PROTOCOLE RNIPH

RECHERCHE N'IMPLIQUANT PAS LA PERSONNE HUMAINE

TITRE	Evaluation du vieillissement par analyse épigénétique de méthylation de l'ADN : une étude sur données et échantillons	
TITRE COURT	EVAMET	
CODE BIOGROUP	RC13.22H02	
ORGANISME RESPONSABLE DU TRAITEMENT DE DONNEES	**BIOGROUP – SEL ALPHABIO** Jean-Marc Feryn, président, jeanmarc.feryn@biogroup.fr Sophie Hadjedj, relais DPO, sophie.hadjedj@biogroup.fr Téléphone : 04 13 42 81 20 (Mme C. Lopez, assistante de direction de Mr Feryn) Adresse : 23 rue de Friedland, 13006 Marseille / Pays : FRANCE	
RESPONSABLE SCIENTIFIQUE ET RESPONSABLE DE LA MISE EN ŒUVRE (RMO) DE LA RECHERCHE	**BIOGROUP – SEL ALPHABIO** Dr Vincent GARCIA vincent.garcia@biogroup.fr 06 23 34 33 77 Adresse : 1 rue Melchior Guinot, 13003 Marseille / Pays : FRANCE	
LISTE DES CENTRES ASSOCIES (CA), PARTENAIRES (P) ET SOUS-TRAITANT (ST)	ST	**EUROFINS GENOMICS** Dr POTIER Nathalie, nathaliepotier@eurofins.com / 06 33 04 81 86 Adresse : France SAS, 7 rue Pierre-Adolphe Bobierre, 44300 Nantes, France Rôle : sous-traitant du RMO effectuant les analyses de méthylation de l'ADN (sans expertise).
CONTEXTE ET JUSTIFICATION DE LA RECHERCHE	La méthylation de l'ADN est un des mécanismes permettant la régulation de l'expression des gènes sans en modifier la séquence nucléique. Elle se localise au niveau des dinucléotides CpG isolés dans le génome ou regroupés en ilots. Les niveaux de méthylation d'ilots CpG spécifiques ont été associés comme biomarqueurs nombreuses maladies comme le cancer ou les maladies multifactorielle comme les maladies cardiovasculaire (1–3). Depuis une décennie, de nombreux travaux ont tenté de corréler le vieillissement biologique aux niveaux de méthylation de l'ADN ce qui a permis le développement de nombreux outils bio-informatiques d'estimation de l'âge biologique appelés « DNAm clocks » (4–7). Ces DNAm clocks sont diverses, certains estiment la longueur télomérique, l'âge	

	chronologique, le rythme de vieillissement cellulaire ou encore le risque de morbi-mortalité. Elles diffèrent également par leur degré de précision. Ces travaux s'inscrivent dans le cadre de la médecine prédictive, préventive et personnalisée afin d'évaluer l'impact d'un mode de vie sur la santé. Nous faisons l'hypothèse que ces DNAm clocks ont une précision différente et qu'il est possible d'identifier celle qui a la meilleure corrélation à l'âge chronologique d'un sujet sans pathologie chronique. 1. Constâncio V, Nunes SP, Henrique R, Jerónimo C. DNA Methylation-Based Testing in Liquid Biopsies as Detection and Prognostic Biomarkers for the Four Major Cancer Types. Cells. 5 mars 2020;9(3):624. 2. Ehrlich M. DNA hypermethylation in disease: mechanisms and clinical relevance. Epigenetics. 2 déc 2019;14(12):1141-63. 3. Ciechomska M, Roszkowski L, Maslinski W. DNA Methylation as a Future Therapeutic and Diagnostic Target in Rheumatoid Arthritis. Cells. 22 août 2019;8(9):953. 4. Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types. Genome Biol. 2013;14(10):R115. 5. Colicino E, Marioni R, Ward-Caviness C, Gondalia R, Guan W, Chen B, et al. Blood DNA methylation sites predict death risk in a longitudinal study of 12, 300 individuals. Aging. 22 juill 2020;12(14):14092-124. 6. Bergsma T, Rogaeva E. DNA Methylation Clocks and Their Predictive Capacity for Aging Phenotypes and Healthspan. Neurosci Insights. janv 2020;15:263310552094222. 7. Noroozi R, Ghafouri-Fard S, Pisarek A, Rudnicka J, Spólnicka M, Branicki W, et al. DNA methylation-based age clocks: From age prediction to age reversion. Ageing Res Rev. juill 2021;68:101314.
OBJECTIF PRINCIPAL	La recherche porte sur le ou les objectif(s) suivant(s) : ☒Diagnostics ☒Prévention L'objectif principal de cette étude est de corréler la méthylation sur des sites génomiques spécifiques à l'âge chronologiques dans une population sans traitement chronique en utilisant différent outil appelé « DNAm clocks ».

<table>
<tr><td>CRITERE DE JUGEMENT PRINCIPAL</td><td>Age mesuré par chacune des 8 DNAm clocks :
-en année (ans).
-rythme de vieillissement par année chronologique (sans unité).
-longueur télomérique (en kilobase)

Comparé à l’âge chronologique (en année) mesuré depuis la date de naissance du sujet.</td></tr>
<tr><td>OBJECTIFS ET CRITERE(S) DE JUGEMENT SECONDAIRE(S)</td><td>Non applicable</td></tr>
<tr><td>METHODOLOGIE</td><td>Recherche n’impliquant pas la personne humaine
Rétrospective, Comparative, Monocentrique (avec un sous-traitant)</td></tr>
<tr><td>NATURE DES DONNEES</td><td>Types de données recueillies :
☐ Commune de résidence de la personne étudiée ou Commune de décès
☒ Année et mois de naissance
☒ Date de soins (JJMMAAAA)
☐ Date de décès (JJMMAAAA)
☒ Démographie
☐ Anthropométrie
☒ Données médicales

Liste des variables :
<table>
<tr><td>Issues du dossier médical obligatoires</td><td>Année et mois de naissance, sexe.</td></tr>
<tr><td>Issues du dossier médical ou acquise de novo (optionnelles)</td><td>Si les informations sont disponibles au dossier médical : Questionnaire alimentaire, activité physique (OMS), sommeil (Index de Qualité du Sommeil de Pittsburgh), Stress (Percieved Stress Scale).</td></tr>
<tr><td>Acquise de novo pour l’étude (obligatoire)</td><td>Analyse de méthylation de l’ADN et leur traitement par les 8 « DNAm clocks ».</td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>SOURCES DE DONNEES UTILISEES (CHOIX MULTIPLES)</td><td>☒ Dossiers médicaux
☒ Autres données : Méthylation de l’ADN telle que décrite en annexe 3.</td></tr>
</table>

CALENDRIER DE RECUEIL DES DONNEES	**Recherche rétrospective et prospective :** - Période d'inclusion (date prévisionnelle de début et de fin) : nov 2022 à janv 2023 - Durée prévue du contrôle des données et analyse statistique : 3 mois - Durée totale de la recherche : 6 mois
COLLECTE DES DONNEES	La collecte des données cliniques reposera sur une base de données clinique conforme aux données présentes dans les documents sources. *EN AUCUN CAS NE SONT ANALYSES OU RECUEILLIS DES DONNES DE GENETIQUE CONSTITUTIONNELLE. CE N'EST PAS L'OBJET DE CETTE ETUDE.* **Recueil :** • Les données seront obtenues directement auprès des sujets ou depuis leur dossier médical informatisé : logiciel KALISIL • Le recueil sera effectué par le responsable de la mise en œuvre pour le centre principal et par le responsable de chaque centre associé. • Le fichier de recueil est en annexe 2. **Codage :** Les données seront pseudonymisées par un codage au format suivant Numéro de centre à 2 chiffres + 1 initiale du prénom + 1 initiale du nom + numéro de sujet à 3 chiffres. **Modalités de transfert des données :** Aucun transfert effectué depuis le centre de l'étude vers un destinataire. Le sous-traitant met à disposition une plateforme sécurisé pour le rendu des résultats de méthylation. Il atteste de la sécurité de sa plateforme dans une relation contractuelle. **Conservation :** Lieu de conservation du document établissant la correspondance entre le code du sujet et son identité : Serveur du site ALPHABIO dans le dossier RC>RNIPH>EVAMET

DUREE DE CONSERVATION DES DONNEES	Les données à caractère personnel relatives aux personnes se prêtant à une recherche, et traitées à cette fin, peuvent être conservées dans les systèmes d'information du responsable de traitement, du centre participant ou du professionnel de santé intervenant dans la recherche au maximum deux ans après la dernière publication des résultats de la recherche ou, en cas d'absence de publication, jusqu'à la signature du rapport final de la recherche. Les données à caractère personnel des professionnels intervenant dans la recherche ne peuvent être conservées au-delà d'un délai de quinze ans après la fin de la dernière recherche à laquelle ils ont participé. Elles font ensuite l'objet d'un archivage sur support papier ou informatique pour une durée conforme à la réglementation en vigueur. Les données doivent ensuite être effacées.
DESCRIPTIF DE L'ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES ET/OU REFERENCES DU BIOSTATISTICIEN RESPONSABLE	**NOMBRE DE SUJETS A INCLURE** 60 S'agissant d'une étude préliminaire servant à identifier la DNAm clock la plus performante sur une population dénués de pathologie / traitement chronique, le nombre de sujets à inclure n'a pas été défini par calcul mais vise simplement à disposer d'une hétérogénéité de sujets suffisantes (6 cohortes de sujets d'âge différents). **ANALYSE DE DONNEES** La base de données sera stockée conformément à l'engagement investigateur signé. S'agissant d'une première étude dans la thématique, l'analyse statistique sera essentiellement descriptive. Les variables qualitatives seront décrites par leur effectifs et les variables quantitatives seront décrites par leur médiane et écart type. Le critère de jugement principal sera analysé par Corrélation de Pearson ou une régression linéaire selon l'applicabilité de ces tests en fonction de la dispersion des variables. Les analyses statistiques seront réalisées par Guillaume Pénaranda, Biostatisticien au laboratoire ALPHABIO à l'aide du logiciel SAS en version 9.4 ou supérieure (SAS Institute Inc., Cary, NC).

PERSONNES INCLUSES DANS LA RECHERCHE	Nombre de sujets : 60 **<u>Critères d'inclusion :</u>** -homme ou femme de plus de 18ans (réparti en 6 cohortes*). -Sujet sans traitement chronique et/ou sans maladie grave **Cohorte d'âge (18-25 ; 26-45 ; 46-55 ; 56-65 ; 66-75 ; +76)* **<u>Critères de non-inclusion :</u>** -Patient(es) s'opposant à l'utilisation de leurs données dans le cadre de la recherche <u>Modalités d'information et de traçabilité de la non- opposition/opposition</u> : Les patients seront informés de façon complète et loyale, en des termes compréhensibles, des objectifs de l'étude et de la nature des informations recueillies, et de leur droit de s'opposer à tout moment à l'exploitation des données recueillies. <u>Information individuelle des patients, des usagers :</u> ☒ Les sujets ont reçu, intégré à leur compte rendu d'examen de biologie médicale, une lettre d'information de la collection d'échantillon et données associées de Biogroup (DC-2020-4014 ou son renouvellement ultérieur) et seront informé de cette étude via le site internet : https://biogroup.fr/specialites/innovation-scientifique-recherche-medicale/ En cas d'opposition du sujet au traitement de ses données personnelles de santé à des fins de recherche, l'opposition sera consignée dans son dossier médical. Ce droit d'opposition s'exerce à tout moment par tout moyen auprès soit du responsable de la recherche soit de l'établissement détenteur des données qui s'engagent à donner suite à cette demande dans un délai maximal de 2 mois.
ETHIQUE	Une soumission au Comité d'Ethique sera effectué si nécessaire avant publication.

RETOMBEES ATTENDUES	Cette étude préliminaire permettra de choisir quelle DNAm clock est la plus adaptée pour des études futurs incluant des sujets atteints de cancers ou de maladie cardiovasculaire ou neuro-dégénératives. In fine, l'utilisation de cette DNAm clock pourrait permettre de mieux évaluer le risque de nos patients de senescence précoce et de leur conseiller une prise en charge adaptée.

FLOW CHART :

DESCRIPTIF DES DONNEES COLLECTEES	SELECTION AVANT J-30	INCLUSION T 0
Information des sujets et absence d'opposition	✓	
Recueil de données		✓
Réutilisation d'échantillons issus du soin pour les examens de biologie décrits en annexe 3.		✓
Utilisation des 8 DNAm clocks par Dr V. Garcia		✓

ANNEXES

- Annexe 1 : Modalités d'information des sujets (Lettre d'information spécifique au projet ou Lettre d'information type +/- Site internet, document séparé

LIBELLE	BIOLOGISTE REFERENT	PERIODE	SEL ET SITES CONCERNES	FICHE DESCRIPTIVE
EVAMET	Dr Vincent GARCIA	Nov 2022 à Avril 2023	ALPHABIO	Sera inséré ici le lien vers ce protocole

- Annexe 2 - Fichier de recueil de données (Fichier Excel/ Autre, document séparé)

- Annexe 3 : Circuit des échantillons issus du corps humain (EICH) et examen de biologie effectué :

EICH CONCERNE	ORIGINE	PREANALYTIQUE STANDARD	TRANSFERT	REALISATION DES ANALYSES	DEVENIR
Sang EDTA	Soin	Extraction ADN	Norme de transfert UN3373 Ambiant	Laboratoire EUROFINS GENOMICS DANEMARK Analyse méthylation ADN par la technique microarray après incubation au bisulfite	Destruction

- Annexe 4 : Transfert d'échantillon vers un partenaire

Description de Le Matériel

LES EICH			
NATURE DES ECHANTILLONS	**CRITERE(S) DE SELECTION**	**CONDITIONNEMENT**	**NOMBRES DES ECHANTILLONS**
ADN HUMAIN	Cf. protocole	Microtube > 500ng d'ADN ambiant	60

LES DONNEES ASSOCIEES
AUCUNE DONNEE TRANSEFREE AU SOUS-TRAITANT

Description des modalités de Le Transfert

NOMBRE DE TRANSFERT	DELAI DE TRANSFERT
Environ 3 fois	Transfert n°1 : Sous 2 mois de la signature du **Contrat** Transfert n°2 et 3 sous 3 mois du premier transfert.
MODALITES D'ENVOI	**TRAÇABILITE**
A la charge de **LE FOURNISSEUR** En utilisant un transporteur agréé selon la norme UN3373 Emballage à la charge de **LE FOURNISSEUR.**	Fiche dédiée fournit par le transporteur.
DEVENIR DES EICH	**TRAÇABILITE**
Destruction à l'issue de **Le Projet** ou en cas de résiliation **du Contrat**	Certificat de destruction remplie par **LE DESTINATAIRE** sous un (1) mois de la fin de **Le Projet.**