

Faculté de médecine

Année 2023/2024

N°

Thèse

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

par

Caroline AB DER HALDEN

Née le 05 Avril 1994 à Saint-Michel (16470)

EVALUATION DE LA FAISABILITE TECHNIQUE DE LA RECHERCHE DE VARIANTS DES GENES DE LA RECOMBINAISON HOMOLOGUE SUR ADN TUMORAL CIRCULANT DANS LES CANCERS DE PROSTATE METASTATIQUES

Présentée et soutenue publiquement le **Mercredi 27 Septembre 2023** devant un jury composé de :

<u>Président du Jury</u> : Professeur Serge GUYETANT, Anatomie et Cytologie Pathologiques, Faculté de Médecine – Tours

Membres du Jury :

Professeur Gaëlle FROMONT, Anatomie et Cytologie Pathologiques, Faculté de Médecine - Tours

Professeur Franck BRUYERE, Urologie, Faculté de Médecine - Tours

Docteur Anne TALLET, Plateforme de Génétique Moléculaire des Cancers, PH, CHU-Tours

Directeur de thèse : Docteur Matthias TALLEGAS, Anatomie et Cytologie Pathologiques, PH, <u>CHU-Tours</u>



DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

Caroline AB DER HALDEN

Née le 05 Avril 1994 à Saint-Michel (16470)

EVALUATION DE LA FAISABILITE TECHNIQUE DE LA **RECHERCHE DE VARIANTS DES GENES DE LA RECOMBINAISON** HOMOLOGUE SUR ADN TUMORAL CIRCULANT DANS LES **CANCERS DE PROSTATE METASTATIOUES**

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 27 Septembre 2023 devant un jury composé de :

Président du Jury : Professeur Serge GUYETANT, Anatomie et Cytologie Pathologiques, Faculté de Médecine – Tours

Membres du Jury :

Année 2023/2024

Professeur Gaëlle FROMONT, Anatomie et Cytologie Pathologiques, Faculté de Médecine - Tours

Professeur Franck BRUYERE, Urologie, Faculté de Médecine – Tours

Docteur Anne TALLET, Plateforme de Génétique Moléculaire des Cancers, PH, CHU-Tours

Directeur de thèse : Docteur Matthias TALLEGAS, Anatomie et Cytologie Pathologiques, PH, CHU-Tours

Thèse

Pour le

par

de TOURS académie d'Orléans-Tours

Faculté de médecine

N°



01/09/2023

UNIVERSITE DE TOURS FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN Pr Patrice DIOT

VICE-DOYEN Pr Henri MARRET

ASSESSEURS

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

RESPONSABLE ADMINISTRATIVE

Mme Carole ACCOLAS

DOYENS HONORAIRES

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

PROFESSEURS EMERITES

Pr Daniel ALISON Pr Gilles BODY Pr Philippe COLOMBAT Pr Etienne DANQUECHIN-DORVAL Pr Luc FAVARD Pr Bernard FOUQUET Pr Yves GRUEL Pr Gérard LORETTE Pr Loïc VAILLANT

PROFESSEURS HONORAIRES

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

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

ANDRES Christian	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis	Cardiologie
APETOH Lionel	.Immunologie
AUPART Michel	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique	Cardiologie
BACLE Guillaume	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BAKHOS David	Oto-rhino-laryngologie
BALLON Nicolas	Psychiatrie ; addictologie
BARBIER François	.Médecine intensive et réanimation
BARILLOT Isabelle	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe	Immunologie
BEDIOUST Julian	"Pharmacologie clinique
BERHOUET Julien	"Chirurgie orthopedique et traumatologique
BERNARD Anne	"Cardiologie
BERNARD LOUIS	Dielegie celluleire
BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle	Biologie cellulaire
DONNET-DDII UALII T Erédérique	Dhysiolodia
POUPCIIIGNON Thierry	Chirurdie thoracique et cardiovasculaire
BRILHAULT Jean	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent	"Radiologie et imagerie médicale
BRUYERE Franck	Urologie
BUCHLER Matthias	"Néphrologie
CAILLE Agnès	"Biostat., informatique médical et technologies de communication
CALAIS Gilles	"Cancérologie, radiothérapie
CAMUS Vincent	"Psychiatrie d'adultes
CORCIA Philippe	Neurologie
COTTIER Jean-Philippe	Radiologie et imagerie médicale
DEQUIN Pierre-François	Thérapeutique
DESMIDT Thomas	Psychiatrie
DESOUBEAUX Guillaume	Parasitologie et mycologie
DESTRIEUX Christophe	Anatomie
DI GUISTO Caroline	Gynécologie obstétrique
DIOT Patrice	Pneumologie
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam	"Pneumologie "Anatomie & cytologie pathologiques "Endocrinologie, diabétologie, et nutrition "Médecine intensive – réanimation "Psychiatrie adultes
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure	"Pneumologie "Anatomie & cytologie pathologiques "Endocrinologie, diabétologie, et nutrition "Médecine intensive – réanimation "Psychiatrie adultes "Hépatologie – gastroentérologie
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUCERE Patrand	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand ERANCOIS Bertrick	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gériatrie
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FRANCOIS Patrick EROMONT, HANKARD, Gaälle	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gériatrie Neurochirurgie Anatomie & outologie pathologiques
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FRANCOIS Patrick FROMONT-HANKARD Gaëlle GATAULT Philippe	"Pneumologie "Anatomie & cytologie pathologiques "Endocrinologie, diabétologie, et nutrition "Médecine intensive – réanimation "Psychiatrie adultes "Hépatologie – gastroentérologie "Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence "Cardiologie "Gériatrie "Neurochirurgie "Anatomie & cytologie pathologiques Néphrologie
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GATAULT Philippe GAUDY-GRAFEIN Catherine	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gériatrie Neurochirurgie Neurochirurgie Néphrologie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GOUPULLE Philippe	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gériatrie Neurochirurgie Neurochirurgie Netorie & cytologie pathologiques Néphrologie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière Bumatologie
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GOUPILLE Philippe GUERIF Fabrice	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gáriatrie Neurochirurgie Neurochirurgie Neurochirurgie Néphrologie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière Rhumatologie Biologie et médecine du développement et de la reproduction
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GOUPILLE Philippe GUERIF Fabrice GUILLON Antoine	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gériatrie Neurochirurgie Neurochirurgie Neurochirurgie Néphrologie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière Rhumatologie Biologie et médecine du développement et de la reproduction Médecine intensive – réanimation
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GOUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUERIF Fabrice GUILLON Antoine GUILLON-GRAMMATICO Leslie	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gériatrie Neurochirurgie Neurochirurgie Neurochirurgie Néphrologie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière Rhumatologie Biologie et médecine du développement et de la reproduction Médecine intensive – réanimation Epidémiologie, économie de la santé et prévention
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GOUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUERIF Fabrice GUILLON Antoine GUILLON-GRAMMATICO Leslie GUYETANT Serge	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gériatrie Neurochirurgie Neurochirurgie Neurochirurgie Néphrologie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière Rhumatologie Biologie et médecine du développement et de la reproduction Médecine intensive – réanimation Epidémiologie, économie de la santé et prévention Anatomie et cytologie pathologiques
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GOUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUERIF Fabrice GUILLON Antoine GUILLON Antoine GUYETANT Serge GYAN Emmanuel	 "Pneumologie "Anatomie & cytologie pathologiques "Endocrinologie, diabétologie, et nutrition "Médecine intensive – réanimation "Psychiatrie adultes "Hépatologie – gastroentérologie "Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence "Cardiologie "Gériatrie "Neurochirurgie "Anatomie & cytologie pathologiques "Néphrologie "Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière "Rhumatologie Biologie et médecine du développement et de la reproduction "Médecine intensive – réanimation "Epidémiologie, économie de la santé et prévention "Anatomie et cytologie pathologiques "Hématologie, transfusion
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GOUPILLE Philippe GUERIF Fabrice GUILLON Antoine GUILLON-GRAMMATICO Leslie GYAN Emmanuel HALIMI Jean-Michel	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gériatrie Neurochirurgie Neurochirurgie Neurochirurgie Netrologie Néphrologie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière Rhumatologie Biologie et médecine du développement et de la reproduction Médecine intensive – réanimation Epidémiologie, économie de la santé et prévention Anatomie et cytologie pathologiques Anatomie et cytologie pathologiques Anatomie et cytologie pathologiques Anatomie et cytologie pathologiques
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GUUPILLE Philippe GUERIF Fabrice GUILLON Antoine GUILLON Antoine GUYETANT Serge GYAN EmmanueL HALIMI Jean-Michel	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gériatrie Neurochirurgie Neurochirurgie Neurochirurgie Neurochirurgie Nehrologie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière Rhumatologie Biologie et médecine du développement et de la reproduction Médecine intensive – réanimation Epidémiologie, économie de la santé et prévention Anatomie et cytologie pathologiques Anatomie et cytologie pathologiques
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GUUPILLE Philippe GUERIF Fabrice GUILLON Antoine GUILLON Antoine GUYETANT Serge GYAN Emmanuel HANKARD Régis HERAULT Olivier	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gériatrie Neurochirurgie Anatomie & cytologie pathologiques Néphrologie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière Rhumatologie Biologie et médecine du développement et de la reproduction Médecine intensive – réanimation Epidémiologie, économie de la santé et prévention Anatomie et cytologie pathologiques Anatomie et cytologie pathologiques
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GUDY-GRAFFIN Catherine GUPILLE Philippe GUERIF Fabrice GUILLON Antoine GUILLON Antoine GUYETANT Serge GYAN Emmanuel HANKARD Régis HERAULT Olivier HERBRETEAU Denis	 "Pneumologie "Anatomie & cytologie pathologiques "Endocrinologie, diabétologie, et nutrition "Médecine intensive – réanimation "Psychiatrie adultes "Hépatologie – gastroentérologie "Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence "Cardiologie "Gériatrie "Neurochirurgie "Anatomie & cytologie pathologiques "Néphrologie "Bactériologie et médecine du développement et de la reproduction "Médecine intensive – réanimation "Epidémiologie, transfusion "Anatomie et cytologie pathologiques "Médecine intensive – réanimation "Epidémiologie, transfusion "Thérapeutique "Pédiatrie "Hématologie, transfusion "Radiologie et médecine médicale
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GUUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUERIF Fabrice GUILLON Antoine GUILLON Antoine GUILLON-GRAMMATICO Leslie GYAN Emmanuel HALIMI Jean-Michel HANKARD Régis HERAULT Olivier HERBRETEAU Denis	 "Pneumologie "Anatomie & cytologie pathologiques "Endocrinologie, diabétologie, et nutrition "Médecine intensive – réanimation "Psychiatrie adultes "Hépatologie – gastroentérologie "Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence "Cardiologie "Gériatrie "Neurochirurgie "Anatomie & cytologie pathologiques "Néphrologie "Bactériologie et médecine du développement et de la reproduction "Médecine intensive – réanimation "Epidémiologie, transfusion "Thérapeutique "Pédiatrie "Hématologie, transfusion "Radiologie et médecine du dévelopiques "Hématologie, transfusion "Reatomie et cytologie pathologiques "Hématologie, transfusion "Reatomie et médecine "Metatologie, transfusion "Radiologie et médecine médicale "Biologie et imagerie médicale "Biologie et lulaire
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GOUPILLE Philippe GUERIF Fabrice GUILLON Antoine GUILLON Antoine GUILLON -GRAMMATICO Leslie GYAN Emmanuel HALMI Jean-Michel HANKARD Régis HERAULT Olivier HERBETEAU Denis HOURIOUX Christophe	 "Pneumologie "Anatomie & cytologie pathologiques "Endocrinologie, diabétologie, et nutrition "Médecine intensive – réanimation "Psychiatrie adultes "Hépatologie – gastroentérologie "Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence "Cardiologie "Gériatrie "Neurochirurgie "Anatomie & cytologie pathologiques "Néphrologie "Bactériologie et médecine du développement et de la reproduction "Médecine intensive – réanimation "Epidémiologie, transfusion "Epidémiologie, transfusion "Thérapeutique "Pédiatrie "Hématologie, transfusion "Radiologie et imagerie médicale Biologie cellulaire "Physiologie
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GOUPILLE Philippe GUERIF Fabrice GUILLON Antoine GUILLON Antoine GUILLON-GRAMMATICO Leslie GYAN Emmanuel HALIMI Jean-Michel HANKARD Régis HERAULT Olivier HERBRETEAU Denis HOURIOUX Christophe	 "Pneumologie "Anatomie & cytologie pathologiques "Endocrinologie, diabétologie, et nutrition "Médecine intensive – réanimation "Psychiatrie adultes "Hépatologie – gastroentérologie "Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence "Cardiologie "Gériatrie "Neurochirurgie "Anatomie & cytologie pathologiques "Néphrologie "Bactériologie et médecine du développement et de la reproduction "Médecine intensive – réanimation "Epidémiologie, économie de la santé et prévention "Anatomie et cytologie pathologiques "Hématologie, transfusion "Thérapeutique "Pédiatrie "Hématologie, transfusion "Radiologie et imagerie médicale "Biologie et imagerie médicale "Pédiatrie
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GOUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUILLON Antoine GUILLON Antoine GUYETANT Serge GYAN Emmanuel HALIMI Jean-Michel HANKARD Régis HERAULT Olivier HERBRETEAU Denis HOURIOUX Christophe VANES Fabrice LABARTHE FrançoisLAFFON Marc	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gardiologie Gardiologie Gardiologie Geriatrie Neurochirurgie Anatomie & cytologie pathologiques Néphrologie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière Rhumatologie Biologie et médecine du développement et de la reproduction Médecine intensive – réanimation Epidémiologie, économie de la santé et prévention Anatomie et cytologie pathologiques Hématologie, transfusion Thérapeutique Pédiatrie Hématologie, transfusion Radiologie et imagerie médicale Biologie cellulaire Physiologie Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GOUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUILLON Antoine GUILLON -GRAMMATICO Leslie GUYETANT Serge GYAN Emmanuel HALIMI Jean-Michel HANKARD Régis HERAULT Olivier HERBRETEAU Denis HOURIOUX Christophe IVANES Fabrice LABRTHE FrançoisLARDY Hubert	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gardiologie Gardiologie Gardiologie Gardiologie Anatomie & cytologie pathologiques Néphrologie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière Rhumatologie Biologie et médecine du développement et de la reproduction Médecine intensive – réanimation Epidémiologie, économie de la santé et prévention Anatomie et cytologie pathologiques Hématologie, transfusion Thérapeutique Pédiatrie Hématologie, transfusion Radiologie et imagerie médicale Biologie cellulaire Physiologie Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence Chirurgie infantile
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam EL HAGE Wissam ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GOUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUILLON Antoine GUILLON Antoine GUILLON -GRAMMATICO Leslie GUYETANT Serge GYAN Emmanuel HALIMI Jean -Michel HANKARD Régis HERAULT Olivier HERBRETEAU Denis HOURIOUX Christophe IVANES Fabrice LABARTHE FrançoisLABARTHE François LAFFON MarcLARDY Hubert. LARIBI Saïd	 "Pneumologie "Anatomie & cytologie pathologiques "Endocrinologie, diabétologie, et nutrition "Médecine intensive – réanimation "Psychiatrie adultes "Hépatologie – gastroentérologie "Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence "Cardiologie "Gériatrie "Neurochirurgie "Anatomie & cytologie pathologiques "Néphrologie "Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière "Rhumatologie "Biologie et médecine du développement et de la reproduction "Médecine intensive – réanimation "Epidémiologie, économie de la santé et prévention "Anatomie et cytologie pathologiques "Hématologie, transfusion "Thérapeutique "Pédiatrie "Hématologie et imagerie médicale Biologie cellulaire "Physiologie "Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence "Chirurgie infantile "Médecine d'urgence
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GOUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUILLON Antoine GUILLON Antoine GUILLON -GRAMMATICO Leslie GUYETANT Serge GYAN Emmanuel HALIMI Jean-Michel HANKARD Régis HERAULT Olivier HERBETEAU Denis HOURIOUX Christophe IVANES Fabrice LABARTHE François LAFFON Marc LARDY Hubert LARIBI Saïd LARIGUE Marie-Frédérique	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gériatrie Neurochirurgie Anatomie & cytologie pathologiques Néphrologie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière Rhumatologie .Biologie et médecine du développement et de la reproduction Médecine intensive – réanimation Epidémiologie, économie de la santé et prévention Anatomie et cytologie pathologiques Hématologie, transfusion Thérapeutique Pédiatrie Hématologie, transfusion Radiologie et imagerie médicale .Biologie cellulaire Physiologie Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence Chirurgie infantile Médecine d'urgence Bactériologie-virologie
DIOT Patrice DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague DUCLUZEAU Pierre-Henri EHRMANN Stephan EL HAGE Wissam ELKRIEF Laure ESPITALIER Fabien FAUCHIER Laurent FOUGERE Bertrand FOUGERE Bertrand FROMONT-HANKARD Gaëlle GAUDY-GRAFFIN Catherine GOUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUUPILLE Philippe GUILLON Antoine GUILLON Antoine GUILLON -GRAMMATICO Leslie GUYETANT Serge GYAN Emmanuel HALIMI Jean-Michel HANKARD Régis HERAULT Olivier HERBRETEAU Denis HOURIOUX Christophe IVANES Fabrice LABARTHE FrançoisLAFFON Marc LARDY Hubert LARIBI Saïd LARTIGUE Marie-Frédérique	Pneumologie Anatomie & cytologie pathologiques Endocrinologie, diabétologie, et nutrition Médecine intensive – réanimation Psychiatrie adultes Hépatologie – gastroentérologie Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence Cardiologie Gériatrie Neurochirurgie Anatomie & cytologie pathologiques Néphrologie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière Rhumatologie .Biologie et médecine du développement et de la reproduction Médecine intensive – réanimation Epidémiologie, économie de la santé et prévention Anatomie et cytologie pathologiques Hématologie, transfusion Thérapeutique Pédiatrie Hématologie, transfusion Thérapeutique Pédiatrie Hématologie, transfusion Radiologie et imagerie médicale .Biologie cellulaire Physiologie Pédiatrie Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence Chirurgie infantile Médecine d'urgence Bactériologie-virologie Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie

LEGRAS Antoine	.Chirurgie thoracique
LESCANNE Emmanuel	.Oto-rhino-laryngologie
LEVESQUE Éric	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LINASSIER Claude	.Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent	.Dermato-vénéréologie
MAILLOT François	.Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain	.Pneumologie
MARRET Henri	.Gynécologie-obstétrique
MARUANI Annabel	.Dermatologie-vénéréologie
MEREGHETTI Laurent	.Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MITANCHEZ Delphine	.Pédiatrie
MOREL Baptiste	.Radiologie pédiatrique
MORINIERE Sylvain	.Oto-rhino-laryngologie
MOUSSATA Driffa	.Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis	.Rhumatologie
ODENT Thierry	.Chirurgie infantile
OUAISSI Mehdi	.Chirurgie digestive
OULDAMER Lobna	.Gynécologie-obstétrique
PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique.
PATAT Frédéric	Biophysique et médecine nucléaire.
PERROTIN Franck	.Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean	.Ophtalmologie
PLANTIER Laurent	.Physiologie
REMERAND Francis	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe	.Biologie cellulaire
RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, économie de la santé et prévention.
SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et droit de la santé.
SALAME Ephrem	.Chirurgie digestive
SAMIMI Mahtab	.Dermatologie-vénéréologie
SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et médecine nucléaire.
SAUTENET-BIGOT Bénédicte	.Thérapeutique
THOMAS-CASTELNAU Pierre	.Pédiatrie
TOUTAIN Annick	.Génétique
VELUT Stéphane	.Anatomie
VOURC'H Patrick	Biochimie et biologie moléculaire.
WATIER Hervé	.Immunologie
ZEMMOURA Ilyess	Neurochirurgie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

DIBAO-DINA Clarisse LEBEAU Jean-Pierre

PROFESSEURS ASSOCIES

MALLET Donation.....Soins palliatifs

PROFESSEUR CERTIFIE DU 2ND DEGRE

MC CARTHY Catherine.....Anglais

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

AUDEMARD-VERGER Alexandra	Médecine interne
BISSON Arnaud	.Cardiologie (CHRO)
BRUNAULT Paul	Psychiatrie d'adultes, addictologie
CARVAJAL-ALLEGRIA Guillermo	Rhumatologie (au 01/10/2021)
CLEMENTY Nicolas	Cardiologie
DOMELIER Anne-Sophie	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière.
DUFOUR Diane	Biophysique et médecine nucléaire
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie	Anatomie et cytologie pathologiques
GARGOT Thomas	.Pédopsychiatrie
GOUILLEUX Valérie	Immunologie
HOARAU Cyrille	.Immunologie
KERVARREC Thibault	Anatomie et cytologie pathologiques
LE GUELLEC Chantal	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
LEDUCQ Sophie	Dermatologie
LEFORT Bruno	.Pédiatrie
LEJEUNE Julien	Hématologie, transfusion
LEMAIGNEN Adrien	Maladies infectieuses
MACHET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
MOUMNEH Thomas	Médecine d'urgence
PARE Arnaud	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie.
PIVER Éric	Biochimie et biologie moléculaire
ROUMY Jérôme	Biophysique et médecine nucléaire
STANDLEY-MIQUELESTORENA Elodie	Anatomie et cytologie pathologiques
STEFIC Karl	Bactériologie
TERNANT David	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
VAYNE Caroline	Hématologie, transfusion
VUILLAUME-WINTER Marie-Laure	.Génétique

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

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

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

AUMARECHAL Alain	Médecine Généra	ale
BARBEAU Ludivine	Médecine Généra	ale
CHAMANT Christelle	"Médecine Généra	ale
ETTORI-AJASSE Isabelle	"Médecine Généra	ale
LAMARRE Valérie	Médecine Généra	ale
LE GALLOU Laurence	"Médecine Généra	ale
PAUTRAT Maxime	Médecine Généra	ale
RUIZ Christophe	"Médecine Généra	ale
SAMKO Boris	"Médecine Généra	ale

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRAE

BECKER Jérôme	.Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
BOUAKAZ Ayache	.Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
BOUTIN Hervé	.Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
BRIARD Benoit	.Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
CHALON Sylvie	Directrice de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
DE ROCQUIGNY Hugues	.Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1259
ESCOFFRE Jean-Michel	.Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
GILOT Philippe	.Chargé de Recherche Inrae – UMR Inrae 1282
GOMOT Marie	.Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
GOUILLEUX Fabrice	Directeur de Recherche CNRS – EA 7501 - ERL CNRS 7001
GUEGUINOU Maxime	.Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1069
HEUZE-VOURCH Nathalie	.Directrice de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
KORKMAZ Brice	.Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
LATINUS Marianne	.Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
LAUMONNIER Frédéric	Directeur de Recherche Inserm - UMR Inserm 1253.
LE MERRER Julie	Directrice de Recherche CNRS – UMR Inserm 1253.
MAMMANO Fabrizio	.Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1259
MEUNIER Jean-Christophe	.Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1259
PAGET Christophe	.Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
RAOUL William	.Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1069
SECHER Thomas	.Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
SI TAHAR Mustapha	.Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
SUREAU Camille	Directrice de Recherche émérite CNRS – UMR Inserm 1259.
TANTI Arnaud	.Chargé de Recherche Inserm - UMR Inserm 1253
WARDAK Claire	.Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'éthique médicale

BIRMELE Béatrice.....Praticien Hospitalier

Pour la médecine manuelle et l'ostéopathie médicale LAMANDE Marc.....Praticien Hospitalier

Pour l'orthophonie

BATAILLE Magalie	Orthophoniste
CLOUTOUR Nathalie	Orthophoniste
CORBINEAU Mathilde	Orthophoniste
EL AKIKI Carole	Orthophoniste
HARIVEL OUALLI Ingrid	Orthophoniste
IMBERT Mélanie	Orthophoniste
SIZARET Eva	Orthophoniste

Pour l'orthoptie

BOULNOIS	Sandrine	Or	tho	otis	te
DOOLINOIS	Sandrine		cito	pus	

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des enseignants et enseignantes

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

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

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

Respectueux(euse) et reconnaissant(e) envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs parents.

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

Remerciements

À Monsieur le président du jury, le Professeur Serge GUYETANT,

Je vous remercie de votre écoute, votre bienveillance et la grande qualité de votre enseignement qui m'a beaucoup apporté. Je suis très fière d'avoir pu travailler avec vous et très honorée de votre présence en tant que président de mon jury. Je vous exprime toute ma gratitude.

À Monsieur le Docteur Matthias TALLEGAS,

Je te remercie de ta patience, de tes nombreux conseils qui m'ont aidée à la rédaction de cette thèse, et du temps que tu m'as accordé.

À Madame le Docteur Anne TALLET,

Je te remercie de ton aide précieuse, tes explications qui m'ont familiarisée avec le monde de la biologie moléculaire, ta gentillesse.

À Madame le Professeur Gaëlle FROMONT,

Je vous remercie de votre enseignement rigoureux et de votre accueil dans le service.

À Monsieur le Professeur Franck BRUYERE,

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en acceptant de faire parti des membres de mon jury.

Je remercie chaleureusement le **Professeur Gonzague de PINIEUX** pour la qualité de son accueil dans le service et l'attention qu'il m'a portée tout au long de cette année.

Je remercie infiniment le **Docteur Patrick MICHENET**, pour sa très grande humanité, son altruisme et son enthousiasme dans le partage des connaissances.

Je remercie le **Docteur Damien SIZARET** pour les moments partagés derrière le microscope où il m'a beaucoup appris.

Je remercie le **Docteur Flore DELALANDE** pour sa capacité à mêler le professionnalisme et l'humour dans son enseignement.

Je remercie les **Docteurs Marie-Christine MACHET**, **Elodie MIQUELESTORENA-STANDLEY et Fanny DUJARDIN** pour leur réconfort et leur soutien dans les moments difficiles.

Je souhaite également remercier vivement tous les autres pathologistes qui m'ont accompagnée tout au long de mon internat, les docteurs Claire BLECHET, Rémy KERDRAON, Carole BONNEAU, Anne HEITZMANN, Myriam EL GLAOUI, Anne DE MURET, Thibault KERVARREC, Flavie ARBION, Cendra BARBEY, Cécilia ROUSSELOT-DENIS, Anne Marie BERGEMER-FOUQUET, Corine ROGEZ, Alix FONTAINE, Mélanie LEGRAND et Adrien PETEREAU.

Je remercie le **Docteur Christine BONENFANT** pour son accueil au sein de la Plateforme de Génétique Moléculaire des Cancers, ainsi que les **techniciens** pour la sympathie qu'ils m'ont manifesté.

Je remercie également les **techniciennes et techniciens** que j'ai rencontrés, indispensables et toujours souriants.

Je remercie mes **co-internes**, William, Simon, Aymeric, Laure, Lola, Antoine, Paul-Louis et Corentin, avec qui j'ai partagé mes semestres, pour nos débats diagnostiques autour du microscope, notre entraide et nos fous rires.

À ma famille,

Papa, merci mille fois pour ton indispensable présence, ta bonté, ta générosité et tout l'amour dont tu m'as constamment entourée.

Maman, mon premier pilier, je ne te remercierais jamais assez pour tout ce que tu m'as et continues de m'apporter, ton amour inconditionnel, tes mots rassurants, tes innombrables conseils qui m'aident à avancer et à surmonter les épreuves de la vie.

Raphaël, je te remercie pour nos jeux et disputes qui émaillèrent notre enfance, et nos multiples moments de complicité.

Jeanne-Marie, merci pour nos souvenirs de vacances, ton écoute et ta gentillesse.

À mes amis,

Manon, Margot, Jean, Gaëlle et Vincent, je vous remercie pour nos soirées (souvent mouvementées), nos vacances (parfois covidées) et tous les bons souvenirs que nous partageons depuis l'externat, et que nous continuerons de créer.

Manon et Laurence, merci pour votre amitié que les kilomètres n'ont pas atténuée.

Sophie-Hélène, merci pour nos heureux moments en sénologie, qui nous ont permis de nous connaître et de devenir amies.

Clémence, merci pour ton humour, ta bonne humeur et ta légèreté que j'aime tant.

Mark, merci pour ton incroyable capacité à me faire rire, parfois en dépit des circonstances.

Benjamin, la plus belle rencontre de mon internat, merci pour tous les moments précieux passés avec toi, même en situation de crise oculaire... et pour toutes tes qualités qui font de toi quelqu'un d'exceptionnel.

Abréviations

DNA : Deoxyribonucleic Acid

HR : Homologous recombination

mCRPC : metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer

HRR : Homologous Recombination Repair

PARP : Poly (ADP-ribose) polymerase

FDA : Food and Drug Administration

EMA : European Medicines Agency

FFPE : Formalin-Fixed Paraffin-Embedded

ccfDNA : circulating cell-free DNA

PROMECI : PROstate Metastatique CIrculant

TURP : Transurethral resection of the prostate

TURB : Transurethral resection of the bladder

AFAQAP : Association Française d'Assurance Qualité en Anatomie et Cytologie Pathologiques

CMGP : Cancer Molecular Genetics Platform

ACMG : American College of Medical Genetics and Genomics

UMI-Read : Unique Molecular Index Read

ISUP : International Society of Urological Pathology

ctDNA : Circulating tumor DNA

PPA : Positive Percentage Agreement

NPA : Negative Percentage Agreement

PPV : Positive Predictive Value

NPV : Negative Predictive Value

EDTA : Ethylenediaminetetraacetic acid

CT : Computed Tomography

HES : Haematoxylin, eosin and saffron

NA : Not Available

Table des matières :

I- Résumé
II- Abstract
III- Introduction
A. Le cancer de la prostate : généralités17
B. Altération des gènes de réparation de l'ADN par Recombinaison Homologue
et gènes BRCA17
C. Inhibiteurs de PARP19
D. Limites de l'analyse tissulaire et biopsies liquides
IV- Assessment of the technical feasibility of testing circulating tumor DNA for
homologous recombination gene variants in metastatic prostate cancer 25
V- Discussion
VI- Références61

I- Résumé

Introduction : L'amélioration des connaissances en génétique moléculaire a permis de révéler une fréquence élevée des mutations des gènes impliqués dans la réparation de l'ADN par recombinaison homologue (gènes HRR) dans les cancers de prostate métastatiques résistants à la castration (CPRCm). Récemment, l'étude PROfound a montré l'efficacité de l'olaparib dans l'amélioration de la survie sans progression radiologique et la survie globale chez des patients ayant des altérations des gènes *BRCA1*, *BRCA2* et *ATM*. Le taux d'échec de l'analyse des ADN issus de tissu fixé en formol et inclus en paraffine (FFPE) est cependant de 30 %, motivant la recherche de matrices alternatives. L'objectif de cette étude est de déterminer la faisabilité technique de rechercher les altérations des gènes HRR sur ADN circulant plasmatique et urinaire dans cette indication.

Méthodes : 30 patients ont été inclus, permettant l'analyse de 30 échantillons FFPE, 31 échantillons plasmatiques et 24 échantillons urinaires. Tous les échantillons ont été séquencés. Les variants « pathogènes » (C5) et « probablement pathogènes » (C4) détectés sur le tissu FFPE ont été comparés à ceux identifiés dans le plasma et l'urine correspondants.

Résultats : 96,6% des échantillons FFPE ont généré des résultats de séquençage interprétables et nous ont permis d'identifier 11 variants C4-C5 chez 7 patients. Ces variants ont été retrouvés sur l'ADN circulant plasmatique chez 5 patients, conduisant à une sensibilité de 71 % et à une spécificité de 100 %. Cette étude montre une bonne concordance entre l'analyse sur tissu FFPE et sur l'ADN circulant plasmatique. En revanche, aucun des variant attendus n'a été retrouvé à partir de l'ADN circulant urinaire.

Discussion : Ces résultats confirment que l'analyse de l'ADN circulant plasmatique constitue une alternative intéressante à celle du tissu. Ils suggèrent que le testing de l'ADN circulant plasmatique est plus fiable chez les patients dont l'évolution de la maladie est péjorative. L'analyse de l'ADN circulant urinaire doit faire l'objet d'explorations plus approfondies.

Mots clés : prostate, cancer, inhibiteurs de PARP, BRCA, biologie moléculaire, NGS.

II- Abstract

Introduction. Metastatic castration resistant prostate cancer (mCRPC) has a poor prognosis. A better understanding of the molecular genetics of these tumors has revealed a high frequency of alterations in genes involved in DNA repair (estimated at 25% at the metastatic stage). Recently, the PROfound study highlighted the benefit of olaparib in radiographic progression-free survival and overall survival in patients with metastatic prostate harboring *BRCA1*, *BRCA2* or *ATM* gene alteration. Olaparib is approved in France for the treatment of metastatic prostate cancer with a *BRCA1* or *BRCA2* mutation, whose disease has progressed despite the introduction of new hormonal agent. Tissue analysis is currently the gold standard for the detection of these alterations, and may be followed by constitutional testing. The failure rate of DNA analysis on FFPE tissue is however around 30 %, motivating the search for other alternatives such as liquid biopsies testing. In this context, the aim of the study is to determine the technical feasibility of circulating plasma and urine DNA analysis in this indication as an alternative to FFPE tissue analysis.

Methods. 30 patients were included between August 2022 and June 2023, enabling the collection and analysis of 30 FFPE, 31 plasma and 24 urine samples. After DNA extraction and libraries preparation, samples were sequenced by NGS using a commercial panel designed for analysis on circulating DNA, targeting 15 genes involved in DNA repair, including *BRCA1* and *BRCA2*. « Pathogenic » and « likely pathogenic » variants detected in FFPE tissue were compared with those identified in plasma and urine.

Results. Of the 30 FFPE samples analyzed, 29 (96.6%) generated interpretable sequencing results. It was also the case for all of the plasma samples (31/31, 100%), but only for 11 urine samples (11/24, 45.8%). A total of 11 « pathogenic » or « likely pathogenic » variants were identified in 7 patients from FFPE tissue. Of these 11 variants, 7 were found in matched plasma circulating cell-free DNA (ccfDNA) in 5 patients, leading to a positive percentage agreement of 71 % and a negative percentage agreement of 100 %. This study highlighted a good concordance in variant detection between FFPE and plasma ccfDNA. In contrast, none of the expected pathogenic variants were found in urine ccfDNA.

Discussion. Our results showed that analysis of plasma ccfDNA could be an interesting routine alternative when tissue analysis has failed. As the concordance of detection was 100% in patients with a pejorative disease course, we can assume that this type of analysis is better suited to this patient population, possibly due to a higher circulating tumour DNA (ctDNA) fraction. Further investigations are needed to compare the analysis of urine circulating DNA and tissue tumor DNA.

Key words: prostate, cancer, PARP inhibitors, BRCA, NGS, molecular genetics

III- INTRODUCTION

A-Le cancer de la prostate : généralités

Le cancer de la prostate est le second cancer solide le plus fréquent chez les hommes dans le monde et le cancer le plus fréquent en France, tous sexes confondus (1), (2). En France, la majorité des cancers de la prostate est détectée au stade localisé, grâce à la mise en place d'une détection précoce. Cette dernière repose sur le dosage du PSA (*prostate-specific-antigene*) total sérique et du toucher rectal, et débute à partir de 50 ans chez les hommes sans facteur de risque identifié, dont la probabilité de survie prolongée est d'au moins 10 ans (2). Malgré la mise en place de cette mesure, 20 % des cancers de la prostate sont diagnostiqués au stade métastatique, dont le pronostic est défavorable, avec un taux de survie à 5 ans estimé à 30% (3), (4). A ce stade, le traitement requiert une suppression androgénique ainsi que la mise en place d'une hormonothérapie de nouvelle génération, parfois en association avec de la chimiothérapie (2).

Cependant, une résistance à l'hormonothérapie survient inéluctablement, et apparaît dans la majorité des cas au bout de quelques années après la mise en place du traitement (médiane de 1 à 2 ans), avec différents mécanismes de résistance identifiés (amplification du gène *AR*, mutations à gains de fonction entraînant une activation constitutionnelle du récepteur aux androgènes, mutations réduisant la spécificité du récepteur et engendrant une activation par d'autres agonistes, mutations rendant le récepteur sensible à l'activation, même aux faibles doses d'androgènes) (3),(5). Cette impasse rend fondamentale la nécessité de trouver de nouveaux outils thérapeutiques. A ce titre, la meilleure compréhension des mécanismes oncogénétiques dans les cancers a permis le développement de thérapies innovantes, plus ciblées. Ces dernières apportent des gains significatifs en termes de survie et/ou de qualité de vie pour les malades. Une partie de ces thérapies est fondée sur la découverte des mécanismes de prédisposition à certains cancers dans la population.

B- Altération des gènes de réparation de l'ADN par Recombinaison Homologue et gènes BRCA

Outre l'âge élevé, l'hérédité représente un des facteurs de risque les plus importants de développer un cancer de la prostate, supposant ainsi le rôle essentiel des altérations génétiques dans la survenue de ce type de tumeur (6). La démocratisation du séquençage à haut débit (NGS) a permis de mieux les caractériser. Les altérations impliquant les gènes de réparation

de l'ADN sont observées dans environ 25 % des cas, et peuvent être de nature somatique ou constitutionnelle (7).

Ainsi, dans une étude incluant 451 patients, Abida et ses collaborateurs ont identifié une altération somatique impliquant un gène de réparation de l'ADN par Recombinaison Homologue (RH) chez 22 % des patients. Environ la moitié d'entre eux étaient également porteurs d'une altération d'origine constitutionnelle (8). Les gènes de réparation de l'ADN par RH les plus souvent altérés étaient *BRCA2* (6,1%), *ATM* (3,7%), *CDK12* (2,8%), *CHEK2* (1,7%) et *BRCA1* (1%) dans l'étude menée par Dawson et ses collaborateurs, dans laquelle le tissu tumoral de 1027 patients avec un cancer de la prostate a été séquencé (9). Ce type d'altérations survient dès le stade localisé, la prévalence de ces altérations surviennent à un stade plus tardif, comme par exemple celles impliquant les gènes *AR* ou *TP53* (10). Parmi les 3607 patients avec un cancer de prostate testés dans l'étude de Nicolosi et ses collaborateurs, 17,2 % d'entre eux étaient porteurs d'une altération constitutionnelle d'un gène de la voie RH. Environ 30% de ces altérations impliquaient les gènes BRCA (11). D'autres auteurs, comme Pritchard et ses collaborateurs, ont montré que ces altérations constitutionnelles étaient plus fréquemment observées au stade métastatique (11,8%) qu'au stade localisé (4,6%) (12).

Les gènes de réparation de l'ADN par RH les plus connus sont *BRCA1* et *BRCA2*, des gènes suppresseurs de tumeurs respectivement situés sur les chromosomes 17 et 13 (13), (14). Ce système de réparation est fidèle, puisqu'il utilise la séquence homologue intacte pour réparer les cassures double brin. Au contraire, le système de réparation par jonction des extrémités non homologues (JENH), n'utilise pas la chromatide sœur comme modèle et ne restaure pas systématiquement la séquence initiale d'ADN. Ce système JENH est donc susceptible d'engendrer des erreurs de réparation et de conduire à une instabilité génomique (7), (14).

Le système de réparation par recombinaison homologue (RRH) comporte de nombreux acteurs, dont les protéines BRCA1 et BRCA2 sont des éléments clés (7). On estime que 0,2 % de la population est porteuse d'une anomalie constitutionnelle de *BRCA1* ou de *BRCA2*. Cette proportion est dix fois plus élevée chez les patients atteints d'un cancer du sein (2-3 %). Ainsi, une femme porteuse d'une mutation germinale de *BRCA1* ou de *BRCA2* présenterait un risque respectivement de 85 % et de 40 à 45% de développer un cancer du sein, au cours de sa vie (15). Les altérations des gènes BRCA favorisent également le développement de carcinomes ovariens. Une femme atteinte d'une mutation de *BRCA1* ou de *BRCA2* a respectivement un risque de 40 à 50% et de 15 à 30% de développer un cancer de l'ovaire séreux de haut grade (13). De plus, les anomalies constitutionnelles des gènes BRCA

favorisent la survenue d'autres cancers, notamment du pancréas (*BRCA2*), du côlon (*BRCA1*) et de la prostate (*BRCA2*) (13). Les altérations constitutionnelles des gènes BRCA entraînent la carcinogénèse selon l'hypothèse du « double hit », le premier « hit » étant constitutionnel (héréditaire ou survenant de novo au cours de l'embryogénèse) et le second « hit » survenant de façon somatique (dans une cellule après l'embryogénèse) (16).

C- Inhibiteurs de PARP

Les protéines PARP (Poly-ADP-Ribose-Polymerase), dont la mieux caractérisée est la protéine PARP1, possèdent un rôle majeur dans la réparation des cassures simple brin de l'ADN. Ces cassures sont détectées par la protéine PARP1, qui se fixe alors sur le site endommagé et catalyse une réaction de polymérysation des unités d'ADP-ribose à partir de molécules de nicotinamide adenine dinucléotide (NAD+). Cette réaction, la « PARylation », entraîne le recrutement d'autres protéines impliquées dans ce système de réparation (17)). Les inhibiteurs de PARP se fixent sur le site actif de la protéine PARP1 en compétition avec le NAD+ et empêchent la PARylation (17), (18). Les protéines PARP sont ainsi inhibées et les cassures simple-brin ne peuvent plus être réparées, ce qui entraîne des cassures double-brins de l'ADN. Celles-ci sont habituellement réparées par le système de recombinaison homologue (RH) ou de jonction des extrémités non homologues (JENH) (19). En cas de déficience du système RRH, la réparation des cassures double-brin est déviée vers la voie de réparation JENH. Cette dernière, peu fiable, génère des erreurs de réparation qui augmentent potentiellement l'instabilité génomique et favorisent la mort de la cellule (17). Ce mécanisme a été théorisé sous le concept de létalité synthétique, dans lequel les cellules tumorales dont le système RRH est déficient sont sensibles aux inhibiteurs de PARP. En effet, c'est l'inactivation concomitante de deux voies de réparation de l'ADN qui entraîne la mort cellulaire (figure 1). En revanche, les cellules non tumorales dont le système RRH n'est pas déficient (absence d'altération ou anomalie hétérozygote) ne sont pas sensibles aux inhibiteurs de PARP. De ce fait, une nouvelle classe de thérapies ciblées révolutionnaire est née.

En 2014, l'utilisation d'un premier inhibiteur de PARP, l'olaparib, a été approuvé par l'Agence Européenne des Médicaments (EMA) chez les patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire séreux de haut grade récidivant et présentant une mutation des gènes *BRCA1* ou *BRCA2* (germinale ou somatique) (20).

Les indications des inhibiteurs de PARP se sont progressivement étendues aux cancers du sein (carcinomes mammaires localement avancés ou métastatiques, HER2 négatif, avec mutation germinale des gènes *BRCA1* ou *BRCA2*) ainsi qu'au cancer du pancréas (adénocarcinomes pancréatiques métastatiques avec mutation germinale des gènes *BRCA1* ou *BRCA2*) (21).

Chez les hommes, les altérations constitutionnelles des gènes BRCA augmentent le risque de développer un cancer de la prostate, sont associées à des formes plus agressives et sont plus fréquemment identifiées dans les formes métastatiques (12), (15), (22).

En se fondant sur les résultats très encourageants des inhibiteurs de PARP dans les cancers de l'ovaire et du sein chez les patientes avec des altérations des gènes BRCA et en tenant compte de la fréquence des anomalies du système RRH dans les cancers de la prostate, plusieurs études se sont intéressées à l'efficacité des inhibiteurs de PARP dans ces cancers (20).

PROfound est une étude randomisée de phase III multicentrique, visant à comparer l'efficacité et la sécurité de l'olaparib à l'enzalutamide (inhibiteur des récepteurs aux androgènes) et à l'acétate d'abiratérone (inhibiteur sélectif de la biosynthèse des androgènes) chez les hommes ayant un cancer de prostate métastatique résistant à la castration. Ces patients avaient au moins un variant identifié sur un panel de 15 gènes impliqués de façon directe ou indirecte dans la réparation de l'ADN par RH (BRCA1, BRCA2, ATM, BRIP1, BARD1, CDK12, CHEK1, CHEK2, FANCL, PALB2, PPP2R2A, RAD51B, RAD51C, RAD51D et RAD54L). Les analyses moléculaires ont été réalisées à partir de tissus fixés en formol et inclus en paraffine (FFPE), provenant de la tumeur primitive ou d'un site métastatique. En fonction du gène altéré, les patients ont été répartis dans la cohorte A (BRCA1, BRCA2, ATM) ou dans la cohorte B (autres gènes). Ils ont ensuite reçu de manière aléatoire l'olaparib (ratio 2:1) ou une hormonothérapie de nouvelle génération (groupe contrôle). Les résultats ont montré le bénéfice de l'olaparib, par rapport au groupe contrôle, sur la survie sans progression radiologique dans les deux cohortes (avec un bénéfice plus important dans la cohorte A, critère de jugement principal) et un bénéfice sur la survie globale dans la cohorte A (23), (24).

Suite à cet essai, la Food and Drug Administration (FDA) a approuvé en Mai 2020 l'utilisation de l'olaparib dans le traitement des patients ayant un cancer de la prostate métastatique résistant à la castration porteurs d'une altération somatique ou germinale d'un gène de la réparation par RH et dont la maladie a progressé malgré la mise en place d'un traitement par abiraterone ou enzalutamide (20), (25).

En Novembre 2020, l'utilisation de l'olaparib a été approuvée par l'Agence européenne des médicaments (EMA) pour les patients ayant un cancer de prostate résistant à la castration, ayant progressé après un traitement antérieur incluant une hormonothérapie de nouvelle génération et chez qui une altération somatique ou germinale de *BRCA1* ou *BRCA2* a été identifiée (21).

La détection d'une mutation d'un gène RRH, plus particulièrement *BRCA1* et *BRCA2*, permet donc au patient atteint d'un cancer de la prostate métastatique et résistant à la castration de bénéficier d'un traitement par inhibiteur de PARP.

L'analyse du tissu tumoral permet de détecter les mutations somatiques et constitutionnelles mais ne permet en revanche pas de les distinguer. A l'inverse, l'analyse de l'ADN leucocytaire permet seulement de détecter les mutations constitutionnelles (26).

Ainsi, la recherche d'une mutation se fait initialement par analyse du tissu tumoral. En cas de détection d'un variant pathogène ou probablement pathogène, une consultation d'oncogénétique est par la suite proposée au patient afin d'en déterminer la nature somatique ou constitutionnelle. Le rationnel du testing est détaillé en **figure 2**.

D- Limites de l'analyse tissulaire et biopsies liquides

Les analyses de génétique permettant de rechercher une anomalie somatique d'un des gènes de la RRH dans la tumeur se font quasi-exclusivement à partir de tissus FFPE. Le tissu fixé représente en effet le gold standard des prélèvements à partir desquels est réalisée la majorité des analyses génétiques sur des tumeurs solides (26).

L'étude PROfound a cependant montré un taux d'échec élevé de cette analyse (31%) sur tissu FFPE, questionnant sur l'opportunité de tester d'autres supports d'extraction de l'ADN tumoral (27). Le taux d'échec prospectif de cette analyse sur tissu FFPE sur la plateforme de génétique moléculaire des cancers (PGMC) du CHU de Tours est similaire, de l'ordre de 30 %.

Ces échecs d'analyses moléculaires peuvent s'expliquer par une mauvaise qualité et/ou par une quantité insuffisante d'ADN extrait à partir des prélèvements tissulaires. Ainsi, une maîtrise de la phase pré-analytique nécessite entre autres la sélection d'un bloc FFPE renfermant une quantité et un pourcentage suffisant en cellules tumorales. De plus, le temps de fixation doit être adapté au prélèvement, en utilisant du formol neutre tamponné à 10% (28).

L'os constitue le site métastatique principal des cancers de la prostate (29). Or, les décalcifiants utilisés dans la prise en charge des prélèvements osseux sont responsables d'une dégradation de l'ADN (26). De plus, cette topographie est parfois difficilement accessible à la biopsie. De ce fait, l'analyse génétique moléculaire est souvent réalisée à partir du prélèvement initial, parfois ancien, alors que les acides nucléiques se dégradent au cours du stockage (26).

Pour pallier ces échecs de l'analyse tissulaire, des études se sont intéressées à l'analyse de l'ADN circulant provenant de biopsies liquides. Celles-ci présentent l'avantage d'être une procédure non invasive, pouvant être répétée plusieurs fois, susceptible de mettre en évidence des clones émergents, comme des mutations de résistance, et de refléter davantage l'hétérogénéité tumorale que les prélèvements tissulaires (30). Ainsi, la recherche de variants dans les cancers du poumon sur ADN circulant est déjà validée et utilisée en routine diagnostique sur la Plateforme de Génétique Moléculaire des Cancers (PGMC) du CHU de Tours, à partir de liquide pleural ou de plasma.

Pendant le recrutement de l'étude PROfound, des échantillons de plasma ont été collectés pour une analyse génétique sur l'ADN circulant plasmatique, en parallèle du tissu FFPE, afin de déterminer le taux de réussite de l'analyse génétique à partir de cette matrice, ainsi que la concordance des résultats obtenus sur tissu FFPE et sur ADN circulant. Le taux de succès de l'analyse génétique sur ADN circulant (test FoundationOne Liquid CDx) dans cette étude était de 81%, avec une bonne concordance entre les mutations détectées sur tissu et sur plasma (31). Plus récemment, l'étude PROpel, qui a montré un bénéfice sur la survie sans progression radiologique chez les patients traités par la prise combinée d'olaparib et d'acétate d'abiraterone, a rapporté une concordance de détection de 80 % entre les résultats obtenus à partir d'ADN tissulaire et circulant plasmatique (32), (33).

Compte tenu des résultats encourageants de l'étude PROfound concernant la concordance des résultats FFPE/plasma, nous avons souhaité évaluer la faisabilité technique de cette analyse sur plasma avec la technique de NGS mise en place sur la PGMC du CHU de Tours. Un second objectif original de cette étude était d'évaluer la faisabilité technique sur une autre matrice totalement non invasive, l'urine. En effet, du fait de son contact direct avec l'urètre prostatique, la recherche d'altérations génétiques à partir de l'urine pourrait constituer une alternative intéressante. De plus, une concordance satisfaisante dans la détection de mutations à partir du tissu tumoral et de l'urine a été démontrée pour d'autres organes que la prostate, notamment le poumon (34).

Figure 1. Létalité synthétique



Pour entraîner la mort de la cellule, l'altération concomitante de deux gènes est nécessaire. En effet, l'altération d'un unique gène ne suffit pas à provoquer la mort de la cellule.

Boussios, S. et al. BRCA Mutations in Ovarian and Prostate Cancer: Bench to Bedside. Cancers 14, 3888 (2022).

Figure 2. Rationnel du testing



Exemple de 100 patients avec un cancer de la prostate métastatique, chez qui on effectue une recherche de variants, dont 5 patients présentent une mutation constitutionnelle et 5 patients présentent une mutation somatique.

Si on effectue un test constitutionnel d'emblée, 100 consultations d'oncogénétique seront nécessaires avant la réalisation des 100 tests constitutionnels. Seuls les 5 variants constitutionnels seront identifiés et 95 tests somatiques seront effectués pour permettre d'identifier les 5 variants somatiques.

Si à l'inverse on débute par le test somatique, les 10 variants (somatiques et constitutionnels) seront détectés, aboutissant seulement à la réalisation de 10 consultations d'oncogénétique pour la recherche d'un éventuel variant constitutionnel (qui sera potentiellement présent dans 5 cas).

IV- Assessment of the technical feasibility of testing circulating tumor DNA for homologous recombination gene variants in metastatic prostate cancer

Assessment of the technical feasibility of testing circulating tumor DNA for homologous recombination gene variants in metastatic prostate cancer

Caroline Ab Der Halden^{1,2}, Anne Tallet², Mathilde Cancel³, Franck Bruyère⁴, Claude Linassier³, Benjamin Faivre D'Arcier⁴, Serge Guyétant^{2,5}, Gaëlle Fromont⁵, Christine Bonenfant², Matthias Tallegas^{1,2}

- (1) Department of Pathology, University Hospital Center of Tours, Tours, France
- (2) Platform of Somatic Tumor Molecular Genetics, Tours University Hospital Center, Tours, France
- (3) Department of Oncology, Tours University, Tours University Hospital Center, Tours, France
- (4) Department of Urology, Tours University, Tours University Hospital Center, Tours, France
- (5) Department of Pathology, Tours University, University Hospital Center of Tours, Tours, France

Disclosure/Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Sources of support: AstraZeneca provided support of this study.

Institutional review board: Study approved by the Comité de Protection des Personnes IDF3 (n° CPP 4098).

Corresponding author:

Dr. Matthias Tallegas Department of Pathology, Hospital of Trousseau, University Hospital Center of Tours, 37044 TOURS Cedex 09 France. Tel : +33 (2) 47 47 72 35/Fax: +33 (2) 47 47 46 22 Email : m.tallegas@chu-tours.fr

Running Title: Assessment of the technical feasibility of testing circulating tumor DNA for homologous recombination gene variants in metastatic prostate cancer

Manuscript Word count (Excluding capsule summary, abstract, references, figures, and tables): 5239

Abstract Word count: 444

List of attachments: Tables: 5, Figures: 7

Key words: prostate, cancer, PARP inhibitors, BRCA, molecular genetics, NGS

Abstract

Introduction. Metastatic castration resistant prostate cancer (mCRPC) has a poor prognosis. A better understanding of the molecular genetics of these tumors has revealed a high frequency of alterations in genes involved in DNA repair (estimated at 25% at the metastatic stage). Recently, the PROfound study highlighted the benefit of a PARP inhibitor, olaparib, in radiographic progression-free survival and overall survival in patients with metastatic prostate harboring *BRCA1*, *BRCA2* or *ATM* genes alterations. Olaparib is approved in France for the treatment of metastatic prostate cancer with a *BRCA1* or *BRCA2* mutation, whose disease has progressed despite the introduction of new hormonal agent. Tissue analysis is currently the gold standard for the detection of these alterations, and may be followed by constitutional testing. The failure rate of DNA analysis on FFPE tissue is however around 30 %, motivating the search for other alternatives such as liquid biopsies testing. In this context, the aim of the study is to determine the technical feasibility of plasma and urine circulating cell-free DNA (ccfDNA) analysis in this indication as an alternative to FFPE tissue analysis.

Methods. 30 patients were included between August 2022 and June 2023, enabling the collection and analysis of 30 FFPE, 31 plasma and 24 urine samples. After DNA extraction and libraries preparation, samples were sequenced by NGS using a commercial panel designed for analysis on ccfDNA, targeting 15 genes involved in DNA repair, including *BRCA1* and *BRCA2*. « Pathogenic » and « likely pathogenic » variants detected in FFPE tissue were compared with those identified in plasma and urine.

Results. Of the 30 FFPE samples analyzed, 29 (96.6%) generated interpretable sequencing results. It was also the case for all of the plasma samples (31/31, 100%), but only for 11 urine samples (11/24, 45.8%). A total of 11 « pathogenic » or « likely pathogenic » variants were identified in 7 patients from FFPE tissue. Of these 11 variants, 7 were found in matched plasma ccfDNA in 5 patients, leading to a positive percentage agreement of 71 %, and a negative percentage agreement of 100 %. This study highlighted a good concordance in variant detection between FFPE and plasma ccfDNA. In contrast, none of the expected pathogenic variants were found in urine ccfDNA.

Discussion. Our results showed that analysis of plasma ccfDNA could be an interesting routine alternative when tissue analysis has failed. As the concordance of detection was 100% in patients with a pejorative disease course, we can assume that this type of analysis is better suited to this patient population. The higher sensitivity of the test in this population is likely related to a higher fraction of circulating tumor DNA (ctDNA) in these patients. Further investigations would be desirable to compare the analysis of urinary circulating DNA and tissue tumor DNA.

Introduction

Prostate cancer is the second most common solid tumor in men in the world (1). It is estimated to be the leading cancer in terms of incidence in France in 2023(2).

Prognosis is variable, depending of disease stage, with good outcomes for most of localized cancers. Conversely, metastatic prostate cancer leads to poor prognosis and usually requires androgen deprivation therapy combined with either chemotherapy or new hormonal agent (3). Inevitably, resistance to castration appears, leading to a median survival of less than two years (4).

It was therefore essential to find new therapies to improve outcome of metastatic prostate cancer.

The development of next generation sequencing (NGS) has led to a better understanding of genetic alterations in prostate cancer. Alterations involving DNA damage repair genes are observed in approximatively 20% of cases and can be somatic events or germline abnormalities (in equal proportion).

Indeed, in a previous study enrolling 451 patients, Abida et al. reported somatic alterations in DNA repair genes by Homologous Recombination (HR) for 22 % of patients. This study suggests that half of patients with metastatic castration resistant prostate cancer (mCRPC) harboring a somatic alteration also have a germline aberration (5).

According to Dawson et al., out of 1027 patients with a prostate cancer tissue sample sequenced, the most common Homologous Recombination Repair (HRR) genes alterations (somatic or germline) involved *BRCA2* (6.1 %), *ATM* (3.7 %), *CDK12* (2.8 %), *CHEK2* (1.7%) and *BRCA1* (1%). Finally, a total of 17.3% of patients harbored DNA repair damage in this cohort (6). These alterations were shown to occur in the early stage of the disease with a prevalence similar between matched primary and metastatic tissues (7).

Among 3607 patients with prostate cancer included in Nicolosi et al. study, 17.2 % had germline HRR genes deleterious variants, including 30.7% variants in *BRCA2* or *BRCA1* (8).

Pritchard et al. identified germline DNA-repair mutations in 11.8% of the 692 recruited patients with metastatic prostate cancer. This frequency was significantly higher among men with metastatic than those with localized prostate cancer and in histological high-grade tumors (ISUP 4 and 5) (9)(10). Moreover, germline BRCA alterations carriers had more aggressive disease with poorer prognosis (11).

Following the encouraging results of PARP inhibitors in patients with BRCA deficient ovarian carcinoma, several studies have investigated their use in prostate cancer, such as TOPARP-A trial. In this study, patients with mCRPC) receiving olaparib had a higher response rate if they had an alteration in DNA-repair genes (12).

PROfound was an open-label phase 3 trial evaluating the PARP inhibitor olaparib in two cohorts of men with mCRPC with at least one alteration in HRR genes (*BRCA1/BRCA2/ATM* in cohort A, other genes in cohort B). Patients were randomly assigned to receive olaparib in a 2:1 ratio or new hormonal agent (enzalutamide or abiraterone). Results suggested the benefit of olaparib on imaging-based progression-free survival (PFS) in both cohorts with a higher impact in cohort A (first primary endpoint), and a benefit on overall survival (OS) in cohort A (13)(14).

Following these promising outcomes, olaparib use was approved in patients with mCRPC with HRR genes alterations that has progressed on enzalutamide or abiraterone by the Food and Drug Administration (FDA) in May 2020, and then approved by the European Medicines Agency (EMA) for mCRPC with *BRCA1* or *BRCA2* genes alterations (germline or somatic) in November 2020 (15).

It was therefore necessary to identify patients who could benefit from this new treatment.

Tissue test can detect both somatic and constitutional mutations, with no distinction between the two, whereas nearly 50 % of patients eligible for PARP inhibitors would be missed if a germline testing is performed alone. Thus, a germline testing may be proposed afterwards to patients with a positive tissue detection, to specify if the mutation is somatic or germline (16) (17) (18).

Currently, formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tumor tissue testing represent the gold standard (19). However, data from literature suggest that tissue testing fails for approximately 20-30% of cases (4). These failure rates are similar to those observed in PROfound study which was 31% (13)(20).

A more recent trial, PROpel, assessing the benefit of olaparib in combination with Abiraterone and in which 782 patients were analyzed, recorded a failure of tissue testing for 32% of samples (21).

Tumor testing failure can be due to a number of factors such as aged tissue sample, poor fixation, low cellularity and tumor volume or poor storage conditions (18). Moreover,

metastatic biopsies testing may be challenging, as bone is the most common metastatic location of prostate cancer and decalcification leads to DNA degradation (18).

Faced with this problem, several studies have sought to assess the concordance of variants identified from tumor tissue and circulating cell-free DNA (ccfDNA) and suggested very encouraging outcomes, as reported in Armstrong et al. (PROpel), Chi et al., Tukachinsky et al. or Schweizer et al. (21)(22)(23)(24).

Moreover, liquid biopsy offers some advantages compared with tissue testing, as this is a minimally invasive sample, which can be repeated over time and may also better reflect tumor heterogeneity (17). Thus, the plasma ccfDNA assay can detect the emergence of new acquired alterations (25). It is important to note that, as for tumor tissue analysis, both somatic and germline mutations are detected though ccfDNA assay (19).

In this context, and based on literature data, we hypothesized that genetic alterations detected in tumor tissue could also be detected from plasma ccfDNA. We also aimed ccfDNA derivedurine, because of the limited data available.

Methods

PROstate MEtastatique CIrculant (PROMECI) is a monocenter observational prospective study leaded according with the principles of the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practice guidelines (CPP n°4098) and was conducted in University Hospital of Tours. All participants provided written consent.

Thirty patients with a metastatic prostate cancer and an archived FFPE tissue sample analyzed at the pathology department of the university hospital of Tours were prospectively enrolled between August 2022 and May 2023. Patients were excluded in case of refusal of blood and urine collection, cognitive disability, guardianship or curatorship. All patients included were cared at the university hospital of Tours, an expert clinical center in prostate cancer. One patient was included twice (PROM10, included in February 2023 and PROM27, included in May 2023).

The 30 FFPE samples included in the study were collected between 2003 and 2023, including 26 primary tumors (9 surgical specimens, 14 core-needle biopsies, 2 trans-urethral resection of prostate (TURP), 1 trans-urethral resection of bladder (TURB)) and 4 metastases (3 surgical specimens and 1 core-needle biopsy), including 1 bone metastasis and 3 lymph node metastases.

After destorage of FFPE tissue, a selection of the best suitable sample was performed by an experienced (CR) or an expert uropathologist (GF), taking into account the size and tumor cellularity of the sample. Macrodissection was sometimes performed in order to increase tumor cellularity. Tumor cellularity was assessed in accordance with the Association Française d'Assurance Qualité en Anatomie et Cytologie Pathologiques (AFAQAP) recommendations. DNA was extracted from unstained blades (n = 29) and thick cutting edges (n = 1). The tumor cellularity on selected samples was most often between 30 and 50 % (n = 18 ; 58 %). Median area collected after macrodissection from unstained blades was 10 mm² (min = 3 ; max = 50). All samples were sent to the cancer molecular genetics platform (CMGP) of Tours for analysis. DNA was extracted using Maxwell 16 FFPE Plus LEV DNA purification kit on a Maxwell 16 device (Promega, Madison, USA). DNA was then quantified by fluorometry with a dsDNA High Sensitivity Assay kit on a Qubit 4 Fluorimeter (InVitrogen, Oregon, USA).

Two Cell-Free DNA blood tubes (Roche Diagnostics, Indianapolis, USA) and at least 8 ml of urine were collected during the medical consultation (urology or oncology).

Urine and blood samples were then sent to the CMGP at room temperature. After a centrifugation step, 4 ml of plasma and 4 then 8 ml of urine were collected (4 ml from PROM01 to PROM23, 8 ml from PROM24 to PROM31). ccfDNA of urine and plasma samples was extracted using the Maxwell RSC ccfDNA Plasma Kit (Promega, Madison, USA) and quantified by fluorometry like the FFPE samples. The minimum DNA concentration required to allow a good sequencing process was 0.5 ng/µl (10 ng of DNA) according to the routine laboratory process. Even though DNA concentration was < 0.5 ng/µl it was still analyzed for the study.

Urine couldn't be collected or in insufficient quantity (< 8 ml) for 7 patients, resulting in exclusion of the sample. Finally, 31 plasma samples and 24 urine samples were analyzed.

Libraries were prepared using the QIAseq Targeted DNA Panel kit (Qiagen, Hilden, Germany). The HRR panel used includes 15 genes (*BRCA1/BRCA2, ATM, BARD1, BRIP1, CDK12, CHEK1, CHEK2, FANCL, PALB2, PPP2R2A, RAD51B, RAD51C, RAD51D* and *RAD54L*) involved in HRR, covering 56.5K base pairs (bp) and using 2300 primers. Briefly, this amplicon technology consisted in fragmentation and A tailing of DNA, indexing of samples (used for identification), addition of Unique Molecular Index (UMI) and target enrichment by single primer extension with gene specific primers. Read-UMI are equivalent to read sequences but from the same initial DNA molecule. In this panel, each exon of each gene was covered with several primers (average of 8.4 primers by exon). Then DNA was amplified by PCR. The last step was normalization by dilution leading to a final concentration of 4 nmol/µl for each library. Then, all libraries were pooled and diluted at 1.5 pmol/l.

Sequencing was performed on a NextSeq 550 (Illumina, San Diego, USA). 1300 μ l of denatured libraries pool were loaded in a NextSeq Mid Output V2.5, 300 cycles reagent cartridge. The run was programmed for paired-end of 2 x 151 bp sequencing.

Once sequencing was completed, quality parameters were checked using Sequencing Analysis Viewer Software (Illumina, San Diego, USA). Sequencing performance criteria, according to the manufacturer recommendations, were a Q30 \geq 75 %, a cluster density between 170 and 300 K/mm² and a proportion of clusters passing filters \geq 70 %.

The bioinformatics analysis was carried-out with the in-house pipeline used routinely, using the CLC Genomics workbench software (Qiagen, Hilden, Germany). Briefly, sequenced reads were aligned on Human reference Genome GRCh37/hg19. Several filters were applied to clean reads and eliminate artefactual variants.

At the end of this workflow, data for each patient are available in an excel table, with a line for each variant and other parameters including variant allele frequency, mean coverage, nucleotidic and aminoacid variation (c. and p.). The different stages of the analysis are summarized in **figure 1**.

The pathogenicity of the variants (**table 1**) was determined by the CMGP molecular genetic referents using the classification of the American College of Medical Genetics (ACMG) and taking into account the recommendations published by the expert societies for the classification of somatic variants and specific recommendations available for a few genes (*BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *CHEK2*) at the time of the analysis. Databases and aggregators such as BRCAexchange, MobiDetails, Varsome and cBioportal were used (26)(27)(28)(29)(30)(31)(32)(33)(34).

Detected variants from tissue DNA were considered if allelic frequency was > 5%, and regardless of allelic frequency from plasma or urine ccfDNA.

Statistical Analysis

All statistical analysis and graphical representation of the data was performed using Prism 10 software (GraphPad Software, Boston, MA). All quantitative variables were considered to have a non-normal distribution after distribution test (Shapiro-Wilk and Kolmogorov-Smirnov). Mann-Whitney test was used to compare quantitative variables, chi-square test and Fischer's exact test for contingency analysis and Spearman's test for correlation analysis. All values of p < 0.05 were considered significant.

Results

Cohort characteristics are summarized in table 2.

Study population median age was 64 years old (min 46; max 83). The median time between diagnosis and inclusion was 78 months (min = 0; max = 332). Most of patients had metastasis at initial diagnosis (n = 16; 53%), with a mean period between histological diagnosis and the metastatic stage of 28 months (min = 0; max = 297, median = 0). Median period between metastatic stage and patient's inclusion in the study was 47 months (min = 0; max = 221).

Eighteen patients (60%) were resistant to castration at the inclusion in the study. Median time between the first line of hormonotherapy and the hormonal castration resistance was 23 months (min = 5 months ; max = 139 months). Among these patients, none had received any PARP inhibitors treatment before inclusion. Median time between metastasis diagnosis and castration resistant status was 64 months (min = 2 months ; max = 139 months).

Metastases were mostly observed in lymph nodes (25/30, 83.3%) and bones (24/30, 80%), with 22 patients (73.3%) having both. 6 patients (20%) had visceral metastases. Ductal or intraductal contingent was present for 6 patients (20%). ISUP grade is summarized in **figure 2** and varied from 2 to 5 with ISUP 5 being the most frequent (n = 11, 36%).

Median time between paraffin embedding and DNA extraction was 54 months (min = 0; max = 240).

Extraction data are summarized in **figure 3A**. DNA concentration was significantly higher from FFPE than from plasma and urine samples (p < 0.0001). DNA concentration from plasma samples was significantly higher than from urine samples (p < 0.0001).

All of the FFPE samples (30/30, 100 %) passed DNA extraction step, whereas 10/31 plasma samples (32.2 %) and 3/24 (12.5%) urine samples had a DNA concentration > 0.5 ng/ μ l. Among the 21 urine samples with DNA concentration < 0.5 ng/ μ l, 7 had no DNA concentration quantifiable by fluorometry (concentration <0.1 ng/ μ l).

Median DNA concentration assessed by fluorometry was 11 ng/µl for FFPE samples (min = 0.5; max = 193), 0.4 ng/µl for plasma samples (min = 0.149; max = 3.21) and 0.2 ng/µl for urine samples (min = 0; max = 1.86). As the quantity of extracted ccfDNA from the first analyzed urine samples was insufficient, the volume of collected urine has been increased during inclusion (8ml instead of 4 ml). There was no significant difference in the concentration of ccfDNA extracted from 4 or 8 ml of urine (p = 0.2460). Median DNA concentration for core-needle biopsies, surgical specimens and TURP were 6 ng/µl (min = 0.5

; max = 107), 12 ng/µl (min = 1.19 ; max = 193) and 36 ng/µl (11 and 61.5 ng/µl), respectively.

As explained previously in Materiel and Methods sections, all samples, regardless of DNA concentration after extraction, were prepared and sequenced.

DNA extraction was followed by the libraries generation, whose results are summarized in **figure 3B**. Libraries could be produced for all samples. Median libraries concentration was 11.4 ng/µl (min = 0.259; max = 21.9), 14.7 ng/µl (min = 4.91; max = 21.2) and 14.2 (min = 0.05; max = 21.6) ng/µl respectively for FFPE, plasma and urine samples. Libraries concentration was significantly higher in plasma than in FFPE samples (p < 0.0005), whereas there was no significant difference with urine samples (p = 0.1180), and no difference between plasma and urine samples (p = 0.3010). Again, no difference in libraries concentration could be observed when ccfDNA was extracted from 4 or 8 ml of urine (p = 0.7489).

After the libraries generation, all samples were sequenced with the NextSeq 550. Performance criteria were validated in all runs. Q30, cluster density and passing filters cluster means were respectively 79 %, 269 K/mm² and 84%. Coverage data are summarized in **figures 3C** and **3D**. Median read coverage for all target regions sequenced were 10765 (min = 96 ; max = 31665), 10957 (min = 3561 ; max = 30724) and 5795 (min = 2 ; max = 12990) respectively for FFPE, plasma and urine samples. Read coverage was similar for FFPE and plasma samples (p = 0.8749), whereas it was higher in FFPE samples than in urine samples (p < 0.0006), and higher in plasma than in urine samples (p < 0.0001). Again, no difference in read coverage could be observed when ccfDNA was extracted from 4 or 8 ml of urine (p = 0.4715).

Median UMI-Read coverage for all target regions sequenced were 1201 (min = 2.5; max = 4063), 506 (min = 128; max = 3099) and 60 (min = 1.08; max = 1144) respectively for FFPE, plasma and urine samples. FFPE UMI-Read coverage was higher in FFPE than in plasma (p = 0.0187) or urine samples (p < 0.0001). Finally, UMI-Read coverage was higher in plasma than in urine samples (p < 0.0001), with again no difference in UMI-Read coverage when ccDNA was extracted from 4 or 8 ml of urine (p = 0.2983).

Only one FFPE sample, none of plasma and 13 urine samples did not meet quality control criteria due to low sequencing coverage and were considered uninterpretable, leading to an analytic failure rate of 3.3 %, 0 % and 54 % respectively.

DNA concentration was significantly higher when extracted from surgical specimens than from biopsies (p = 0.0453), without significant difference for libraries concentration (p = 0.7477), read coverage (p = 0.3378) and UMI-read coverage (p = 0.6260).

A larger tumor macrodissection area was significantly correlated with an increasing DNA concentration (p < 0.0001), but there was no correlation with libraries concentration (p = 0.4872), read coverage (p = 0.8718) and UMI-read coverage (p = 0.3319).

An increasing delay between paraffin embedding and DNA extraction was correlated with a lower read coverage (p = 0.0242) and UMI-read coverage (p = 0.0350), but no difference was observed with DNA concentration (p = 0.6943).

A total of 11 pathogenic (C5) or likely pathogenic (C4) variants in HRR genes were identified among 7/30 (23.3%) FFPE samples (PROM02, PROM06, PROM10, PROM12, PROM15, PROM24, PROM28) including 6 primary tumors and 1 lymph node metastasis, with 2 distinct variants identified from 2 patients (PROM06 and PROM10) and 3 variants for 1 patient (PROM02). ISUP score was 5 for 4 patients ; score 4 for 1 patient ; score 3 for 1 patient and score 2 for 1 patient. Clinical and histological characteristics are summarized in **table 3**. C4 or C5 variants identified involved *ATM* (n=2, 18 %), *BRCA2* (n=4, 36 %) *CDK12* (n=4, 36 %), *CHEK2* (n=1, 9 %) genes and are reported in the **table 4**, with related allelic frequencies and coverage data. Patients with identified C4 or C5 variant were younger than in the non-mutated population (p = 0.0493), with a median age of 60 in the mutated population and 66 years in the non-mutated population (**figure 4**). Even if ISUP score of 5 was observed in almost 60 % of patient with a C4 or C5, ISUP score was not correlated with a positive variant detection (p = 0.4620). Histological images with different ISUP scores of 2 patients (PROM10 and PROM28) are shown in **figure 5**.

C4 or C5 variants were detected in 5/31 plasma samples (16.1 %), all also detected in corresponding tissue samples (PROMT06, PROMT10, PROMT12, PROMT15, PROMT24). In total, 7 of the 11 (63.6%) pathogenic or likely pathogenic variants identified in FFPE samples were also detected in paired-ccfDNA. Results were discordant for 2 patients (PROM02 and PROM28), with no genetic alteration identified in plasma-derived ccfDNA while variants were detected in the matched tissue samples. As previoulsy quoted, plasma and urine samples of PROM10 (included in February 2023) and PROM27 (included in May 2023) came from the same patient. However, both *BRCA2* pathogenic variants identified in the FFPE sample were successefully detected on PROMP10 plasma but not on PROMP27's.

None of urine samples allowed C4 or C5 variant detection (0/11). Because of the lack of variant detection in urine samples, statistical analysis was only performed to compare variant detection in FFPE and plasma samples.

Using the tumor tissue as gold standard compared to plasma ccfDNA testing, positive percentage agreement (PPA) was 71 % and negative percentage agreement (NPA) was 100 % with a positive predictive value (PPV) of 100 % and a negative predictive value (NPV) of 92% (table 5).

Discussion

This monocenter observational prospective study aimed to assess the feasability of HRR variant detection in ccfDNA from plasma and urine samples, in patients with metastatic prostate cancer.

Patient's ages were similar to those analyzed in the real-life conditions, in comparaison with patients routinely analyzed on the CMGP in 2021-2022 (median age of 71 years, data not shown).

Collected FFPE tissue included as many biopsies as surgical samples (TURP and TURB considered as surgical specimens), whereas in prior studies analyzed tissues were mostly core-needle biopsies, such as in PROfound (14). This predominance of biopsy samples is also observed retrospectively for samples analyzed routinely on the CMGP : in 2021-2022, 60% of core biopsies and 32% of surgical samples were analyzed.

Bone is the main metastasis localization in prostate cancer (35). However, in this study, more lymph node samples (75% of metastatic tissues) were analyzed. Otherwise, in this study, the FFPE DNA extraction failure rate was lower (0%) than in previous studies (22.7 % in PROfound). Indeed, in this study all patients where cared in an expert clinical center whith an increased surgical specimen collection, and the selection of the material was performed by an uropathologist expert, excluding when possible bone samples and favoring surgical specimen, with a macrodissection step to increase tumor content and cellularity if necessary. (18).

Conversly, these pre-analytic steps are no systematically performed for external cases analyzed routinely on the CMGP, as in PROfound (multicenter international study). Indeed, insufficient DNA concentration is the main cause of analysis failure on the CMGP as in PROfound (21.9 % of samples in 2021-2022), even if libraries preparation required only 10 ng versus 50 ng in PROfound (FoundationOne CDx test).

In PROfound study, higher median and mean DNA concentration were obtained with recent and metastatic samples (20). However, the low number of metastatic tissues in PROMECI did not allow to perform any statistical analysis to confirm theses results. Moreover, no difference was observed between sample age and extracted DNA quantity.

DNA concentration was significatively lower when extracted from plasma than from FFPE samples. As for tissues, some pre-analytical factors may interfer with ccfDNA extraction yield, such as type of collection tubes and time between collection and centrifugation. The

optimum delay is less than 4 hours for EDTA tubes (19). Nevertheless, in this study, specific cell-free DNA collection tubes were used to avoid any delay problem. Interestingly, in PROfound study, higher success rate in analysis was observed with increased plasma volume (22). This could not be confirmed in this study as the required plasma volume (4 ml) was obtained for all samples.

DNA concentration from urine samples was very low, with often no quantifiable DNA, and was not improved by increasing the volume of urine used for DNA extraction. Urine samples were collected at any time of the day (during a medical consultation), whereas a collection on waking might have been desirable to increase ccfDNA concentration (36). In other studies on urine ccfDNA, urine samples were collected following prostate massage, which has not been achieved in this study (37)(38).

Libraries could be generated for plasma and urine samples despite a low DNA input concentration. Thus, it appears that a low DNA concentration is not correlated with the succes of libraries generation, and does not reflect DNA quality.

Interestingly, libraries concentration was higher in plasma than in FFPE samples and could be explained by a better DNA quality, but not for urine samples. Thus, further investigations are necessary to understand the nature of this product in urine libraries (primers amplification ?).

Sequencing generated similar read coverage for FFPE and plasma samples, despite a lower initial DNA concentration for plasma. Again, this may suggest the best ccfDNA quality from plasma samples. In opposition, most of urine samples did not meet sequencing quality requirements, leading to read elimination by bioinformatical pipeline phase, suggesting urine ccfDNA bad quality. Moreover, higher UMI-Read coverage in FFPE samples reflect a higher initial DNA diversity, which can not be obtained in plasma due to low ccfDNA quantity.

In this study, the sequencing failure rate was 3.3 % for FFPE samples (1/30), which is lower than in real life. Indeed, sequencing failed for 6.5 % of samples in CMGP in 2021-2022 and for 11.7 % of tissue samples in PROfound study (20).

Here, better sequencing results for FFPE samples may be explained by two features :

- First, the panel used, implemented routinely since January 2023, requires lower quantity of DNA and analyzes a limited number of genes. However, this panel can not detect large rearrangements or large deletions due to the amplicon technology used.

- Secondly, as mentionned previously, an adapted and standardized pre-analytical management was performed in PROMECI.

All of the 31 plasma samples yielded interpretable sequencing data (100 %). This result is equivalent to the PROfound study, in which 90 % of ccfDNA plasma yielded results (22).

Some studies had demonstrated the clinical utility of urine testing in other cancers, such as *EGFR* variant detection for advanced non-small cell lung cancer (39). A prior study suggested the possibility to detect tumor-associated DNA copy number variations in urine from patients with advanced-prostate cancer, with a low failure rate (40). However, here, urine analysis leaded to a valid sequencing for only 46 % of samples, probably owing to the low initial ccfDNA quantity and the highly-fragmented nature of urine ccfDNA. Indeed, urine ccfDNA is not protected from degradation and undergo fragmentation by urine nucleases, unlike plasma ccfDNA (39). To limit this process and improve urinary DNA quality, some preservatives can be used, but this was not the case in PROMECI(36).

At least one pathogenic or likely pathogenic variant was detected, among tissue or plasma samples, in a total of 7/30 patients (23,3 %). This frequency of detection cannot be compared with findings in literature, due to an inclusion bias in this study. Indeed, for some patients, tissue analysis had already been performed before inclusion and had detected a C4 or C5 variant. Hence, clinicians could refer these patients and facilitate their inclusion in PROMECI.

Concordance between FFPE and matched plama samples was demonstrated for 5 patients, leading to a 71,4 % PPA and 100 % NPA using tissue as gold standard. PPA is slightly lower, but similar with those reported by Armstrong et al. (80 %), Chi et al. (81 %), Tukachinsky et al. (93 %), and Schweizer et al. (84 %) (21)(22)(23)(24).

Concordance of identified mutations was not significantly different when comparing ccfDNA to primary or metastatic tumor tissues in Schweizer et al. study (24).

In this study, it was not possible to confirm these results owing to the small size of the cohort, in which only 4 metastases were analyzed.

Variant allelic frequencies were lower from plasma than from FFPE samples, probably reflecting a small circulating tumor DNA (ctDNA) fraction. No threshold recommandation, emerging from scientific genetic societies was established for somatic variant detection in ccfDNA. In Wyatt et al. study, genetic alterations detected in tumor tissue, which were not initially identified in the corresponding plasma, were actually present in ccfDNA with low allelic frequencies (between 0.5 and 1.3%), below the study's detection threshold (41). In

PROMECI, all variants, regardless of allelic frequency, were considered, limiting the risk of false negative.

As previously explained, germline and somatic HRR genes alterations are found in approximatively equal proportion in prostate cancer and both ccfDNA or tumor tissue analysis can not predict the constitutional or somatic origin without germline testing.

As expected, a prior study demonstrated a perfect concordance (100 %) for variant detection from FFPE tissue and matched plasma samples in patients with presumed germline variant (23). In PROMECI, variant allelic frequencies were over 50 % for 3 of the 5 patients for whom variants have been identified in plasma ccfDNA and matched FFPE tissue samples. These high variant allelic frequencies may suggest germline variants. However, it was not possible to discriminate the constitutional or somatic nature of these alterations and for this reason all patients with a C4 or C5 variant of *BRCA2* identified on FFPE tissue were proposed for an oncogenetic consultation.

Sequencing analysis highlighted two discordant cases (28%). Indeed, PROM02 and PROM28 had C4 or C5 variants detected on FPPE tissue analysis but not in the matched plasma.

Both of these patients currently responded succesfully to treatment, with a biological and radiological response. We can hypothetize that treatment leaded to a reduced tumor shedding resulting in a low ctDNA fraction.

Previous studies showed that higher is the fraction of ctDNA, lower is the probability of getting a false negative on plasma (41)(22)(25). As expected, patients with a stable or progressive disease were those for which the highest concordance of FFPE tissue and ccfDNA analysis was observed (concordance of 100 %).

Thus, the absence of variant detection despite a positive identification in tissue could be mostly explained by a low ctDNA fraction, possibly insufficient to allow a variant detection. The fluctuating nature of ctDNA concentration is a known phenomenon, depending on tumor ctDNA shedding. Parameters such as disease stage and agressiveness, tumor size and response to therapy impact the quantity of ctDNA (17)(42)(19)(23). However, in this study, ctDNA fraction was not quantifiable, which did not allow to ensure the absence of somatic variant in the tumor.

Interestingly, a double-inclusion allowed the prospective analysis of 2 plasmas from the same patient (**figure 6**). This patient was included for the first time shortly after diagnosis. Treatment had not yet begun, and total PSA was 200 ng/ml. Analysis of ccfDNA from this first plasma (PROMP10) revealed two pathogenic alterations involving the *BRCA2* gene, also found in FFPE tissue sample.

Treatment with GnRH analogue combined with new hormonal therapy was then initiated, along with taxotere chemotherapy. Three months after the start of treatment (third cycle of chemotherapy), a second plasma sample was collected (PROMP27). At this time, the patient showed a clear biological response, as the PSA was only 0.59 ng/ml, and a partial radiological response (**figure 7**). Analysis of this second sample did not reveal any C4 or C5 variant, suggesting a plasma ctDNA drop under treatment and a somatic origin of the variants identified on the FFPE tissue and the first plasma sample.

To conclude, even if DNA tissue assay currently remains the gold standard for somatic testing, this study suggests that plasma ccfDNA assay may support FFPE tissue testing for HRR genes alterations in prostate cancer, especially when tissue analysis fails, which occurs for 30 % of tissue samples in real life. Plasma testing is less invasive, allows successive collections and is more representative of tumor heterogeneity. The main limitation of ccfDNA testing is the risk of false-negative result, which increases with a low ctDNA fraction. Our results suggest that patients who would benefit most from plasma analysis are those with progressive disease. For these patients, ccfDNA testing could be a suitable surrogate if tissue analysis fails.

Considering the results of the double inclusion in this study, it would be interesting to monitor the variant detection on plasma from patients with a somatic variant identified on FFPE tissue sample to study the ability to predict the disease relapse before the radiological progression. An original purpose of this study was to evaluate the technical ability to detect variants in urine sample, which have the advantage of being the least invasive test. Unfortunately, our results showed a high failure rate in analysis, probably due to the study design (notably the conditions of urine collection). Additional investigations focused on urine analysis are needed to explore its interest in this indication.

Figures and tables

Figure 1. The different stages of the analysis.

Figure 2. ISUP grade repartition in the cohort.

Figure 3. Characteristics of samples during analysis steps.

Figure 4. Mutational status and age.

Figure 5. Histological features of PROM10 and PROM28 prostate cancer.

Figure 6. Double inclusion allowing a longitudinal analysis of the plasma of the same patient (PROMP10 and PROMP27).

Figure 7. Radiological exams showing a partial regression in PROM10 (PROM27).

Table 1. Pathogenicity of the variants according to the American College of Medical Genetics (ACMG).

 Table 2. Cohort characteristics.

 Table 3. Mutated patients characteristics.

Table 4. Pathogenic or likely pathogenic variants, with related allelic frequencies and read coverage data.

Table 5. Concordance between FFPE and plasma ccfDNA.





After tissue collection, DNA is extracted, then amplified and enriched with primers and UMIs, during the libraries generation step. Libraries are then purified and sequenced with a NextSeq 550. Sequencing generates reads, which correspond to the sequence of a DNA fragment. Analysis pipeline allows variants identification and provides sequence coverage data. If sequencing is interpretable, the pathogenicity of the variants is determined according to the ACMG classification and reports are generated.

Figure 2 : ISUP grade repartition in the cohort



ISUP grade of primary tumor was assessed for 29 of the 30 patients (NA for PROM11). 3 patients had ISUP 2; 6 patients had ISUP 3; 9 patients had ISUP 4 for; 11 patients had ISUP 5.



A : Post-extraction DNA concentration (ng/µl) for FFPE, plasma and urine

DNA concentration assessed by fluorometry was significantly higher for FFPE than for plasma and urine samples (p < 0.0001). DNA concentration from plasma samples was significantly higher than urine samples (p < 0.0001).

B : Libraries concentration (ng/µl) for FFPE, plasma and urine

Libraries concentration was significantly higher in plasma than in FFPE samples (p < 0.0005), whereas there was no relevant significance difference with urine samples (p = 0.1180) and between plasma and urine samples (p = 0.3010).

C : READ coverage for FFPE, plasma and urine

Read coverage was similar for FFPE and plasma samples (p = 0.8749), whereas it was higher in FFPE samples than in urine samples (p < 0.0006), and higher in plasma than in urine samples (p < 0.0001).

D: UMI-Read coverage for FFPE, plasma and urine

UMI-Read coverage was higher in FFPE than plasma (p = 0.0187) and urine samples (p < 0.0001). UMI-Read coverage was higher in plasma than urine samples (p < 0.0001).

Figure 4: Mutational status and age



Patients with identified pathogenic or likely pathogenic variant were younger than in the non-mutated population (p = 0.0493).

Figure 5 : Histological features of PROM10 and PROM28 prostate cancer.



A and B : PROM10 FFPE sample, invasive prostate adenocarcinoma, ISUP 5, core-needle biopsy, Haematoxylin, eosin and saffron (HES) stain, x50 and x200 magnification showing a poorly-differentiated tumor with a massive architecture, without glandular formation.

C and D : PROM28 FFPE sample, invasive prostate adenocarcinoma, ISUP 2, core-needle biopsy, Haematoxylin, eosin and saffron (HES) stain, x50 and x200 magnification showing a well-differentiated tumor formed of irregular eosinophilic glands with focal perineural invasion (arrow).

Figure 6 : Double inclusion allowing a longitudinal analysis of the plasma of the same patient (PROMP10 and PROMP27).



PROMP10 plasma was collected shortly after diagnosis, before any treatment initiation. PSA level was 200 ng/ml. Analysis of plasma ccfDNA highlighted 2 pathogenic variants, which were also identified from tissue DNA. Afterwards, GnRH analog combined to new hormonal therapy and chemotheray was instaured. Three months after treatment beginning, a new plasma sample was collected (PROMP27). PSA level was only 0.59 ng/ml. None of the alterations identified on FFPE tissue sample could be detected anymore.





A: Uninjected computed tomography (CT) performed at the time of histological diagnosis hilighted a left external iliac adenopathy (left arrow). **B:** Uninjected CT performed at time of second inclusion showed a partial regression with a decrease of 50% of the left external iliac adenopathy (right arrow).

C and **D** : Bone scintigraphies before (**C**) and 5 months after treatment beginning (**D**), showing a reduced fixation of the secondary bone lesions of pelvis, axial and appendicular skeleton (L : left, R : right).

Table 1 : Pathogenicity of the variants according to the American College of Medical Genetics (ACMG).

C1	Benign
C2	Likely benign
C3	Uncertain significance
C4	Likely pathogenic
C5	Pathogenic

Table 2 : Cohort characteristics

Age (years) 65 [46 - 83] Lymph node 25 (83.3%) Time from diagnosis to inclusion (months) 78 $[0 - 332]$ $[0 - 332]$ $[0 - 332]$ $[0 - 332]$ $[0 - 332]$ Time from diagnosis to metastasis 0 $[0 - 297]$ $[0 - 297]$ $[1 - 103]$ 6 (20%) Time from metastasis to inclusion 0 $[0 - 221]$ $[1 - 103]$ 30 (100%) Time from metastasis to inclusion (months) 23 $[5 - 139]$ $[5 - 139]$ $[1 - 103]$ 30 (100%) Time from metastasis to castration resistance (months) 64 $[2 - 139]$ $[2 - 139]$ $[2 - 139]$ $[2 - 139]$ $[2 - 139]$ $[2 - 139]$ $[2 - 139]$ $[2 - 10\%)$ $[3 - 10\%)$	Patients characteristics	Median	[min - max]	Metastasis site	n	(%)
Bone 24 (80%) Time from diagnosis to inclusion (months) 78 $[0 - 332]$ $Visceral$ 6 (20%) Time from diagnosis to metastasis (months) 0 $[0 - 297]$ $Visceral$ 6 (20%) Time from metastasis to inclusion (months) 47 $[0 - 221]$ $Total$ 30 (100%) Time from metastasis to inclusion (months) 23 $[5 - 139]$ $Visceral$ 4 (46.7%) Time from metastasis to castration resistance (months) 64 $[2 - 139]$ $Visceral$ 30 (100%) Hormonal status n $(\%)$ $Visceral$ 14 (46.7%) Metastasis 1 (3.3%) $Bone$ 1 (3.3%) Metastasis 1 (3.3%) $Visceral$	Age (years)	65	[46 - 83]	Lymph node	25	(83.3%)
Time from diagnosis to inclusion (months) 78 $[0 - 332]$ Visceral 6 (20%) Time from diagnosis to metastasis (months) 0 $[0 - 297]$ FFPE samples characteristics n $(%)$ Time from metastasis to inclusion (months) 47 $[0 - 221]$ Total 30 (100%) Time from first hormonotherapy to inclusion (months) 23 $[5 - 139]$ Metastasis 1 (3.3%) Time from metastasis to castration resistance (months) 64 $[2 - 139]$ Resection pieces 15 (50%) Hormonal status n $(\%)$ TURP 2 (6.7%) Castration resistant 18 (60%) TURB 1 (3.3%) SUP grade n $(\%)$ Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) Grade 1 0 (0%) Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) Grade 2 3 (10%) Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) Grade 3 6 (20%) (20%) (10%) (5%) Grade 4 9 (30%) $[20-24\%]$ 5 (16.7%) </td <td></td> <td></td> <td></td> <td>Bone</td> <td>24</td> <td>(80%)</td>				Bone	24	(80%)
Time from diagnosis to metastasis (months) 0 $[0 - 297]$ FPEE samples characteristics n (%) Total 30 (100%) <th colspan="</td> <td>Time from diagnosis to inclusion (months)</td> <td>78</td> <td>[0-332]</td> <td>Visceral</td> <td>6</td> <td>(20%)</td>	Time from diagnosis to inclusion (months)	78	[0-332]	Visceral	6	(20%)
(months) 0 $[0 - 297]$ Time from metastasis to inclusion (months) 47 $[0 - 221]$ FFPE samples characteristics n $(%)$ Time from first hormonotherapy to inclusion (months) 23 $[5 - 139]$ Total 30 (100%) Time from metastasis to castration resistance (months) 23 $[5 - 139]$ Metastasis 1 (3.3%) Hormonal status n $(\%)$ Resection pieces 15 (50%) Hormonal status n $(\%)$ Resection pieces 15 (50%) Primary tumor characteristics n $(\%)$ TURP 2 (6.7%) ISUP grade n $(\%)$ FFPE samples analysed Unstained slides 29 (96.7%) Grade 1 0 (0%) Tumor sample cellularity ¹ Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) Grade 3 6 (20%) 30% $[0-14\%]$ 2 (6.7%) Ordica 5 11 (36.7%) 30% 50% 9 (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) (20%) (20%) <td>Time from diagnosis to metastasis</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td>	Time from diagnosis to metastasis					
Time from metastasis to inclusion (months) 47 $[0 - 221]$ $FFPE samples characteristics n (\%) Time from first hormonotherapy toinclusion (months) 23 [5 - 139] Finany tumor 14 (46,796) Time from metastasis to castrationresistance (months) 64 [2 - 139] Primary tumor 14 (46,796) Mormonal status n (%) Resection pieces 15 (50%) Castration sensitive 12 (40%) Radical prostatectomy 9 (30%) SUP grade n (%) TuRP 2 (6,7%) Grade 1 0 (0%) Tumor sample cellularity^1 (10\%) Grade 3 6 (20\%) Tumor sample cellularity^1 (10.14\%) 2 (6,7\%) Grade 4 9 (30\%) [20-24\%] 5 (16,7\%) 30\% 30\% Ductal/intraductal component 6 (20\%) 30\% 30\% (10\%) $	(months)	0	[0 - 297]			1
(months) 47 $[0 - 221]$ Total 30 (100%) Time from first hormonotherapy to inclusion (months) 23 $[5 - 139]$ Biopsies 15 (50%) Time from metastasis to castration resistance (months) 23 $[5 - 139]$ Metastasis 1 (3.3%) Time from metastasis to castration resistance (months) 64 $[2 - 139]$ Resection pieces 15 (50%) Hormonal status n $(\%)$ Primary tumor 12 (40%) Castration sensitive 12 (40%) TURP 2 (6.7%) StuP grade 0 (0%) Metastasis 3 (10%) Grade 1 0 (0%) Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) Grade 2 3 (10%) Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) Grade 4 9 (30%) $[20-24\%)$ 5 (16.7%) Grade 5 11 (36.7%) 30% $[20-24\%]$ 5 (10%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 50% 3 (10%) <td>Time from metastasis to inclusion</td> <td></td> <td></td> <td>FFPE samples characteristics</td> <td>n</td> <td>(%)</td>	Time from metastasis to inclusion			FFPE samples characteristics	n	(%)
Time from first hormonotherapy to inclusion (months) 23 [5 - 139] Biopsies 15 (50%) Time from metastasis to castration resistance (months) 23 [5 - 139] Metastasis 1 (3.3%) Hormonal status n (%) 1 (3.3%) (3.3%) Hormonal status n (%) Resection pieces 15 (50%) Quarter of the metastasis to castration n (%) TURP 2 (6.7%) Castration sensitive 12 (40%) TURP 2 (6.7%) Castration resistant 18 (60%) Metastasis 3 (10%) Primary tumor characteristics n (%) TURB 1 (3.3%) ISUP grade 0 (0%) FFPE samples analysed Unstained slides 29 (96.7%) Grade 1 0 (0%) Tumor sample cellularity ¹ (10%) Grade 3 6 (20%) [10-14%] 2 (6.7%) Grade 4 9 (30%) [20-24%] 5 (16.7%) 30% 50% 3 (10%) Du	(months)	47	[0 - 221]	Total	30	(100%)
Time from first hormonotherapy to inclusion (months) 23 $[5 - 139]$ Primary tumor 14 (46.7%) Time from metastasis to castration resistance (months) 64 $[2 - 139]$ Bone 1 (3.3%) Hormonal status n $(%)$ Primary tumor 12 (40%) Castration sensitive 12 (40%) TURP 2 (6.7%) Castration resistant 18 (60%) Metastasis 3 (10%) Primary tumor characteristics n $(%)$ TURP 2 (6.7%) ISUP grade (Grade 1 0 (0%) Metastasis 3 (10%) Grade 1 0 (0%) Tumor sample cellularity ¹ (3.3\%) (3.3\%) Grade 3 6 (20%) $[10-14\%]$ 2 (6.7%) Grade 4 9 (30%) $[20-24\%]$ 5 (16.7%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 80% 3 (10%)				Biopsies	15	(50%)
inclusion (months) 23 $[5 - 139]$ Metastasis 1 (3.3%) Time from metastasis to castration resistance (months) 64 $[2 - 139]$ Metastasis 1 (3.3%) Hormonal status n $(\%)$ Resection pieces 15 (50%) Resection sensitive 12 (40%) Resection pieces 15 (50%) Castration sensitive 12 (40%) TURP 2 (6.7%) Turp 2 (6.7%) TURB 1 (3.3%) Primary tumor characteristics n $(\%)$ Metastasis 3 (10%) SUP grade Grade 1 0 (0%) Grade 2 3 (10%) FFPE samples analysed Unstained slides 29 (96.7%) Grade 3 6 (20%) $[10 - 14\%]$ 2 (6.7%) Grade 4 9 (30%) $[20-24\%]$ 5 (16.7%) Owned 5 11 (36.7%) 30% 9 (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 20% 30% <th< td=""><td>Time from first hormonotherapy to</td><td></td><td></td><td>Primary tumor</td><td>14</td><td>(46.7%)</td></th<>	Time from first hormonotherapy to			Primary tumor	14	(46.7%)
Time from metastasis to castration Bone 1 (3.3%) resistance (months) 64 $[2 - 139]$ Resection pieces 15 (50%) Hormonal status n $(\%)$ Primary tumor 12 (40%) Castration sensitive 12 (40%) TURP 2 (6.7%) Castration resistant 18 (60%) Metastasis 3 (10%) SUP grade 0 (0%) FFPE samples analysed Unstained slides 29 (96.7%) Grade 1 0 (0%) Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) Grade 2 3 (10%) Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) Grade 3 6 (20%) 30% $[20-24\%]$ 5 (16.7%) Grade 5 11 (36.7%) 30% 9 (30%) 50% 9 (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 10% 10% 10% 10%	inclusion (months)	23	[5 - 139]	Metastasis	1	(3.3%)
Inner from metastasis to castration resistance (months) 64 $[2 - 139]$ Resection pieces 15 (50%) Hormonal status n $(\%)$ TuRP 12 (40%) Castration sensitive 12 (40%) TURP 2 (6.7%) Castration resistant 18 (60%) Metastasis 3 (10%) Primary tumor characteristics n $(\%)$ TURB 1 (3.3%) ISUP grade 0 (0%) FFPE samples analysed $Unstained slides$ 29 (96.7%) Grade 1 0 (0%) Tumor sample cellularity ¹ $(10-14\%)$ 2 (6.7%) Grade 3 6 (20%) 30% 9 (30%) $[20-24\%]$ 5 (16.7%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 80% 3 (10%)	Time from metastasis to castration			Bone	1	(3.3%)
Insistance (monuly) 64 [2-139] Resection pieces 15 (50%) Mormonal status n (%) Resection pieces 12 (40%) Castration sensitive 12 (40%) Radical prostatectomy 9 (30%) Castration sensitive 12 (40%) TURP 2 (6.7%) Castration resistant 18 (60%) TURB 1 (3.3%) Metastasis 3 (10%) Adenectomy 3 (10%) ISUP grade 0 (0%) FFPE samples analysed Unstained slides 29 (96.7%) Grade 1 0 (0%) Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) (3.3%) Grade 3 6 (20%) [10-14%] 2 (6.7%) Grade 4 9 (30%) [20-24%] 5 (16.7%) Grade 5 11 (36.7%) 30% 9 (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 100% 3 (10%)	resistance (months)	64	[2 - 130]			
Hormonal status n (%) Primary tumor 12 (40%) Castration sensitive 12 (40%) Radical prostatectomy 9 (30%) Castration sensitive 12 (40%) TURP 2 (6.7%) Castration resistant 18 (60%) TURB 1 (3.3%) Primary tumor characteristics n (%) Metastasis 3 (10%) ISUP grade 0 (0%) Grade 1 0 (0%) FFPE samples analysed Unstained slides 29 (96.7%) Grade 1 0 (0%) Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) (3.3%) Grade 3 6 (20 %) [10-14%] 2 (6.7%) Grade 4 9 (30%) [20-24%] 5 (16.7%) Jows 11 (36.7%) 30% 9 (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 80% 3 (10%)	resistance (monuis)	04	[2 - 155]	Resection pieces	15	(50%)
Hormonal status n (%) Radical prostatectomy 9 (30%) Castration sensitive 12 (40%) TURP 2 (6.7%) Castration resistant 18 (60%) TURB 1 (3.3%) Primary tumor characteristics n (%) Metastasis 3 (10%) ISUP grade 0 (0%) Grade 1 0 (0%) FFPE samples analysed Unstained slides 29 (96.7%) Grade 1 0 (0%) Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) (3.3%) Grade 2 3 (10%) Tumor sample cellularity ¹ (6.7%) (3.3%) Grade 3 6 (20 %) [20-24%] 5 (16.7%) Grade 5 11 (36.7%) 30% 9 (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 80% 3 (10%)				 Primary tumor 	12	(40%)
Hormonal status n (%) TURP 2 (6.7%) Castration sensitive 12 (40%) TURB 1 (3.3%) Castration resistant 18 (60%) Metastasis 3 (10%) Primary tumor characteristics n (%) Metastasis 3 (10%) ISUP grade 0 (0%) Grade 1 0 (0%) FFPE samples analysed Unstained slides 29 (96.7%) Grade 1 0 (0%) Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) (3.3%) Grade 2 3 (10%) Tumor sample cellularity ¹ (10-14%) 2 (6.7%) Grade 5 11 (36.7%) 30% 9 (30%) (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 80% 3 (10%)	-			Radical prostatectomy	9	(30%)
Castration sensitive 12 (40%) TURB 1 (3.3%) Castration resistant 18 (60%) Metastasis 3 (10%) Primary tumor characteristics n (%) Metastasis 3 (10%) ISUP grade 0 (0%) FFPE samples analysed Unstained slides 29 (96.7%) Grade 1 0 (0%) Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) (3.3%) Grade 2 3 (10%) Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) Grade 3 6 (20 %) [10-14%] 2 (6.7%) Grade 5 11 (36.7%) 30% 9 (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 100% 30% 3 (10%)	Hormonal status	n	(%)	TURP	2	(6.7%)
Castration resistant 18 (60%) Metastasis 3 (10%) Primary tumor characteristics n (%) Adenectomy 3 (10%) ISUP grade 0 (0%) FFPE samples analysed Unstained slides 29 (96.7%) Grade 1 0 (0%) Thick cutting edges 1 (3.3%) Grade 2 3 (10%) Tumor sample cellularity ¹ (3.3%) Grade 3 6 (20%) [10-14%] 2 (6.7%) Grade 5 11 (36.7%) 30% [20-24%] 5 (16.7%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 100% 30% 3 (10%)	Castration sensitive	12	(40%)	TURB	1	(3.3%)
Primary tumor characteristics n (%) FFPE samples analysed ISUP grade 0 (0%) Unstained slides 29 (96.7%) Grade 1 0 (0%) Thick cutting edges 1 (3.3%) Grade 2 3 (10%) Tumor sample cellularity1 (3.3%) Grade 3 6 (20 %) [10-14%] 2 (6.7%) Grade 4 9 (30%) [20-24%] 5 (16.7%) Grade 5 11 (36.7%) 30% 9 (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 100% 30% 3 (10%)	Castration resistant	18	(60%)	Metastasis	3	(10%)
Primary tumor characteristics n (%) FFPE samples analysed ISUP grade 0 (0%) Unstained slides 29 (96.7%) Grade 1 0 (0%) Thick cutting edges 1 (3.3%) Grade 2 3 (10%) Tumor sample cellularity ¹ (10-14%) 2 (6.7%) Grade 3 6 (20 %) [10-14%] 2 (6.7%) Grade 4 9 (30%) [20-24%] 5 (16.7%) Grade 5 11 (36.7%) 30% 9 (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 100% 30 (10%)				Adenectomy	3	(10%)
Initially tunior characteristics n (79) ISUP grade 0 (0%) Grade 1 0 (0%) Grade 2 3 (10%) Grade 3 6 (20%) Grade 4 9 (30%) Grade 5 11 (36.7%) Ductal/intraductal component 6 (20%)	Primary tumor charactoristics	n	(%)	FFPE samples analysed		
ISOP grade Thick cutting edges 1 (3.3%) Grade 1 0 (0%) Tumor sample cellularity1 Grade 2 3 (10%) Tumor sample cellularity1 Grade 3 6 (20%) [10-14%] 2 (6.7%) Grade 4 9 (30%) [20-24%] 5 (16.7%) Grade 5 11 (36.7%) 30% 9 (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 80% 3 (10%)	ICUD anda	11	(70)	Unstained slides	29	(96.7%)
Grade 1 0 (0%) Grade 2 3 (10%) Grade 3 6 (20%) Grade 4 9 (30%) Grade 5 11 (36.7%) Ductal/intraductal component 6 (20%)	ISOP grade		(00.1)	Thick cutting edges	1	(3.3%)
Grade 2 3 (10%) Tumor sample cellularity ¹ Grade 3 6 (20%) [10-14%] 2 (6.7%) Grade 4 9 (30%) [20-24%] 5 (16.7%) Grade 5 11 (36.7%) 30% 9 (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 80% 3 (10%)	Grade 1	0	(0%)			
Grade 3 6 (20 %) [10-14%] 2 (6.7%) Grade 4 9 (30%) [20-24%] 5 (16.7%) Grade 5 11 (36.7%) 30% 9 (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 80% 3 (10%)	Grade 2	3	(10%)	Tumor sample cellularity1		
Grade 4 9 (30%) [20-24%] 5 (16.7%) Grade 5 11 (36.7%) 30% 9 (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 80% 3 (10%)	Grade 3	6	(20 %)	[10-14%]	2	(6.7%)
Grade 5 11 (36.7%) 30% 9 (30%) 50% 9 (30%) 50% 9 (30%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 100% 3 (10%)	Grade 4	9	(30%)	[20-24%]	5	(16.7%)
Ductal/intraductal component 6 (20%) 9 (30%) 0000 80% 3 (10%) 0000 0000 2 (50%)	Grade 5	11	(36.7%)	30%	9	(30%)
Ductal/intraductal component 6 (20%) 3 (10%) Ductal/intraductal component 6 (20%) 100% 2 (77%)				50%	9	(30%)
Ductal/intraductal component 6 (20%)				80%	3	(10%)
1180%h 2 (D.7%h)	Ductal/intraductal component	6	(20%)	100%	2	(6.7%)

(1) : cellularity evaluation according to AFAQAP recommendations.

Table 3 : Mutated patients characteristics

Patient	Age (years)	Diagnosis- inclusion delay (months)	Diagnosis- metastasis delay (months)	Castration resistant status at inclusion	ISUP	Ductal contingent	FFPE sample analyzed	Plasma detection
PROM02	59	2	0	No	5	Yes	Biopsy	Negative
PROM06	60	70	26	Yes	5	No	Surgical specimen	Positive
PROM10	61	0	0	No	5	No	Biopsy	Positive
PROM27	-	-	-	-	-	-	-	Negative
PROM12	64	4	0	Yes	5	No	TURB	Positive
PROM15	55	90	41	Yes	3	No	Surgical specimen	Positive
PROM24	56	185	70	Yes	4	No	Surgical specimen	Positive
PROM28	64	57	0	Yes	2	No	Biopsy	Negative

Patient	C4-C5	Read	VAF (%)	Genes	Coding region change	Amino acid change
		coverage				
PROMT02	C4	4144	15.2	CDK12	NM_016507.3:c.1767_1770delCTCA	NP_057591.2:p.(His589fs)
PROMT02	C4	4889	59.9	CDK12	NM_016507.3:c.2020G>T	NP_057591.2:p.(Glu674*)
PROMT02	C4	4163	34.9	CHEK2	NM_007194.3:c.433C>T	NP_009125.1:p.(Arg145Trp)
PROMT06	C4	2076	47	CDK12	NM_016507.3:c.630C>G	NP_057591.2:p.(Tyr210*)
PROMP06		909	2.5			
PROMT06	C4	2165	41.7	CDK12	NM_016507.3:c.1280dupT	NP_057591.2:p.(Leu427fs)
PROMP06		735	2.6			
PROMP10	C5	1055	39.8	BRCA2	NM_000059.3:c.1594_1595delGA	NP_000050.2:p.(Glu532fs)
PROMT10		803	21			
PROMP10	C5	915	13.3	BRCA2	NM_000059.3:c.7060C>T	NP_000050.2:p.(Gln2354*)
PROMT10		564	15.4			
PROMT12	C5	2312	93.6	BRCA2	NM_000059.3:c.6352_6353delGT	NP_000050.2:p.(Val2118fs)
PROMP12		346	52.9			
PROMT15	C5	308	75	BRCA2	NM_000059.3:c.6405_6409delCTTAA	NP_000050.2:p.(Asn2135fs)
PROMP15		26	69.2			
PROMT24	C5	2343	48.4	ATM	NM_000051.3:c.5712dupA	NP_000042.3:p.(Ser1905fs)
PROMP24		205	51.2			
PROMT28	C5	1012	25.5	ATM	NM_000051.3:c.8432dupA	NP_000042.3:p.(Ser2812fs)

Table 4 : Pathogenic (C5) or likely pathogenic (C4) variants, with related allelic frequencies and read coverage data.

NM_: international genomic reference sequence based on protein coding RNA

NP_: international genomic reference sequence based on protein

VAF : variant allele frequency

Samples annotation : PROMT02 : FFPE sample of patient PROM02 ; PROMP02 : Plasma sample of patient PROM02

Table 5 : Concordance between FFPE and plasma ccfDNA

	Plasma testing +	Plasma testing -	Total
FFPE testing +	5	2	7
FFPE testing -	0	23	23
Total	5	25	30

+ : C4 or C5 variant detection

- : no detection of C4 or C5 variant

References

- 1. Gandaglia G, Leni R, Bray F, Fleshner N, Freedland SJ, Kibel A, et al. Epidemiology and Prevention of Prostate Cancer. Eur Urol Oncol. déc 2021;4(6):877-92.
- Bénédicte Lapôtre-Ledoux, Remontet L, Uhry Z, Dantony E, Grosclaude P, Molinié F. Incidence des principaux cancers en France métropolitaine en 2023 et tendances depuis 1990. Bull Épidémiol Hebd. 2023;
- 3. Achard V, Putora PM, Omlin A, Zilli T, Fischer S. Metastatic Prostate Cancer: Treatment Options. Oncology. 2022;100(1):48-59.
- Bieńkowski M, Tomasik B, Braun M, Jassem J. PARP inhibitors for metastatic castrationresistant prostate cancer: Biological rationale and current evidence. Cancer Treat Rev. 2022 Mar;104:102359. doi: 10.1016/j.ctrv.2022.102359. Epub 2022 Feb 11. PMID: 35190335.
- 5. Abida W, Armenia J, Gopalan A, Brennan R, Walsh M, Barron D, et al. Prospective Genomic Profiling of Prostate Cancer Across Disease States Reveals Germline and Somatic Alterations That May Affect Clinical Decision Making. JCO Precis Oncol. nov 2017;(1):1-16.
- 6. Dawson NA, Zibelman M, Lindsay T, Feldman RA, Saul M, Gatalica Z, et al. An Emerging Landscape for Canonical and Actionable Molecular Alterations in Primary and Metastatic Prostate Cancer. Mol Cancer Ther. 2 juin 2020;19(6):1373-82.
- Mateo J, Seed G, Bertan C, Rescigno P, Dolling D, Figueiredo I, et al. Genomics of lethal prostate cancer at diagnosis and castration resistance. J Clin Invest. 24 févr 2020;130(4):1743-51.
- 8. Nicolosi P, Ledet E, Yang S, Michalski S, Freschi B, O'Leary E, et al. Prevalence of Germline Variants in Prostate Cancer and Implications for Current Genetic Testing Guidelines. JAMA Oncol. avr 2019;5(4):523-8.
- Pritchard CC, Mateo J, Walsh MF, De Sarkar N, Abida W, Beltran H, et al. Inherited DNA-Repair Gene Mutations in Men with Metastatic Prostate Cancer. N Engl J Med. 4 août 2016;375(5):443-53.
- McNevin CS, Cadoo K, Baird AM, Murchan P, Sheils O, McDermott R, Finn S. Pathogenic *BRCA* Variants as Biomarkers for Risk in Prostate Cancer. Cancers (Basel). 2021 Nov 14;13(22):5697. doi: 10.3390/cancers13225697. PMID: 34830851; PMCID: PMC8616097.
- Crocetto F, Barone B, Caputo VF, Fontana M, de Cobelli O, Ferro M. BRCA Germline Mutations in Prostate Cancer: The Future Is Tailored. Diagn Basel Switz. 19 mai 2021;11(5):908.
- Mateo J, Carreira S, Sandhu S, Miranda S, Mossop H, Perez-Lopez R, et al. DNA-Repair Defects and Olaparib in Metastatic Prostate Cancer. N Engl J Med. 29 oct 2015;373(18):1697-708.
- 13. de Bono J, Mateo J, Fizazi K, Saad F, Shore N, Sandhu S, et al. Olaparib for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. N Engl J Med. 28 mai 2020;382(22):2091-102.

- Hussain M, Mateo J, Fizazi K, Saad F, Shore N, Sandhu S, et al. Survival with Olaparib in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. N Engl J Med. 10 déc 2020;383(24):2345-57.
- 15. Shah S, Rachmat R, Enyioma S, Ghose A, Revythis A, Boussios S. BRCA Mutations in Prostate Cancer: Assessment, Implications and Treatment Considerations. Int J Mol Sci. 23 nov 2021;22(23):12628.
- Ghose A, Moschetta M, Pappas-Gogos G, Sheriff M, Boussios S. Genetic Aberrations of DNA Repair Pathways in Prostate Cancer: Translation to the Clinic. Int J Mol Sci. 10 sept 2021;22(18):9783.
- 17. Cimadamore A, Cheng L, Massari F, Santoni M, Pepi L, Franzese C, et al. Circulating Tumor DNA Testing for Homology Recombination Repair Genes in Prostate Cancer: From the Lab to the Clinic. Int J Mol Sci. 24 mai 2021;22(11):5522.
- 18. Gonzalez D, Mateo J, Stenzinger A, Rojo F, Shiller M, Wyatt AW, et al. Practical considerations for optimising homologous recombination repair mutation testing in patients with metastatic prostate cancer. J Pathol Clin Res. juill 2021;7(4):311-25.
- Scott RJ, Mehta A, Macedo GS, Borisov PS, Kanesvaran R, El Metnawy W. Genetic testing for homologous recombination repair (HRR) in metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC): challenges and solutions. Oncotarget. 3 août 2021;12(16):1600-14.
- 20. Hussain M, Corcoran C, Sibilla C, Fizazi K, Saad F, Shore N, et al. Tumor Genomic Testing for >4,000 Men with Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer in the Phase III Trial PROfound (Olaparib). Clin Cancer Res. 14 avr 2022;28(8):1518-30.
- 21. Armstrong AJ, Saad F, Thiery-Vuillemin A, Oya M, Shore ND, Mehra N, et al. 1370P Detection of mutations in homologous recombination repair (HRR) genes in tumour tissue (TT) and circulating tumour DNA (ctDNA) from patients (pts) with metastatic castrateresistant prostate cancer (mCRPC) in the phase III PROpel trial. Ann Oncol. sept 2022;33:S1168.
- 22. Chi KN, Barnicle A, Sibilla C, Lai Z, Corcoran C, Barrett JC, et al. Detection of BRCA1, BRCA2, and ATM Alterations in Matched Tumor Tissue and Circulating Tumor DNA in Patients with Prostate Cancer Screened in PROfound. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 4 janv 2023;29(1):81-91.
- 23. Tukachinsky H, Madison RW, Chung JH, Gjoerup OV, Severson EA, Dennis L, et al. Genomic Analysis of Circulating Tumor DNA in 3,334 Patients with Advanced Prostate Cancer Identifies Targetable BRCA Alterations and AR Resistance Mechanisms. Clin Cancer Res. 1 juin 2021;27(11):3094-105.
- 24. Schweizer MT, Sivakumar S, Tukachinsky H, Coleman I, De Sarkar N, Yu EY, et al. Concordance of DNA Repair Gene Mutations in Paired Primary Prostate Cancer Samples and Metastatic Tissue or Cell-Free DNA. JAMA Oncol. 4 juin 2021;7(9):1-5.
- 25. Matsubara N, de Bono J, Olmos D, Procopio G, Kawakami S, Ürün Y, et al. Olaparib Efficacy in Patients with Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer and BRCA1, BRCA2 or ATM Alterations Identified by Testing Circulating Tumor DNA. Clin Cancer Res. 1 nov 2022;CCR-21-3577.

- 26. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med Off J Am Coll Med Genet. mai 2015;17(5):405-24.
- 27. Koeppel F, Muller E, Harlé A, Guien C, Sujobert P, Trabelsi Grati O, et al. Standardisation of pathogenicity classification for somatic alterations in solid tumours and haematologic malignancies. Eur J Cancer. déc 2021;159:1-15.
- 28. BRCA Exchange . Disponible sur: https://brcaexchange.org/
- 29. Homepage MobiDetails . Disponible sur: https://mobidetails.iurc.montp.inserm.fr/MD/
- 30. VarSome . VarSome The Human Genomics Community. Disponible sur: https://varsome.com/
- 31. cBioPortal for Cancer Genomics . Disponible sur: https://www.cbioportal.org/
- 32. Garrett A, Loong L, King L, Allen S, Durkie M, Drummond J, et al. BRCA1/BRCA2: CanVIG-UK Gene-Specific Guidance.
- 33. Garrett A, Loong L, Allen S, Durkie M, Drummond J, Burghel GJ, et al. ATM: CanVIG-UK Gene-Specific Guidance.
- 34. Garrett A, Loong L, Allen S, Durkie M, Drummond J, Burghel GJ, et al. CHEK2: CanVIG-UK Gene-Specific Guidance.
- 35. Gandaglia G, Abdollah F, Schiffmann J, Trudeau V, Shariat SF, Kim SP, et al. Distribution of metastatic sites in patients with prostate cancer: A population-based analysis: Sites of Metastases in PCa Patients. The Prostate. févr 2014;74(2):210-6.
- 36. Lin SY, Linehan JA, Wilson TG, Hoon DSB. Emerging Utility of Urinary Cell-free Nucleic Acid Biomarkers for Prostate, Bladder, and Renal Cancers. Eur Urol Focus. avr 2017;3(2-3):265-72.
- 37. Goessl C, Müller M, Heicappell R, Krause H, Straub B, Schrader M, et al. DNA-based detection of prostate cancer in urine after prostatic massage. Urology. sept 2001;58(3):335-8.
- 38. Nekrasov KA, Vikarchuk MV, Rudenko EE, Ivanitskiy IV, Grygorenko VM, Danylets RO, et al. 6-gene promoter methylation assay is potentially applicable for prostate cancer clinical staging based on urine collection following prostatic massage. Oncol Lett. déc 2019;18(6):6917-25.
- 39. Franovic A, Raymond VM, Erlander MG, Reckamp KL. Urine test for EGFR analysis in patients with non-small cell lung cancer. J Thorac Dis. oct 2017;9(Suppl 13):S1323-31.
- 40. Xia Y, Huang CC, Dittmar R, Du M, Wang Y, Liu H, et al. Copy number variations in urine cell free DNA as biomarkers in advanced prostate cancer. Oncotarget. 14 juin 2016;7(24):35818-31.
- 41. Wyatt AW, Annala M, Aggarwal R, Beja K, Feng F, Youngren J, Foye A, Lloyd P, Nykter M, Beer TM, Alumkal JJ, Thomas GV, Reiter RE, Rettig MB, Evans CP, Gao AC, Chi KN, Small EJ, Gleave ME. Concordance of Circulating Tumor DNA and Matched

Metastatic Tissue Biopsy in Prostate Cancer. J Natl Cancer Inst. 2017 Dec 1;109(12):djx118. doi: 10.1093/jnci/djx118. PMID: 29206995; PMCID: PMC6440274.

42. Chan HT, Chin YM, Low SK. Circulating Tumor DNA-Based Genomic Profiling Assays in Adult Solid Tumors for Precision Oncology: Recent Advancements and Future Challenges. Cancers. 4 juill 2022;14(13):3275.

V-Discussion

Bien que l'inclusion ne soit pas achevée, cette étude confirme certaines données de la littérature, comme une quantité d'ADN extraite plus élevée à partir des prélèvements tissulaires FFPE issus de pièces opératoires et un lien entre l'âge des échantillons FFPE et la qualité de l'ADN analysé.

Les résultats de cette étude révèlent un taux d'échec très faible de l'analyse moléculaire des gènes HRR à partir d'ADN circulant plasmatique et une concordance de détection élevée des variants pathogènes/probablement pathogènes entre l'analyse de l'ADN tissulaire et plasmatique. Le fait que cette concordance soit maximale chez les patients dont la maladie progresse suggère que l'analyse plasmatique est plus adaptée à cette population de patients, possiblement en lien avec une quantité d'ADN tumoral circulant plus élevée. Il sera intéressant de vérifier cette hypothèse à la fin du recrutement de tous les patients. En effet, la cohorte, actuellement constituée de 30 patients, doit atteindre l'inclusion de 50 sujets.

L'analyse de l'ADN circulant urinaire montre en revanche un taux d'échec élevé de l'analyse (46%) et une mauvaise concordance avec l'analyse tissulaire, aucun variant d'intérêt n'ayant été mis en évidence. Le recueil et la gestion des échantillons urinaires peuvent potentiellement expliquer ces résultats et constituent une des limites de notre étude. Une modification du protocole de recueil (urines de première miction ou après massage prostatique) et de gestion des prélèvements (utilisation d'un inhibiteur de nucléases) serait susceptible d'améliorer la quantité et/ou la qualité de l'ADN libre circulant urinaire extrait et de diminuer ce taux d'échec incompatible avec une utilisation en routine diagnostique.

L'impossibilité de quantifier la fraction d'ADN tumoral circulant sur la PGMC constitue une autre limite de cette étude, bien qu'il n'existe pas à l'heure actuelle à notre connaissance de technique de référence permettant d'évaluer ce paramètre.

En conclusion, nos résultats, bien que préliminaires et limités par le faible effectif de la cohorte, confirment la faisabilité technique de rechercher des altérations des gènes HRR sur ADN tumoral circulant plasmatique dans le cancer de la prostate sur la PGMC du CHU de Tours et suggèrent que l'analyse à partir de l'ADN circulant plasmatique constitue une alternative fiable chez les patients dont la maladie progresse et pour qui l'analyse tissulaire a échoué. A l'inverse, chez les patients dont la réponse biologique et radiologique est complète ou partielle, l'analyse plasmatique semble moins sensible. Ces résultats font envisager la mise en place de cette technique en routine diagnostique à moyen terme sur la PGMC.

De plus, l'analyse prospective du plasma chez un même patient, dont l'évolution de la maladie est favorable, suggère un effondrement de l'ADN tumoral circulant après la mise en place du traitement. Aussi, chez les patients pour lesquels un variant somatique a été mis en évidence, sans détection dans l'ADN circulant, il pourrait être intéressant d'effectuer régulièrement des prélèvements sanguins afin d'analyser de manière prospective et indirecte la fraction d'ADN circulant plasmatique au cours de l'évolution de la maladie. En effet, la nouvelle détection du variant dans le plasma suggèrerait une ré-ascension de la fraction d'ADN tumoral circulant et semblerait prédire une rechute de la maladie.

L'analyse urinaire, dont l'avantage est d'être moins invasive que l'analyse plasmatique, doit faire l'objet d'une étude plus approfondie, avec une autre gestion de la phase pré-analytique pour évaluer son intérêt.

Cette étude qui, à terme, incluera 50 patients, sera soumise pour publication à une revue scientifique.

VI- Références

- 1. Gandaglia G, Leni R, Bray F, Fleshner N, Freedland SJ, Kibel A, et al. Epidemiology and Prevention of Prostate Cancer. Eur Urol Oncol. déc 2021;4(6):877-92.
- Urofrance | Recommandations du comité de cancérologie de l'Association Française d'Urologie actualisation 2022-2024 : cancer de la prostate - diagnostic et prise en charge de la maladie localisée - Urofrance [Disponible sur: https://www.urofrance.org/recommandation/recommandations-du-comite-de-cancerologie-delassociation-francaise-durologie-actualisation-2022-2024-cancer-de-la-prostate-diagnostic-etprise-en-charge-de-la-maladie-localise/
- 3. Rebello RJ, Oing C, Knudsen KE, Loeb S, Johnson DC, Reiter RE, et al. Prostate cancer. Nat Rev Dis Primer. 4 févr 2021;7(1):9.
- 4. Achard V, Putora PM, Omlin A, Zilli T, Fischer S. Metastatic Prostate Cancer: Treatment Options. Oncology. 2022;100(1):48-59.
- Tukachinsky H, Madison RW, Chung JH, Gjoerup OV, Severson EA, Dennis L, et al. Genomic Analysis of Circulating Tumor DNA in 3,334 Patients with Advanced Prostate Cancer Identifies Targetable BRCA Alterations and AR Resistance Mechanisms. Clin Cancer Res. 1 juin 2021;27(11):3094-105.
- 6. McNevin CS, Cadoo K, Baird AM, Murchan P, Sheils O, McDermott R, Finn S. Pathogenic *BRCA* Variants as Biomarkers for Risk in Prostate Cancer. Cancers (Basel). 2021 Nov 14;13(22):5697. doi: 10.3390/cancers13225697. PMID: 34830851; PMCID: PMC8616097.
- Shah S, Rachmat R, Enyioma S, Ghose A, Revythis A, Boussios S. BRCA Mutations in Prostate Cancer: Assessment, Implications and Treatment Considerations. Int J Mol Sci. 23 nov 2021;22(23):12628.
- 8. Abida W, Armenia J, Gopalan A, Brennan R, Walsh M, Barron D, et al. Prospective Genomic Profiling of Prostate Cancer Across Disease States Reveals Germline and Somatic Alterations That May Affect Clinical Decision Making. JCO Precis Oncol. nov 2017;(1):1-16.
- 9. Dawson NA, Zibelman M, Lindsay T, Feldman RA, Saul M, Gatalica Z, et al. An Emerging Landscape for Canonical and Actionable Molecular Alterations in Primary and Metastatic Prostate Cancer. Mol Cancer Ther. 2 juin 2020;19(6):1373-82.
- 10. Mateo J, Seed G, Bertan C, Rescigno P, Dolling D, Figueiredo I, et al. Genomics of lethal prostate cancer at diagnosis and castration resistance. J Clin Invest. 24 févr 2020;130(4):1743-51.
- 11. Nicolosi P, Ledet E, Yang S, Michalski S, Freschi B, O'Leary E, et al. Prevalence of Germline Variants in Prostate Cancer and Implications for Current Genetic Testing Guidelines. JAMA Oncol. avr 2019;5(4):523-8.
- 12. Pritchard CC, Mateo J, Walsh MF, De Sarkar N, Abida W, Beltran H, et al. Inherited DNA-Repair Gene Mutations in Men with Metastatic Prostate Cancer. N Engl J Med. 4 août 2016;375(5):443-53.
- 13. Varol U, Kucukzeybek Y, Alacacioglu A, Somali I, Altun Z, Tarhan MO. BRCA genes: BRCA 1 and BRCA 2.
- 14. Ghose A, Moschetta M, Pappas-Gogos G, Sheriff M, Boussios S. Genetic Aberrations of DNA Repair Pathways in Prostate Cancer: Translation to the Clinic. Int J Mol Sci. 10 sept 2021;22(18):9783.

- 15. Ni Raghallaigh H, Eeles R. Genetic predisposition to prostate cancer: an update. Fam Cancer. janv 2022;21(1):101-14.
- 16. Crocetto F, Barone B, Caputo VF, Fontana M, de Cobelli O, Ferro M. BRCA Germline Mutations in Prostate Cancer: The Future Is Tailored. Diagn Basel Switz. 19 mai 2021;11(5):908.
- 17. Rose M, Burgess JT, O'Byrne K, Richard DJ, Bolderson E. PARP Inhibitors: Clinical Relevance, Mechanisms of Action and Tumor Resistance. Front Cell Dev Biol. 2020;8:564601.
- 18. Risdon EN, Chau CH, Price DK, Sartor O, Figg WD. PARP Inhibitors and Prostate Cancer: To Infinity and Beyond BRCA. The Oncologist. janv 2021;26(1):e115-29.
- Bieńkowski M, Tomasik B, Braun M, Jassem J. PARP inhibitors for metastatic castration-resistant prostate cancer: Biological rationale and current evidence. Cancer Treat Rev. 2022 Mar;104:102359. doi: 10.1016/j.ctrv.2022.102359. Epub 2022 Feb 11. PMID: 35190335.
- 20. Boussios S, Rassy E, Moschetta M, Ghose A, Adeleke S, Sanchez E, et al. BRCA Mutations in Ovarian and Prostate Cancer: Bench to Bedside. Cancers. 11 août 2022;14(16):3888.
- 21. Haute Autorité de Santé . 2023 . LYNPARZA (olaparib) Prostate. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3264984/fr/lynparza-olaparib-prostate
- 22. Crocetto F, Barone B, Caputo VF, Fontana M, de Cobelli O, Ferro M. BRCA Germline Mutations in Prostate Cancer: The Future Is Tailored. Diagn Basel Switz. 19 mai 2021;11(5):908.
- 23. de Bono J, Mateo J, Fizazi K, Saad F, Shore N, Sandhu S, et al. Olaparib for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. N Engl J Med. 28 mai 2020;382(22):2091-102.
- 24. Hussain M, Mateo J, Fizazi K, Saad F, Shore N, Sandhu S, et al. Survival with Olaparib in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. N Engl J Med. 10 déc 2020;383(24):2345-57.
- 25. Matsubara N, de Bono J, Olmos D, Procopio G, Kawakami S, Ürün Y, et al. Olaparib Efficacy in Patients with Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer and BRCA1, BRCA2 or ATM Alterations Identified by Testing Circulating Tumor DNA. Clin Cancer Res. 1 nov 2022;CCR-21-3577.
- 26. Scott RJ, Mehta A, Macedo GS, Borisov PS, Kanesvaran R, El Metnawy W. Genetic testing for homologous recombination repair (HRR) in metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC): challenges and solutions. Oncotarget. 3 août 2021;12(16):1600-14.
- Hussain M, Corcoran C, Sibilla C, Fizazi K, Saad F, Shore N, et al. Tumor Genomic Testing for >4,000 Men with Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer in the Phase III Trial PROfound (Olaparib). Clin Cancer Res. 14 avr 2022;28(8):1518-30.
- 28. Gonzalez D, Mateo J, Stenzinger A, Rojo F, Shiller M, Wyatt AW, et al. Practical considerations for optimising homologous recombination repair mutation testing in patients with metastatic prostate cancer. J Pathol Clin Res. juill 2021;7(4):311-25.
- 29. Gandaglia G, Abdollah F, Schiffmann J, Trudeau V, Shariat SF, Kim SP, et al. Distribution of metastatic sites in patients with prostate cancer: A population-based analysis: Sites of Metastases in PCa Patients. The Prostate. févr 2014;74(2):210-6.
- 30. Cimadamore A, Cheng L, Massari F, Santoni M, Pepi L, Franzese C, et al. Circulating Tumor DNA Testing for Homology Recombination Repair Genes in Prostate Cancer: From the Lab to the Clinic. Int J Mol Sci. 24 mai 2021;22(11):5522.
- 31. Chi KN, Barnicle A, Sibilla C, Lai Z, Corcoran C, Barrett JC, et al. Detection of BRCA1, BRCA2, and ATM Alterations in Matched Tumor Tissue and Circulating Tumor DNA in Patients

with Prostate Cancer Screened in PROfound. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 4 janv 2023;29(1):81-91.

- 32. Clarke NW, Armstrong AJ, Thiery-Vuillemin A, Oya M, Shore N, Loredo E, et al. Abiraterone and Olaparib for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. NEJM Evid . 23 août 2022 ;1(9). Disponible sur: https://evidence.nejm.org/doi/10.1056/EVIDoa2200043
- 33. Armstrong AJ, Saad F, Thiery-Vuillemin A, Oya M, Shore ND, Mehra N, et al. 1370P Detection of mutations in homologous recombination repair (HRR) genes in tumour tissue (TT) and circulating tumour DNA (ctDNA) from patients (pts) with metastatic castrate-resistant prostate cancer (mCRPC) in the phase III PROpel trial. Ann Oncol. sept 2022;33:S1168.
- 34. Franovic A, Raymond VM, Erlander MG, Reckamp KL. Urine test for EGFR analysis in patients with non-small cell lung cancer. J Thorac Dis. oct 2017;9(Suppl 13):S1323-31.

Vu, le Directeur de Thèse



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



Faculté de médecine

AB DER HALDEN Caroline

66 pages - 5 tableaux - 7 figures

<u>Résumé</u> :

Introduction : L'amélioration des connaissances en génétique moléculaire révèle une fréquence élevée des mutations des gènes impliqués dans la réparation de l'ADN dans les cancers de prostate métastatiques résistants à la castration (CPRCm). Récemment, l'étude PROfound a montré l'efficacité de l'Olaparib dans l'amélioration de la survie sans progression radiologique et la survie globale chez des patients ayant des altérations des gènes *BRCA1*, *BRCA2* et *ATM*. Le taux d'échec de l'analyse de l'ADN sur tissu fixé en formol et inclus en paraffine (FFPE) est cependant de 30 %, motivant la recherche de matrices alternatives. L'objectif de cette étude est de déterminer la faisabilité technique de l'analyse de l'ADN circulant plasmatique et urinaire dans cette indication.

Méthodes : 30 patients ont été inclus, permettant l'analyse de 30 échantillons FFPE, 31 échantillons plasmatiques et 24 échantillons urinaires. Ces échantillons ont été séquencés par NGS à l'aide d'un panel ciblant 15 gènes impliqués dans la réparation de l'ADN, dont *BRCA1* et *BRCA2*. Les variants « pathogènes » (C5) et « probablement pathogènes » (C4) détectés sur le tissu FFPE ont été comparés à ceux identifiés dans le plasma et l'urine correspondants.

Résultats : 96,6% des échantillons FFPE ont généré des résultats de séquençage interprétables et nous ont permis d'identifier 11 variants C4-C5 chez 7 patients. Ces variants ont été retrouvés sur l'ADN circulant plasmatique chez 5 patients, conduisant à une sensibilité de 71 % et à une spécificité de 100%. Cette étude montre une bonne concordance entre l'analyse sur tissu FFPE et sur l'ADN circulant plasmatique. Aucun des variant attendus n'a été retrouvé à partir de l'ADN circulant urinaire.

Discussion : Nos résultats confirment que l'analyse de l'ADN circulant plasmatique constitue une alternative intéressante à celle du tissu. Ils suggèrent que le testing de l'ADN circulant plasmatique est plus fiable chez les patients dont l'évolution de la maladie est péjorative. L'analyse de l'ADN circulant urinaire doit faire l'objet d'explorations plus approfondies.

Mots clés : prostate, cancer, inhibiteurs de PARP, BRCA, biologie moléculaire, NGS.

<u>Jury :</u>

Président du Jury :	Professeur Serge GUYETANT
Directeur de thèse :	Docteur Matthias TALLEGAS
Membres du Jury :	Professeur Gaëlle FROMONT
	Professeur Franck BRUYERE
	Docteur Anne TALLET

Date de soutenance : 27 Septembre 2023