



HAL
open science

Analyse de la compétence de la recombinaison homologue sur ADN libre circulant dans l'ascite des patientes avec un cancer de l'ovaire

Cyril Roussel-Simonin

► To cite this version:

Cyril Roussel-Simonin. Analyse de la compétence de la recombinaison homologue sur ADN libre circulant dans l'ascite des patientes avec un cancer de l'ovaire. Médecine humaine et pathologie. 2023. <dumas-04983084>

HAL Id: dumas-04983084

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04983084v1>

Submitted on 8 Mar 2025

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.



HAL Authorization

THÈSE

**PRESENTÉE POUR LE DIPLOME
DE DOCTEUR EN MEDECINE
Diplôme d'État**

SPÉCIALITÉ : Oncologie Médicale

Par Cyril ROUSSEL-SIMONIN

Né le 17 décembre 1992 à Paris (10^{ème} arrondissement)

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT
LE 31 MARS 2023.

**Analyse de la compétence de la recombinaison
homologue sur ADN libre circulant dans l'ascite
des patientes avec un cancer de l'ovaire**

DIRECTEUR DE THÈSE : Docteur Alexandra LEARY

PRÉSIDENT DU JURY : Professeur Jérôme ALEXANDRE

AUTRES MEMBRES DU JURY :

Dr Camille Tlemsani, Dr Aurélien GOBERT.

AVANT PROPOS ET REMERCIEMENTS

Monsieur le Pr Jérôme Alexandre,

Merci de me faire l'honneur d'être mon président du jury. J'ai pu énormément apprendre à votre contact durant mon stage à l'hôpital Cochin et notamment merci de m'avoir transmis l'intérêt pour l'oncologie gynécologique. Vous êtes, à mon sens, le représentant parfait de la fonction de professeur des universités, par vos compétences mais surtout de par votre sens de la pédagogie, votre disponibilité et enfin votre bienveillance.

Madame le Dr LEARY,

Merci d'avoir accepté d'être ma directrice de thèse et de m'avoir permis de porter un projet aussi intéressant. Merci pour votre encadrement et votre disponibilité sans faille, toujours avec bonne humeur, tout au long de cette année. J'ai pu apprendre énormément à votre contact sur l'engagement, la rigueur et l'excellence nécessaire à la recherche. Merci d'être un modèle pour moi, mais aussi pour tous les jeunes médecins qui ont, et vont, avoir la chance de travailler avec vous.

Madame le Dr TLEMSANI,

Merci d'être ce qui se rapproche le plus pour moi d'un mentor, merci d'avoir été une rencontre aussi décisive dans mon internat, merci de m'avoir donné le gout de la génétique, et de la science de façon plus général, et d'avoir tout fait pour m'aider à avancer dans cette voie, merci pour ta disponibilité et ta réactivité dans toutes les démarches entreprises depuis plus d'un an et surtout merci de m'avoir accueilli au sein de ton équipe à l'institut Cochin. Pour toute ces raisons je suis honoré et fier de te compter parmi mon jury de thèse, en espérant que ce ne soit que le début.

Monsieur le Dr GOBERT,

Tu es un modèle depuis le début de mon passage à la Pitié-Salpêtrière en tant qu'externe. Tu as été l'élément décisif dans mon choix de spécialité et tu es resté le gold-standard que j'essaie toujours ne serait-ce que d'effleurer en tant que médecin. Merci pour tout ce que tu as fait durant mes 7 premiers mois en tant qu'oncologue, merci pour tout ce que tu m'as appris, notamment tes cours d'oncologie privée de 17h30, j'ai eu énormément de chance de pouvoir être ton interne.

Merci à ma mère et mon frère d'avoir cru en moi depuis le début, bien que ce n'était pas gagné. Merci à Cédric de m'avoir montré la voie de rester une référence pour moi depuis tout petit. J'espère que vous serez fier de moi.

Merci à Leyna pour qui il est impossible de résumer en quelque ligne l'importance que tu as pour moi. Merci d'avoir été là dans les meilleurs mais surtout dans les pires moments. Merci de me pousser chaque jour à être une meilleure personne. De me soutenir dans tout ce que j'entreprends. Je ne pourrai pas rêver meilleure personne pour m'accompagner dans la vie même si je mets du temps à admettre que tu as raison. Merci pour ta générosité, ta bonne humeur, ton intelligence, ton humour.

Merci à la table ronde, Bacary, Marvin, Boris, Moïse, PM, Bangaly mais aussi **au XIX**, Abdou et Kevin. Je sais que je pourrai toujours compter sur vous malgré la distance qui parfois nous sépare. J'espère que vous savez que c'est réciproque. Merci pour tous ces moments passés ensemble, ces voyages, ces 31, ces (futurs) mariages. Merci pour votre bienveillance mais aussi pour votre honnêteté. Merci pour nos discussions qui me font grandir à chaque fois un peu plus. Ou que nous irons cette famille sera notre forteresse.

Mention spéciale pour Baki, mon plus fidèle acolyte que j'ai connu toute ma vie et avec qui j'ai tout vécu. Tu m'accompagnes et me soutiens dans tout ce que je fais depuis le début. Merci pour ta bonne humeur, ta gentillesse, ton humour. Tu es un modèle de détermination et j'espère que tu continueras à avoir de la réussite dans tout ce que tu entreprendras car tu le mérites. Je suis fier de te compter dans ma famille.

Merci à Aya, Malamine, Bison, Edwine, Atmane, Earvin, Jordan, Theo, Shaka. On est ensemble.

Merci à mes amis de la faculté de médecine, et notamment à **Piccolo, Le Maire, Calu et la Chicha** avec qui nous avons vécu deux années très compliquées avant l'ECN. Merci d'avoir été le moteur de mon apprentissage et de m'avoir poussé à être meilleur. Sans vous je n'aurais pu arriver ou j'en suis aujourd'hui. Merci d'avoir aussi rendu ces années plus douces, je ne compte plus le nombre de fois que j'ai ri, merci pour les baskets poubelle et désolé d'avoir été un aussi mauvais perdant. Un jour j'aurai les cheveux bleus.

Merci à Majid, Laura, Samer, Margaux, Estelle, Clémentine

Merci à tous les co-internes que j'ai pu avoir durant ces 4 premières années.

Merci à Johanna et à ce mois de juillet 2018 qui m'a confirmé que l'oncologie serait mon choix de spécialité. J'espère que tu garderas toujours cette gentillesse et cette bienveillance qui te caractérise.

Merci à Solenn pour ta détermination, ton exigence, ton soutien sans faille mais aussi merci de m'avoir aidé avec mon français si bancal.

Merci à Adrien pour ton intelligence et ta curiosité débordante qui me motive à avancer.

Merci d'être l'allocutaire de mes plaintes et de m'avoir soutenu durant notre internat, notamment dans certains moments difficiles où tu as toujours eu les bons mots. L'internat n'aurait pas été le même sans toi et j'espère qu'il y aura plus de café filtre thaïlandais et moins de radio de thorax imprimées.

Merci à Sabrina, je suis fier de t'avoir rencontré et d'avoir pu partager 6 mois avec toi. J'ai énormément appris à tes côtés et ma seule déception est de ne pas en avoir fait un deuxième. Je n'ai aucun doute que tes qualités médicales mais surtout humaines feront de toi un incroyable médecin oncologue-radiothérapeute. Merci pour ton abnégation et merci d'être la personne autour de qui les gens se réunissent.

Merci à Oulimata de m'avoir supporté tout ce temps, merci pour ta douceur et ta gentillesse. Merci à Romain et Paul, vous savez déjà l'importance qu'a eu votre rencontre durant mon internat.

Merci à Sangsong et Margaux sans qui les 7 mois en pleine guerre froide n'auraient pas été les mêmes.

Merci à tous les autres pour qui les mots et les lignes me manquent, merci à tous les chefs que j'ai pu rencontrer durant mon internat.

Merci au laboratoire du Pr PASMANT qui m'accompagne actuellement dans mon master 2, merci à Éric, Ingrid les bon tuyaux et Djihad de m'avoir accueilli les bras grands ouverts et de me permettre de m'épanouir.

TABLE DES MATIERES

AVANT PROPOS ET REMERCIEMENTS.....	2
TABLE DES MATIERES.....	5
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	6
GLOSSAIRE.....	7
INTRODUCTION.....	8
1. Le cancer de l’ovaire.....	8
1.1. Épidémiologie et traitement.....	8
2. La Recombinaison Homologue.....	9
2.1. Généralités.....	9
2.2. Les étapes et les acteurs de la RH.....	9
2.3. RH et cancer de l’ovaire.....	10
3. Déficience de la Recombinaison Homologue (HRD).....	11
3.1. Les anomalies des gènes de la recombinaison homologue.....	11
3.1.1. Les variants pathogènes (VP) de <i>BRCA</i>	11
3.1.2. VP RH non- <i>BRCA</i>	12
3.1.3. Hyperméthylation <i>BRCA</i> et <i>RAD51</i>	12
3.2. Score d’instabilité génomique ou cicatrice génomique.....	12
3.3. Signature mutationnelle et utilisation d’un séquençage complet du génome (WGS).....	13
3.4. Test fonctionnel de la compétence de la RH.....	14
4. Cell-free DNA.....	16
4.1. Histoire du cell-free DNA (cfDNA).....	16
4.1.1. La découverte et le développement du cell-free DNA.....	16
4.1.2. Le cfDNA et oncologie.....	16
4.2. Sources, Origine et caractéristiques du cfDNA.....	17
4.3. CtDNA et cancer de l’ovaire.....	20
4.3.1. ctDNA plasmatique.....	20
4.3.2. cfDNA dans l’ascite (acfDNA).....	20
PRESENTATION ET OBJECTIF DE L’ARTICLE.....	22
ARTICLE.....	23
DISCUSSION.....	39
BIBLIOGRAPHIE.....	42
Liste des Professeurs des Universités de la Faculté de médecine Sorbonne Université.....	48

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1. Les acteurs de la RH	10
Figure 2. Les différentes étapes de la RH.	11
Figure 3. Récapitulatif des différents tests évaluant la déficience de la recombinaison homologue	15
Figure 4. Les grandes dates de l'histoire du cfDNA	17
Figure 5. Comparaison du profil fragmentomique entre des patient atteint de cancer (en noir) et des sujets sains (en bleu) ⁴⁹	18
Figure 6. Source et technique d'identification du ctDNA.....	19

FIGURES ARTICLE :

Figure 7. Flow Chart	33
Figure 8. Example of electropherogram: sizing range of DNA detected in ascites.	35
Figure 9. results from NGS analysis on cfDNA and tumor DNA.	36
Figure 10. Mean variant allele frequency (VAF) in tumor tissue and ascites for TP53, BRCA1 and 2.....	36

GLOSSAIRE

ADN :acide désoxyribonucléique
ATM : ataxia telangiectasia mutated
ATR: ataxia telangiectasia and Rad3-related
BARD1: BRCA1 associated RING domain 1
BER: Base excision repair
BIR: break induced response
BLM: Bloom syndrome protein
BRCA1: Breast Cancer 1
BRCA2: Breast Cancer 2
CEO: cancer epithelial de l'ovaire
cfDNA: Cell Free DNA
CHEK2: Chekpoint Kinase 2
ctDNA: circulating tumor DNA
DFS: disease free survival.
DSB: double stranded break
DSBR: double stranded break repair
FFPE: fixés au formol et inclus en paraffine
GIS: genomic instability score.
HR: hazard ratio
HR: hazard Ratio
HRD: homologous recombination deficiency
IC: intervalle de confiance
IC95%: intervalle de confiance à 95%
KRAS: kirsten rat sarcoma virus
LOH: loss of heterozygosity
LST: Large Scale Translation
NGS: next generation sequencing
PALB2: Partner and localizer of BRCA2
PARP: poly(ADP-Ribose) polymerase
Pb: Paire de Base.
PFS: progression free survival
RH: Recombinaison homologue
SDSA: synthesis dependant strand annealing
sWGS: shallow Whole Genome Sequencing.
SNP Array: Single Nucleotide Polymorphism array
TAI: tumor allelic imbalance.
TCGA: The Cancer Genome Atlas
TP53: tumor protein 53.
VP: Variant pathogène
WES: Whole Exome Sequencing
WGS: Whole Genome Sequencing.

INTRODUCTION

1. Le cancer de l'ovaire

1.1. Épidémiologie et traitement

Le cancer épithélial de l'ovaire (CEO) représente le cancer gynécologique le plus létal au monde. Chaque année, dans le monde, 250 000 patientes sont diagnostiquées d'un CEO et près de 150 000 en décèdent. Le type histologique le plus fréquent est le carcinome séreux de haut grade de l'ovaire (CSHGO), qui compte pour 75% des CEO. Le taux de survie à 5 ans est relativement faible, aux alentours de 30 %, notamment lié au fait que plus de 70% des patientes sont diagnostiquées à un stade avancé (1).

Le traitement historique de référence du CEO est basé sur la combinaison d'une chirurgie de cytoréduction optimale et d'une chimiothérapie à base de Carboplatine et de Taxane (première ou adjuvant). Deux nouveaux traitements ont permis d'améliorer la prise en charge de ces patientes : d'une part les anti-angiogéniques avec le Bevacizumab, et d'autre part les inhibiteurs des poly(ADP-Ribose) polymérase (PARP).

Les inhibiteurs de PARP (PARPi) ont révolutionné la prise en charge des carcinomes de haut grade de l'ovaire (CHGO). Leur mécanisme d'action est fondé sur le principe de la létalité synthétique. Les protéines PARP jouent un rôle dans le système de réparation par excision de base (base excision repair ou BER en anglais), qui permet la réparation des lésions simple brin. L'inhibition de PARP entraîne ainsi une accumulation de lésions simple brin puis de lésions double brin nécessitant alors l'intervention de la recombinaison homologe. Les variants pathogènes (VP) du gène *BRCA* entraînent alors une incapacité pour la cellule à réparer ces lésions double brin et aboutissent dans la majorité des cas à la mort cellulaire. (2)(3)

Les PARPi ont initialement montré leur efficacité *in vitro* (2)(3) puis dans divers essais thérapeutiques en maintenance chez les patientes en réponse après une chimiothérapie à base de sels de platine et présentant un VP de *BRCA* constitutionnel ou somatique (4,5).

Depuis, de nombreux essais de phase III randomisés ont démontré le bénéfice des PARPi dans les CHGO sans VP *BRCA1/2*, chez les patientes sensibles aux sel de platine, que ce soit à la rechute (6,7) ou en 1^{ère} ligne (8). L'hypothèse principale retenue pour expliquer l'efficacité des PARPi dans une population plus large de patientes avec un carcinome ovarien de haut grade (COHG) est que >50% de ces tumeurs présenteraient un déficit de la RH. En effet, des analyses génétiques et épigénétiques ont identifié d'autres mécanismes induisant une déficience de RH (HRD) au-delà des VP *BRCA1/2*, tels que l'hyperméthylation du promoteur de *BRCA1*, ou des altérations d'autres gènes de la RH (9).

Les anomalies de *BRCA* ne représentent donc plus l'unique biomarqueur de réponse aux PARPi et il existe aujourd'hui plusieurs manières de poser le diagnostic de tumeurs HRD au-delà des VP de *BRCA* : l'analyse des gènes de la RH, la recherche

d'instabilité génomique, les signatures fonctionnelles et enfin les tests fonctionnels d'appétence de la RH.

2. La Recombinaison Homologue

2.1. Généralités

Il existe de nombreux facteurs internes (dépurination, désamination, stress réplicatif ...) et externes (UV, tabac) responsables de dommage sur l'ADN. Ces dommages entraînent l'activation de différents types de systèmes de réparation spécifiques.

Les principales fonctions de la recombinaison homologue sont :

- La **réparation** des lésions double brin de l'ADN
- La **stabilisation** de la fourche de réplication.

La recombinaison homologue nécessite, comme son nom l'indique, des chromosomes homologues, et a ainsi comme pic d'action la **phase S/G2**.

2.2. Les étapes et les acteurs de la RH

La RH est un système formé d'un complexe multiprotéique, pouvant être séparé en différents acteurs « senseurs », « médiateurs » et « effecteurs ». Parmi les différentes protéines y figurant, nous pouvons citer **BRCA1, 2, PALB2, BARD1, CHEK2, ATM, ATR et le complexe MRN** (Fig.1). Ces différents acteurs vont s'organiser pour réparer les cassures double brin (DSB), et les étapes de cette réparation peuvent être schématiquement séparées en 2 phases (Fig.2).

2.2.1. *La phase pré-synaptique*

Cette phase comprend deux étapes cruciales, la reconnaissance de la DSB et la résection des brins d'ADN de part et d'autre de cette DSB.

Elle commence donc par la reconnaissance de la lésion via le complexe MRN (MRE11, RAD50, NSB1). Ce complexe permet d'une part de recruter ATM, et d'autre part de participer à l'étape ultérieure de résection. ATM permet aussi le recrutement d'un troisième « censeur » : γ H2AX (la forme phosphorylée de l'histone 2A). γ H2AX est d'ailleurs utilisé comme marqueur de DSB dans de nombreuses études fondamentales.

Une fois ces 3 censeurs (MRN, ATM et γ H2AX) recrutés, ils vont eux-mêmes recruter les médiateurs et effecteurs de la RH :

- MRN recrute le **complexe BRCA1-C** (formé de BRCA1 et BARD1) et ainsi initier l'étape de résection citée plus haut.
- γ H2AX recrute le **complexe BRCA1-A** (BRCA1, BARD1, Abraxas, RAP80, BRCC36) qui va contrôler cette résection.
- Les complexes BRCA1 vont participer au recrutement du couple **BRCA2/PALB2**.

En parallèle de cette étape de recrutement sera réalisée l'étape crucial de la **résection**. Le complexe MRN, mais aussi les complexes EXO1 et BLM/DNA2, vont débiter une résection des bases de part et d'autre de la cassure double brin permettant d'aboutir, sur une certaine distance à un simple brin d'ADN.

2.2.2. La phase synaptique

Une fois les brins d'ADN, de part et d'autre de la cassure, réséqués, le complexe BRCA1, BRCA2, BARD1, PALB2 va recruter l'effecteur principal du système : RAD51. Le rôle de RAD51 est de rechercher des séquences homologues sur le reste du génome. Une fois cette homologie détectée, il va permettre l'invasion du brin capturé afin de s'en servir comme matrice de réparation de l'ADN lésé.

La réparation de l'ADN se fera ensuite selon de 3 voies différentes :

- DSBR (double stranded break repair) qui est à risque de cross-over
- SDSA (synthesis dependant strand annealing) sans de risque de cross-over.
- BIR (break induced response) surtout présent dans la réparation des DSB des télomères.

2.3. RH et cancer de l'ovaire

De nombreuses études de génomique et d'épigénomique ont permis d'identifier qu'environ 50% des patientes présentant un COHG présenteraient une déficience de la RH. Il est désormais reconnu que les VP constitutionnels de *BRCA1* ou 2 représentent la cause principale de cancer de l'ovaire héréditaire (70-75% des cas) et comptent pour 13 à 15% des CSHGO (10) (11). Une certaine proportion de ces VP sont uniquement présents au niveau somatique. Cependant, ils ne représentent plus l'unique moyen de diagnostic des tumeurs avec une déficience de la RH : l'analyse des gènes de la RH, la recherche d'instabilité génomique, les signatures fonctionnelles et enfin les tests fonctionnels d'appétence de la RH font à présent partie de l'arsenal diagnostique dont les cliniciens disposent (Fig.3).

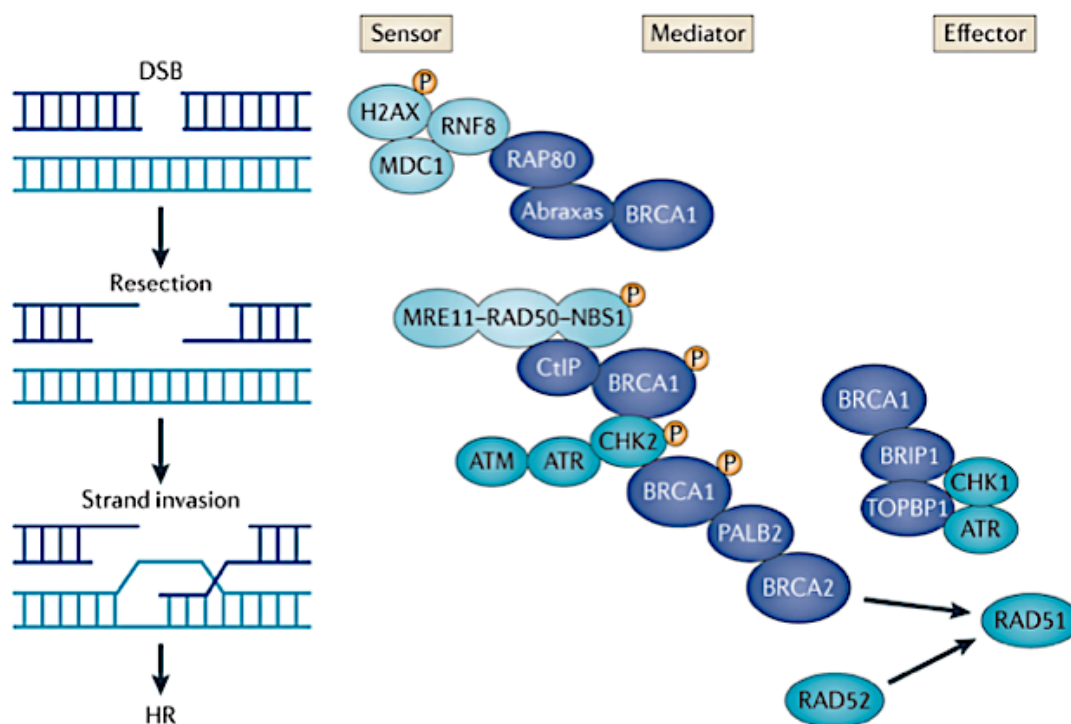


Figure 1. Les acteurs de la RH

(Roy R et al. *BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection. Nat Rev Cancer. 2011*)

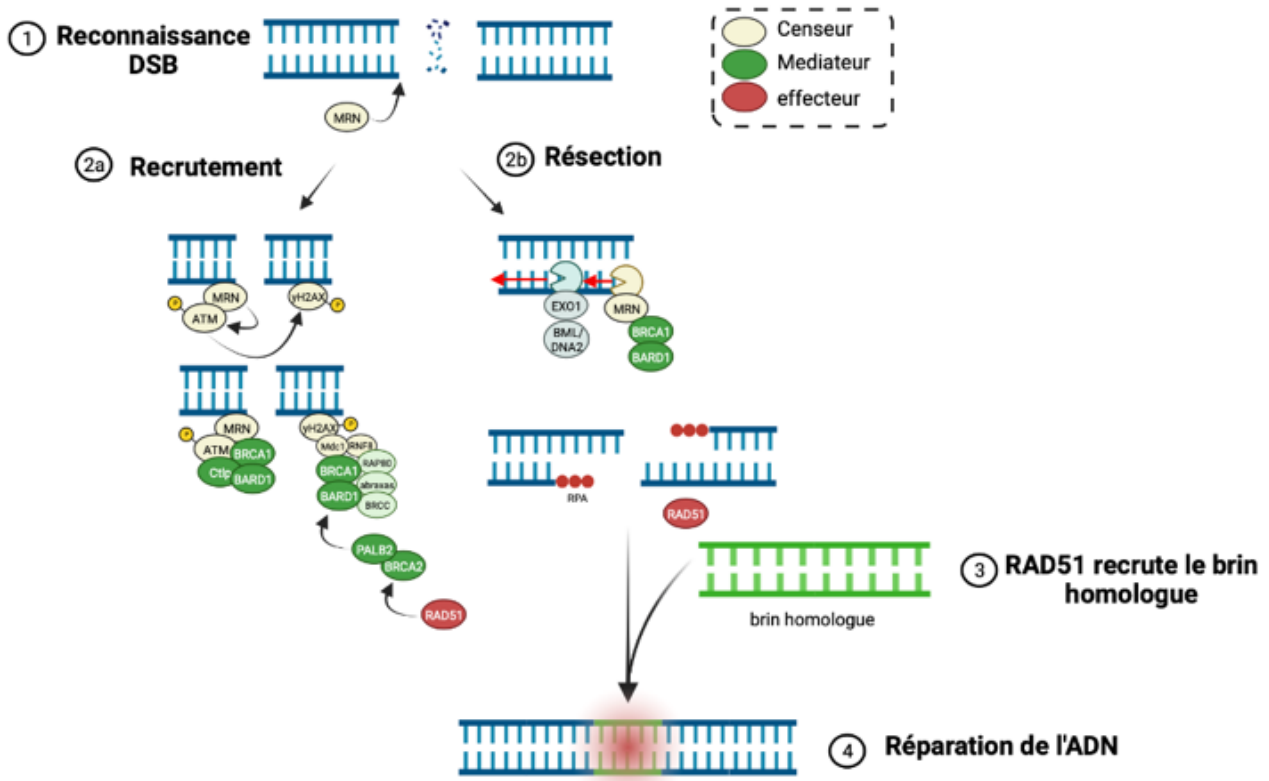


Figure 2. Les différentes étapes de la RH.

3. Déficience de la Recombinaison Homologue (HRD)

3.1. Les anomalies des gènes de la recombinaison homologue

3.1.1. Les variants pathogènes (VP) de *BRCA*

Les anomalies de *BRCA* sont présentes dans 20 à 25% des cas des COHG. Elles peuvent être de deux origines : constitutionnelles (13 à 17% des cas) ou somatiques (5 à 7%). La plupart de ces VP sont non-sens et sont liés à des petites insertions ou délétions qui peuvent avoir lieu dans tous les domaines fonctionnels du gène *BRCA*. Elles sont dans la grande majorité des cas (>98%) associées à une inactivation bi-allélique du gène *BRCA* responsable d'une perte d'hétérozygotie selon le modèle de Knudson (12). Parmi les patientes présentant un VP constitutionnel, l'efficacité des PARPi a été prouvée dans plusieurs essais thérapeutiques. Ce sous-groupe de patientes est en outre celui qui tire le bénéfice le plus important des PARPi (5–8). Ces études ont également démontré que la sensibilité aux PARPi était comparable en cas de VP de *BRCA1/2* somatique.

L'actualisation des recommandations françaises de Saint-Paul de Vence propose à présent une analyse tumorale de *BRCA1/2* chez toutes les patientes, complétée par une analyse constitutionnelle en cas de d'anomalie détectée. Un âge inférieur à 70 ans, un antécédent personnel ou familial de cancer du sein, ou encore une suspicion de prédisposition familiale poseront d'emblée l'indication à une consultation en oncogénétique (13).

3.1.2. VP RH non-BRCA

Les données du TCGA font état que 20% de CSHGO sont associés à des VP de gènes de la recombinaison homologue autres que *BRCA*. Cependant, depuis 2011, plusieurs études ont démontré que leur prévalence est plutôt rare, de l'ordre de 5%, rendant ainsi difficile l'interprétation de ces données. De plus, des données récentes suggèrent que les différents gènes impliqués dans la RH n'ont pas tous le même impact sur son bon fonctionnement. Ainsi, l'essai de phase III PAOLA évaluant l'association de l'Olaparib au Bevacizumab en maintenance après sensibilité à une 1^{ère} ligne de chimiothérapie à base de sels de platine a montré que le sous-groupe de patientes présentant des anomalies de la RH non-*BRCA* ne tirent pas de bénéfice de l'Olaparib par rapport au placebo (14). Il n'existe pas à ce jour de données robustes permettant de modifier la stratégie thérapeutique en cas de VP sur ces gènes.

3.1.3. Hyperméthylation *BRCA* et *RAD51*

La méthylation de l'ADN concerne essentiellement les îlots CpG situés au niveau des promoteurs des gènes voir des 1^{ers} exons. Elle entraîne une répression transcriptionnelle empêchant la transcription de gènes en aval du promoteur. Ainsi, la méthylation des promoteurs de *BRCA* et *RAD51* entraîne un « silencing » de ces gènes. Ces anomalies sont généralement mutuellement exclusives avec les VP *BRCA*, et la méthylation doit se faire sur les 2 allèles du gène de *BRCA1* (15). L'analyse de la réponse tumorale aux PARPi des patientes non mutées *BRCA* dans l'essai de phase II ARIEL 2 démontre que chez les patientes répondeuses aux PARPi il existe un enrichissement de patientes présentant une hyperméthylation du promoteur de *BRCA1* ou *RAD51C* (16). L'analyse de la méthylation de ces promoteurs pourrait ainsi représenter un biomarqueur intéressant dans l'évaluation du statut de la RH

3.2. **Score d'instabilité génomique ou cicatrice génomique**

Les analyses des panels de gènes impliqués dans la RH s'intéressent à la cause du déficit en RH, alors que l'analyse des scores d'instabilité génomique nous montrent les conséquences de ces déficits en RH, appelés aussi « cicatrices » génomiques. Les cellules mutées *BRCA1/2* présentent une instabilité chromosomique importante avec un nombre anormal de copies de gènes et des milliers d'anomalies génomiques somatiques incluant des substitutions de bases et des variants structuraux caractérisées par une prépondérance de courtes délétions et de duplications en tandem (17).

Il existe trois principales anomalies chromosomiques qui permettent de prédire le statut HRD des tumeurs :

- **La perte d'hétérozygotie** (Loss Of Heterozygosity, LOH en anglais), défini comme une perte de copies de plus de 15mb, mais inférieur au chromosome entier (18)
- **Les cassures de grandes régions chromosomiques** (Large Scale Translocation ou LST en anglais) définies comme des cassures entre deux régions adjacentes du génome de plus de 10mb. (19)
- **Nombre de régions sub-télomériques présentant un déséquilibre allélique** (Telomeric Allelic Imbalance ou TAI en anglais) (20)

Les techniques utilisées initialement pour détecter ces anomalies sont des techniques d'analyse chromosomique par puce à ADN (type SNP array) permettant une détection des variations du nombre de copies des gènes. Plusieurs études ont permis de montrer la très bonne corrélation des techniques de séquençage nouvelle génération (NGS) avec ces techniques de SNP array afin de pouvoir associer les mesures du nombre de copies avec la recherche de variants pathogènes ou de réarrangements des gènes *BRCA* (21,22).

En pratique clinique, il existe deux scores utilisés :

- **Le premier, « MyChoice® CDx Plus », de Myriad Genomic**, s'intéresse à la somme des trois anomalies suscitées et rend le résultat sous la forme d'un score d'instabilité génomique (GIS en anglais) en utilisant une technique de séquençage nouvelle génération. Un score > 42 (GIS élevé) ou un VP de *BRCA* (constitutionnel ou somatique) catégorise la tumeur comme HRD. La validation clinique de ce score s'est faite dans 3 essais thérapeutiques de phase III en 1^{ère} et 2^{ème} ligne. (5,7,8), montrant un bénéfice important des PARPi dans la population de patientes présentant une tumeur avec un score d'instabilité élevé, et ce même en l'absence de VP *BRCA*.
- **Le deuxième test, « Foundation One® CDx », de Foundation Medicine, évalue le pourcentage de LOH dans la tumeur** utilisant une technique de séquençage nouvelle génération. Initialement développé avec un seuil prédéfini à 14% pour définir une tumeur « LOH élevée » dans l'étude de phase II ARIEL 2, ce seuil a été augmenté à 16% dans l'essai de phase III ARIEL 3 (6).

Ces deux scores présentent néanmoins certaines limites.

Premièrement, ces scores nous apportent des informations imparfaites car il existe aussi un bénéfice modeste de certains PARPi dans la population des patientes non-HRD.

Deuxièmement, ces tests nécessitent de l'ADN en quantité et en qualité suffisante. Malheureusement les échantillons de COHS obtenus lors des biopsies diagnostiques ou en post-chimiothérapie néoadjuvante sont souvent pauci-cellulaires et nécrotique entraînant des résultats non-contributifs dans 15% à 19% des cas (23)(8).

Enfin, ces tests identifient une cicatrice d'instabilité génomique témoignant d'un déficit de la RH à un moment donné de l'évolution naturelle de la tumeur. Ce score est donc statique et ne détectera pas une restauration de la compétence de la RH au cours de l'évolution de la maladie, comme un VP de réversion de *BRCA1* par exemple.

Par ailleurs, ces scores sont aujourd'hui réalisés par des sociétés privées. Il existe donc un réel besoin de développer des tests académiques accessible facilement à tous les centres s'occupant de patient avec des cancers de l'ovaire. Le test « GIScar » développé par le centre Baclesse est en cours de validation sur la cohorte de l'essai PAOLA-1.

3.3. Signature mutationnelle et utilisation d'un séquençage complet du génome (WGS).

Les tumeurs mutées *BRCA* présentent donc des profils uniques de variant nucléotidique unique (SNV) et de réarrangements. L'utilisation de techniques de WGS ont permis d'identifier des portraits génomiques particuliers dans cette population. L'utilisation du WGS permet d'obtenir une couverture plus importante comparativement aux **analyses d'exome entier** (WES) ou aux analyses de panel de gène.

Ainsi, une analyse WGS sur une cohorte de tumeurs du sein a permis de mettre en évidence 4558 substitution, tandis que WES n'en montrait que 43 (24).

Les déficiences en *BRCA1* et 2, via l'apparition de DSB et/ou un stress replicatif vont donc entraîner différents types de substitution de base (COSMIC signature SBS3 et 8), d'InDel (COSMIC signature ID6) ou de variant structuraux (COSMIC signature RS3, RS5 et LOH)(24).

Ces signatures n'ont pour l'instant pas été évaluées individuellement en tant que marqueur de réponse au PARPi et il existe aussi certaines limites à leur utilisation. Par exemple, la **signature SBS3**, rapidement proposée comme un biomarqueur de déficience de la RH (25), reste aujourd'hui peu spécifique du fait qu'une majeure partie des CSHGO présente une part de SBS3 dans leur tumeur, limitant son application en pratique clinique. De plus les données sur son intérêt en tant que biomarqueur de réponse restent aussi limitées (26).

Néanmoins, une étude a combiné ces 6 signatures mutationnelles caractéristiques des tumeurs HRD sous la forme d'un score nommé « **HRDetect** ». Celui-ci a été optimisé pour détecter les tumeurs présentant un VP de *BRCA* avec une sensibilité très élevée de 98,7% (aire sous la courbe (ASC) = 0,98) dans une population de 560 cancers du sein puis validé dans une cohorte indépendante de patients avec des cancers du pancréas, sein et de l'ovaire (27).

Un score HRDetect supérieur à 0,7 (ou 70%) a aussi montré une association (ASC = 0.89) avec la réponse au platine dans une étude rétrospective s'intéressant à une population de patiente avec des cancers du sein (28).

L'utilisation du WGS peut être rendue plus accessible en utilisant une technique appelée « **shallow WGS** » (**sWGS**). C'est une technique de WGS avec une profondeur très faible (la profondeur correspond au nombre de lecture d'une base nucléique que l'on obtient). Une étude a notamment montré sa bonne capacité à détecter des VP de *BRCA1* et 2 (29).

Ainsi, il n'existe pas encore de données cliniques assez robustes sur l'intérêt de la signature SBS3, du HRDetect ou du sWGS dans la prédiction d'un bénéfice au PARPi, cependant il est certain que l'utilisation du WGS pourrait constituer une méthode intéressante pour identifier les tumeurs HRD.

3.4. Test fonctionnel de la compétence de la RH

Le développement d'un test fonctionnel nous permettrait d'avoir une évaluation en temps réel de la compétence de la RH au sein de la tumeur. La protéine RAD51 codée par le gène *RAD51* est un acteur central de la recombinaison homologue. Elle permet la recherche d'homologie avec le chromatide sœur et la mise en place puis la stabilisation de la boucle de déplacement dans laquelle les polymérases vont pouvoir recopier l'information perdue par la cassure double brin.

La potentielle utilité de tests de foci RAD51 pour évaluer la proficience de la voie RH a été déjà démontrée. Les premières études reposaient sur l'irradiation de tumeurs fraîches issues de patientes puis d'une quantification des foci RAD51 sur les cassures double-brins post-irradiation. L'absence de foci RAD51 en présence de dommage à l'ADN prédisait la présence de VP *BRCA* et/ou la réponse aux PARPi.

Une autre approche plus récente repose sur une analyse en immunofluorescence sur tissus tumoraux naïfs de traitement, fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE). En effet, certaines pathologies telles que les COHS ou les cancers du sein triple négatifs présentent un niveau d'instabilité génomique basal très élevé, témoignant de défauts

de réparation des cassures double brin, si bien qu'il n'est pas nécessaire d'exercer un dommage extrinsèque sur l'ADN.

Une évaluation par immunofluorescence multiplexée associant un marqueur de cassure double brin (γ H2AX), de phase S/G2 (seule phase permettant l'activation de la voie RH) et de RAD51, permet de mesurer la compétence de la RH. Une tumeur incapable de recruter RAD51 dans des cellules en phase S/G2 en présence de cassures d'ADN serait RAD51-négative et donc déficiente en RH (30). L'utilisation de ce test dans une population de COHS en situation néoadjuvante a permis de montrer que les patientes présentant une tumeur RAD51-négative avaient un meilleur taux de réponse aux sels de platine (68 vs 37%) et une meilleure survie sans progression (20,8 mois vs 14,1 mois, ; HR=0,48 (95%CI 0,25-0,91)). La plupart des patientes BRCA mutées présentait une tumeur RAD51-négative, mais parmi le petit sous-groupe de COHS BRCA mutés avec un test RAD51-positif seul 17% des patientes avaient une réponse à la chimiothérapie néoadjuvante (vs 77% chez les patientes RAD51 négatives, $p = 0,04$) suggérant que ce test fonctionnel pourrait identifier les patientes BRCA mutées platino-resistantes (31).

Il est évidemment nécessaire d'avoir des données plus robustes, notamment sur sa capacité à pouvoir prédire une réponse aux PARPi, avant son implémentation en pratique clinique.

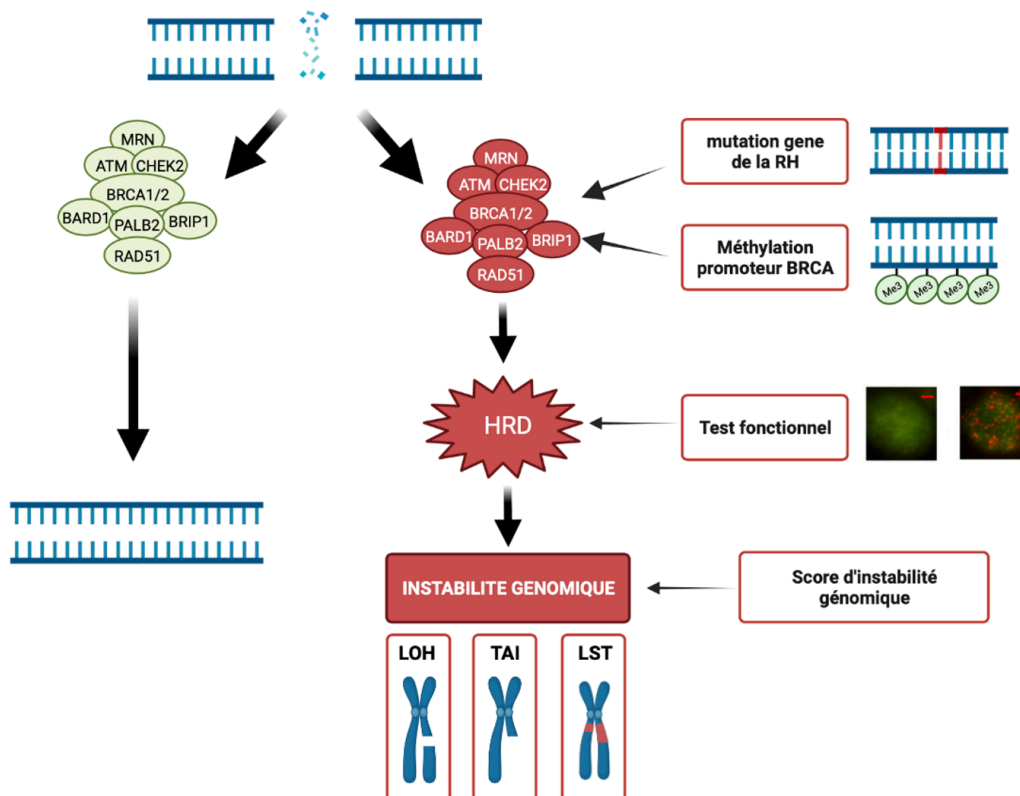


Figure 3. Récapitulatif des différents tests évaluant la déficience de la recombinaison homologue

4. Cell-free DNA

4.1. Histoire du cell-free DNA (cfDNA)

4.1.1. La découverte et le développement du cell-free DNA

La description d'acide nucléique extracellulaire dans la circulation est une découverte d'origine française par Mandel et Metais en 1948 qui montra la présence de ce qui était alors appelé des « P nucleique » dans le sang de sujets sains et malades (32)(Fig.4). Cette découverte restera néanmoins sans suite durant la décennie qui suivra, éclipsée par la publication de Watson&Crick sur la structure de l'ADN en 1953 (33).

Les premières occurrences d'ADN circulant après cette publication apparaissent dans les années 60 dans une série d'études *in vitro* chez l'animal et les bactéries (34–36), puis suivront les premières études chez l'homme au début des années 70 (37) notamment grâce aux études dans les maladies systémiques et plus particulièrement le lupus érythémateux disséminé (LED). Il a été mis évidence la présence d'anticorps antinucléaires et notamment d'anticorps anti-DNA. La relation entre ces anticorps et les lésions tissulaires restait en suspens et la principale hypothèse était la formation de complexes immuns entre ces anticorps et des antigènes solubles se déposant dans les tissus (notamment les vaisseaux et le rein). *E.M.Tan & al* ont alors pu montrer la présence d'ADN dans les sérum de patient atteint de LED (38) puis dans les séreuses (39) expliquant ainsi la présence d'anticorps anti-DNA.

A ces différentes découvertes feront suite plusieurs études permettant de confirmer la présence d'ADN soluble extracellulaire à faible concentration (de l'ordre de 10 à 30 ng/ml) dans le plasma humain (40,41). Cet ADN circulant prendra alors le nom de cell-free DNA (cfDNA).

4.1.2. Le cfDNA et oncologie

La première étude qui fait le lien entre cfDNA et l'oncologie date de 1977 (42). Dans cette étude Léon et al. avaient pour but d'évaluer l'incidence du cfDNA sur 173 patients atteints de cancer (dont l'histologie et le stade étaient mélangés) ainsi que l'impact du traitement sur ce paramètre. Ils ont défini de nombreux concept qui montreront la voie aux études suivantes :

- Les patients atteints de cancer avaient presque tous de l'ADN circulant, à des concentrations plus élevées que des sujets sains (de l'ordre de 180 ng/ml).
- Les plus hautes concentrations de cfDNA étaient retrouvées chez les patients métastatiques, avec des tumeurs agressives et peu différenciées.
- les patients qui avaient reçu de la radiothérapie présentaient une diminution du cfDNA en post thérapeutique en cas de réponse et inversement une stabilité ou une augmentation en cas de non-réponse voir de progression.

Cependant, à l'époque, les techniques ne permettent pas de comprendre quel est l'origine de cet ADN et notamment de faire la différence entre une origine immunitaire et une origine tumorale. Pour cela il faut attendre 1989, quand les analyses de l'ADN des tumeurs ont permis de mettre en évidence certaines caractéristiques qui le

séparent de l'ADN constitutionnel (une instabilité des brins d'ADN et une augmentation de la synthèse d'ADN en présence de carcinogènes, etc). Le cfDNA chez les patients atteints de cancer possède ces caractéristiques particulières, ce qui permet d'en affirmer l'origine tumorale (43).

Entre 1994 et 1997 sont publiés les premières études évaluant la possibilité d'effectuer une recherche de VP sur cfDNA. Ces études trouvent des VP ponctuels du gène *RAS* spécifiquement retrouvées dans les cellules tumorales (44,45) avec une corrélation parfaite entre le cfDNA et l'ADN tumoral tissulaire (46).

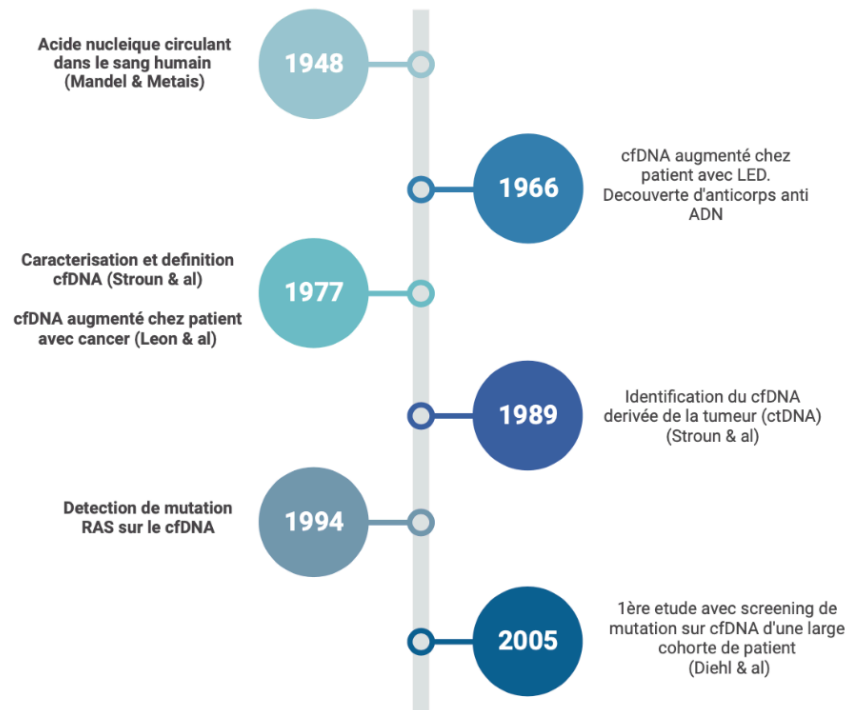


Figure 4. Les grandes dates de l'histoire du cfDNA

4.2. Sources, Origine et caractéristiques du cfDNA

Le cfDNA peut avoir plusieurs origines. Les techniques de méthylogènes nous permettent de déduire la cellule d'origine du cfDNA. Ces diverses méthodes ont montré que la source principale de cfDNA chez les sujets sains était les **cellules hématopoïétiques** (approximativement 80% selon les études) (47,48). Les autres principales sources de cfDNA étant les **cellules endothéliales** (49).

Chez les patients atteints de cancer on retrouve une augmentation de la concentration de cfDNA (5 à 1500ng/ml contre 1 à 30 ng/ml chez les sujet sain)(50).

Cette différence est liée à la présence d'une autre source de cfDNA : **le circulating tumor DNA (ctDNA) ou ADN dérivé de la tumeur**. La part de ctDNA dans l'ADN circulant est très variable d'un individu à l'autre et oscille de 0,003% à 95% (50–52).

On définit généralement le ctDNA comme du cfDNA qui présente des VP spécifiques du cancer (53)

Les principaux mécanismes de libération d'ADN dans la circulation sanguine sont (54)

- La **nécrose**
- L'**apoptose**
- La **sécrétion active**.

Quand le cfDNA est détecté dans le plasma, les molécules d'ADN sont très fragmentées avec un profil de taille caractéristique. Les techniques de **fragmentomiques** ont permis de préciser ces caractéristiques.

Les fragments de plus de 10 000 paires de bases (pb) sont généralement originaire de cellules en **nécrose cellulaire** tandis que les fragments inférieurs à 1000pb proviennent de **cellules en apoptose** (54–56).

En fonction du tissu d'origine et des conditions (physiologiques ou pathologiques) seul un faible nombre de structures sont assez stables pour être détectable dans le sang. C'est le cas notamment des **mono-nucléosomes** voire des **di-nucléosomes**.

Dans le plasma des individus avec ou sans cancer, on peut donc retrouver des fragments d'ADN tumoral circulant dérivés d'une structure appelée **chromatosome** mesurant **166 pb** et correspondant à la taille d'un nucléosome associé à une histone H1 et son ADN linker.

Néanmoins, les patients atteints de cancer ont un profil de fragmentation différents. Ils présentent en effet une forte proportion de cfDNA ayant une taille entre 40 et 151 pb (>44% vs 13%) avec un pic notamment à **145pb** (correspondant au cœur de l'histone sans l'ADN linker et histone H1), un **ratio 166/145pb faible** et une plus faible proportion de cfDNA entre 151 et 220 pb.

De plus, leur taille est exceptionnellement au-dessus de 1000 pb (<1% vs 8,5 à 21,3%) (Fig.5) (57)

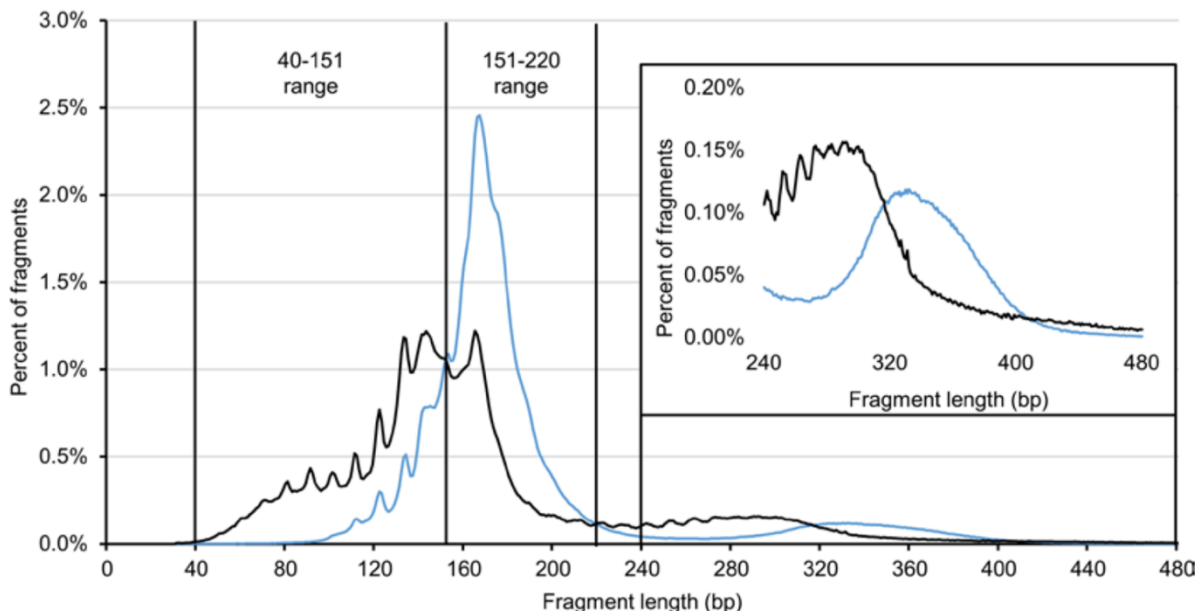


Figure 5. Comparaison du profil fragmentomique entre des patient atteint de cancer (en noir) et des sujets sains (en bleu) ⁴⁹

Au-delà de la taille du cfDNA, les techniques de fragmentomique nous permettent d'évaluer certaines caractéristiques permettant de définir le cfDNA comme provenant

de la tumeur chez des patients atteints de cancer en dehors de la détection de VP spécifiques :

- une augmentation de la proportion d'ADN simple brin,
- la capacité du ctDNA à avoir une structure G-quadruplex (G4s)(58),
- la présence d'une signature spécifique en 5' de l'ADN liée à l'action de différentes exonucléases (59) soit via un ADN très irrégulier en 5' soit lié à la présence d'un motif spécifique dans les 4 derniers nucléotides du fragment (notamment dans les carcinome hépato-cellulaire) (60)

Ces différentes techniques n'ont pas encore leur place en pratique clinique mais représentent un champ important de la recherche sur le ctDNA et pourraient en outre avoir un impact sur ses différentes utilisations en routine, notamment dans le champ du dépistage des cancers (Fig.6)

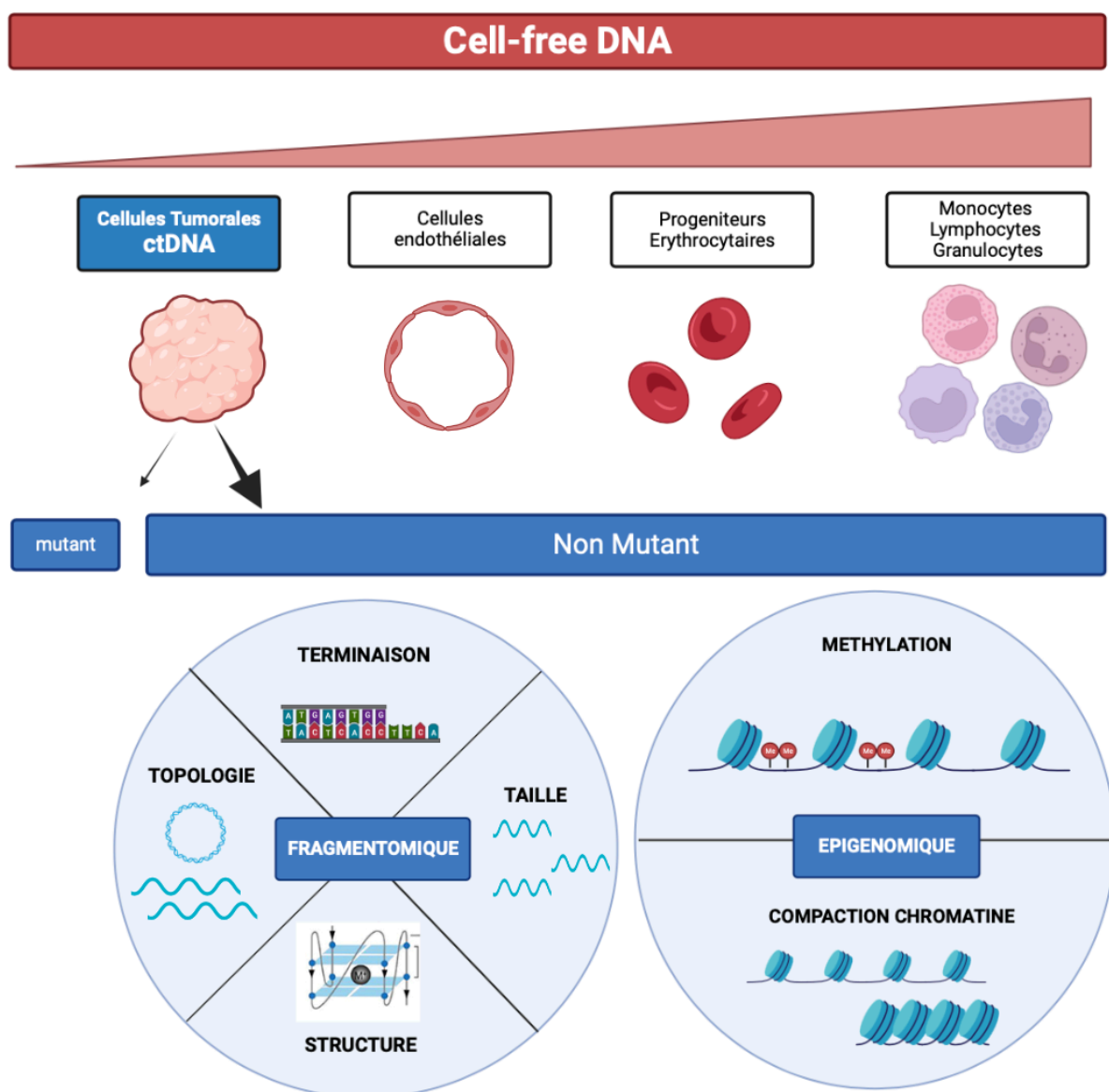


Figure 6. Source et technique d'identification du ctDNA

4.3. CtDNA et cancer de l'ovaire

4.3.1. ctDNA plasmatique

4.3.1.1. *CtDNA, Impact pronostic et réponse au traitements :*

Plusieurs études ont montré qu'il existait une concentration **plus élevée de cfDNA dans les tumeurs malignes** ovariennes, comparé aux tumeurs bénignes. Cette concentration est aussi **plus élevée dans les COSHG** comparé aux autres types histologiques, et représente un **marqueur pronostic indépendant** de survie spécifique lié à la maladie (disease free survival ou DFS en anglais) et de survie sans progression (progression free survival ou PFS en anglais).(61,62)

L'utilisation du ctDNA (pour rappel : cfDNA présentant un VP présent dans la tumeur) peut aussi nous informer sur le pronostic et nous aider **pour le suivi thérapeutique des tumeurs ovariennes**, notamment pour les CSHGO qui présentent dans la grande majorité des cas un VP de *TP53*. Les variations de la fréquence allélique (Variant Allele Frequency ou VAF en anglais) du VP *TP53* peuvent nous informer **sur la réponse au traitement**.

Une étude a montré que des taux indétectables de ctDNA à 6 mois de la chirurgie étaient associés à une amélioration de la PFS et de l'OS (63). Une autre étude a montré que la diminution de > 60% de la VAF du **TP53** sur ctDNA après un cycle de chimiothérapie était associé à des PFS plus longues, cependant la plupart de ces données sont pour le moment essentiellement rétrospectives.(64–66).

Parmi les autres VP d'intérêt sur le ctDNA on retrouve les VP de *BRCA* (67) notamment les **VP de réversion** de *BRCA 1* ou 2 (68,69). Lin et al. se sont intéressés à 112 patientes traitées par Rucaparib dans le cadre de l'étude ARIEL 2 et ont recherché un VP de réversion de *BRCA* sur ctDNA. La prévalence était de 18% dans les platine réfractaire, 13% platine résistant et 2% des platine sensible. Les patientes avec VP de réversion avaient une PFS divisé par 2 sous Rucaparib.

4.3.1.2. *ctDNA et récurrence*

Dans l'étude de Pereira et al, cité précédemment (63), le temps moyen de diagnostic de rechute précède de **7 mois le diagnostic de rechute grâce à l'imagerie**. Ces résultats sont en accord avec le reste de littérature et on retrouve les même résultats lorsque l'on compare l'utilisation du cfDNA et l'utilisation **marqueur CA 125**(70).

La détection précoce de ces cancer grâce au cfDNA prend tout son sens depuis les récent résultats de **l'essai DESKTOP III** qui montre l'intérêt d'une nouvelle chirurgie de cytoréduction en terme de survie globale chez patientes en rechute platine sensible présentant au moins 1 critère DESKTOP (71)

4.3.2. cfDNA dans l'ascite (acfDNA).

L'utilisation du cfDNA à partir d'ascite de patientes avec un cancer de l'ovaire est un champ **encore peu exploré** de la recherche clinique aujourd'hui et peu de données sont disponibles à ce jour.

Les premières données sur l'acfDNA viennent d'une équipe australienne (72) qui a récupéré de l'acfDNA de 18 patients. Les concentrations d'acfDNA variaient de 6,6 à

300 ng/ml et la distribution de taille était caractéristique du cftDNA avec des pics monos ou di-nucléosidiques.

L'utilité clinique du acfDNA a été montrée par une équipe Coréenne. Sur 10 patients, 90% avaient des VP dans l'ascite et dans le tissu avec une bonne corrélation (Spearman $r = 0,650$; $p = 0,009$). (73)

L'utilisation de l'acfDNA pour réaliser des scores d'instabilité génomique n'a pour le moment jamais été réalisé.

PRESENTATION ET OBJECTIF DE L'ARTICLE

Les cancers épithéliaux de l'ovaire (CEO) font partie des cancers gynécologiques les plus meurtriers au monde, notamment lié au stade tardif au diagnostic (70% des patientes sont diagnostiquées aux stades III-IV).

Les cancers de l'ovaire et notamment les carcinomes séreux de haut grade (le type histologique le plus fréquent) sont marqués par une forte instabilité génomique avec de nombreux variants structuraux liés en partie à la présence de VP de *TP53*. Cependant, environ 50% des patientes présentent une instabilité génomique liée à un déficit de la recombinaison homologue.

Les récentes avancées thérapeutiques ont été marquées par l'arrivée des inhibiteurs de PARP (PARPi) dont l'efficacité est maximale chez les patientes qui présente un déficit de la RH, rendant obligatoire l'évaluation de la compétence de la RH (via la recherche de VP de *BRCA1/2*, ou via l'évaluation d'un score d'instabilité génomique appelé GIS) chez les patientes nouvellement diagnostiquées avec un cancer épithélial de l'ovaire.

Aujourd'hui ces tests peuvent être réalisé uniquement sur tissu tumoral et les différentes études évaluant l'impact des PARPi retrouvent un taux d'échec de la mesure du GIS de l'ordre de 15 à 19%.

Les patientes avec un CEO présentent de l'ascite détectable cliniquement dans plus de 30 à 40% des cas, mais la proportion de patientes avec du liquide péritonéal pourrait atteindre les 98% et donc représenter une source très importante d'ADN tumoral libre.

Notre étude avait plusieurs objectifs :

Le premier étant d'évaluer la faisabilité en routine de la recherche d'ADN libre (nommé cfDNA) dans le liquide péritonéal des patientes avec un cancer épithélial de l'ovaire.

Le second objectif était d'évaluer la capacité de l'analyse via séquençage de nouvelle génération (NGS) du cfDNA dans le liquide péritonéal à détecter les VP présents dans la tumeur.

Enfin, le dernier objectif était d'évaluer la faisabilité de la mesure du GIS sur cfDNA en utilisation une technique de séquençage du génome entier avec faible profondeur. .

ARTICLE

TITLE: Homologous recombination deficiency (HRD) testing on Cell-free tumor DNA from peritoneal fluid in newly diagnosed and advanced ovarian cancer

Author : Cyril ROUSSEL-SIMONIN¹, Felix BLANC-DURAND², Roseline TANG³, Damien VASSEUR³, Audrey LE FORMAL⁶, Laure CHARDIN⁶, Elisa YANIZ⁶, Sébastien GOUY⁵, Amandine MAULARD⁵, Stéphanie SCHERRIER⁵, Claire SANSON⁵, Ludovic LACROIX⁴, Sophie COTERRET³, Lea MAUNY⁵, François ZACCARINI⁵, Etienne ROULEAU³, Alexandra LEARY²

Affiliation :

¹ Sorbonne université, Gustave-Roussy Cancer Campus, Villejuif,.

² Département de Médecine, Gustave-Roussy Cancer Campus , INSERM U981, Université Paris-Saclay, France.

³ Medical Biology and Pathology Department, Gustave-Roussy Cancer Campus, INSERM U981, Université Paris Saclay, Villejuif, France.

⁴ Cancer Genetics Laboratory, Department of Pathology and Medical Biology, Gustave-Roussy Cancer Campus, Villejuif, France

⁵ Department of Gynecologic Surgery, Gustave-Roussy Cancer Campus, Villejuif, France

⁶ Université Paris-Saclay, Gustave-Roussy Cancer Campus, Inserm U981, , Villejuif, France.

Keyword: ctDNA ; Ovarian Cancer : shallowWGS ; HRD ; Ascites.

ABSTRACT :

Background : Knowledge regarding homologous recombination deficiency (HRD) status at diagnosis is essential to manage patients with advanced epithelial ovarian cancer (EOC). HRD status is defined by either a BRCA1 or BRCA2 pathogenic variant, or genomic instability. These genomic tests are performed on tumor samples and unfortunately the analysis of tumor DNA are non-contributive in 15-19% of cases. Advanced EOC frequently presents with peritoneal fluid which could provide an alternative source of cell-free tumor DNA (cftDNA).

Material & Methods:

we prospectively collected ascites or peritoneal washings from 34 patients undergoing primary or secondary laparoscopy for suspicion of EOC, or therapeutic paracentesis between January 2022 and August 2022 and we retrospectively analyzed 19 ascites (20ml) of patients who underwent laparoscopy for EOC between 2017 and 2021. A Cancer Gene Panel (CGP) was analyzed by Next generation

sequencing (NGS) for TP53 genes and HR genes and shallow Whole Genome Sequencing (sWGS) was used to measure genomic instability on cftDNA.

Results:

A total of 53 patient were included. Most patients had stage III/IV (n=52) high grade serous ovarian cancer (HGSOC) (n=47). Cell-free DNA (cfDNA) was detectable in 49/ 53 patients (92,5%) even when there was little peritoneal fluid (<100cc) at laparoscopy (n=7). Median cfDNA extracted from 20ml peritoneal fluid or washings was high at 3700 ng/ml (range 109 – 65 000 ng/ml) and median turn-around testing time was 21 days. 42 patients (86%) had a TP53 pathogenic variant as all cases were HGSOC. Respectively 7 (14%) and 5 (10%) had a BRCA1 or BRCA2 pathogenic variant. Variant concordance between tissue and ascites testing was 95%. NGS CGP on cftDNA was contributive in 5 patients with failed NGS CGP on tumor DNA from tissue, including one patient with a BRCA2 pathogenic variant identified in cftDNA. Genomic instability was assessed by sWGS on cftDNA and provided a contributive result for all samples tested, including 7 for which matching tissue-based GIS testing failed.

Conclusion:

Genomic profiling on cftDNA from ascites or peritoneal washings is feasible and yields high quantity of tumor DNA which results in lower non-contributive tests than tumor tissue-based testing. This approach has a fast testing turn-around time and only requires less than 20ml of peritoneal fluid so that >95% of patients with advanced OC would be candidates. This cftDNA is suitable for HRD testing combining both CGP with BRCA1/2 screening and genomic instability testing. Finally, this should be proposed to every patient undergoing primary laparoscopy.

Introduction

Ovarian cancer is the most lethal gynecological cancer worldwide accounting for 250 000 cases and 180 000 deaths annually. High-grade serous ovarian cancer (HGSOC) is the most common and aggressive subtype of ovarian cancer with a 5 year -overall survival of 30%, essentially due to the advanced stage at the time of diagnosis - most EOC are diagnosed at stage III of IV (70%) (1).

Approximately 50% of HGSOC harbor homologous recombination deficiency (HRD) with in high levels of genomic instability, either due to a germline or somatic *BRCA1/2 pathogenic variant* or to another unknown mechanism resulting (9)(74)

Poly(adenosine diphosphate–ribose) polymerase inhibitors (PARPi) block the repair of single strand breaks thus generating double-strand breaks that cannot be repaired in tumors that are HRD (5). Large phase III randomized clinical trials evaluating the benefit of PARPi as 1st line maintenance treatment for advanced high grade OC have now clearly established that HRD status determined by *BRCA1/2 pathogenic variant* and genomic instability testing predicts magnitude of benefit from this class of agents (5)(8)(23)(75)(76). It is today essential that every patient with newly diagnosed high grade ovarian cancer is offered testing for *BRCA1/2 gene pathogenic variant* and genomic instability. Unfortunately HRD testing on formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tumor samples yields non-contributive results in 15% to 19% of patients due to low tumor cellularity or poor quality DNA (8)(23)(76). This can be particularly problematic in patients who are not candidate for primary debulking surgery where the only tumor sample may be a small biopsy obtained at diagnostic laparoscopy, or necrotic pretreated samples from interval debulking surgery post-neoadjuvant chemotherapy. More than half of women with stage III/IV high grade OC exhibit clinically evident malignant ascites at diagnosis, in addition a further subset present smaller amounts of cytologically confirmed malignant peritoneal free fluid at surgical exploration (77). We recently demonstrated that 98% of patient with stage III/IV HGOC have at least a small amount of clinically visible peritoneal fluid (ascites) at diagnostic laparoscopy or laparotomy. This peritoneal fluid known to contain tumor cells could provide an alternative liquid biopsy sample for HRD tumor testing.

Cell-free tumor DNA (cftDNA) has been studied for the last 30 years and can be detected in various body fluids including blood, urine, pleural fluid and ascites(78). It is now commonly used (79) in some type of cancers like *EGFR* mutated non-small cell lung cancer (80). However, cfDNA in ascites (acfDNA) has been less studied. Some have shown that acfDNA can be detected in gastric (81) or colon cancer (82). Han and colleagues (73) identified nine somatic pathogenic variant in matched tumor tissue and ascites from 10 OC patients. Another study confirmed high concentrations of cftDNA in ascites from 18 OC patients and intriguingly, showed that cftDNA yielded higher variant allele frequency in ascites compared to than DNA extracted from tumor cells (72). These results suggest that cftDNA from ascites in patients with

advanced EOC can provide a surrogate liquid biopsy to characterize the genomic landscape of ovarian cancer.

In this study, we aimed to evaluate the feasibility and clinical usefulness/performance of HRD testing on cftDNA from peritoneal fluid in newly diagnosed advanced ovarian cancer patients. A Cancer Gene Panel (CGP) including *TP53* (as a control to confirm detection of tumor DNA) as well as *BRCA1/2* and other HR-related genes, was analysed with Next Generation Sequencing (NGS) on matched tumor DNA from FFPE tissue samples and cftDNA from ascites from 53 patients presenting with advanced OC at Gustave Roussy's cancer center. In addition, we performed genomic instability testing on FFPE tumors and cftDNA from peritoneal fluid samples.

Material & Methods:

Identification of patient and collection of samples:

All patients provided written informed consent authorizing the use of biological samples obtained during their routine diagnosis and treatment as part of the prospective academic research study ovBIOMARK (NCT03010124).

In a first pilot phase, we retrospectively analyzed ascites collected between 2017 and 2021 during primary or secondary laparoscopy, from 19 patients with confirmed EOC. At that time, 15mL of freshly collected ascites were double centrifuged at 1000g and 14 000g within an hour of collection and the supernatant was frozen at -80°C.

We then prospectively collected 15-20 ml of peritoneal fluid samples between January 2022 and August 2022 from patients with suspected or confirmed epithelial ovarian cancer during primary or secondary laparoscopy/laparotomy. Those subsequently confirmed as non-EOC primaries (such as gastro-intestinal tumor or endometrial carcinoma) were excluded from further analysis. In addition, we collected 7 ascites from OC patients who required paracentesis for symptom control in the relapsed setting. Finally for 7 patients who did not present any visible peritoneal fluid at laparoscopic exploration, peritoneal washings were collected (referred to as indirect ascites).

In this second prospective phase, 20ml of ascites or peritoneal washings were collected into 2 cell-free DNA collection tube of 10ml each (PAXgene®). Peritoneal

fluid (ascites) or washings (indirect ascites) were centrifuged within 4 hours after the collection at 1500g for 10 min. The supernatant was then centrifuged a second time at 20 000g for 10 min and the supernatant was frozen at -80°C.

DNA extraction from ascites and CGP:

cfDNA was extracted from 1 to 4 ml of the centrifuged fluid using the QIASymphony Circulating DNA Kit (Qiagen) following manufacturer's instruction, or Maxwell® RSC ccfDNA Plasma Kit (Promega) following manufacturer's instruction. The quality control of cfDNA were analyzed with the Cell-free DNA ScreenTape assay (Agilent). The NGS CGP on matched FFPE tumor sample and cfDNA for the first 19 patients covered 61 genes including *TP53*, *BRCA1/2* and other HR-related genes. In the prospective part of the study (N=34 pts), the panel was extended to 109 genes. The details regarding the 109 panel gene can be found in Supp Data.

A sample was considered as containing Cell free DNA if a mononucleosomal spike was detected at 160-bp and further spikes every 160-bp between 160 to 700 bp. The presence of these replicate spikes was considered a marker of cfDNA quality.

Samples were considered as containing poor quality cfDNA for NGS if the first spike at 160-bp was not visible and as poor quality for sWGS as detailed in the publication by Eeckhoutte, A. *et al* (29).

Genomic instability Testing:

Every patient included in our cohort had a genomic instability test (MyChoice Myriad®) conducted on DNA from formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) tumor tissue specimen. This assay allows the determination of a Genomic Instability Score (GIS) which is an algorithmic measurement of Loss of Heterozygosity (LOH), Telomeric Allelic Imbalance (TAI), and Large-scale State Transitions (LST). Sample is considered HRD if GIS is ≥ 42 .

The MyChoice Myriad® assay cannot be performed on cfDNA, thus we evaluated genomic instability in cftDNA samples using Shallow Whole Genome Sequencing (sWGS). This approach represents an attractive alternative as it requires low DNA input, it is fast and cost effective (29). Genomic instability testing using sWGS used the shHRD algorithm. This algorithm is based on the number of large-scale genomic

alteration (LGA) which is defined as intra-chromosome arm CNA breaks with adjacent segments ≥ 10 Mb. It is the reflection of LST in Myriad® HRD scar assay. A given sample is considered HRD if LGA is ≥ 20 and is considered HR proficient if LGA is <15 . Samples with LGA between 15 and 19 are considered “borderline”(29).

Results:

Patient characteristics:

A total of 53 patient were included in our study (Fig.7). 19 patients from the retrospective pilot study (ascites at 1° laparoscopy (N=18) or interval 2° surgery/laparoscopy (N=1)) and 34 from the prospective study (ascites at 1° laparoscopy (N=17), ascites at 2° laparoscopy (N=10) or therapeutic paracentesis N=7). The high rate of ascitic sample collection at interval surgical exploration in our series is attributable to the fact that some patients were referred to our center for debulking surgery after 3-4 cycles of neoadjuvant chemotherapy.

Direct ascites was collected for 34/35 of samples obtained at 1° laparoscopy, for 5/11 at 2° laparoscopy and 7/7 at paracentesis. Among patients with visible ascites at laparoscopy (N=39), ascitic volume was <100 ml in 18% (7/39), 100-500ml in 7,7% (3/39), 500-1000ml in 28,2% (11/39) and >1000 ml in 46,1% (18/39). For patients without visible ascites (at 1°, N=1 or 2° laparoscopy, N=6), indirect ascites was obtained by peritoneal washings with saline.

Median age was 65 years old (range: 42 – 86) and most patients had FIGO stage III/IV (98%), and high grade serous ovarian cancer (89%) other histology included low grade ovarian cancer (n=4) and endometrioid high grade ovarian cancer. Most ascites and tumor sample were collected at primary laparoscopy (66%) (Table.1).

Contributive cftDNA detection from ascites:

Cell-free DNA was detectable in peritoneal fluid from 49/53 patients (92,5%). Overall, DNA quality was high. Figure 8 illustrates the typical profile of cfDNA extracted from peritoneal fluids in our study with one mononucleosomal spike at 160-pb and 2 further ones at 360 and 520-pb. This showcase the high quality of cfDNA extracted from peritoneal fluids with low contamination by high molecular weight DNA (>700 -

pb). Additionally, DNA quantity was very high with a median concentration of cfDNA of 3700 ng/ml (range 109 – 65 000 ng/ml). For patient with peritoneal lavage the concentration was also high with a median concentration of 1310 ng/ml (range: 1000-2120). For comparison, cfDNA concentration extracted from plasma in patient with any cancer usually range from 5 to 1500 ng/ml (50). When considering only direct ascites, cfDNA was detected in 100% of cases (46/46), including ascites obtained after neoadjuvant chemotherapy at 2° laparoscopy. Importantly direct ascites yielded cfDNA regardless of volume present. Among the patients with <100ml (N=7) or 100-500ml (N=3), cfDNA was detected in all cases and median concentration of cfDNA for patient with <500ml ascite was 3150 ng/ml (range: 20,9 – 15 900 ng/ml) . Interestingly, in patients without visible peritoneal free fluid and in whom peritoneal washings were collected, cfDNA was still detected in 42% of these cases (3/7). The characteristics of the 4 patients without detectable cfDNA are summarized in table 2. All samples were obtained at 2° laparoscopy after a median of 3,5 cycles of neoadjuvant chemotherapy via peritoneal washings and all patients demonstrated a good clinico-biological response to chemotherapy.

NGS CGP results on cfDNA from peritoneal fluid

Crucially, among the 49 of 53 cases with detectable cfDNA, a pathogenic variant was detected in 96% of peritoneal fluid samples (47/49), thus confirming that when cfDNA was detected it almost invariably contained tumoral DNA (cftDNA). For 1 of the 2 patients for whom no pathogenic variant was detected on ascites cftDNA (acftDNA), the NGS CGP also did not identify a pathogenic variant on tumor tissue.

In an effort to compare contributive testing performance between ascites and tumor samples, DNA was extracted on matching FFPE tissue samples. NGS CGP on DNA from FFPE matching tissue samples was limited to the 49 high grade OC samples (4 low grade were excluded) and yielded a contributive result in 89,7% (44/49). For the 5 patients with a failed tumor tissue analysis, acftDNA was detected in the matching ascites sample, including one patient for whom acftDNA analysis identified a *BRCA2* pathogenic variant. Together these data support that cftDNA from ascites may allow physicians to salvage non-contributive tumor analyses.

The median turn-around time for test result was 21 days (range: 14-36) for NGS on acftDNA and 45 days (range: 14-96) for NGS on tumor.

Concordance of cftDNA from peritoneal fluids vs tumor samples analyses

The most common pathogenic variant identified in peritoneal fluid samples was *TP53* (86%) and detected in 98% of HGSOC. The 4 low grade OC harbored *RAS* pathogenic variant. *BRCA1* and *BRCA2* pathogenic variant were detected in respectively 14% (7/49) and 10% (5/49) of patients. One patient had a large rearrangement of *BRCA1* (deletion of exon 21 to 24) detected on acftDNA, which confirms the high quality of the acftDNA to detect such a quantitative event. 39 patients had matching contributive acftDNA and tumor DNA results (Fig.9). 37 (95%) had concordant *TP53* pathogenic variant detection between acftDNA and tumor tissue DNA (ttDNA). The 2 discordant patients harbored a *TP53* pathogenic variant detected on acftDNA that was not detected on tissue DNA, probably due to a quality issue.

Mean variant allele frequency (VAF) was higher in ascites compared to tissue. The mean VAF for *TP53* pathogenic variant were 54% in acftDNA vs 45% in ttDNA (Fig.10). For *BRCA1* pathogenic variant the mean VAF was 67% in acftDNA and 63,3% in ttDNA and for *BRCA2* pathogenic variant it was 80% in acftDNA and 84,5 % in ttDNA.

For the 5 patients with non-contributive tumor DNA, we had matching acftDNA results that confirmed a *TP53* pathogenic variant in all and detected one patient with a pathogenic variant on the *BRCA2* gene.

Genomic instability Testing:

Every patient had had undergone genomic instability testing (Myriad MyChoice CDx) on a ttDNA sample. 40 patients had result available at the time of analyses with 25% (10/40) yielding a non-contributive result. Among them 7/10 had genomic instability testing on tumor tissue obtained at 1° laparoscopy and we had matching contributive results on acftDNA for those 10 patients. Among the 30 patients with successful tumor based genomic instability testing, 15 patients (50%) presented with GIS \geq 42. Genomic instability was measured on 18 acftDNA samples using shallow WGS (sWGS HRD). sWGS HRD was successful for all 18 samples even when DNA quality was considered poor (n=3) resulting in a 100% contributive genomic instability test

result. 15/18 samples acftDNA had very high quality and 10/18 acftDNA samples exhibited high genomic instability (LGA>20) thus confirming the feasibility of performing genomic instability testing on cftDNA from ascites or peritoneal washings.

Discussion:

We show for the 1st time the feasibility and clinical usefulness of performing HRD testing encompassing both *BRCA1/2* pathogenic variant analysis as well as genomic instability testing on cftDNA from peritoneal fluid obtained from patients with newly diagnosed advanced ovarian cancer. These ascitic samples yielded contributive cfDNA in 92,5% of cases overall, and in 100% of cases at primary surgical exploration. Importantly when cfDNA was detected, it was confirmed as tumoral in 96% of cases. acftDNA quality and quantity was excellent and median turn-around testing time was very acceptable at 21 days, shorter than tumoral analysis from sampling to result. Median TP53 VAF, an accepted surrogate for tumor cellularity in OC, was superior to 50%, highlighting the tumor DNA enrichment. Importantly, less than 20ml of ascites is required and acftDNA analysis was contributive even in patients with less than 100ml ascites. In an effort to evaluate how broadly applicable this approach may be, we previously showed that 98% of patients with newly diagnosed stage III/IV OC presented at least 100ml of free peritoneal fluid at primary surgical exploration and would have been candidate for a liquid biopsy approach. These data support that cfDNA from small volumes of direct or indirect ascites yields quality tumor derived DNA suitable for genomic analysis. Our next priority was to demonstrate the clinical usefulness of this liquid biopsy as a tool for HRD testing. *BRCA1/2* pathogenic variant were identified in 24% of acftDNA samples and for those with matching tumor NGS results, variant concordance was 93% with one *BRCA1* pathogenic variant detected in acftDNA but missed on ttDNA. Regarding genomic instability testing, test failure rate was high in ttDNA from tissue samples (25%). In contrast, genomic instability testing using a sWGS approach was feasible in 100% of acftDNA samples. Taken together these data suggest that acftDNA analysis from peritoneal fluid provides a suitable alternative for HRD testing on tissue and could be used in place of tumor testing and can provide a rescue strategy in the event of uninformative tumor testing.

All genomic testing whether it is on acftDNA or ttDNA should ideally be conducted on treatment naïve samples from initial diagnosis. However, in the event that genomic testing was not performed or failed at primary diagnosis, our results suggest that HRD testing can also be performed on ascites collected at interval debulking after neoadjuvant chemotherapy. We even confirmed the usefulness of peritoneal washings in patients without any free fluid as these yielded detectable cftDNA in 43% of cases.

When evaluating variant concordance between ttDNA and acftDNA, it was excellent at 95%. The only discordant cases were *BRCA1* and *TP53* pathogenic variant which were detected in acfDNA but missed on tissue. Importantly in 5 patients for whom tumor pathogenic variant analysis was non-contributive, NGS on cftDNA from ascites was informative and uncovered one pathogenic variant of *BRCA2* with obvious immediate implications for germline testing and treatment.

The determination of the HRD status is now mandatory for any high-grade ovarian cancer and can be obtained by CGP testing of *BRCA1* and *BRCA2* and genomic instability score. The two genomic instability scores used in registration clinical trials are the FoundationOne® cdx (Foundation Medicine®) and MyChoice® cdx (Myriad®). However, in our study, 25% of patient didn't have an informative HRD status because of non-contributive NGS or Myriad® GIS on tumor samples. The use of acfDNA could be a useful and faster alternative to tumor DNA analysis for *BRCA* pathogenic variant analysis as well as genomic instability score with alternative techniques. Indeed, in all acfDNA samples in our study, we were able to measure genomic instability using sWGS thus providing a proof of principle. sWGS HRD is based on the number of large-scale genomic alteration (LGA) which is defined as intra-chromosome arm CNA breaks with adjacent segments ≥ 10 Mb. While this specific algorithm has not yet been validated for clinical use in ovarian cancer, sWGS is now used by different academic and commercial algorithms. Our results support that genomic instability testing is feasible on cftDNA from peritoneal fluid.

Conclusion:

Tumor genomic profiling on cftDNA from peritoneal fluids is feasible, yields high quality and quantity tumor DNA. Importantly this approach has a fast testing turn-around time and only requires 20ml of ascites so that >95% of patients with

advanced OC would be eligible to this approach. This acftDNA is suitable for assessing HRD status combining both *BRCA1/2* pathogenic variant analysis and genomic instability score. This approach can even be of value in the rare event of absence of ascites by performing peritoneal washings. PARP inhibitors are bringing meaningful improvements in progression- free and overall survival to women with advanced ovarian cancer in case of *BRCA* or HRD status. Unfortunately, a significant proportion still ultimately relapse. Participation in clinical trials for relapsed disease almost invariably require archival tumor tissue. Any effort to save archival tumor tissue for later use in research trials or to guide biomarker driven treatment decisions in the future remains a priority.

FIGURES:

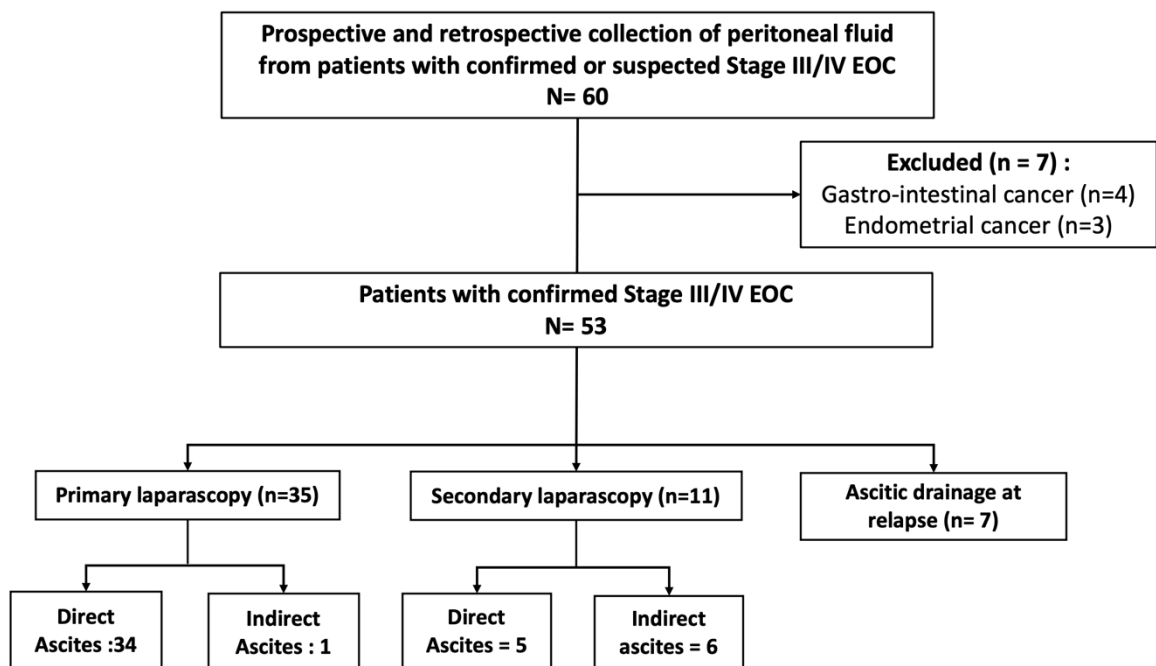


Figure 7. Flow Chart

	Total (N=53)
Age (years)	
Mean (SD)	65 (\pm 10)
ECOG at sample	
0	13 (25 %)
1	33 (62 %)
2	7 (13 %)
Histology	
Serous High Grade	47 (89 %)
Serous Low Grade	4 (8 %)
Endometrioid	2 (4 %)
Primary Tumor Location	
Ovary	44 (83 %)
Peritoneum	5 (9 %)
Fallopian tube	4 (8 %)
International FIGO stage	
II	1 (2 %)
III	32 (60 %)
IV	20 (38 %)
Type of sample	
Laparoscopy	46 (87 %)
Therapeutic paracentesis	7 (13 %)
Status at sample	
Primary Laparoscopy	35 (66 %)
Secondary Laparoscopy	11 (21 %)
Relapse	7 (13 %)
Amount of peritoneal fluid at sample	
Absence	7 (13 %)
<500 cc	10 (19 %)
500 to 1000 cc	12 (23 %)
>1000 cc	24 (45 %)

Table 1. Characteristics of the patient at baseline.

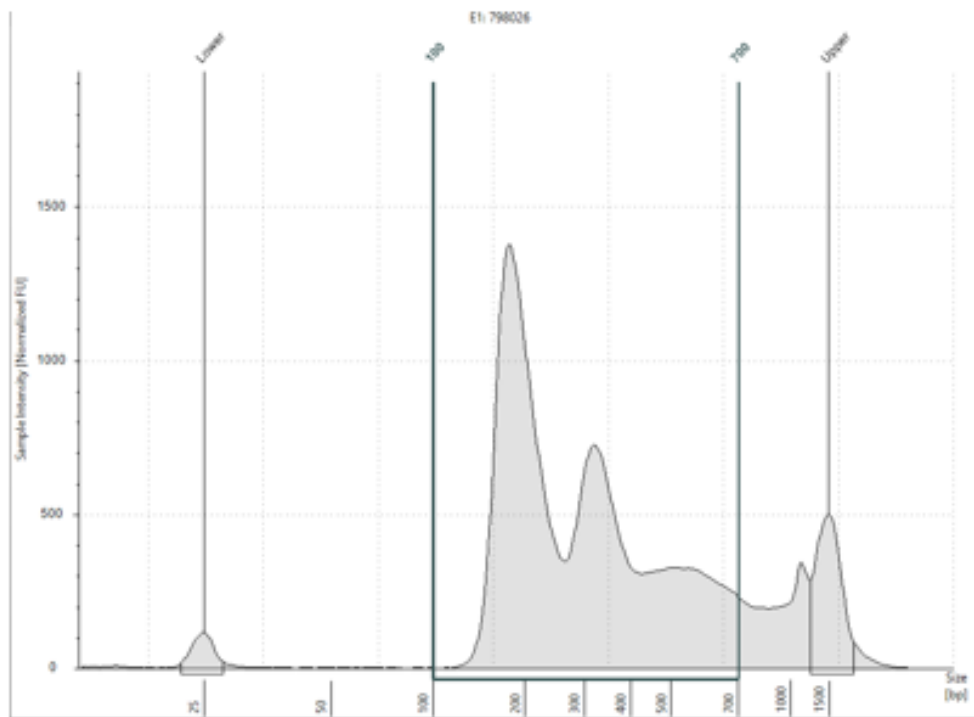


Figure 8. Example of electropherogram: sizing range of DNA detected in ascites.

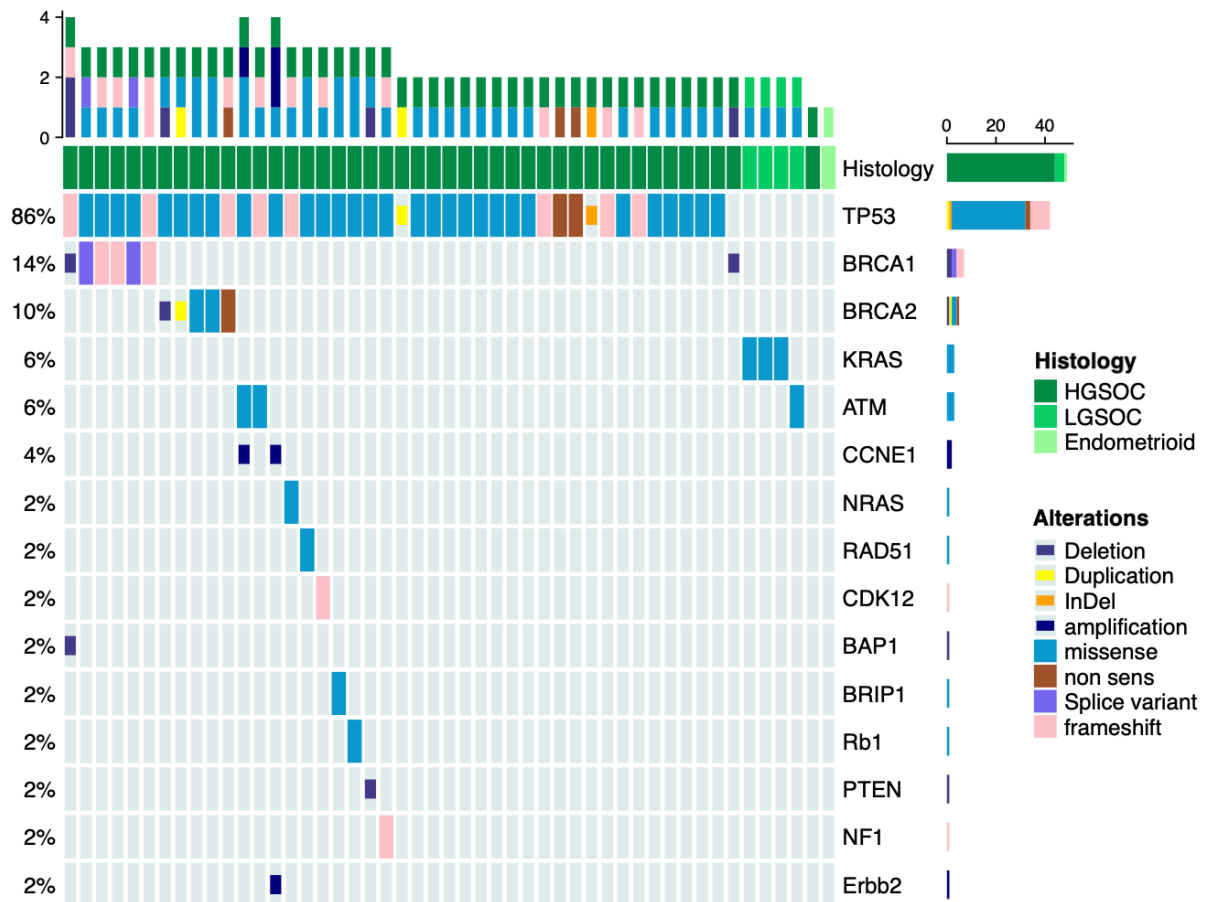


Figure 9. Oncoprint for CGP testing on cfDNA

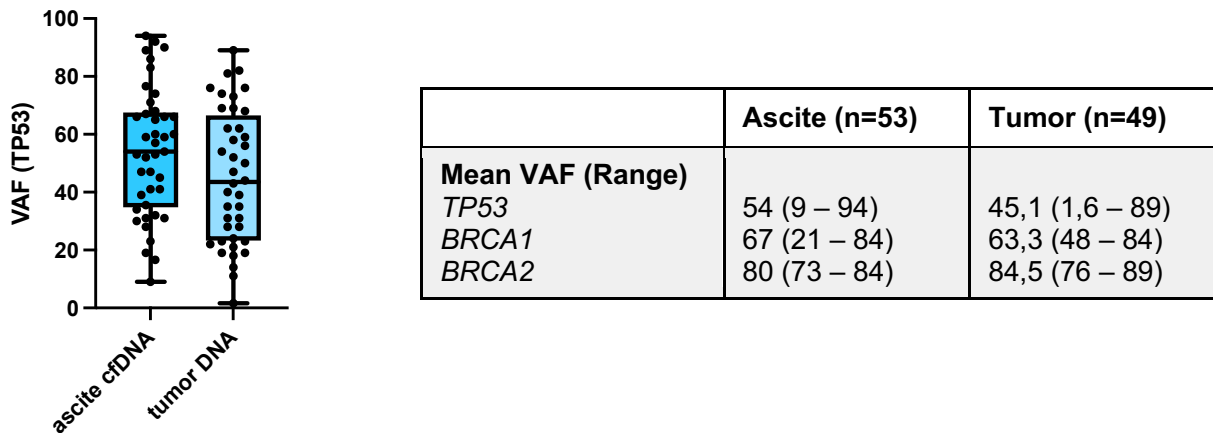


Figure 10. Mean variant allele frequency (VAF) in tumor tissue and ascites for TP53, BRCA1 and BRCA2.

	Total (N=4)
Histology	
Serous High Grade	3 (75 %)
Endometrioid	1 (25 %)
Type of Ascitis	
Indirect Ascites	4 (100 %)
Status at sample	
Primary Laparoscopy	0 (0 %)
Secondary Laparoscopy	4 (100 %)
Neoadjuvant treatment	
Carboplatine and Taxol	3 (75 %)
Caroboplatine and Gemcitabine	0 (0 %)
Missing	1 (25.0%)
Number of cycle of Chemotherapy	
Median (IQR)	3.5 (\pm 1.5)
Biological Response	
Yes	4 (100 %)
Radiographical Response	
Yes	4 (100 %)
Histological Response	
No	1 (25 %)
Yes	3 (75 %)

Table 2. Characteristics of patient without detection of cfDNA on ascites.

SUPPLEMENTARY DATA :

AKT1 (NM_005163.2 ; exon 3), **AKT2** (NM_001626.6 ; exon 3), **AKT3**(NM_005465.7 ; exon 2), **ALK** (NM_004304.4 ; exons 20 to 29), **APC** (NM_000038.5 ; exon 2 to 16), **AR** (NM_000044.6 ; exon 4 to 7), **ARID1A** (NM_006015.4 ; exons 1 to 20), **ATM** (NM_000051.3; exons 2 to 63), **BAP1** (NM_004656.3 ; exons 1 to 17), **BARD1** (NM_000465.3 ; exons 1 to 11), **BRAF** (NM_004333.6 ; exons 11 et 15), **BRCA1** (NM_007294.3 ; exons 2 to 3 et 5 to 24), **BRCA2** (NM_000059.3 ; exons 2 to 27), **BRIP1**(NM_032043.2 ; exons 2 to 20), **CCND1** (NM_053056.2 ; exon 1 to 5), **CCNE1** (NM_001238.3 ; exons 2 to 12), **CDH1** (NM_004360.4 ; exons 1 to 16), **CDK12** (NM_016507.3 ; exons 1 to 14), **CDK4** (NM_000075.4 ; exon 2), **CDK6** (NM_001259.7 ; exon 2 to 8), **CDKN2A** (NM_000077.4_p16)(NM_058195.3_p14), **CHEK2** (NM_007194.3 ; exons 2 to 15), **CREBBP** (NM_004380.3 ; exon 1 to 31), **CTNNB1** (NM_001904.3 ; exon 3), **CYP2D6** (NM_000106.6 ; exon 1 to 9), **DDR2** (NM_006182.3 ; exon 17), **DICER1** (NM_177438.2 ; exons 2 to 27), **DPYD**(NM_000110.4 ; exon 1 to 23), **EGFR** (NM_005228.5 ; exons 2 to 24), **ELP1** (NM_003640.5 ; exon 2 to 37), **ERBB2** (NM_004448.4 ; exons 8, 17 to 25), **ERBB3** (NM_001982.4 ; exon 3, 6, 8 to 9 et 17 to 23), **ESR1** (NM_000125.3 ; exons 4 to 8), **EZH2** (NM_004456.4 ; exon 16), **FANCA** (NM_000135.2 ; exons 1 to 43), **FBXW7** (NM_033632.3 ; exons 2 to 12), **FGFR1** (NM_023110.3 ; exons 4, 7, 12, 14 et 15), **FGFR2** (NM_000141.4 ; exons 3,7 to 9, 12, 14 et 17), **FGFR3**(NM_000142.4 ; exons 7, 9, 12, 14, 16 et 18), **FH** (NM_000143.3 ; exons 1 to 10), **FLCN** (NM_144997.7 ; exon 4 to 14), **FOXA1** (NM_004496.5 ; exon 2), **FOXL2** (NM_023067.4 ; exon 1), **GATA3** (NM_001002295.2 ; exon 2 to 6), **GNA11** (NM_002067.5 ; exon 4 et 5), **GNAQ** (NM_002072.5 ; exon 2, 4 et 5), **GNAS** (NM_000516.6 ; exon 6 , 8 et 9), **H3F3A** (NM_002107.4 ; exon 2), **HIST1H3B** (NM_003537.3 ; exon 1), **HOXB13** (NM_006361.5 ; exon 1 et 2), **HRAS** (NM_005343.3 ; exon 2 to 4), **IDH1** (NM_005896.3 ; exon 4), **IDH2** (NM_002168.3 ; exon 4), **KEAP1** (NM_203500.2 ; exon 2 to 6), **KIT** (NM_000222.2 ; exons 8 to 21), **KRAS** (NM_033360.5 ; exons 2 to 4), **MAP2K1** (NM_002755.3 ; exons 2 to 7), **MAP2K2** (NM_030662.3 ; exons 2 to 7), **MED12** (NM_005120.3 ; exon 2), **MEN1** (NM_130804.2 ; exon 3 to 11), **MET** (NM_001127500.3 ; exons 1 to 21), **MLH1** (NM_000249.3 ; exons 1 to 19), **MSH2** (NM_000251.2 ; exons 1 to 16), **MSH6** (NM_000179.2 ; exons 1 to 10), **MUTYH** (NM_001048171.1 ; exon 1 to 16), **MYCN** (NM_005378.6 ; exon 2), **MYO1D1** (NM_002478.4 ; exon 1), **NBN** (NM_002485.4 ; exon 1 to 16), **NF1** (NM_001042492.3 ; exon 1 to 58), **NFE2L2** (NM_006164.5 ; exon 2), **NRAS** (NM_002524.4 ; exon 2 to 4), **NTRK1** (NM_002529.3 ; exons 13 to 17), **NTRK2** (NM_006180.4 ; exons 17 to 21), **NTRK3** (NM_001012338.2 ; exon 15 to 20), **NUDT15** (NM_018283.4 ; exon 1 to 3), **PALB2** (NM_024675.3 ; exons 1 to 13), **PDGFRA** (NM_006206.5 ; exons 12 to 21), **PIK3CA** (NM_006218.2 ; exons 2 to 21), **PIK3R1** (NM_181523.3 ; exon 2 to 16), **PMS2** (NM_000535.6 ; exons 1 to 15), **POLD1** (NM_002691.3 ; exons 5 to 15 et 23 to 24), **POLE** (NM_006231.3 ; exons 9 to 28), **PPP2R1A** (NM_014225.5 ; exon 5 et 6), **PTEN** (NM_000314.8 ; exon 1 to 9), **RAC1** (NM_018890.4 ; exon 2), **RAD51** (NM_001164269.1 ; exon 2 to 10), **RAD51B** (NM_133509.3 ; exons 2 to 11), **RAD51C** (NM_058216.2 ; exon 1 to 9), **RAD51D** (NM_002878.3 ; exon 1 to 10), **RAD54L** (NM_001142548.1 ; exons 1 to 18), **RARA** (NM_000964.3 ; exon 5 to 9), **RB1** (NM_000321.2 ; exon 1 to 27), **RET** (NM_020975.6 ; exons 8 to 19), **RHOA** (NM_001664.4 ; exon 2), **RNF43** (NM_017763.5 ; exons 2 to 10), **ROS1** (NM_002944.2 ; exons 36 to 42), **SF3B1** (NM_012433.3 ; exons 13 to 20), **SMAD4** (NM_005359.6 ; exon 2 to 12), **SMARCA4** (NM_001128849.2 ; exon 2 to 36), **SMARCB1** (NM_001317946.2 ; exon 1 to 9), **SPOP** (NM_003563.3 ; exon 5 et 6), **STK11** (NM_000455.4 ; exon 1 to 9), **SUFU** (NM_016169.3 ; exon 1 to 12), **TERT** (NM_198253.3 ; promoteur) **TP53** (NM_000546.5 ; exon 1 to 11), **TPMT** (NM_000367.5 ; exon 2 to 9), **U2AF1** (NM_006758.3 ; exon 2), **UGT1A1** (NM_000463.3 ; exon 1 to 5), **VHL** (NM_000551.3 ; exon 1 to 3), **MSI** : 24 target.

Supp data 1. list of 109 gene included in CGP.

DISCUSSION

Nous avons réalisé une étude interventionnelle unicentrique française. Nous nous sommes intéressés (I) d'une part à confirmer l'intérêt de la réalisation de technique de NGS sur le cfDNA dans l'ascite des patientes avec un cancer de l'ovaire et (II) d'autre part d'évaluer la faisabilité des tests d'instabilité génomique évaluant le statut RH de ces tumeurs.

La présence d'ascite au diagnostic dans les cancers de l'ovaire est de l'ordre de 30 à 40% dans la littérature, cependant ce chiffre s'intéresse essentiellement à l'ascite clinique. Dans une analyse préliminaire, l'analyse des 100 dernières patientes avec une coelioscopie exploratrice première à Gustave Roussy avait retrouvé de l'ascite dans 98% des cas, pour les coelioscopies d'intervalle ce chiffre tombe à 43 % mais reste relativement élevé.

Nous avons ensuite analysé le cfDNA dans l'ascite (AcfDNA) de 19 patientes avec un cancer de l'ovaire prouvé, incluses entre 2016 et 2021 dans l'étude OVBIOMark ; puis nous avons prospectivement récupéré, entre janvier et aout 2022, le cfDNA dans l'ascite de patientes lors d'une ponction d'ascite à la rechute, ou lors d'une coelioscopie exploratoire (primaire ou d'intervalle). En l'absence d'ascite cliniquement décelable, nous avons réalisé des lavages péritonéaux pour réaliser ce que nous avons appelé de l'ascite « indirecte ».

La première partie de notre étude nous a permis de mettre en évidence l'importante quantité et qualité du cfDNA récupéré dans l'ascite, avec un taux de détection de ctDNA de 92,5% (49/53). Ce taux est de 100% lorsque l'on s'intéresse uniquement à l'ascite directe, et est indépendant du volume d'ascite car toutes les patientes avec un volume inférieur à 100ml avaient du cfDNA dans l'ascite.

La qualité de l'AcfDNA était importante, avec des pics entre 160 pb and 520 pb, montrant le caractère mono ou multi-nucléotidique du cfDNA. De plus, il existe une très faible quantité d'ADN de haut poids moléculaire.

Les VP les plus fréquent étaient les VP de *TP53* (86%), *BRCA1* (14%) et 2 (10%) avec des VAF comparable entre le tissu et l'ascite, voir même plus élevées pour les VP *TP53*, démontrant la forte charge tumorale des prélèvements d'ascite. De façon intéressante la VP de *TP53* était présente dans 98% des carcinomes ovariens de haut grade, prouvant aussi son intérêt en tant que marqueur de la présence de ce type de tumeurs. L'analyse comparée du tissu et de l'ascite montre un haut taux de concordance (95%) et l'utilisation de l'ascite nous a permis de découvrir une patiente présentant un VP *BRCA1* non retrouvé sur le tissu.

La seconde partie de notre étude s'est intéressée à l'utilisation du cfDNA de l'ascite pour réaliser un score d'instabilité génomique (GIS) . Nous avons sélectionné 18 patientes pour qui nous avons réalisé un score d'instabilité génomique utilisant une technique de shallowWGS. Dans notre cohorte, 25% de patientes avaient un échec de réalisation de la mesure du GIS avec le test Myriad. Parmi les 18 patientes, ce taux d'échec est de l'ordre 22%, ce qui est cohérent avec les chiffres retrouvés dans la littérature, bien que légèrement plus élevé (normalement de l'ordre de 15 à 19%). L'utilisation du sWGS nous a permis de rendre un score sur 100% de ces patientes avec un taux de score GIS élevée (marquant le statut HRD) pour 55% de ces patientes.

Notre étude représente donc la première étude évaluant la faisabilité du GIS sur l'acftDNA, et confirme prospectivement sur une plus grande cohorte l'intérêt et la faisabilité de l'analyse d'un panel de gène grâce au NGS sur l'acftDNA.

Une des forces de notre étude est d'avoir pu évaluer nos patientes à différentes étapes de leur maladie (coelioscopie primaire, intervalle et rechute) nous permettant de montrer que l'analyse du acftDNA a sa place tout au long de l'histoire de la maladie.

De plus, notre étude évalue des patientes ayant eu une analyse d'ascite indirecte avec un taux de détection de cftDNA de 43%. Ainsi, l'utilisation de lavages péritonéaux chez des patientes n'ayant pas d'ascite (comme les tumeurs de stades précoces) pourrait devenir un champ d'intérêt à explorer.

L'aspect en partie prospectif de notre étude montre l'applicabilité en pratique clinique de cette approche.

L'utilisation du sWGS peut représenter une approche peu sensible dans la détection de variant pathogène notamment lorsqu'il existe un fort contenu en base G et C (« GC bias ») et nécessite donc une forte cellularité. Cependant, ce problème est surmonté par la forte concentration en acfDNA. Inversement, le sWGS représente une technique moins onéreuse et plus rapide que le WGS qui est aujourd'hui celle avec les meilleurs résultats en terme de détection de VP BRCA1/2 (HRDetect : AUC : 0,98)(27) mais n'a pas encore été étudié en tant que marqueur prédictif de réponse au inhibiteurs de PARP.

L'acfdDNA présente plusieurs avantages comparés aux techniques de cfDNA dans le plasma. Le principal avantage est la qualité et la quantité de l'ADN retrouvé dans l'ascite. Aujourd'hui l'analyse du cfDNA dans le plasma nécessite des techniques hypersensibles afin de détecter des variants avec des VAF faibles du fait d'une faible quantité de ctDNA dans le plasma et de sa courte demi-vie, ce qui n'est pas le cas avec le ascfdDNA. Ainsi, son application est beaucoup plus simple en pratique clinique dans des centres qui n'auraient pas accès à des essais cliniques de profilage génomique sur cfDNA dans le plasma.

L'autre avantage est l'utilisation de acfdDNA dans les ascites indirectes, ce qui nous permettrait de l'utiliser dans les tumeurs de stade précoce. Ces tumeurs n'ont d'ordinaire pas ou peu de cfDNA détecté dans le plasma.

L'utilisation du acfdDNA, par sa forte teneur en cftDNA, peut s'élargir à d'autres champs d'intérêt.

Sur le plan diagnostique, l'utilisation du acftDNA pourrait, lorsque positif, nous permettre de nous passer de l'analyse génomique de la tumeur. L'utilisation de plus en plus grandissante de projets de séquençage des tumeurs nécessite d'avoir à disposition une certaine quantité de tissus qui pourrait donc être épargnée par l'utilisation d'acftDNA. De plus, au même titre que le ctDNA dans le plasma, on peut penser que ce acftDNA nous permettrait de prendre en compte l'hétérogénéité tumorale inhérente au développement tumoral.

Au-delà du GIS et des panels de gènes il est possible d'utiliser le acftDNA pour d'autres analyses comme la recherche de statuts MSI par test RER lorsque nécessaire. Dans notre étude, deux patientes (avec un cancer du côlon et un cancer de l'endomètre) ont pu avoir un diagnostic de tumeur MSI sur l'acfdDNA qui n'était pas retrouvé sur la tumeur.

L'acftDNA pourrait aussi nous permettre, par des techniques de méthylation, d'avoir des arguments supplémentaires pour préciser la localisation du primitif, notamment

face à une tumeur séreuse de haut grade pour laquelle il serait difficile de différencier un primitif endométrial d'un primitif ovarien.

Sur le plan pronostic, des études complémentaires seraient nécessaires pour essayer d'évaluer l'impact pronostic de la présence et de la concentration du acftDNA lors de la coelioscopie exploratrice mais aussi lors du suivi. On pourrait par exemple imaginer l'évaluation de la décroissance de acftDNA entre la coelioscopie primaire et secondaire, ou bien de la présence d'acftDNA à la coelioscopie secondaire comme marqueurs pronostic. Ces questions feront d'ailleurs l'objet d'un autre travail.

Enfin, aujourd'hui, le champ de la biopsie liquide ne se limite plus à l'analyse de l'ADN. Il existe de nombreux autres composants des tumeurs qui peuvent circuler et qui ont déjà été évalués dans les biopsies liquides plasmatiques, parmi lesquels on peut citer les cellules tumorales circulantes (CTC), le cell-free ARN, les exosomes, les plaquettes éduquées par la tumeur (ou TEP en anglais).

L'utilisation de l'ascite pourrait enfin être étendue à l'analyse de ces autres composants tumoraux circulants avec une rentabilité plus importante que les biopsies liquides plasmatiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. Torre LA, Trabert B, DeSantis CE, Miller KD, Samimi G, Runowicz CD, et al. Ovarian cancer statistics, 2018. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2018;68(4):284-96.
2. Bryant HE, Schultz N, Thomas HD, Parker KM, Flower D, Lopez E, et al. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. *Nature*. 14 avr 2005;434(7035):913-7.
3. Farmer H, McCabe N, Lord CJ, Tutt ANJ, Johnson DA, Richardson TB, et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature*. 14 avr 2005;434(7035):917-21.
4. Pujade-Lauraine E, Ledermann JA, Selle F, Gebski V, Penson RT, Oza AM, 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. *The Lancet Oncology*. sept 2017;18(9):1274-84.
5. Moore K, Colombo N, Scambia G, Kim BG, Oaknin A, Friedlander M, et al. Maintenance Olaparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *New England Journal of Medicine*. 27 déc 2018;379(26):2495-505.
6. Coleman RL, Oza AM, Lorusso D, Aghajanian C, Oaknin A, Dean A, et al. Rucaparib maintenance treatment for recurrent ovarian carcinoma after response to platinum therapy (ARIEL3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet*. oct 2017;390(10106):1949-61.
7. Mirza MR, Monk BJ, Herrstedt J, Oza AM, Mahner S, Redondo A, et al. Niraparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive, Recurrent Ovarian Cancer. *New England Journal of Medicine*. déc 2016;375(22):2154-64.
8. González-Martín A, Pothuri B, Vergote I, DePont Christensen R, Graybill W, Mirza MR, et al. Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N Engl J Med*. 19 déc 2019;381(25):2391-402.
9. The Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*. 30 juin 2011;474(7353):609-15.
10. Pal T, Permuth-Wey J, Betts JA, Krischer JP, Fiorica J, Arango H, et al. *BRCA1* and *BRCA2* mutations account for a large proportion of ovarian carcinoma cases: *BRCA1* and *BRCA2* in Women with Ovarian Ca. *Cancer*. 15 déc 2005;104(12):2807-16.
11. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DEC, Rosen B, Bradley L, Fan I, et al. Population BRCA1 and BRCA2 Mutation Frequencies and Cancer Penetrances: A Kin-Cohort Study in Ontario, Canada. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 6 déc 2006;98(23):1694-706.
12. Hodgson DR, Brown JS, Dearden SP, Lai Z, Elks CE, Milenkova T, et al. Concordance of BRCA mutation detection in tumor versus blood, and frequency of bi-allelic loss of BRCA in tumors from patients in the phase III SOLO2 trial. *Gynecol Oncol*. déc 2021;163(3):563-8.
13. Joly F, Ray-Coquard I. Mise à jour 2021 des recommandations pour la pratique clinique de Nice/Saint-Paul-de-Vence dans le cancer de l'ovaire épithélial de haut grade: Updated 2021 recommendations for the clinical practice of Nice/Saint-Paul-de-Vence in epithelial high grade ovarian cancer. *Bulletin du Cancer*. 1 déc 2021;108(9, Supplement 1):S1-4.
14. Pujade-Lauraine E, Brown J, Barnicle A, Wessen J, Lao-Sirieix P, Criscione SW, et al. Homologous Recombination Repair Gene Mutations to Predict Olaparib Plus Bevacizumab

- Efficacy in the First-Line Ovarian Cancer PAOLA-1/ENGOT-ov25 Trial. *JCO Precision Oncology*. mars 2023;(7):e2200258.
15. Kondrashova O, Topp M, Nestic K, Lieschke E, Ho GY, Harrell MI, et al. Methylation of all BRCA1 copies predicts response to the PARP inhibitor rucaparib in ovarian carcinoma. *Nat Commun*. 28 sept 2018;9(1):3970.
 16. Rucaparib in relapsed, platinum-sensitive high-grade ovarian carcinoma (ARIEL2 Part 1): an international, multicentre, open-label, phase 2 trial - *The Lancet Oncology* [Internet]. [cité 21 févr 2022]. Disponible sur: [https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045\(16\)30559-9/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(16)30559-9/fulltext)
 17. Stefansson OA, Jonasson JG, Johannsson OT, Olafsdottir K, Steinarsdottir M, Valgeirsdottir S, et al. Genomic profiling of breast tumours in relation to BRCA abnormalities and phenotypes. *Breast Cancer Res*. août 2009;11(4):R47.
 18. Abkevich V, Timms KM, Hennessy BT, Potter J, Carey MS, Meyer LA, et al. Patterns of genomic loss of heterozygosity predict homologous recombination repair defects in epithelial ovarian cancer. *Br J Cancer*. nov 2012;107(10):1776-82.
 19. Popova T, Manié E, Rieunier G, Caux-Moncoutier V, Tirapo C, Dubois T, et al. Ploidy and Large-Scale Genomic Instability Consistently Identify Basal-like Breast Carcinomas with *BRCA1/2* Inactivation. *Cancer Res*. 1 nov 2012;72(21):5454-62.
 20. Birkbak NJ, Wang ZC, Kim JY, Eklund AC, Li Q, Tian R, et al. Telomeric Allelic Imbalance Indicates Defective DNA Repair and Sensitivity to DNA-Damaging Agents. *Cancer Discovery*. avr 2012;2(4):366-75.
 21. de Luca XM, Newell F, Kazakoff SH, Hartel G, McCart Reed AE, Holmes O, et al. Using whole-genome sequencing data to derive the homologous recombination deficiency scores. *npj Breast Cancer*. déc 2020;6(1):33.
 22. Sztupinszki Z, Diossy M, Krzystanek M, Reiniger L, Csabai I, Favero F, et al. Migrating the SNP array-based homologous recombination deficiency measures to next generation sequencing data of breast cancer. *npj Breast Cancer*. déc 2018;4(1):16.
 23. Ray-Coquard I, Pautier P, Pignata S, Pérol D, González-Martín A, Berger R, et al. Olaparib plus Bevacizumab as First-Line Maintenance in Ovarian Cancer. *N Engl J Med*. 19 déc 2019;381(25):2416-28.
 24. Koh G, Degasperi A, Zou X, Momen S, Nik-Zainal S. Mutational signatures: emerging concepts, caveats and clinical applications. *Nat Rev Cancer*. oct 2021;21(10):619-37.
 25. Gulhan DC, Lee JJK, Melloni GEM, Cortés-Ciriano I, Park PJ. Detecting the mutational signature of homologous recombination deficiency in clinical samples. *Nat Genet*. mai 2019;51(5):912-9.
 26. Miller RE, Leary A, Scott CL, Serra V, Lord CJ, Bowtell D, et al. ESMO recommendations on predictive biomarker testing for homologous recombination deficiency and PARP inhibitor benefit in ovarian cancer. *Annals of Oncology*. déc 2020;31(12):1606-22.
 27. Davies H, Glodzik D, Morganella S, Yates LR, Staaf J, Zou X, et al. HRDetect is a predictor of BRCA1 and BRCA2 deficiency based on mutational signatures. *Nat Med*. avr 2017;23(4):517-25.
 28. Zhao EY, Shen Y, Pleasance E, Kasaian K, Leelakumari S, Jones M, et al. Homologous Recombination Deficiency and Platinum-Based Therapy Outcomes in Advanced Breast Cancer. *Clin Cancer Res*. 15 déc 2017;23(24):7521-30.
 29. Eeckhoutte A, Houy A, Manié E, Reverdy M, Bièche I, Marangoni E, et al. ShallowHRD: detection of homologous recombination deficiency from shallow whole genome sequencing. *Birol I, éditeur. Bioinformatics*. 1 juin 2020;36(12):3888-9.
 30. Llop-Guevara A, Loibl S, Villacampa G, Vladimirova V, Schneeweiss A, Karn T, et al. Association of RAD51 with homologous recombination deficiency (HRD) and clinical

- outcomes in untreated triple-negative breast cancer (TNBC): analysis of the GeparSixto randomized clinical trial. *Annals of Oncology*. déc 2021;32(12):1590-6.
31. Blanc-Durand F, Yaniz E, Genestie C, Rouleau E, Berton D, Lortholary A, et al. Evaluation of a RAD51 functional assay in advanced ovarian cancer, a GINECO/GINEGEPS study. *JCO*. 20 mai 2021;39(15_suppl):5513-5513.
 32. Mandel P, Metais P. Nuclear Acids In Human Blood Plasma. *C R Seances Soc Biol Fil*. févr 1948;142(3-4):241-3.
 33. Watson JD, Crick FHC. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature*. avr 1953;171(4356):737-8.
 34. Borenstein S, Ephrati-Elizur E. Spontaneous release of DNA in sequential genetic order by *Bacillus subtilis*. *Journal of Molecular Biology*. 14 oct 1969;45(1):137-52.
 35. Ottolenghi E, Hotchkiss RD. Appearance of genetic transforming activity in pneumococcal cultures. *Science*. 28 oct 1960;132(3435):1257-8.
 36. Ottolenghi E, Hotchkiss RD. Release of genetic transforming agent from pneumococcal cultures during growth and disintegration. *J Exp Med*. 1 oct 1962;116:491-519.
 37. Anker P, Stroun M, Maurice PA. Spontaneous release of DNA by human blood lymphocytes as shown in an in vitro system. *Cancer Res*. sept 1975;35(9):2375-82.
 38. Tan EM, Schur PH, Carr RI, Kunkel HG. Deoxybonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest*. nov 1966;45(11):1732-40.
 39. Barnett EV. Detection of nuclear antigens (DNA) in normal and pathologic human fluids by quantitative complement fixation. *Arthritis Rheum*. juin 1968;11(3):407-17.
 40. Klemp P, Meyers OL, Harley EH. Measurement of plasma DNA by a physiochemical method: relevance in SLE. *Ann Rheum Dis*. déc 1981;40(6):593-9.
 41. Dennin RH. DNA of free and complexed origin in human plasma: concentration and length distribution. *Klin Wochenschr*. 3 mai 1979;57(9):451-6.
 42. Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, Yaros MJ. Free DNA in the Serum of Cancer Patients and the Effect of Therapy. 1977;5.
 43. Stroun M, Anker P, Maurice P, Lyautey J, Lederrey C, Beljanski M. Neoplastic characteristics of the DNA found in the plasma of cancer patients. *Oncology*. 1989;46(5):318-22.
 44. Vasioukhin V, Anker P, Maurice P, Lyautey J, Lederrey C, Stroun M. Point mutations of the N-ras gene in the blood plasma DNA of patients with myelodysplastic syndrome or acute myelogenous leukaemia. *Br J Haematol*. avr 1994;86(4):774-9.
 45. Sorenson GD, Pribish DM, Valone FH, Memoli VA, Bzik DJ, Yao SL. Soluble normal and mutated DNA sequences from single-copy genes in human blood. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. févr 1994;3(1):67-71.
 46. Anker P, Lefort F, Vasioukhin V, Lyautey J, Lederrey C, Chen XQ, et al. K-ras mutations are found in DNA extracted from the plasma of patients with colorectal cancer. *Gastroenterology*. avr 1997;112(4):1114-20.
 47. Moss J, Magenheim J, Neiman D, Zemmour H, Loyfer N, Korach A, et al. Comprehensive human cell-type methylation atlas reveals origins of circulating cell-free DNA in health and disease. *Nat Commun*. 29 nov 2018;9(1):5068.
 48. Sun K, Jiang P, Chan KCA, Wong J, Cheng YKY, Liang RHS, et al. Plasma DNA tissue mapping by genome-wide methylation sequencing for noninvasive prenatal, cancer, and transplantation assessments. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 6 oct 2015;112(40):E5503-12.
 49. JCI Insight - Liquid biopsy reveals collateral tissue damage in cancer [Internet]. [cité 12 nov 2022]. Disponible sur: <https://insight.jci.org/articles/view/153559>
 50. Thierry AR, El Messaoudi S, Gahan PB, Anker P, Stroun M. Origins, structures, and functions of circulating DNA in oncology. *Cancer Metastasis Rev*. 2016;35(3):347-76.

51. Mouliere F, El Messaoudi S, Gongora C, Guedj AS, Robert B, Del Rio M, et al. Circulating Cell-Free DNA from Colorectal Cancer Patients May Reveal High KRAS or BRAF Mutation Load. *Transl Oncol.* juin 2013;6(3):319-28.
52. Clinical validation of the detection of KRAS and BRAF mutations from circulating tumor DNA | *Nature Medicine* [Internet]. [cité 12 nov 2022]. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/nm.3511>
53. Merker JD, Oxnard GR, Compton C, Diehn M, Hurley P, Lazar AJ, et al. Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review. *J Clin Oncol.* 1 juin 2018;36(16):1631-41.
54. Jahr S, Hentze H, Englisch S, Hardt D, Fackelmayer FO, Hesch RD, et al. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. *Cancer Res.* 15 févr 2001;61(4):1659-65.
55. Rostami A, Lambie M, Yu CW, Stambolic V, Waldron JN, Bratman SV. Senescence, Necrosis, and Apoptosis Govern Circulating Cell-free DNA Release Kinetics. *Cell Rep.* 30 juin 2020;31(13):107830.
56. Heitzer E, Auinger L, Speicher MR. Cell-Free DNA and Apoptosis: How Dead Cells Inform About the Living. *Trends Mol Med.* mai 2020;26(5):519-28.
57. Sanchez C, Roch B, Mazard T, Blache P, Dache ZAA, Pastor B, et al. Circulating nuclear DNA structural features, origins, and complete size profile revealed by fragmentomics. *JCI Insight.* 8 avr 2021;6(7):e144561, 144561.
58. Hudecova I, Smith CG, Hänsel-Hertsch R, Chilamakuri CS, Morris JA, Vijayaraghavan A, et al. Characteristics, origin, and potential for cancer diagnostics of ultrashort plasma cell-free DNA. *Genome Res.* févr 2022;32(2):215-27.
59. Jiang P, Sun K, Peng W, Cheng SH, Ni M, Yeung PC, et al. Plasma DNA End-Motif Profiling as a Fragmentomic Marker in Cancer, Pregnancy, and Transplantation. *Cancer Discov.* mai 2020;10(5):664-73.
60. Jiang P, Sun K, Peng W, Cheng SH, Ni M, Yeung PC, et al. Plasma DNA End-Motif Profiling as a Fragmentomic Marker in Cancer, Pregnancy, and Transplantation. *Cancer Discov.* mai 2020;10(5):664-73.
61. Dobrzycka B, Terlikowski SJ, Kinalski M, Kowalczyk O, Niklinska W, Chyczewski L. Circulating free DNA and p53 antibodies in plasma of patients with ovarian epithelial cancers. *Ann Oncol.* mai 2011;22(5):1133-40.
62. Kamat AA, Baldwin M, Urbauer D, Dang D, Han LY, Godwin A, et al. Plasma Cell-free DNA in Ovarian Cancer: An Independent Prognostic Biomarker. *Cancer.* 15 avr 2010;116(8):1918-25.
63. Pereira E, Camacho-Vanegas O, Anand S, Sebra R, Catalina Camacho S, Garnar-Wortzel L, et al. Personalized Circulating Tumor DNA Biomarkers Dynamically Predict Treatment Response and Survival In Gynecologic Cancers. Samimi G, éditeur. *PLoS ONE.* 30 déc 2015;10(12):e0145754.
64. Capizzi E, Gabusi E, Grigioni AD, De Iaco P, Rosati M, Zamagni C, et al. Quantification of free plasma DNA before and after chemotherapy in patients with advanced epithelial ovarian cancer. *Diagn Mol Pathol.* mars 2008;17(1):34-8.
65. Parkinson CA, Gale D, Piskorz AM, Biggs H, Hodgkin C, Addley H, et al. Exploratory Analysis of TP53 Mutations in Circulating Tumour DNA as Biomarkers of Treatment Response for Patients with Relapsed High-Grade Serous Ovarian Carcinoma: A Retrospective Study. *PLoS Med.* déc 2016;13(12):e1002198.
66. Park YR, Kim YM, Lee SW, Lee HY, Lee GE, Lee JE, et al. Optimization to detect TP53 mutations in circulating cell-free tumor DNA from patients with serous epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol Sci.* mai 2018;61(3):328-36.
67. Ratajska M, Koczkowska M, Żuk M, Gorczyński A, Kuźniacka A, Stukan M, et al.

- Detection of BRCA1/2 mutations in circulating tumor DNA from patients with ovarian cancer. *Oncotarget*. 8 sept 2017;8(60):101325-32.
68. Lin KK, Harrell MI, Oza AM, Oaknin A, Ray-Coquard I, Tinker AV, 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*. févr 2019;9(2):210-9.
 69. Weigelt B, Comino-Méndez I, de Bruijn I, Tian L, Meisel JL, García-Murillas I, et al. Diverse BRCA1 and BRCA2 Reversion Mutations in Circulating Cell-Free DNA of Therapy-Resistant Breast or Ovarian Cancer. *Clin Cancer Res*. 1 nov 2017;23(21):6708-20.
 70. Minato T, Ito S, Li B, Fujimori H, Mochizuki M, Yamaguchi K, et al. Liquid biopsy with droplet digital PCR targeted to specific mutations in plasma cell-free tumor DNA can detect ovarian cancer recurrence earlier than CA125. *Gynecologic Oncology Reports*. nov 2021;38:100847.
 71. Randomized Trial of Cytoreductive Surgery for Relapsed Ovarian Cancer | NEJM [Internet]. [cité 27 nov 2022]. Disponible sur: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa2103294>
 72. Werner B, Yuwono N, Duggan J, Liu D, David C, Srirangan S, et al. Cell-free DNA is abundant in ascites and represents a liquid biopsy of ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*. 1 sept 2021;162(3):720-7.
 73. Han MR, Lee SH, Park JY, Hong H, Ho JY, Hur SY, et al. Clinical Implications of Circulating Tumor DNA from Ascites and Serial Plasma in Ovarian Cancer. *Cancer Res Treat*. juill 2020;52(3):779-88.
 74. Konstantinopoulos PA, Ceccaldi R, Shapiro GI, D'Andrea AD. Homologous Recombination Deficiency: Exploiting the Fundamental Vulnerability of Ovarian Cancer. *Cancer Discovery*. nov 2015;5(11):1137-54.
 75. Veliparib with First-Line Chemotherapy and as Maintenance Therapy in Ovarian Cancer | NEJM [Internet]. [cité 6 févr 2023]. Disponible sur: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1909707>
 76. Monk BJ, Parkinson C, Lim MC, O'Malley DM, Oaknin A, Wilson MK, et al. A Randomized, Phase III Trial to Evaluate Rucaparib Monotherapy as Maintenance Treatment in Patients With Newly Diagnosed Ovarian Cancer (ATHENA-MONO/GOG-3020/ENGOT-ov45). *J Clin Oncol*. 6 juin 2022;JCO2201003.
 77. Lheureux S, Gourley C, Vergote I, Oza AM. Epithelial ovarian cancer. *The Lancet*. mars 2019;393(10177):1240-53.
 78. Tivey A, Church M, Rothwell D, Dive C, Cook N. Circulating tumour DNA — looking beyond the blood. *Nat Rev Clin Oncol*. sept 2022;19(9):600-12.
 79. Bayle A, Belcaid L, Aldea M, Vasseur D, Peyraud F, Nicotra C, et al. Clinical utility of circulating tumor DNA sequencing with a large panel: a National Center for Precision Medicine (PRISM) study. *Annals of Oncology* [Internet]. 25 janv 2023 [cité 9 févr 2023];0(0). Disponible sur: [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(23\)00046-7/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(23)00046-7/fulltext)
 80. Pascual J, Attard G, Bidard FC, Curigliano G, De Mattos-Arruda L, Diehn M, et al. ESMO recommendations on the use of circulating tumour DNA assays for patients with cancer: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Annals of Oncology*. août 2022;33(8):750-68.
 81. Zhou S, Xu B, Qi L, Zhu D, Liu B, Wei J. Next-generation sequencing reveals mutational accordance between cell-free DNA from plasma, malignant pleural effusion and ascites and directs targeted therapy in a gastric cancer patient. *Cancer Biol Ther*. 2019;20(1):15-20.
 82. Husain H, Nykin D, Bui N, Quan D, Gomez G, Woodward B, et al. Cell-Free DNA

from Ascites and Pleural Effusions: Molecular Insights into Genomic Aberrations and Disease Biology. *Mol Cancer Ther.* mai 2017;16(5):948-55.

Liste des Professeurs des Universités de la Faculté de médecine Sorbonne Université

ACAR CHRISTOPHE - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie thoracique et cardio vasculaire
AIT OUFELLA HAFID - Saint Antoine - Médecine intensive-réanimation
ALAMOWITCH SONIA - Saint Antoine - Neurologie
ALLENBACH YVES - Pitié-Salpêtrière - Médecine interne . Gériatrie
AMARENCO GERARD - Tenon - Médecine Physique et Réadaptation
AMOURA ZAHIR - Pitié-Salpêtrière - Médecine interne . Gériatrie
AMSELEM SERGE - Armand Trousseau - Génétique
ANDRE THIERRY - Saint Antoine - Cancérologie ; Radiothérapie
ANDREELLI FABRIZIO - Pitié-Salpêtrière - Endocrinologie
APARTIS EMMANUELLE - Saint Antoine - Physiologie
ARNULF ISABELLE - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
ARRIVE LIONEL - Saint Antoine - Radiologie et imagerie médicale
ASSOUAD JALAL - Tenon - Chirurgie thoracique et cardio vasculaire
ASTAGNEAU PASCAL - Pitié-Salpêtrière - Epidémiologie
ATLAN MICHAEL - Tenon - Chirurgie plastique reconstructrice
AUBART COHEN FLEUR - Pitié-Salpêtrière - Médecine interne . Gériatrie
AUBRY ALEXANDRA - Pitié-Salpêtrière - Bactériologie - Virologie - Hygiène
AUCOUTURIER PIERRE - Saint Antoine - Immunologie
AUDO ISABELLE - 15/20 - Ophtalmologie
AUDRY GEORGES - Armand Trousseau - Chirurgie infantile
BACHELOT ANNE - Pitié-Salpêtrière - Endocrinologie
BACHET JEAN BAPTISTE - Pitié-Salpêtrière - Gastro entérologie ; Hépatologie
BAGNIS CORINNE - Pitié-Salpêtrière - Néphrologie
BALLADUR PIERRE - Saint-Antoine - Chirurgie viscérale et digestive
BARBAUD ANNICK - Tenon - Dermatologie
BARROU BENOIT - Pitié-Salpêtrière - Urologie
BAUJAT BERTRAND - Tenon - ORL
BAZOT MARC - Tenon - Radiologie et imagerie médicale
BEAUGERIE LAURENT - Saint-Antoine - Gastro entérologie ; Hépatologie
BELMIN JOEL - Charles-Foix - Médecine interne . Gériatrie
BENVENISTE OLIVIER - Pitié-Salpêtrière - Médecine interne . Gériatrie
BERENBAUM FRANCIS – Saint-Antoine - Rhumatologie
BERTOLUS CHLOE - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
BIELLE FRANCK - Saint-Antoine - Anatomie pathologique
BILLETTE VILLEMEUR THIERRY - Armand Trousseau - Pédiatrie
BLONDIAUX ELEONORE - Tenon - Radiologie et imagerie médicale
BOCCARA FRANCK - Saint Antoine - Cardiologie
BODAGHI BAHRAM - Pitié-Salpêtrière - Ophtalmologie
BODDAERT JACQUES - Pitié-Salpêtrière - Médecine interne . Gériatrie
BOELLE PIERRE-YVES - Saint Antoine - Biostatistiques, Informatique médicale
BOFFA JEAN JACQUES - Tenon - Néphrologie
BONNET MARIE-PIERRE - Armand Trousseau - Anesthésiologie-Réanimation et méd
6
BONNET FRANCIS - Armand Trousseau - Anesthésiologie-Réanimation et méd
BORDERIE VINCENT - 15/20 - Ophtalmologie
BOUHERAOUA NACIM - Pitié-Salpêtrière - Ophtalmologie
BRICE ALEXIS - Pitié-Salpêtrière - Génétique
BROCHERIOU-SPELLE ISABELLE - Pitié-Salpêtrière - Anatomie pathologique
BRUCKERT ERIC - Pitié-Salpêtrière - Endocrinologie

BUOB DAVID - Tenon - Anatomie pathologique
 CACOUB PATRICE - Pitié-Salpêtrière - Médecine interne . Gériatrie
 CADRANEL JACQUES - Tenon - Pneumologie
 CALVEZ VINCENT - Pitié-Salpêtrière - Bactériologie - Virologie - Hygiène
 CANLORBE GEOFFROY - Pitié-Salpêtrière - Gynécologie obstétrique ; Gynéco médicale
 CARBAJAL SANCHEZ DIOMEDES - Armand Trousseau - Pédiatrie
 CARPENTIER ALEXANDRE - Pitié-Salpêtrière - Neurochirurgie
 CARRAT FABRICE - Saint Antoine - Biostatistiques, Informatique médicale et
 CARRIE ALAIN - Pitié-Salpêtrière - Biochimie et biologie moléculaire
 CATALA MARTIN - Pitié-Salpêtrière - Histologie embryo et cytogénétique
 CAUMES ERIC - Pitié-Salpêtrière - Maladies infectieuses
 CHABBERT BUFFET NATHALIE - Tenon - Endocrinologie
 CHAPPUY HELENE - Armand Trousseau - Pédiatrie
 CHARRON PHILIPPE - Pitié-Salpêtrière - Génétique
 CHARTIER-KASTLER EMMANUEL - Pitié-Salpêtrière - Urologie
 CHAZOUILLERES OLIVIER - Saint Antoine - Gastro entérologie ; Hépatologie
 CHERIN PATRICK - Pitié-Salpêtrière - Médecine interne . Gériatrie
 CHICHE LAURENT - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire
 CHRISTIN-MAITRE SOPHIE - Saint Antoine - Endocrinologie
 CLARENCON FREDERIC - Pitié-Salpêtrière - Radiologie et imagerie médicale
 CLEMENT KARINE - Pitié-Salpêtrière - Nutrition
 CLUZEL PHILIPPE - Pitié-Salpêtrière - Radiologie et imagerie médicale
 COHEN DAVID - Saint Antoine - Cancérologie ; Radiothérapie
 COHEN ELIE LAURENT - Saint Antoine - Cancérologie ; Radiothérapie
 COHEN ARON ARIEL - Saint Antoine - Cancérologie ; Radiothérapie
 COLLET JEAN-PHILIPPE - Pitié-Salpêtrière - Cardiologie
 COMBES ALAIN - Pitié-Salpêtrière - Médecine intensive-réanimation
 COMPERAT EVA - Tenon -Anatomie pathologique
 CONSTANT ISABELLE - Armand Trousseau - Anesthésiologie-Réanimation et méd
 CONSTANTIN JEAN-MICHEL - Pitié-Salpêtrière - Anesthésiologie-Réanimation et méd
 CONTI MOLLO FILOMENA - Pitié-Salpêtrière - Biologie cellulaire
 COPPO PAUL - Saint Antoine - Hématologie clinique
 CORNU PHILIPPE - Pitié-Salpêtrière - Neurochirurgie
 CORVOL JEAN CHRISTOPHE - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
 CORVOL HENRIETTE - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
 COULOMB AUREOLE - Armand Trousseau - Anatomie pathologique
 CUSSENOT OLIVIER - Tenon - Anatomie / Urologie
 DARAI EMILE Tenon - Gynécologie obstétrique ; Gynéco médicale
 DAVI FREDERIC Pitié-Salpêtrière - Hématologie biologique
 7
 DECHARTRES AGNES - Pitié-Salpêtrière - Epidémiologie
 DEGOS VINCENT - Pitié-Salpêtrière - Anesthésiologie-Réanimation et méd
 DELHOMMEAU FRANCOIS - Saint Antoine - Hématologie biologique
 DEMOULE ALEXANDRE - Pitié-Salpêtrière - Médecine intensive-réanimation
 DERAY GILBERT - Pitié-Salpêtrière - Néphrologie
 DOMMERGUES MARC - Pitié-Salpêtrière - Gynécologie obstétrique ; Gynéco médicale
 DORMONT DIDIER - Pitié-Salpêtrière - Radiologie et imagerie médicale
 DRAY XAVIER - Saint Antoine - Gastro entérologie ; Hépatologie
 DUBERN BEATRICE - Armand Trousseau - Pédiatrie
 DUCOU LE POINTE HUBERT - Armand Trousseau - Radiologie et imagerie médicale
 DUGUET ALEXANDRE - Pitié-Salpêtrière - Pneumologie
 DUPONT DUFRESNE SOPHIE - Pitié-Salpêtrière - Anatomie / SSR
 DURR ALEXANDRA - Pitié-Salpêtrière - Génétique
 DUSSAULE JEAN-CLAUDE - Saint Antoine - Physiologie
 DUVAL ALEX - Saint Antoine - Biochimie et biologie moléculaire

ELALAMY ISMAIL - Tenon - Hématologie immunologie
 FAIN OLIVIER - Saint Antoine - Médecine interne . Gériatrie
 FARTOUKH MURIEL - Tenon - Médecine intensive-réanimation / Pneumologie
 FAUTREL BRUNO - Pitié-Salpêtrière - Rhumatologie
 FERRERI FLORIAN - Saint Antoine - Psychiatrie adultes
 FEVE BRUNO - Saint Antoine - Endocrinologie
 FITOUSSI FRANK - Armand Trousseau - Chirurgie infantile
 FLAMAND-ROZE EMMANUEL - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
 FOIX L HELIAS LAURENCE - Armand Trousseau - Pédiatrie
 FONTAINE BERTRAND - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
 FOSSATI PHILIPPE - Pitié-Salpêtrière - Psychiatrie adultes
 FOURNIER EMMANUEL - Pitié-Salpêtrière - Physiologie
 FREUND YONATHAN - Pitié-Salpêtrière - Médecine d'urgence
 FUNCK BRENTANO CHRISTIAN - Pitié-Salpêtrière - Pharmacologie clinique
 GALANAUD DAMIEN - Pitié-Salpêtrière - Radiologie et imagerie médicale
 GANDJBAKHCH ESTELLE - Pitié-Salpêtrière - Cardiologie
 GAUJOUX SEBASTIEN - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie viscérale et digestive
 GEORGIN LAVIALLE SOPHIE - Tenon - Médecine interne . Gériatrie
 GIRARD PIERRE-MARIE - Saint Antoine - Maladies infectieuses
 GIRERD XAVIER - Pitié-Salpêtrière - Thérapeutique / Endocrino
 GLIGOROV JOSEPH - Tenon - Cancérologie ; Radiothérapie
 GONZALEZ JESUS - Pitié-Salpêtrière - Pneumologie
 GOROCHOV GUY - Pitié-Salpêtrière - Immunologie
 GOSSEC LAURE - Pitié-Salpêtrière - Rhumatologie
 GOUDOT PATRICK - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
 GRABLI DAVID - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
 GRIMPREL EMMANUEL - Armand Trousseau - Pédiatrie
 GUIDET BERTRAND - Saint Antoine - Médecine intensive-réanimation
 HAMMOUDI NADJIB - Pitié-Salpêtrière - Cardiologie
 HAROCHE JULIEN - Pitié-Salpêtrière - Médecine interne . Gériatrie
 8
 HARTEMANN AGNES - Pitié-Salpêtrière - Endocrinologie , Diabétologie
 HATEM STEPHANE - Pitié-Salpêtrière - Physiologie / Cardio
 HAUSFATER PIERRE - Pitié-Salpêtrière - Médecine d'urgence
 HAYMANN JEAN PHILIPPE - Tenon - Physiologie
 HELFT GERARD - Pitié-Salpêtrière - Cardiologie
 HENNEQUIN CHRISTOPHE - Saint Antoine - Parasitologie
 HOANG-XUAN KHE - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
 HOUSSET CHANTAL - Saint Antoine -Biologie cellulaire
 HUGUET FLORENCE - Tenon - Cancérologie ; Radiothérapie
 IBANEZ GLADYS - Département de médecine générale - Médecine générale
 ID BAIH AHMED - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
 IRTAN SABINE - Armand Trousseau - Chirurgie infantile
 ISNARD RICHARD - Pitié-Salpêtrière - Cardiologie
 JOUANNIC JEAN MARIE - Armand Trousseau - Gynécologie obstétrique ; Gynéco médicale
 KALAMARIDES MICHEL - Pitié-Salpêtrière - Neurochirurgie
 KARACHI CARINE - Pitié-Salpêtrière - Neurochirurgie
 KAS AURELIE - Pitié-Salpêtrière - Biophysique et médecine nucléaire
 KATLAMA CHRISTINE - Pitié-Salpêtrière - Maladies infectieuses
 KAYEM GILLES - Armand Trousseau - Gynécologie obstétrique ; Gynéco médicale
 KHIAMI FREDERIC - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie orthopédique et traumatologique
 KINUGAWA BOURRON KIYOKA - Pitié-Salpêtrière - Médecine interne . Gériatrie
 KLATZMANN DAVID - Pitié-Salpêtrière - Immunologie
 KOSKAS FABIEN - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire
 LACAVE ROGER - Tenon - Histologie embryo et cytogénétique

LACOMBE KARINE - Saint Antoine - Maladies infectieuses
 LACORTE JEAN-MARC - Pitié-Salpêtrière - Biophysique et médecine nucléaire
 LAMAS GEORGES - Pitié-Salpêtrière - ORL
 LANDMAN-PARKER JUDITH - Armand Trousseau - Pédiatrie
 LAPILLONNE HELENE - Armand Trousseau - Hématologie biologique
 LAVENEZIANA PIERANTONIO - Pitié-Salpêtrière - Physiologie
 LAZENNEC JEAN-YVES - Pitié-Salpêtrière - Anatomie/Chirurgie orthopédique
 LAZIMI GILLES - DMG - Médecine générale
 LE FEUVRE CLAUDE - Pitié-Salpêtrière - Cardiologie
 LE GUERN ERIC - Pitié-Salpêtrière - Génétique
 LEENHARDT LAURENCE - Pitié-Salpêtrière - Endocrinologie / médecine nucléaire
 LEFEVRE JEREMIE - Saint Antoine - Chirurgie viscérale et digestive
 LEGER PIERRE-LOUIS - Armand Trousseau - Pédiatrie
 LEGRAND OLLIVIER - Saint Antoine - Hématologie clinique
 LEHERICY STEPHANE - Pitié-Salpêtrière - Radiologie et imagerie médicale
 LEMOINE FRANCOIS - Pitié-Salpêtrière - Immunologie
 LEPRINCE PASCAL - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie thoracique et cardio vasculaire
 LETAVERNIER EMMANUEL - Tenon Physiologie
 LEVERGER GUY - Armand Trousseau - Pédiatrie
 LEVY RACHEL - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
 LEVY RICHARD - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
 9
 LORENZO ALAIN - Département de médecine générale - Médecine générale
 LORROT MATHIE - Armand Trousseau - Pédiatrie
 LOTZ JEAN PIERRE - Tenon - Cancérologie ; Radiothérapie
 LUBETZKI CATHERINE - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
 LUCIDARME OLIVIER - Pitié-Salpêtrière - Radiologie et imagerie médicale
 LUSSEY CHARLOTTE - Pitié-Salpêtrière - Biophysique et médecine nucléaire
 LUYT CHARLES-EDOUARD - Pitié-Salpêtrière - Médecine intensive-réanimation
 MAINGON PHILIPPE - Pitié-Salpêtrière - Cancérologie ; Radiothérapie
 MANESSE-CONSOLI ANGELE - Pitié-Salpêtrière - Pédo psychiatrie
 MARCELIN ANNE GENEVIEVE - Pitié-Salpêtrière - Bactériologie - Virologie - Hygiène
 MARTEAU PHILIPPE - Tenon - Gastro entérologie ; Hépatologie
 MAURY ERIC - Saint Antoine - Médecine intensive-réanimation
 MEKINIAN ARSENE - Saint Antoine - Médecine interne . Gériatrie
 MENEGAUX FABRICE - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie viscérale et digestive
 MESNARD LAURENT - Tenon - Néphrologie
 MEYOHAS MARIE-CAROLINE - Saint Antoine - Maladies infectieuses
 MILLET BRUNO - Pitié-Salpêtrière - Psychiatrie adultes
 MOHTY MOHAMAD - Saint Antoine -Hématologie clinique
 MONSEL ANTOINE - Pitié-Salpêtrière - Anesthésiologie-Réanimation et méd
 MONTALESCOT GILLES - Pitié-Salpêtrière - Cardiologie
 MONTRAVERS FRANCOISE - Tenon - Biophysique et médecine nucléaire
 MORAND LAURENCE - Saint Antoine - Bactériologie - Virologie - Hygiène
 MORELOT-PANZINI CAPUCINE - Pitié-Salpêtrière - Pneumologie
 MOZER PIERRE - Pitié-Salpêtrière - Urologie
 NACCACHE LIONEL - Pitié-Salpêtrière - Physiologie / Neurologie
 NAVARRO VINCENT - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
 NETCHINE IRENE - Armand Trousseau - Physiologie
 NGUYEN YANN - Pitié-Salpêtrière - ORL
 NGUYEN KHAC FLORENCE - Pitié-Salpêtrière - Hématologie biologique
 NGUYEN QUOC STEPHANIE - Pitié-Salpêtrière - Hématologie clinique
 NIZARD JACKY - Pitié-Salpêtrière - Gynécologie obstétrique ; Gynéco médicale
 OPPERT JEAN-MICHEL - Pitié-Salpêtrière - Nutrition
 PAQUES MICHEL - 15/20 - Ophtalmologie

PARC YANN - Saint Antoine - Chirurgie viscérale et digestive
PASCAL-MOUSSELLARD HUGUES - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie orthopédique et traumatologique
PATERON DOMINIQUE - Saint Antoine - Médecine d'urgence
PAUTAS ERIC - Charles Foix - Médecine interne . Gériatrie
PAYE FRANCOIS - Saint Antoine - Chirurgie viscérale et digestive
PERETTI CHARLES - Saint Antoine - Psychiatrie adultes
PETIT ARNAUD - Armand Trousseau - Pédiatrie
PHE-VU VERONIQUE - Pitié-Salpêtrière - Urologie
PIALOUX GILLES - Tenon - Maladies infectieuses
PIARROUX RENAUD - Pitié-Salpêtrière - Parasitologie
POIROT CATHERINE - SL - Histologie embryo et cytogénétique
POITOU BERNERT CHRISTINE - Pitié-Salpêtrière - Nutrition

10

POURCHER VALERIE - Pitié-Salpêtrière - Maladies infectieuses
PRADAT DIEHL PASCALE - Pitié-Salpêtrière - Médecine Physique et Réadaptation
PRADIER HELENE - Tenon - Néphrologie
PUYBASSET LOUIS - Pitié-Salpêtrière - Anesthésiologie-Réanimation et méd
QUESNEL CHRISTOPHE - Tenon - Anesthésiologie-Réanimation et méd
RATIU VLAD DEMETRU - Pitié-Salpêtrière - Gastro entérologie ; Hépatologie
RAUX MATHIEU - Pitié-Salpêtrière - Anesthésiologie-Réanimation et méd
REDHEUIL ALBAN - Pitié-Salpêtrière - Radiologie et imagerie médicale
RENARD PENNA RAPHAELE - Pitié-Salpêtrière - Radiologie et imagerie médicale
RIOU BRUNO - Pitié-Salpêtrière - Médecine d'urgence
ROBAIN GILBERTE - RTH - Médecine Physique et Réadaptation
ROBERT JEROME - Pitié-Salpêtrière - Bactériologie - Virologie - Hygiène
RODRIGUEZ DIANA - Armand Trousseau - Pédiatrie
RONDEAU ERIC - Tenon - Néphrologie
ROSMORDUC OLIVIER - Pitié-Salpêtrière - Gastro entérologie ; Hépatologie
ROSSO CHARLOTTE - Pitié-Salpêtrière - Neurologie / urgences
ROTGE JEAN-YVES - Tenon - Psychiatrie adultes
ROUPRET MORGAN - Pitié-Salpêtrière - Urologie
SAADOUN DAVID - Pitié-Salpêtrière - Médecine interne . Gériatrie
SAHEL JOSE-ALAIN - 15/20 - Ophtalmologie
SANSON MARC - Pitié-Salpêtrière - Histologie embryo et cytogénétique
SARI ALI EL HADI - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie orthopédique et traumatologique
SAUTET ALAIN - Saint Antoine - Chirurgie orthopédique et traumatologique
SCATTON OLIVIER - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie viscérale et digestive
SCHMIDT MATHIEU - Pitié-Salpêtrière - Médecine intensive - réanimation
SEILHEAN DANIELLE - Pitié-Salpêtrière - Anatomie pathologique / neurologie
SEKSIK PHILIPPE - Saint Antoine - Gastro entérologie ; Hépatologie
SELLAM JEREMIE - Saint Antoine - Rhumatologie
SEROUSSI FREDEAU BRIGITTE - Tenon - Biostatistiques, Informatique médicale et
SIFROI JEAN-PIERRE - Armand Trousseau - Histologie embryo et cytogénétique
SILVAIN JOHANNE - Pitié-Salpêtrière - Cardiologie
SIMILOWSKI THOMAS - Pitié-Salpêtrière - Pneumologie
SIMON TABASSOME - Saint Antoine - Pharmacologie biologique
SOARES ANDRE - DMG - Médecine générale
SOKOL HARRY - Saint Antoine - Gastro entérologie ; Hépatologie
SORIA ANGELE - Tenon - Dermatologie
SPANO JEAN PHILIPPE - Pitié-Salpêtrière - Cancérologie ; Radiothérapie
STANKOFF BRUNO - Saint Antoine - Neurologie
STEICHEN OLIVIER - Tenon - Médecine interne . Gériatrie
STRAUS CHRISTIAN - Pitié-Salpêtrière - Physiologie
SVRCEK MAGALI - Saint Antoine - Anatomie pathologique
TANKERE FREDERIC - Pitié-Salpêtrière - ORL

THABUT DOMINIQUE - Pitié-Salpêtrière - Gastro entérologie ; Hépatologie
THOMASSIN NAGGARA ISABELLE - Tenon - Radiologie et imagerie médicale
THOUMIE PHILIPPE - RTH - Médecine Physique et Réadaptation

11

TOUBOUL CYRIL - Tenon - Gynécologie obstétrique ; Gynéco médicale
TOUITOU VALERIE - Pitié-Salpêtrière - Ophtalmologie
TOUNIAN PATRICK - Armand Trousseau - Pédiatrie
TOURAINÉ PHILIPPE - Pitié-Salpêtrière - Endocrinologie
TOURRET JEROME - Pitié-Salpêtrière - Néphrologie
TRAXER OLIVIER - Tenon - Urologie
TUBACH FLORENCE - Pitié-Salpêtrière - Epidémiologie
ULINSKI TIM - Armand Trousseau - Pédiatrie
UZAN CATHERINE - Pitié-Salpêtrière - Gynécologie obstétrique ; Gynéco médicale
VAILLANT JEAN CHRISTOPHE - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie viscérale et digestive
VERNY MARC - Pitié-Salpêtrière - Médecine interne . Gériatrie
VEZIRIS NICOLAS - Saint Antoine Bactériologie - Virologie - Hygiène
VIALLE RAPHAEL - Armand Trousseau - Chirurgie infantile
VIDAILHET MARIE-JOSE - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
VIGOUROUX CORINNE - Saint Antoine - Biologie cellulaire
WAGNER MATHILDE - Pitié-Salpêtrière - Radiologie et imagerie médicale
WEISS NICOLAS - Pitié-Salpêtrière - Thérapeutique / Neurologie
WENDUM DOMINIQUE - Saint Antoine - Anatomie pathologique

Liste des Maîtres de Conférences des Universités de la Faculté de médecine Sorbonne Université

ALLAIRE MANON - Pitié-Salpêtrière - Gastro entérologie ; Hépatologie
AMOUYAL CHLOE - Pitié-Salpêtrière - Endocrinologie diabète et maladies métaboliques
ARON WISNEWSKY JUDITH - Pitié-Salpêtrière - Nutrition
AVENIN GUILLAUME - DMG - Médecine générale
BACHY RAZZOUK MANON - Armand-Trousseau - Chirurgie infantile
BARRAL MATTHIAS - Tenon - Radiologie et imagerie médicale
BASSEZ GUILLAUME - Pitié-Salpêtrière - Histologie embryo et cytogénétique
BAYEN ELEONORE - Pitié-Salpêtrière - Médecine Physique et Réadaptation
BELLANNE-CHANTELOT CHRISTINE - Pitié-Salpêtrière - Génétique
BELLOCQ AGNES - Pitié-Salpêtrière - Physiologie
BENDIFALLAH M'HAMED SOFIANE - Tenon - Gynécologie obstétrique ; Gynéco médicale
BENOLIEL JEAN JACQUES - Pitié-Salpêtrière - Biochimie et biologie moléculaire
BENUSIGLIO PATRICK - Pitié-Salpêtrière - Génétique
BODINI BENEDETTA - Armand-Trousseau - Neurologie
BOISSAN MATHIEU - Saint Antoine - Biologie cellulaire
BOUGLE ADRIEN - Pitié-Salpêtrière - Anesthésiologie-Réanimation et méd
BOURRON OLIVIER - Pitié-Salpêtrière - Endocrinologie diabète et maladies métaboliques
BOUTOLLEAU DAVID - Pitié-Salpêtrière - Bactériologie ; Virologie ; Hygiène
BRIOUDE FREDERIC - Armand-Trousseau - Physiologie
BRISOT DAVAINÉ EOLIA - Saint Antoine - Hématologie clinique
BUFFET CAMILLE - Pitié-Salpêtrière - Endocrinologie diabète et maladies métaboliques
BURREL SONIA - Pitié-Salpêtrière - Bactériologie ; Virologie ; Hygiène
CADWALLADER JEAN SEBASTIEN - Département de médecine générale - Médecine générale
CAMBON-BINDER ADELINÉ - Saint Antoine - Chirurgie orthopédique et traumatologique
CAMUS-DUBOC MARINE - Saint Antoine - Gastro entérologie ; Hépatologie
CERVERA PASCALE - Saint Antoine - Anatomie pathologique
CHAPIRO ELISE - Pitié-Salpêtrière - Hématologie biologique
CHARLOTTE FREDERIC - Pitié-Salpêtrière - Anatomie pathologique

CHASSET FRANCOIS - Tenon - Dermato-vénéréologie
 CHASTANG VALENTIN JULIE - Département de médecine générale - Médecine générale
 CHAVANNES BARBARA - DMG - Médecine générale
 CHOLLAT CLEMENT - Armand-Trousseau - Pédiatrie
 COHEN ROMAIN - Saint Antoine - Cancérologie ; Radiothérapie
 COULET FLORENCE - Pitié-Salpêtrière - Génétique
 COUVERT PHILIPPE - Pitié-Salpêtrière - Biochimie et biologie moléculaire
 CRISTOFARI SARRA - Tenon - Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique
 DANZIGER NICOLAS - Pitié-Salpêtrière - Physiologie
 DAVAINÉ JEAN MICHEL - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire
 DECRE DOMINIQUE - Saint Antoine - Bactériologie - Virologie - Hygiène
 DELORME PIERRE - Armand-Trousseau - Gynécologie obstétrique ; Gynéco médicale
 DEMONDION PIERRE - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
 13
 DENIS JEROME - Pitié-Salpêtrière - Biologie cellulaire
 DHOMBRES FERDINAND - Armand-Trousseau - Gynécologie obstétrique ; Gynéco médicale
 DOIZI STEEVE - Tenon - Urologie
 DRES MARTIN - Pitié-Salpêtrière - Médecine intensive-réanimation
 DROUIN SARAH - Tenon - Urologie
 DUPONT CHARLOTTE - Tenon - Biologie et médecine de la reproduction
 ECKERT CATHERINE - Saint Antoine - Bactériologie - Virologie - Hygiène
 EGUETHER THIBAUT - Saint Antoine - Biochimie et biologie moléculaire
 FAJAC CALVET ANNE - Tenon - Histologie embryon et cytogénétique
 FEKKAR ARNAUD - Pitié-Salpêtrière - Parasitologie et mycologie
 FRERE CORINNE - Pitié-Salpêtrière - Hématologie biologique
 GALICHON PIERRE - Pitié-Salpêtrière - Néphrologie
 GARDERET LAURENT - Pitié-Salpêtrière - Hématologie clinique
 GARNIER MARC - Saint Antoine - Anesthésiologie-Réanimation et méd
 GAURA SCHMIDT VERONIQUE - Tenon - Biophysique et médecine nucléaire
 GAY FREDERICK - Pitié-Salpêtrière - Parasitologie et mycologie
 GAYMARD BERTRAND - Pitié-Salpêtrière - Physiologie
 GENSER LAURENT - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie viscérale et digestive
 GEROTZIAFAS GRIGORIS - Tenon - Hématologie immunologie
 GIABICANI ELOISE - Armand-Trousseau - Physiologie
 GIRAL PHILIPPE - Pitié-Salpêtrière - Nutrition
 GIURGEA IRINA - Armand-Trousseau - Génétique
 GOUMARD CLAIRE - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie viscérale et digestive
 GOZLAN JOEL - Saint Antoine - Bactériologie - Virologie - Hygiène
 GRABAR SOPHIE - Saint Antoine - Biostatistiques, Informatique médicale et
 GUEDJ ROMAIN - Armand-Trousseau - Pédiatrie
 GUIHOT THEVENIN AMELIE - Pitié-Salpêtrière - Immunologie
 GUITARD JULIETTE - Saint Antoine - Parasitologie et mycologie
 HABERT MARIE-ODILE - Pitié-Salpêtrière - Biophysique et médecine nucléaire
 HAJAGE DAMIEN - Pitié-Salpêtrière - Biostatistiques, Informatique médicale et
 HERITIER SEBASTIEN - Armand-Trousseau - Pédiatrie
 HIRSCH PIERRE - Saint Antoine - Hématologie biologique
 JERU ISABELLE - Saint Antoine - Génétique
 JOFFRE JEREMIE - Saint Antoine - Médecine intensive-réanimation
 KIRCHGESNER JULIEN - Saint Antoine - Gastro entérologie ; Hépatologie
 LAFUENTE LAFUENTE CARMELO - Charles Foix - Médecine interne . Gériatrie
 LAMAZIERE ANTONIN - Saint Antoine - Biochimie et biologie moléculaire
 LAMBERT NICLOT SIDONIE - Saint Antoine - Bactériologie - Virologie - Hygiène
 LAMBRECQ VIRGINIE - Pitié-Salpêtrière - Physiologie
 LAPIDUS NATHANAEL - Saint Antoine - Biostatistiques, Informatique médicale et
 LAURENT-LEVINSON CLAUDINE - Pitié-Salpêtrière - Pédopsychiatrie

LE BIHAN JOHANNE - Pitié-Salpêtrière - Biologie cellulaire
 LEBRETON GUILLAUME - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie thoracique et cardio vasculaire
 LEMOINNE SARA - Saint Antoine - Gastro entérologie ; Hépatologie
 LOUAPRE CELINE - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
 14
 MAKSUD PHILIPPE - Pitié-Salpêtrière - Biophysique et médecine nucléaire
 MALARD FLORENT - Saint Antoine - Hématologie clinique
 MANCEAU GILLES - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie viscérale et digestive
 MARIANI LOUISE-LAURE - Pitié-Salpêtrière - Pharmacologie clinique / neurologie
 MIRAMONT VINCENT - DMG - Médecine générale
 MIYARA MAKOTO - Pitié-Salpêtrière - Immunologie
 MOCHEL FANNY - Pitié-Salpêtrière - Génétique
 MORENO-SABATER ALICIA - Saint Antoine - Parasitologie et mycologie
 NABET CECILE - Pitié-Salpêtrière - Parasitologie et mycologie
 PEYRE MATTHIEU - Pitié-Salpêtrière - Neurochirurgie
 PHILIPPON ANNE-LAURE - Pitié-Salpêtrière - Médecine d'urgence
 PLU ISABELLE - Pitié-Salpêtrière - Médecine légale
 QASSEMYAR QUENTIN - Armand-Trousseau - Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique
 RAMBAUD JEROME - Armand-Trousseau - Pédiatrie
 ROBERT SARAH - DMG - Médecine générale
 ROHAUT BENJAMIN - Pitié-Salpêtrière - Neurologie
 ROOS-WEIL DAMIEN - Pitié-Salpêtrière - Hématologie clinique
 ROSENZWAJG MICHELLE - Pitié-Salpêtrière - Immunologie
 RUPPERT ANNE MARIE - Tenon - Pneumologie
 SALEM JOE ELIE - Pitié-Salpêtrière - Pharmacologie clinique
 SCHNURIGER AURELIE - Armand-Trousseau - Bactériologie - Virologie - Hygiène
 SCHOUMAN THOMAS - Pitié-Salpêtrière - Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
 SEISEN THOMAS - Pitié-Salpêtrière - Urologie
 SOUGAKOFF WLADIMIR - Pitié-Salpêtrière - Bactériologie - Virologie - Hygiène
 SOUSSAN PATRICK - Tenon - Bactériologie - Virologie - Hygiène
 STERLIN DELPHINE - Pitié-Salpêtrière - Immunologie
 SURGERS LAURE - Saint Antoine - Maladies infectieuses ; Maladies tropicales
 TANKOVIC JACQUES - Saint Antoine - Bactériologie - Virologie - Hygiène
 TEZENAS DU MONTCEL SOPHIE - Pitié-Salpêtrière - Biostatistiques, Informatique médicale et
 THELLIER MARC - Pitié-Salpêtrière - Parasitologie et mycologie
 VALLET HELENE - Saint Antoine - Médecine interne . Gériatrie
 VATIER CAMILLE - Saint Antoine - Biologie cellulaire
 VERDONK FRANCK - Saint Antoine - Anesthésiologie-Réanimation et méd
 VIMONT-BILLARANT SOPHIE - Saint Antoine - Bactériologie - Virologie - Hygiène
 VOIRIOT GUILLAUME - Tenon - Médecine intensive-réanimation
 VORON THIBAUT - Saint Antoine - Chirurgie viscérale et digestive
 WORBE YOULIA - Saint Antoine - Physiologie
 YORDANOV YOURI - Saint Antoine - Médecine d'urgence

RESUME

Contexte :

L'évaluation de la compétence de la recombinaison homologue (RH) des cancer épithéliaux de l'ovaire de stade avancée (stade III/IV) est aujourd'hui obligatoire afin de pouvoir proposer un traitement de maintenance par inhibiteur de PARP (PARPi). La déficience de la recombinaison homologue est définie par la présence d'un variant pathogène (VP) de *BRCA1* ou 2, ou la présence d'un score d'instabilité génomique (GIS) élevé. Cependant ces tests sont réalisés sur tissu tumoral et le taux d'échec de la mesure du GIS peut atteindre jusqu'à 19% dans les études. Les cancers de l'ovaire se présentent fréquemment avec du liquide péritonéal. Il pourrait représenter une source importante d'ADN libre (cfDNA).

Matériel et méthodes :

Dans cette étude nous avons prélevé de façon prospective, entre janvier et aout 2022, le liquide péritonéal de 34 patientes lors de coelioscopie primaire, secondaire ou lors d'une ponction d'ascite à la rechute. Lorsqu'il n'existait pas d'ascite à la coelioscopie nous avons réalisé des lavages péritonéaux (appelé ascite indirecte). Nous avons aussi analysé de façon rétrospective 19 prélèvements d'ascite de 20ml de patient ayant eu une coelioscopie primaire ou secondaire entre 2017 et 2021.

Nous avons ensuite réalisé un séquençage de nouvelle génération pour détecter des VP du gène *TP53* et des gènes impliqués dans la recombinaison homologue. De plus, via une technique de séquençage du génome entier avec une faible profondeur (sWGS), nous avons mesuré un score d'instabilité génomique sur le cfDNA présent dans l'ascite.

Résultats :

Au total, 53 patientes ont été incluse. La majorité était diagnostiquées avec un cancer de l'ovaire séreux de haut grade (COSHG) à un stade III/IV (n=46). L'ADN libre (cfDNA) était détectable dans 49/53 (92,5%) des patientes. La détection de cfDNA était indépendante de la concentration d'ascite avec un taux de détection de 100% lorsque l'ascite était en quantité inférieure à 100ml (n=5) ou entre 100 et 500ml (n=3). La qualité et la quantité du cfDNA était très importante avec une concentration médiane de 3740 ng/ml (range : 109 à 65 000 ng/ml). Le rendu des résultats était de 21 en jour en moyenne soit 3 semaines de moins que l'analyse tissulaire.

Quarante-deux (86%) patientes présentaient un variant pathogène de *TP53* (toutes étaient des COSHG), 7 (14%) et 5 (10%) avaient des VP de *BRCA1* et 2 respectivement. La concordance entre l'analyse NGS du tissu et de l'ascite était de 95%. 2 patientes ont pu avoir une détection de VP de *TP53* et 1 patiente une détection d'un VP de *BRCA2* sur cfDNA mais pas dans le tissu tumoral.

L'analyse du score d'instabilité génomique a pu être réalisé dans 100% des cas sur cfDNA (contre un taux d'échec de 24% de l'analyse du tissu tumoral). 55% des patientes présentait un score GIS élevée.

Conclusion :

L'analyse moléculaire sur cfDNA dans le liquide péritonéal est faisable et nous permet de récupérer une quantité importante d'ADN de haute qualité. La recherche de VP de *BRCA1* ou 2 et la mesure du GIS sur cfDNA permettrait d'avoir un résultat fiable et rapide et toute patiente avec un cancer épithélial de l'ovaire ayant une coelioscopie devrait avoir un prélèvement d'ascite pour recherche de cfDNA et analyse moléculaire.

Mots Clef : HRD, Ascite, ADN libre circulant, genomic