. *Cancer Res.* **2020**, *80*, 3775–3785. [[CrossRef](#)]
70. Barnes, D.R.; Rookus, M.A.; McGuffog, L.; Leslie, G.; Mooij, T.M.; Dennis, J.; Mavaddat, N.; Adlard, J.; Ahmed, M.; Aittomaki, K.; et al. Polygenic Risk Scores and Breast and Epithelial Ovarian Cancer Risks for Carriers of BRCA1 and BRCA2 Pathogenic Variants. *Genet. Med.* **2020**, *22*, 1653–1666. [[CrossRef](#)]
71. Turinetti, M.; Scotto, G.; Tuninetti, V.; Giannone, G.; Valabrega, G. The Role of PARP Inhibitors in the Ovarian Cancer Microenvironment: Moving Forward From Synthetic Lethality. *Front. Oncol.* **2021**, *11*, 689829. [[CrossRef](#)]
72. Lecuelle, J.; Boidot, R.; Mananet, H.; Derangere, V.; Albuissou, J.; Goussot, V.; Arnould, L.; Tharin, Z.; Ray Coquard, I.; Ghiringhelli, F.; et al. TCR Clonality and Genomic Instability Signatures as Prognostic Biomarkers in High Grade Serous Ovarian Cancer. *Cancers* **2021**, *13*, 4394. [[CrossRef](#)]
73. Labidi-Galy, S.I.; Olivier, T.; Rodrigues, M.; Ferraioli, D.; Derbel, O.; Bodmer, A.; Petignat, P.; Rak, B.; Chopin, N.; Tredan, O.; et al. Location of Mutation in BRCA2 Gene and Survival in Patients with Ovarian Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2018**, *24*, 326–333. [[CrossRef](#)]
74. Lheureux, S.; Lai, Z.; Dougherty, B.A.; Runswick, S.; Hodgson, D.R.; Timms, K.M.; Lanchbury, J.S.; Kaye, S.; Gourley, C.; Bowtell, D.; et al. Long-Term Responders on Olaparib Maintenance in High-Grade Serous Ovarian Cancer: Clinical and Molecular Characterization. *Clin. Cancer Res.* **2017**, *23*, 4086–4094. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Ngoi, N.Y.L.; Tan, D.S.P. The Role of Homologous Recombination Deficiency Testing in Ovarian Cancer and Its Clinical Implications: Do We Need It? *ESMO Open* **2021**, *6*, 100144. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Washington, C.R.; Moore, K.N. PARP Inhibitors in the Treatment of Ovarian Cancer: A Review. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* **2021**, *33*, 1–6. [[CrossRef](#)]
77. González-Martín, A.; Pothuri, B.; Vergote, I.; DePont Christensen, R.; Graybill, W.; Mirza, M.R.; McCormick, C.; Lorusso, D.; Hoskins, P.; Freyer, G.; et al. Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *381*, 2391–2402. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
78. Demeny, M.A.; Virag, L. The PARP Enzyme Family and the Hallmarks of Cancer Part 2: Hallmarks Related to Cancer Host Interactions. *Cancers* **2021**, *13*, 2057. [[CrossRef](#)]
79. Nath, A.; Cosgrove, P.A.; Mirsafian, H.; Christie, E.L.; Pflieger, L.; Copeland, B.; Majumdar, S.; Cristea, M.C.; Han, E.S.; Lee, S.J.; et al. Evolution of Core Archetypal Phenotypes in Progressive High Grade Serous Ovarian Cancer. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 3039. [[CrossRef](#)]
80. Masoodi, T.; Siraj, S.; Siraj, A.K.; Azam, S.; Qadri, Z.; Parvathareddy, S.K.; Tulbah, A.; Al-Dayel, F.; AlHusaini, H.; AlOmar, O.; et al. Genetic Heterogeneity and Evolutionary History of High-Grade Ovarian Carcinoma and Matched Distant Metastases. *Br. J. Cancer* **2020**, *122*, 1219–1230. [[CrossRef](#)]
81. McPherson, A.; Roth, A.; Laks, E.; Masud, T.; Bashashati, A.; Zhang, A.W.; Ha, G.; Biele, J.; Yap, D.; Wan, A.; et al. Divergent Modes of Clonal Spread and Intraperitoneal Mixing in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Nat. Genet.* **2016**, *48*, 758–767. [[CrossRef](#)]
82. Lambrechts, S.; Smeets, D.; Moisse, M.; Braicu, E.I.; Vanderstichele, A.; Zhao, H.; Van Nieuwenhuysen, E.; Berns, E.; Sehouli, J.; Zeillinger, R.; et al. Genetic Heterogeneity after First-Line Chemotherapy in High-Grade Serous Ovarian Cancer. *Eur. J. Cancer* **2016**, *53*, 51–64. [[CrossRef](#)]
83. Bashashati, A.; Ha, G.; Tone, A.; Ding, J.; Prentice, L.M.; Roth, A.; Rosner, J.; Shumansky, K.; Kalloger, S.; Senz, J.; et al. Distinct Evolutionary Trajectories of Primary High-Grade Serous Ovarian Cancers Revealed through Spatial Mutational Profiling. *J. Pathol.* **2013**, *231*, 21–34. [[CrossRef](#)]
84. Cooke, S.L.; Ng, C.K.; Melnyk, N.; Garcia, M.J.; Hardcastle, T.; Temple, J.; Langdon, S.; Huntsman, D.; Brenton, J.D. Genomic Analysis of Genetic Heterogeneity and Evolution in High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *Oncogene* **2010**, *29*, 4905–4913. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
85. Klotz, D.M.; Wimberger, P. Overcoming PARP Inhibitor Resistance in Ovarian Cancer: What Are the Most Promising Strategies? *Arch. Gynecol. Obstet.* **2020**, *302*, 1087–1102. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
86. Li, H.; Liu, Z.Y.; Wu, N.; Chen, Y.C.; Cheng, Q.; Wang, J. PARP Inhibitor Resistance: The Underlying Mechanisms and Clinical Implications. *Mol. Cancer* **2020**, *19*, 107. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
87. Tobalina, L.; Armenia, J.; Irving, E.; O'Connor, M.J.; Forment, J.V. A Meta-Analysis of Reversion Mutations in BRCA Genes Identifies Signatures of DNA End-Joining Repair Mechanisms Driving Therapy Resistance. *Ann. Oncol.* **2021**, *32*, 103–112. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
88. Lin, K.K.; Harrell, M.I.; Oza, A.M.; Oaknin, A.; Ray-Coquard, I.; Tinker, A.V.; Helman, E.; Radke, M.R.; Say, C.; Vo, L.T.; et al. BRCA Reversion Mutations in Circulating Tumor DNA Predict Primary and Acquired Resistance to the PARP Inhibitor Rucaparib in High-Grade Ovarian Carcinoma. *Cancer Discov.* **2019**, *9*, 210–219. [[CrossRef](#)]
89. Mohyuddin, G.R.; Aziz, M.; Britt, A.; Wade, L.; Sun, W.; Baranda, J.; Al-Rajabi, R.; Saeed, A.; Kasi, A. Similar Response Rates and Survival with PARP Inhibitors for Patients with Solid Tumors Harboring Somatic versus Germline BRCA Mutations: A Meta-Analysis and Systematic Review. *BMC Cancer* **2020**, *20*, 507. [[CrossRef](#)]
90. Fong, P.C.; Yap, T.A.; Boss, D.S.; Carden, C.P.; Mergui-Roelvink, M.; Gourley, C.; De Greve, J.; Lubinski, J.; Shanley, S.; Messiou, C.; et al. Poly(ADP)-Ribose Polymerase Inhibition: Frequent Durable Responses in BRCA Carrier Ovarian Cancer Correlating with Platinum-Free Interval. *J. Clin. Oncol.* **2010**, *28*, 2512–2519. [[CrossRef](#)]

91. Audeh, M.W.; Carmichael, J.; Penson, R.T.; Friedlander, M.; Powell, B.; Bell-McGuinn, K.M.; Scott, C.; Weitzel, J.N.; Oaknin, A.; Loman, N.; et al. Oral Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibitor Olaparib in Patients with BRCA1 or BRCA2 Mutations and Recurrent Ovarian Cancer: A Proof-of-Concept Trial. *Lancet* **2010**, *376*, 245–251. [[CrossRef](#)]
92. Kondrashova, O.; Nguyen, M.; Shield-Artin, K.; Tinker, A.V.; Teng, N.N.H.; Harrell, M.I.; Kuiper, M.J.; Ho, G.Y.; Barker, H.; Jasin, M.; et al. Secondary Somatic Mutations Restoring RAD51C and RAD51D Associated with Acquired Resistance to the PARP Inhibitor Rucaparib in High-Grade Ovarian Carcinoma. *Cancer Discov.* **2017**, *7*, 984–998. [[CrossRef](#)]
93. Belotserkovskaya, R.; Raga Gil, E.; Lawrence, N.; Butler, R.; Clifford, G.; Wilson, M.D.; Jackson, S.P. PALB2 Chromatin Recruitment Restores Homologous Recombination in BRCA1-Deficient Cells Depleted of 53BP1. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 819. [[CrossRef](#)]
94. Xu, G.; Chapman, J.R.; Brandsma, I.; Yuan, J.; Mistrik, M.; Bouwman, P.; Bartkova, J.; Gogola, E.; Warmerdam, D.; Barazas, M.; et al. REV7 Counteracts DNA Double-Strand Break Resection and Affects PARP Inhibition. *Nature* **2015**, *521*, 541–544. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
95. Pettitt, S.J.; Krastev, D.B.; Brandsma, I.; Drean, A.; Song, F.; Aleksandrov, R.; Harrell, M.I.; Menon, M.; Brough, R.; Campbell, J.; et al. Genome-Wide and High-Density CRISPR-Cas9 Screens Identify Point Mutations in PARP1 Causing PARP Inhibitor Resistance. *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 1849. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
96. Meghani, K.; Fuchs, W.; Detappe, A.; Drane, P.; Gogola, E.; Rottenberg, S.; Jonkers, J.; Matulonis, U.; Swisher, E.M.; Konstantinopoulos, P.A.; et al. Multifaceted Impact of MicroRNA 493-5p on Genome-Stabilizing Pathways Induces Platinum and PARP Inhibitor Resistance in BRCA2-Mutated Carcinomas. *Cell Rep.* **2018**, *23*, 100–111. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
97. Gonzalez, D.; Stenzinger, A. Homologous Recombination Repair Deficiency (HRD): From Biology to Clinical Exploitation. *Genes Chromosomes Cancer* **2021**, *60*, 299–302. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
98. Ceccaldi, R.; O'Connor, K.W.; Mouw, K.W.; Li, A.Y.; Matulonis, U.A.; D'Andrea, A.D.; Konstantinopoulos, P.A. A Unique Subset of Epithelial Ovarian Cancers with Platinum Sensitivity and PARP Inhibitor Resistance. *Cancer Res.* **2015**, *75*, 628–634. [[CrossRef](#)]
99. McCormick, A.; Donoghue, P.; Dixon, M.; O'Sullivan, R.; O'Donnell, R.L.; Murray, J.; Kaufmann, A.; Curtin, N.J.; Edmondson, R.J. Ovarian Cancers Harbor Defects in Nonhomologous End Joining Resulting in Resistance to Rucaparib. *Clin. Cancer Res.* **2017**, *23*, 2050–2060. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
100. Vanderstichele, A.; Busschaert, P.; Olbrecht, S.; Lambrechts, D.; Vergote, I. Genomic Signatures as Predictive Biomarkers of Homologous Recombination Deficiency in Ovarian Cancer. *Eur. J. Cancer* **2017**, *86*, 5–14. [[CrossRef](#)]
101. Lee, C.K.; Simes, R.J.; Brown, C.; Lord, S.; Wagner, U.; Plante, M.; Vergote, I.; Pisano, C.; Parma, G.; Burges, A.; et al. Prognostic Nomogram to Predict Progression-Free Survival in Patients with Platinum-Sensitive Recurrent Ovarian Cancer. *Br. J. Cancer* **2011**, *105*, 1144–1150. [[CrossRef](#)]
102. Previs, R.A.; Bevis, K.S.; Huh, W.; Tillmanns, T.; Perry, L.; Moore, K.; Chapman, J.; McClung, C.; Kiet, T.; Java, J.; et al. A Prognostic Nomogram to Predict Overall Survival in Women with Recurrent Ovarian Cancer Treated with Bevacizumab and Chemotherapy. *Gynecol. Oncol.* **2014**, *132*, 531–536. [[CrossRef](#)]
103. Paik, E.S.; Sohn, I.; Baek, S.Y.; Shim, M.; Choi, H.J.; Kim, T.J.; Choi, C.H.; Lee, J.W.; Kim, B.G.; Lee, Y.Y.; et al. Nomograms Predicting Platinum Sensitivity, Progression-Free Survival, and Overall Survival Using Pretreatment Complete Blood Cell Counts in Epithelial Ovarian Cancer. *Cancer Res. Treat.* **2017**, *49*, 635–642. [[CrossRef](#)]
104. Rose, P.G.; Java, J.J.; Salani, R.; Geller, M.A.; Secord, A.A.; Tewari, K.S.; Bender, D.P.; Mutch, D.G.; Friedlander, M.L.; Van Le, L.; et al. Nomogram for Predicting Individual Survival After Recurrence of Advanced-Stage, High-Grade Ovarian Carcinoma. *Obstet. Gynecol.* **2019**, *133*, 245–254. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
105. Kim, S.I.; Song, M.; Hwangbo, S.; Lee, S.; Cho, U.; Kim, J.H.; Lee, M.; Kim, H.S.; Chung, H.H.; Suh, D.S.; et al. Development of Web-Based Nomograms to Predict Treatment Response and Prognosis of Epithelial Ovarian Cancer. *Cancer Res. Treat.* **2019**, *51*, 1144–1155. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
106. Tjokrowidjaja, A.; Friedlander, M.; Lord, S.J.; Asher, R.; Rodrigues, M.; Ledermann, J.A.; Matulonis, U.A.; Oza, A.M.; Bruchim, I.; Huzarski, T.; et al. Prognostic Nomogram for Progression-Free Survival in Patients with BRCA Mutations and Platinum-Sensitive Recurrent Ovarian Cancer on Maintenance Olaparib Therapy Following Response to Chemotherapy. *Eur. J. Cancer* **2021**, *154*, 190–200. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
107. Leffers, N.; Gooden, M.J.; de Jong, R.A.; Hoogeboom, B.N.; ten Hoor, K.A.; Hollema, H.; Boezen, H.M.; van der Zee, A.G.; Daemen, T.; Nijman, H.W. Prognostic Significance of Tumor-Infiltrating T-Lymphocytes in Primary and Metastatic Lesions of Advanced Stage Ovarian Cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* **2009**, *58*, 449–459. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
108. Hao, J.; Yu, H.; Zhang, T.; An, R.; Xue, Y. Prognostic Impact of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in High Grade Serous Ovarian Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ther. Adv. Med. Oncol.* **2020**, *12*, 1758835920967241. [[CrossRef](#)]
109. Laumont, C.M.; Wouters, M.C.A.; Smazynski, J.; Gierc, N.S.; Chavez, E.A.; Chong, L.C.; Thornton, S.; Milne, K.; Webb, J.R.; Steidl, C.; et al. Single-Cell Profiles and Prognostic Impact of Tumor-Infiltrating Lymphocytes Coexpressing CD39, CD103, and PD-1 in Ovarian Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2021**, *27*, 4089–4100. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
110. McAlpine, J.N.; Porter, H.; Kobel, M.; Nelson, B.H.; Prentice, L.M.; Kalloger, S.E.; Senz, J.; Milne, K.; Ding, J.; Shah, S.P.; et al. BRCA1 and BRCA2 Mutations Correlate with TP53 Abnormalities and Presence of Immune Cell Infiltrates in Ovarian High-Grade Serous Carcinoma. *Mod. Pathol.* **2012**, *25*, 740–750. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
111. Hwangbo, S.; Kim, S.I.; Kim, J.H.; Eoh, K.J.; Lee, C.; Kim, Y.T.; Suh, D.S.; Park, T.; Song, Y.S. Development of Machine Learning Models to Predict Platinum Sensitivity of High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *Cancers* **2021**, *13*, 1875. [[CrossRef](#)]

112. Nougaret, S.; McCague, C.; Tibermacine, H.; Vargas, H.A.; Rizzo, S.; Sala, E. Radiomics and Radiogenomics in Ovarian Cancer: A Literature Review. *Abdom. Radiol.* **2021**, *46*, 2308–2322. [[CrossRef](#)]
113. Pujol, P.; Barberis, M.; Beer, P.; Friedman, E.; Piulats, J.M.; Capoluongo, E.D.; Garcia Foncillas, J.; Ray-Coquard, I.; Penault-Llorca, F.; Foulkes, W.D.; et al. Clinical Practice Guidelines for BRCA1 and BRCA2 Genetic Testing. *Eur. J. Cancer* **2021**, *146*, 30–47. [[CrossRef](#)]
114. How, J.A.; Jazaeri, A.A.; Fellman, B.; Daniels, M.S.; Penn, S.; Solimeno, C.; Yuan, Y.; Schmeler, K.; Lanchbury, J.S.; Timms, K.; et al. Modification of Homologous Recombination Deficiency Score Threshold and Association with Long-Term Survival in Epithelial Ovarian Cancer. *Cancers* **2021**, *13*, 946. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
115. Stronach, E.A.; Paul, J.; Timms, K.M.; Hughes, E.; Brown, K.; Neff, C.; Perry, M.; Gutin, A.; El-Bahrawy, M.; Steel, J.H.; et al. Biomarker Assessment of HR Deficiency, Tumor BRCA1/2 Mutations, and CCNE1 Copy Number in Ovarian Cancer: Associations with Clinical Outcome Following Platinum Monotherapy. *Mol. Cancer Res.* **2018**, *16*, 1103–1111. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
116. Gorski, J.W.; Ueland, F.R.; Kolesar, J.M. CCNE1 Amplification as a Predictive Biomarker of Chemotherapy Resistance in Epithelial Ovarian Cancer. *Diagnostics* **2020**, *10*, 279. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
117. Li, Y.; Zhang, X.; Gao, Y.; Shang, C.; Yu, B.; Wang, T.; Su, J.; Huang, C.; Wu, Y.; Guo, H.; et al. Development of a Genomic Signatures-Based Predictor of Initial Platinum-Resistance in Advanced High-Grade Serous Ovarian Cancer Patients. *Front. Oncol.* **2020**, *10*, 625866. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
118. Castroviejo-Bermejo, M.; Cruz, C.; Llop-Guevara, A.; Gutierrez-Enriquez, S.; Ducy, M.; Ibrahim, Y.H.; Gris-Oliver, A.; Pellegrino, B.; Bruna, A.; Guzman, M.; et al. A RAD51 Assay Feasible in Routine Tumor Samples Calls PARP Inhibitor Response beyond BRCA Mutation. *EMBO Mol. Med.* **2018**, *10*, e9172. [[CrossRef](#)]
119. Ni, J.; Cheng, X.; Zhou, R.; Zhao, Q.; Xu, X.; Guo, W.; Gu, H.; Chen, C.; Chen, X. Adverse Events as a Potential Clinical Marker of Antitumor Efficacy in Ovarian Cancer Patients Treated With Poly ADP-Ribose Polymerase Inhibitor. *Front. Oncol.* **2021**, *11*, 724620. [[CrossRef](#)]
120. Vanacker, H.; Harter, P.; Labidi-Galy, S.I.; Banerjee, S.; Oaknin, A.; Lorusso, D.; Ray-Coquard, I. PARP-Inhibitors in Epithelial Ovarian Cancer: Actual Positioning and Future Expectations. *Cancer Treat. Rev.* **2021**, *99*, 102255. [[CrossRef](#)]

## RESUME

Le rationnel de ce travail de thèse est de proposer, selon une approche intégrée *bench-to-bedside* un état de l'art ainsi que des perspectives en recherche et clinique concernant le déficit de recombinaison homologue (HRD) et le traitement par inhibiteurs de PARP (PARPi) dans les cancers épithéliaux de l'ovaire. En effet, le carcinome séreux de haut grade de l'ovaire (HGSOC), qui est la forme la plus fréquente et la plus agressive est caractérisé dans la moitié des cas par un statut HRD. Après une définition moléculaire du statut HRD, nous développerons ses causes et ses conséquences possibles. Les lésions affectant les gènes *BRCA1/2* sont les causes les plus caractérisées et les plus fréquentes ; d'autres altérations ont été décrites, englobées sous le concept de *BRCAness*. En termes de conséquences, un statut HRD conduit à une instabilité génomique caractéristique et à une sensibilité accrue aux sels de platine et aux PARPi, et responsables d'une très nette augmentation de la survie sans récurrence. Ainsi, la présence d'un statut HRD est un prérequis concernant la majorité des autorisations de mise sur le marché des PARPi dans le traitement des HGSOC, soulevant la nécessité de développer des tests compagnons et l'orientation vers une médecine personnalisée. Une des approches validées est basée sur l'évaluation du niveau de cicatrices génomiques avec l'obtention d'un score associé, reflétant de manière indirecte le statut HRD. En dépit d'avancées majeures, l'utilisation du statut HRD reste en partie controversée à l'heure actuelle, notamment en raison de limites techniques et médicales que nous discuterons. Pour répondre à cela, plusieurs axes de recherche tels qu'une évaluation directe et fonctionnelle du statut HRD ou encore la recherche de nouveaux marqueurs prédictifs pourraient permettre à l'avenir d'améliorer la sélection des patientes éligibles aux PARPi et ainsi la personnalisation du soin.

**Mots-clés :** cancer ovarien séreux de haut-grade ; déficit de la recombinaison homologue ; *BRCA* ; *BRCAness* ; cicatrices génomiques ; tests compagnons ; inhibiteurs de PARP.

## ABSTRACT

The rationale of this work is to propose, following a bench-to-bedside approach, a state of the art with perspectives concerning homologous recombination deficiency (HRD) in ovarian cancers. Indeed, high-grade serous ovarian cancer (HGSOC), the most common and aggressive form of ovarian cancer, is characterized in half of cases by an HRD status. After defining the molecular basis of HRD, we will propose through dichotomy the different causes and consequences associated with this deficiency. Several causes have been characterized so far: these are mainly mutations in *BRCA1/2* genes, but also other alterations encompassed under the concept of *BRCAness*. In terms of consequences, HRD leads to a specific genomic instability -or *genomic scars*- as well as an increased sensitivity to PARP inhibitors (PARPi). As a consequence, the presence of an HRD status is a prerequisite for the majority of current approvals for PARPi in HGSOC. As such, companion diagnostic assays turned to be necessary in a trend towards personalized medicine for patients treated for HGSOC. One of the validated approaches is based on the evaluation of the importance of genomic scars and an associated genomic instability score, indirectly reflecting the HRD status. Despite major advances, the use of HRD status remains partly controversial at present, in particular due to technical and medical limitations that we will discuss. As a consequence, several lines of research such as direct and functional evaluation of HRD status or searching for new predictive markers could in the near future lead to improvement in the selection of patients eligible for PARPi and subsequently the personalization of care.

**Keywords:** high-grade serous ovarian cancer; homologous recombination deficiency; *BRCA*; *BRCAness*; genomic scars; companion diagnostic assays; PARP inhibitors.