

Avis de Soutenance

Madame Alizée SEBASTIAN

RECHERCHES BIOMEDICALES Génétique

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Analyse multiparamétrique et optimisation de la surveillance non-invasive du rejet chez le transplantés pulmonaires

Travaux dirigés par Monsieur Christophe PICARD et Monsieur Pascal PEDINI

Soutenance prévue le **mercredi 23 septembre 2026** à 14h30

Lieu : FSMPPM, Salle éthique du laboratoire ADES Aile rouge, 4eme étage Bât Principal Médecine, 27

Boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille

Salle : éthique ADES

Composition du jury proposé

M. Christophe PICARD	Directeur de recherche	EFS Etablissement Français du Sang - ADES Anthropologie bio-culturelle, Droit, Ethique et Santé	Directeur de thèse
M. Pascal PEDINI	Maître de conférences - praticien hospitalier	EFS Etablissement Français du Sang - ADES Anthropologie bio-culturelle, Droit, Ethique et Santé	Co-directeur de thèse
Mme Alice AARNINK	Professeure des universités - praticienne hospitalière	Université de Lorraine, Centre Hospitalier Régional de Nancy, IMoPA - Ingénierie Moléculaire et Physiopathologie Articulaire	Rapporteuse
M. Paul-Olivier ROUZAIRE	Professeur des universités - praticien hospitalier	Université et Centre Hospitalier Universitaire de Clermont-Ferrand, CHELTER	Rapporteur
Mme Martine REYNAUD-GAUBERT	Professeure des universités - praticienne hospitalière	Aix Marseille Université, APHM, C2VN Centre de Recherche en CardioVasculaire et Nutrition	Président
Mme Monique SILVY	Cadre scientifique	BEDIA Genomics	Examinatrice

Mots- ADNcf, Biomarqueur, Transplantation d'organe, Rejet de transplantation, Non-invasif,

Résumé :

L'ADN circulant (ADNcf) est un biomarqueur d'intérêt dans le sang pour une variété d'applications nécessitant des approches diagnostiques non-invasives, incluant le diagnostic prénatal, l'oncologie et la transplantation d'organe solide. L'intérêt croissant pour l'ADNcf ces dernières années a permis des avancées rapides dans l'évaluation de ses performances cliniques, mais a également mis en évidence certaines limites à son implémentation en routine, notamment des performances encore perfectibles et plusieurs problématiques non résolues. Dans le contexte du suivi de transplantation, la quantification de l'ADNcf dérivé du donneur (ADNcf-dd) est largement reconnue comme pertinente pour détecter les lésions du transplant, tous types d'allogreffe confondus. Toutefois, cette approche ne suffirait pas à elle seule à atteindre une sensibilité et une spécificité optimales, surtout en présence de facteurs confondants tels que les infections. Dès lors, les efforts se concentrent sur l'optimisation des approches analytiques et l'exploration de caractéristiques plus fines de l'ADNcf, afin de renforcer ses performances diagnostiques mais aussi pronostiques ou de suivi thérapeutique, en apportant une information fine sur la biologie du marqueur. Ce travail a pour but d'approfondir la compréhension des signaux quantitatifs et qualitatifs de l'ADNcf-dd notamment en transplantation pulmonaire, afin d'améliorer son utilité clinique et favoriser son intégration en routine. Une cohorte d'individus sains ainsi qu'une cohorte de transplantés pulmonaire ont permis d'étudier le comportement et les caractéristiques associées à l'ADNcf et l'ADNcf-dd dans selon des évolutions favorables ou défavorables de l'allogreffe. L'ADNcf-dd est analysé selon une approche multiparamétrique afin d'identifier les paramètres d'intérêt diagnostique et pronostique. Des caractéristiques qualitatives telles que le profil de fragmentation de l'ADNcf, ainsi que des mesures quantitatives approfondies comme la quantification absolue de l'ADNcf-dd ou de l'ADNcf-mitochondrial, apportent une meilleure résolution aux tests diagnostiques et permettent d'obtenir des performances discriminatives prometteuses. Nos résultats montrent qu'une approche intégrant l'analyse fragmentomique améliore significativement la discrimination des lésions du transplant par rapport à la quantification relative seule de l'ADNcf-dd. En particulier, la proportion de fragments courts d'ADNcf varie selon le contexte clinique et représente un apport significatif au diagnostic de l'infection. De plus, la quantification absolue de l'ADNcf-dd et de l'ADNcf-mt permettent de mieux caractériser l'état du greffon et le risque de complications post-transplantation. La quantification absolue de l'ADNcf du donneur et du receveur améliore la fiabilité diagnostique en limitant les faux négatifs par rapport à la quantification relative seule, tandis que des niveaux élevés d'ADNcf-mt au moment de la transplantation seraient associés à un pronostic défavorable et une mesure précoce permettrait d'adapter la prise en charge des patients en conséquence. Dans une perspective d'amélioration continue, l'intégration de nouvelles dimensions analytiques comme l'étude des signatures épigénétiques de l'ADNcf pourraient significativement améliorer la spécificité diagnostique. Ces approches ouvrent la voie à une stratification encore plus précise des patients et à une meilleure compréhension globale des mécanismes sous-jacents aux lésions du greffon.

Summary:

Cell-free DNA (cfDNA) is a promising blood biomarker for a variety of applications that needs non-invasive approaches, including non-invasive prenatal testing, oncology and solid organ transplantation. The growing interest for cfDNA in the last decades allowed for rapid progress in its clinical diagnostic performances, but also highlighted some limitations to its routine integration, including areas where performance could be improved and some unresolved issues. In the context of transplant monitoring, the quantification of donor-derived cfDNA (cfDNA-dd) is widely recognized as a valuable tool for detecting graft damage across all types of allografts. However, this approach alone is not sufficient to achieve optimal sensitivity and specificity, especially in the presence of confounding factors such as infections. Consequently, efforts are focused on exploring finer

characteristics of cfDNA and optimizing analytical approaches to improve its performance in the clinical setting. Studying specific parameters of cfDNA could thus enhance its diagnostic and prognostic potential by providing more detailed information on the biology of the biomarker. The aim of this study is to deepen our understanding of the quantitative and qualitative signals of dd-cfDNA, particularly in lung transplantation, to improve its clinical utility and facilitate its integration into routine practice. A cohort of healthy individuals and a cohort of lung transplant recipients were studied to examine the behavior and characteristics associated with cfDNA and dd-cfDNA in relation to favorable or unfavorable outcomes of the allograft. dd-cfDNA is analyzed using a multiparametric approach to identify parameters of diagnostic and prognostic interest. Qualitative characteristics such as the cfDNA fragmentation profile, as well as in-depth quantitative measurements such as the absolute quantification of dd-cfDNA or mitochondrial cfDNA (mt-cfDNA), provide higher resolution for diagnostic tests and enable promising discriminatory performance. Our results show that an approach incorporating fragmentomic analysis significantly improves the detection of graft-related injury compared to relative quantification of dd-cfDNA alone. In particular, the proportion of short cfDNA fragments varies depending on the clinical context and represents a significant contribution to infection diagnosis. Furthermore, the absolute quantification of dd-cfDNA and mt-cfDNA provides additional information to better characterize the state of the graft. Absolute quantification of donor and recipient cfDNA improves diagnostic reliability by limiting false negatives compared to relative quantification alone, while high levels of mt-cfDNA at the time of transplantation are associated with an unfavorable prognosis, and early measurement would allow for appropriate adjustment of patient care. With a focus on continuous improvement, the integration of new analytical dimensions, such as the study of epigenetic signatures in cfDNA, could significantly further improve diagnostic specificity. These approaches pave the way for even more precise patient stratification and a better overall understanding of the mechanisms underlying graft damage.

LE DOVEN

Georges LEONETTI