

UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER

FACULTE DE SANTE

DEPARTEMENT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2024

THESE 2024 TOU3 2074

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par

SOUCHARD LUCILE

TRAITEMENT DE L'HEMOPHILIE DE TYPE A ET DE TYPE B : DE LA MEDECINE CONVENTIONNELLE
A LA THERAPIE GENIQUE

Date de soutenance : 13 Septembre 2024

Directeur de thèse : COUDERC Bettina

JURY

Président : TOURRETTE-DIALLO Audrey

1er assesseur : COUDERC Bettina

2ème assesseur : BERNARDES-GENISSON Vania

3ème assesseur : SONNET Léa

PERSONNEL ENSEIGNANT
du Département des Sciences Pharmaceutiques de la Faculté de santé
au 17/04/2024

Professeurs Emérites

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire	M. PARINI A. Physiologie
M. BENOIST H.	Immunologie	
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie	
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire	
M. SALLES B.	Toxicologie	

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PASQUIER C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B. (Directrice-adjointe)	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BERNARDES-GENISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COSTE A.	Parasitologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Doyen-directeur)	Physiologie
Mme DERA EVE C.	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAU MONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATT OUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
Mme WHITE-KONING M.	Mathématiques

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
Mme KELLER L.	Biochimie
M. PUISSET F. (*)	Pharmacie Clinique
Mme ROUCH L. (*)	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S.	Biophysique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C. (*)	Biophysique
M. BOUAJILA J. (*)	Chimie Analytique
M. BROUILLET F. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C. (*)	Immunologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme GADEA A.	Pharmacognosie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C. (*)	Pharmacognosie
M. LE NAOUR A.	Toxicologie
M. LEMARIE A. (*)	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S (*)	Biochimie
M. PILLOUX L.	Microbiologie
Mme ROYO J.	Chimie Analytique
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELENDT M.	Pharmacognosie

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

M. AL SAATI A	Biochimie
Mme BAKLOUTI S.	Pharmacologie
Mme CLARAZ P.	Pharmacie Clinique
Mme CHAGNEAU C.	Microbiologie
Mme DINTILHAC A	Droit Pharmaceutique
M. GRACIA M.	Pharmacologie
Mme RIGOLOT L	Biologie Cellulaire, Immunologie
Mme STRUMIA M.	Pharmacie Clinique

Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Mme CROSSAY E.	Pharmacognosie
Mme GRISETI H.	Biochimie
Mme MALLI S.	Pharmacie Galénique
Mme MTAT DALILA D.	Chimie Pharmaceutique
Mme MONIER M.	Microbiologie
M. TABTI R.	Chimie Thérapeutique

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer mes remerciements à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ma thèse d'exercice et à l'aboutissement de ce long et palpitant chemin que sont les études en sciences pharmaceutiques.

Je remercie tout particulièrement :

Mme le Professeur Bettina Couderc, de m'avoir permis de réaliser cette thèse, étape grandement importante à mes yeux, en ayant accepté d'en être la Directrice. Je tiens à vous remercier pour votre encadrement, vos encouragements et vos conseils ainsi que pour tous vos enseignements tout au long de mes années universitaires.

Mme le Docteur Audrey Tourrette Diallo, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de thèse ainsi que pour votre bienveillance durant mes années à la faculté de Pharmacie.

Mme le Professeur Vania Genisson, pour votre présence à mon jury de thèse ainsi que de m'avoir fait découvrir et aimer la complexité du mécanisme d'action des spécialités pharmaceutiques lors de vos cours.

Mme le Docteur Léa Sonnet, d'avoir accepté de juger mon travail ainsi que pour votre expertise industrielle et réglementaire, domaine indispensable tout au long du cycle de vie des médicaments et d'autant plus dans les médicaments de thérapie innovante.

Mon père, qui dès l'âge de 5 ans m'a fait découvrir la faculté de pharmacie et m'a soutenu dans mes choix. J'aurais été fier de te montrer ce travail.

Ma mère et ma sœur Roxane, pour leur soutien et leur aide irremplaçable tout au long de mes études. Depuis les tumultes de la PACES, en passant par mes doutes lors des choix d'orientation, jusqu'à l'écriture du point final de ce chapitre pharmaceutique, vos encouragements enthousiastes ont été essentiels à la réalisation de ma thèse d'exercice.

Baptiste pour son soutien constant au quotidien et pour le début de notre nouveau chapitre de vie.

Je remercie également mes amis Emilie, Eloïse, Agnès, Raphaëlle, Dorine, Arthur et Simon pour leur soutien de longue date et qui, malgré les années et la distance sont toujours présents. Pour terminer, je remercie le Gang PACES qui a plus que participé à mes études de pharmacie.

SOMMAIRE

Liste des abréviations.....	8
Liste des tableaux.....	10
Liste des figures.....	12
INTRODUCTION	13
1 L'HEMOSTASE.....	15
2 L'HEMOPHILIE.....	22
2.1 Histoire de l'hémophilie	22
2.2 Epidémiologie	24
2.3 Hémophilie de type A : généralités.	27
2.4 Hémophilie de type B généralités	30
2.5 Signes cliniques.....	32
2.6 Diagnostic des Hémophilies.....	34
2.6.1 Circonstances du diagnostic de l'hémophilie de type A et de type B.....	34
2.6.2 Diagnostic biologique	36
2.6.3 Diagnostic différentiel	40
2.6.4 Diagnostic génétique.....	41
3 TRAITEMENTS ACTUELS DANS L'HEMOPHILIE DE TYPE A ET DE TYPE B.....	43
3.1 Les thérapies substitutives	45
3.1.1 Facteur VIII et hémophilie de type A.....	46
3.1.2 Facteur IX et hémophilie de type B	49
3.1.3 Traitements substitutifs et inhibiteurs.....	51
3.2 Traitements non substitutifs	54
3.2.1 Traitement de l'hémophilie de type A par l'Emicizumab.....	54
3.2.2 Les agents « By-passant »	55
3.2.3 Traitements annexes.....	57
3.3 Prescription des traitements anti-hémophiliques et éducation thérapeutique.....	59
3.3.1 Traitements à domicile.....	60
3.3.2 Visites médicales et éducation thérapeutique	61
4 PRINCIPE DE LA THERAPIE GENIQUE.....	62
4.1 Les virus adéno-associés (AAV)	66
4.2 Les adénovirus	68
4.3 Les lentivirus	70
4.4 Différentes thérapies géniques approuvées	73
5 NOUVEAUX PROTOCOLES DE THERAPIE GENIQUE POUR LE TRAITEMENT DES DIFFERENTS TYPES D'HEMOPHILIE.....	75

5.1	Essais cliniques.....	75
5.1.1	Critères d'exclusion aux essais cliniques.....	77
5.2	Administration de Transgènes-médicaments	78
5.3	Protocoles d'essais cliniques	80
5.3.1	Suivi des patients après les essais cliniques.....	85
5.3.2	Résultats des essais cliniques dans l'hémophilie de type A.....	86
5.3.3	Résultats des essais Cliniques dans l'Hémophilie de type B.....	89
5.4	Encadrement de la thérapie génique	91
5.4.1	Désignation de médicaments orphelins.....	91
5.4.2	Spécialités approuvées dans le traitement de l'hémophilie.....	93
5.5	Bénéfices de la thérapie génique	98
5.6	Les limites de la thérapie génique.....	99
6	PROBLEMATIQUE DE SANTE PUBLIQUE.....	101
6.1	Prix et accessibilité à tous.....	101
	CONCLUSION	104
	BIBLIOGRAPHIE.....	107

Liste des abréviations

AAV : Virus Adéno-Associés

ALAT : ALanine AminoTransférase

ALD : Affection Longue Durée

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANPGM : Association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

ASAT : ASpartate AminoTransférase

ASMR : Amélioration du Service Médical Rendu

CEESP : Commission d'Evaluation Economique et de Santé Publique

CEPS : Comité Economique des Produits de Santé

CHC : Carcinome hépatocellulaire

CIVD : Coagulation intravasculaire disséminée

CoMETH : Coordination Médicale pour l'Etude et le Traitement des maladies Hémorragiques Constitutionnelles

CPP : Centre de Protection des Personnes

CRH : Centres de Référence Hémophilie

CRC-MCH : des Centres de Ressources et de Compétences Maladies Hémorragiques Constitutionnelles

CT : Commission de Transparence

CT-MCH : centre de Traitement Maladies Hémorragiques Constitutionnelles

EMA : European Medicines Agency

IDE : Infirmier Diplômé d'Etat

ITI : Induction de la Tolérance Immune

FDA : Food and Drug Administration

FMH : Fédération Mondiale de l'Hémophile

FVIII : facteur VIII de la coagulation

FIX : facteur IX de la coagulation

FT : Facteur Tissulaire

HA : Hémophilie de type A

HAS : Haute Autorité de Santé

HB : Hémophilie de type B

ITI : Induction de la Tolérance Immune

LV : Lentivirus

MDS : Médicaments Dérivés du Sang

MHEMO : la filière des Maladies Hémorragiques Constitutionnelles

MTI : Médicaments de Thérapie Innovante

OGM : Organisme Génétiquement Modifié

ORL : OtoRhonoLaryngologie

PAR : Protease-Activated Receptor

PCR : Polymerase Chain Reaction

PNDS : Protocoles Nationaux de Diagnostic et de Soins

RCP : Résumé des Caractéristique du Produit

SMR : Service Médical Rendu

TCA : Taux de Céphaline + Activateur

TS : Temps de Saignement

TQ : Temps de Quick

TP : Taux de Prothrombine

UNCAM : Union Nationale des Caisses de l'Assurance Maladie

VWF : Facteur de Von Willbrand

Liste des tableaux

- Tableau 1 : Caractéristiques des différents facteurs et inhibiteurs de la coagulation.
- Tableau 2 : Prévalence de l'hémophilie A et B dans l'Union-Européenne en 2020.
- Tableau 3 : Synthèse des différents grades de sévérité de l'hémophilie A et des principales mutations qui en sont responsables.
- Tableau 4 : Synthèse des différents grades de sévérité de l'HB et des principales mutations qui en sont responsables.
- Tableau 5 : Risque hémorragique en fonction de la sévérité de l'hémophilie de type A ou B d'après la Fédération Mondiale de l'hémophilie (FMH).
- Tableau 6 : Age moyen de diagnostic des différents types d'hémophilie d'après le rapport annuel de 2022 du réseau Francecoag.
- Tableau 7 : Analyses réalisées par les laboratoires du réseau Génostase.
- Tableau 8 : différentes thérapeutiques en prophylaxie pour les différents types d'hémophilie.
- Tableau 9 : Principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques dans le traitement de l'hémophilie de type A.
- Tableau 10 : Schéma thérapeutique de la prophylaxie précoce et progressive intensifiée adaptée de Meunier selon le PNDS 2023.
- Tableau 11 : Principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques dans le traitement de l'hémophilie de type B.
- Tableau 12 : Schéma posologique usuel selon les caractéristiques produit (RCP) selon le PNDS 2023
- Tableau 13 : Principales indications et schéma posologique des médicaments « agents by passant » issu du PNDS 2023.
- Tableau 14 : Exemples de différents sérotypes d'AAV utilisés dans les essais cliniques
- Tableau 15 : Exemple d'utilisation des lentivirus dans les essais cliniques
- Tableau 16 : Thérapie génique approuvée et applications
- Tableau 17 : Exemple de l'utilisation des différents vecteurs dans l'hémophilie de type A et B
- Tableau 18 : Essais cliniques en thérapie génique avec des vecteurs AAV pour l'hémophilie A extrait de Clinical Trial Pipeline (mise à jour le 22 septembre 2023)
- Tableau 19 : Chronologie des différents essais cliniques en cours pour l'hémophilie de type A

Tableau 20 : Essais cliniques en thérapie génique avec des vecteurs AAV pour l'hémophilie B
extrait de Clinical Trial Pipeline (mise à jour le 22 septembre 2023)

Tableau 21 : Résultats d'essais cliniques dans le traitement de l'hémophilie de type A

Tableau 22 : Résultats d'essais cliniques dans le traitement de l'hémophilie de type B

Tableau 23 : Variation du taux de facteur VIII chez les personnes atteintes d'hémophilie A
jusqu'à 3 ans après le traitement ROCTAVIAN – WFH

Tableau 24 : Suivi minimum recommandé en cas de thérapie génique selon la FMH

Liste des figures

Figure 1 : Mécanisme de l'hémostase

Figure 2 : Formation du clou plaquettaire

Figure 3 : Cascade de la coagulation

Figure 4 : Transmission du chromosome X muté d'une mère porteuse

Figure 5 : Transmission du chromosome X muté d'un père hémophile

Figure 6 : Organisation du gène *FVIII* en correspondance avec l'architecture des domaines de la protéine FVIII

Figure 7 : Outils épidémiologiques de suivi du nombre de patients ayant une maladie hémorragique due à un déficit héréditaire en France métropolitaine et d'outre-mer de la filière MHEMO

Figure 8 : Répartition des mutations sur le gène *FVIII* en fonction de la sévérité de l'hémophilie A

Figure 9 : Gène du FIX.

Figure 10 : Répartition des mutations sur le gène *FIX* en fonction de la gravité de la maladie.

Figure 11 : Formation de l'hémarthrose

Figure 12: Principales circonstances amenant au diagnostic selon la sévérité de l'hémophilie A (rapport annuel 2022 du réseau France Coag)

Figure 13 : Principales circonstances amenant au diagnostic selon la sévérité de l'hémophilie B (rapport annuel 2022 du réseau France Coag)

Figure 14 : Conduite à tenir devant un TCA allongé (issu de la figure 6.2 de l'ANPGM)

Figure 15 : Situation actuelle des essais cliniques en thérapie génique

Figure 16 : Répartition des différents types de vecteurs utilisés dans les essais cliniques en cours

Figure 17 : Structure et organisation du génome de l'adénovirus

Figure 18 : Modifications des Lentivirus

Figure 19 : vecteur viral recombinant utilisé en thérapie génique ciblé

Figure 20 : Rappel de la construction du gène *FVIII*

INTRODUCTION

Depuis toujours, l'humanité a cherché à comprendre et à soigner les maladies. La connaissance de l'homme et des divers maux a considérablement progressé depuis l'époque où invoquer les dieux ou pratiquer des saignées étaient les seules solutions universelles. L'hémophilie, maladie hémorragique héréditaire liée au chromosome X, a été décrite pour la première fois dès le II^e siècle avant J.-C. dans le « Talmud de Babylone », un texte fondamental du judaïsme hébraïque. Cette maladie rare, entraînant le décès précoce de jeunes garçons, a vu l'espérance de vie des personnes atteintes augmenter avec le développement de facteurs de coagulation exogènes comme traitements.

Les médicaments de référence à base de concentré en facteur FVIII ou FIX, bien que révolutionnaires, sont néanmoins contraignants et doivent être injectés plusieurs fois par semaine selon la gravité de la maladie. De plus, l'apparition d'effets indésirables, tels que la formation d'anticorps anti-FVIII ou anti-FIX, également appelés inhibiteurs, remet en question cette approche thérapeutique. Le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques telles que l'utilisation de facteurs de substitution à demi-vie prolongée et d'anticorps monoclonaux a notamment contribué à bouleverser la prise en charge de l'hémophilie, améliorant la qualité de vie grâce à des injections plus espacées et à une gestion plus efficace des épisodes hémorragiques.

Malgré les progrès de ces dernières années, tant au niveau des spécialités pharmaceutiques que de la prise en charge globale des patients, cette maladie reste incurable et la qualité de vie des patients demeure altérée. Dans cette optique, les recherches continuent et ont fait émerger de nouvelles perspectives pour les patients grâce à la thérapie génique. Cette méthode thérapeutique représente un espoir pour de nombreux patients, et pas uniquement pour ceux atteints d'hémophilie. La thérapie génique vise à introduire ou à corriger les gènes défectueux responsables de la maladie, offrant ainsi une potentielle guérison à long terme.

Les candidats médicaments et spécialités approuvés en thérapie génique pour l'hémophilie de type A et de type B sévère ont soulevé de nouvelles problématiques sociétales et économiques. En effet, qui peut avoir accès à de telles innovations ? Avons-nous suffisamment de recul pour affirmer leur bénéfice à long terme ? Leur prix est-il abordable pour permettre à tous les patients d'améliorer leur qualité de vie ? Les études récentes sur les transgènes dans l'hémophilie tentent de répondre aux besoins des patients.

Les perspectives à long terme de la thérapie génique sont encourageantes, avec la possibilité de transformer radicalement la prise en charge de l'hémophilie et d'autres maladies génétiques. L'avenir pourrait voir non seulement une amélioration significative de la qualité de vie des patients, mais également avec beaucoup d'espoir une éradication de la maladie.

En effet, l'histoire de l'hémophilie et de son traitement est marquée par une série d'avancées significatives. Depuis les premières descriptions cliniques et les tentatives rudimentaires de gestion des symptômes, nous avons assisté à une révolution scientifique et médicale. Les traitements prophylactiques à base de facteurs de coagulation ont transformé ce qui était autrefois une maladie mortelle en une condition chronique mais gérable. Pourtant, ces traitements ne sont pas sans limites.

C'est dans ce contexte que la thérapie génique a émergé comme une solution potentielle pour surmonter les limitations des traitements actuels. Les progrès en biotechnologie ont permis le développement de vecteurs viraux capables de délivrer des gènes fonctionnels directement aux cellules cibles. Les premiers essais cliniques de thérapie génique pour l'hémophilie ont montré des résultats prometteurs. Cependant, plusieurs défis demeurent. La durée de l'expression génique et la stabilité des vecteurs utilisés, les réponses immunitaires potentielles des patients. Les coûts élevés de ces traitements novateurs posent également des questions sur leur accessibilité et leur intégration dans les systèmes de santé.

Ainsi, la quête pour un traitement curatif de l'hémophilie illustre parfaitement l'évolution de la médecine, depuis des interventions empiriques jusqu'aux technologies de pointe basées sur une compréhension profonde de la génétique et de la biologie moléculaire. L'avenir de l'hémophilie, et de la thérapie génique en général, s'annonce donc rempli de promesses, avec l'espoir d'améliorer significativement la vie de millions de personnes à travers le monde.

1 L'HEMOSTASE

L'hémostase est un processus physiologique qui prévient des saignements spontanés et assure l'arrêt des hémorragies lors d'une brèche vasculaire via la succession de 3 grandes étapes (1) (Figure 1). Tout d'abord, l'hémostase primaire, qui aboutit à la formation d'un clou plaquettaire instable aussi appelé thrombus plaquettaire. Il s'en suit l'hémostase secondaire, ou coagulation plasmatique. Celle-ci consolide le clou plaquettaire (ou thrombus blanc) et stoppe le saignement en transformant le fibrinogène soluble en un réseau de fibrine insoluble, le thrombus fibrinoplaquettaire. Ces deux processus se produisent simultanément et sont mécaniquement interconnectés (1). Pour terminer, la fibrinolyse prend en charge la dissolution du caillot de fibrine ainsi que la restauration des tissus lésés. Tout déséquilibre de l'hémostase peut être à l'origine de l'apparition de processus pathologiques tels que la formation de caillots appelée thrombose, ou des saignements (1).

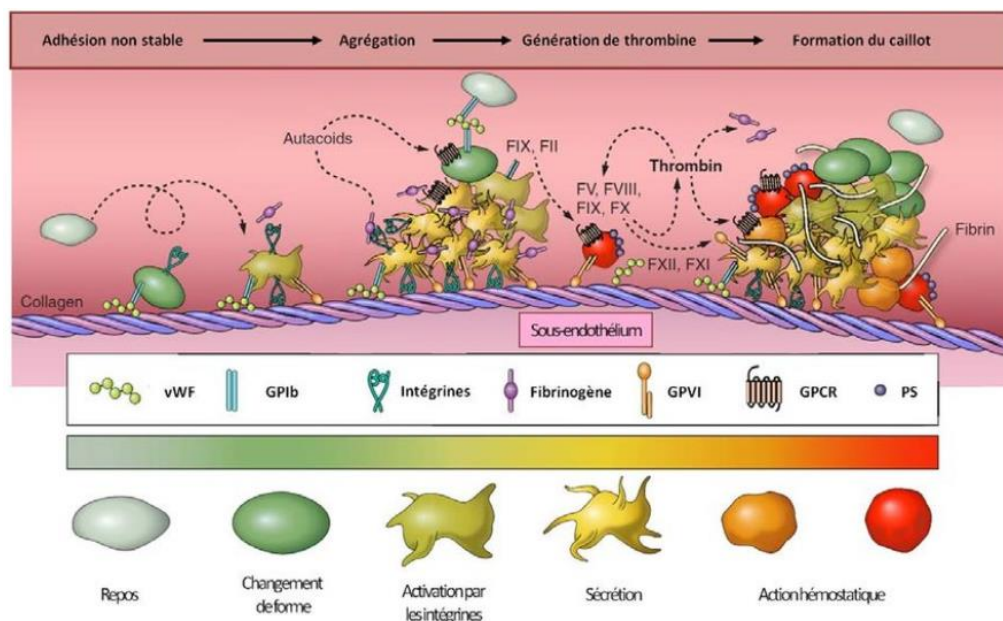


Figure 1 : Mécanisme de l'hémostase (2)

L'hémostase primaire :

L'hémostase primaire est la première étape du processus de coagulation sanguine, visant à arrêter le saignement après une lésion vasculaire. Elle comprend plusieurs phases clés, telles que la vasoconstriction, l'activation des plaquettes et la formation du clou plaquettaire.

Dès les premières secondes post-lésion, un phénomène réflexe de vasoconstriction des cellules musculaires lisses (léiomyocytes) de la paroi vasculaire a lieu afin de limiter la perte sanguine, de ralentir le flux sanguin et ainsi de permettre la stagnation et l'accumulation des acteurs de l'hémostase au niveau de la lésion (1).

Les plaquettes sanguines, principaux acteurs de l'hémostase, se retrouvent accumulées au niveau du site lésionnel. Celles-ci sont de petits fragments anucléés, produits à partir des mégacaryocytes de la moelle osseuse avec une durée de vie dans le sang circulant est de 7 à 10 jours (1) (2). Dans des conditions physiologiques, les plaquettes circulent librement dans le sang sans interaction ni entre elles et ni avec l'endothélium vasculaire exprimant diverses protéines régulatrices de l'adhésion (3).

En cas de lésion, les plaquettes adhèrent aux protéines de la matrice sous-endothéliale qui se retrouvent alors exposées (4) (5) (Figure 2).

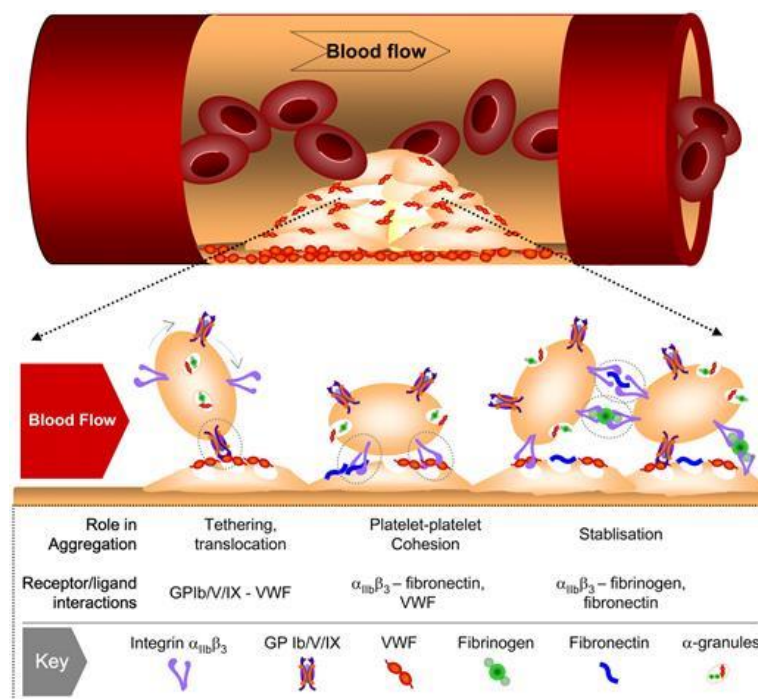


Figure 2 : Formation du clou plaquettaire (4)

L'exposition des deux protagonistes de l'hémostase permet la liaison du facteur de Willebrand (FvW), alors immobilisé sur le collagène sous-endothélial, aux récepteurs plaquettaire GP-Ib-IX-V, créant ainsi le recrutement des plaquettes au niveau de la lésion vasculaire. Cette interaction aboutit à l'activation plaquettaire. Celle-ci entraîne une modification de leurs morphologies (développement de filipodes), la transition conformationnelle de récepteurs

$\alpha 2b\beta 3$ (liaison importante au fibrinogène, au FvW, à la fibronectine ou à la vitronectine), $\alpha 2\beta 1$ et $\alpha v\beta 3$, permettant l'exposition de leurs sites de liaison, la sécrétion du contenu de leurs granules denses (libération d'ATP, d'ADP, de sérotonine, ...) et de leurs granules alpha (libération de FvW, facteur V, PFA, fibrinogène,...) permettant notamment une consolidation du clou plaquettaire via le recrutement, l'activation et la liaison aux plaquettes voisines (1) (6). La synthèse, par les plaquettes activées de thromboxane A2 et d'ADP va amplifier le mécanisme d'activation plaquettaire et d'adhésion de celles-ci au sous-endothélium en permettant, entre-autre, d'augmenter l'affinité de l'intégrine $\alpha IIb\beta 3$ plaquettaire au fibrinogène soluble. La première couche de plaquettes étant installée, le recrutement et l'agrégation de nouvelles plaquettes (thrombocytes) a lieu via la glycoprotéine plaquettaire GP IIb-IIIa qui crée des ponts plaquette-fibrinogène-plaquette, mais aussi via les interactions de l'intégrine $\alpha IIb\beta 3$ et la liaison de l'ADP et de la thromboxane A2 à leurs récepteurs plaquettaires (6). Il se forme ainsi un clou plaquettaire fragile (1) (4). De plus l'interaction entre le collagène et la glycoprotéine plaquettaire GPVI entraîne une cascade de signalisation intracellulaire renforçant l'activation plaquettaire (1) (4).

Un autre mécanisme crucial d'activation plaquettaire, qui relie l'hémostase secondaire à la fonction plaquettaire, est l'activation de celle-ci par la thrombine. Cette dernière est une sérine protéase qui intervient à la fin de la cascade de coagulation et se lie à ses récepteurs plaquettaires PAR 1 et PAR 4 qui sont couplés à des G protéines (1). Son affinité pour le récepteur PAR 1 est supérieure à celle pour PAR 4. Après sa liaison à PAR 1 celui-ci est clivé par la thrombine exposant une nouvelle extrémité N-terminale (7). Il s'en suit une activation de différentes voies de signalisation cellulaire qui entraîne la sécrétion de granules plaquettaires, l'activation des intégrines et le remodelage du cytosquelette plaquettaire (1).

Le facteur de Willebrand (FvW) est une glycoprotéine multimérique de haut poids moléculaire synthétisée par les cellules endothéliales et les mégacaryocytes (précurseurs des plaquettes) puis sécrétée ou stockée dans les organites de réserve, les corps de Weibel-Palade, et dans les granules α -plaquettaires. Celui-ci se lie au facteur VIII et le protège dans la circulation sanguine. Une anomalie quantitative ou qualitative en FvW entraîne la Maladie de Willebrand, qui sera abordée ultérieurement dans ce manuscrit (8).

Ainsi, en résumé, l'adhésion des plaquettes est initiée par la liaison de GP-Ib-IX au FvW et de GPVI au collagène, exposé au sang en raison d'une lésion endothéliale. Les plaquettes recrutées, ainsi que d'autres plaquettes locales sont activées, l'adhésion au sous-endothélium vasculaire et l'agrégation sont renforcées et étendues via des ponts plaquettes-fibrinogène-plaquettes. De plus, l'adhérence au collagène sous-endothélial est renforcée par l'interaction de l'intégrine $\alpha 2\beta 1$ et du collagène.

Hémostase secondaire :

Cette thèse d'exercice traite plus particulièrement des troubles de l'hémostase dus à un déficit en facteurs de la coagulation intervenants dans la seconde étape de l'hémostase, la coagulation.

Celle-ci a pour vocation de consolider le clou plaquettaire précédemment obtenu via une succession complexe d'activations en cascade de zymogènes de sérine-protéases appelés facteurs de la coagulation qui sont, pour certains, dépendants de la vitamine K (Figure 3) (Tableau 1). Les facteurs VIII et V sont l'exception, ils ne présentent pas d'activité enzymatique, mais sont respectivement les cofacteurs des facteurs IX et X. Ils vont permettre d'accélérer l'interaction des enzymes avec leur substrat (les facteurs inactivés). Ainsi les facteurs circulant dans l'organisme vont pouvoir s'activer séquentiellement via la voie intrinsèque ou extrinsèque de la coagulation afin d'activer la thrombine, enzyme clé de la coagulation qui va cliver le fibrinogène pour produire un dépôt de fibrine insoluble autour du caillot plaquettaire (9) et qui assure l'amplification des étapes précédentes de la coagulation (1).

La voie extrinsèque de la coagulation s'active lors d'une lésion vasculaire (Figure 3). La brèche dans l'endothélium va libérer le facteur tissulaire (FT) (2), cofacteur et activateur de la sérine protéase, le facteur VII. En condition physiologique, le FT est une glycoprotéine transmembranaire notamment localisée à la surface des cellules épithéliales (2). Lors d'une brèche vasculaire et / ou d'une expression induite par les médiateurs de l'inflammation sur les cellules endothéliales ou les monocytes, celui-ci se retrouve dans le sang circulant et va être capté par le facteur VII inactif qui s'active en FVIIa. Le complexe FT-FVIIa va activer à son tour le facteur IX. Le facteur IXa active également le facteur X, en présence de son cofacteur le facteur VIIIa (1). Le facteur Xa, également en présence de son cofacteur le facteur Va, active

ensuite la prothrombine pour générer la thrombine (10). La thrombine est la sérine protéase centrale dans la cascade de coagulation. La cascade de la coagulation est en marche.

La voie intrinsèque (10) est activée par l'interaction entre le sang et les structures sous endothéliales (Figure 3). Cette voie fait intervenir le FXII qui est activé (FXIIa) lors de son interaction avec le kininogène de haut poids moléculaire et une surface électronégative du sous-endothélium (ex : du collagène). Le FXIIa va à son tour activer le facteur XI en présence de Ca^{++} . Sous l'action du XIa, le facteur IX est activé en IXa. Il se forme alors le complexe ténase, composé du FVIIIa (celui-ci étant activé par les premières traces de thrombine) et du FIXa, à la surface de la membrane plaquettaire qui active le facteur X en Xa avec l'aide du Ca^{2+} et de phospholipides.

La voie commune de l'hémostase, la thrombino-formation, est activée à la fois par la voie extrinsèque et intrinsèque de la coagulation. Le FX se voit activé par le complexe FT/FVIIa et par le FIXa avant d'entrer dans le complexe prothrombinase avec le FVa (préalablement activé par la thrombine). Le FXa va activer la prothrombine (FII) en thrombine (FIIa). On observe alors une amplification de la cascade de coagulation par la thrombine (2). En parallèle, la thrombine participe au mécanisme de fibrinof formation en transformant le fibrinogène en réseau de fibrine soluble, instable. De plus, la thrombine permet la stabilisation de la fibrine soluble en fibrine insoluble (réseau stable de liaison covalente) en activant le FXIII qui, via son activité de transglutaminase va stabiliser la fibrine.

Tableau 1: Caractéristiques des divers facteurs et inhibiteurs de la coagulation (Deboeck supérieur)

Facteurs de la coagulation		
Facteurs de la coagulation	Demi-vie	Caractéristiques
FI : Fibrinogène	100-150h	Agrégation plaquettaire et coagulation
FII : Prothrombine	50-120h	Zymogène sérine-protéase / synthèse vitamine K dépendante
FV : Proaccéléline	12-36h	Cofacteur du FX activé
FVII : Proconvertine	4-6h	Zymogène sérine-protéase/synthèse vitamine K dépendante
FVIII : Anti-hémophilique A	10-16h	Cofacteur du FIX activé

Facteurs de la coagulation		
Facteurs de la coagulation	Demi-vie	Caractéristiques
FIX : Anti-hémophilique B	24h	Zymogène sérine-protéase/synthèse vitamine K dépendante
FX : Stuart	36-48h	Zymogène sérine-protéase/synthèse vitamine K dépendante
FXI : Rosenthal	40-80h	Zymogène sérine-protéase
FXII : Hagenam	50-70h	Zymogène sérine-protéase
FXIII : Stabilisant de la fibrine	150-300h	Zymogène transglutaminase
PK : Prékallcréine	35h	Zymogène sérine-protéase
KHPM : Kininogène de HPM	150h	Cofacteur du FXII activé
Inhibiteurs de la coagulation		
Inhibiteurs de la coagulation	Demi-vie	Caractéristiques
AT : Antithrombine	50-70h	Serpine (inhibiteur de sérine protéase)
PC : Protéine C	6-8h	Zymogène sérine-protéase / synthèse vitamine K dépendante
PS : Protéine S	42h	Cofacteur de la protéine C / synthèse vitamine K dépendante
TFPI : inhibiteur de la voie du FT	-	Inhibiteur de type Kunitz

Dans les vaisseaux sanguins intacts et sains cette cascade de la coagulation n'est pas activée. Effectivement, on retrouve divers mécanismes anticoagulants qui empêchent son activation (Tableau 1). Ces éléments comprennent la présence de la thrombomoduline et des protéoglycanes d'héparane sulfate sur l'endothélium vasculaire. La thrombomoduline est un cofacteur de la thrombine qui la transforme d'un agent pro-coagulant en un agent anticoagulant en stimulant l'activation de la protéine C, une sérine protéase (11). Les protéoglycanes d'héparane sulfate stimulent l'activation de l'inhibiteur de sérine protéase (ou serpine) antithrombine, qui inactive la thrombine et le facteur Xa (12).

Tout système explosif tel que la coagulation nécessite d'être équilibré via un système d'inhibition afin d'éviter tout emballement, 4 inhibiteurs : l'antithrombine, la protéine C, la protéine S et l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire vont empêcher tout dysfonctionnement de la coagulation (Tableau 1) (2) (13) (14) (15).

CASCADE DE LA COAGULATION

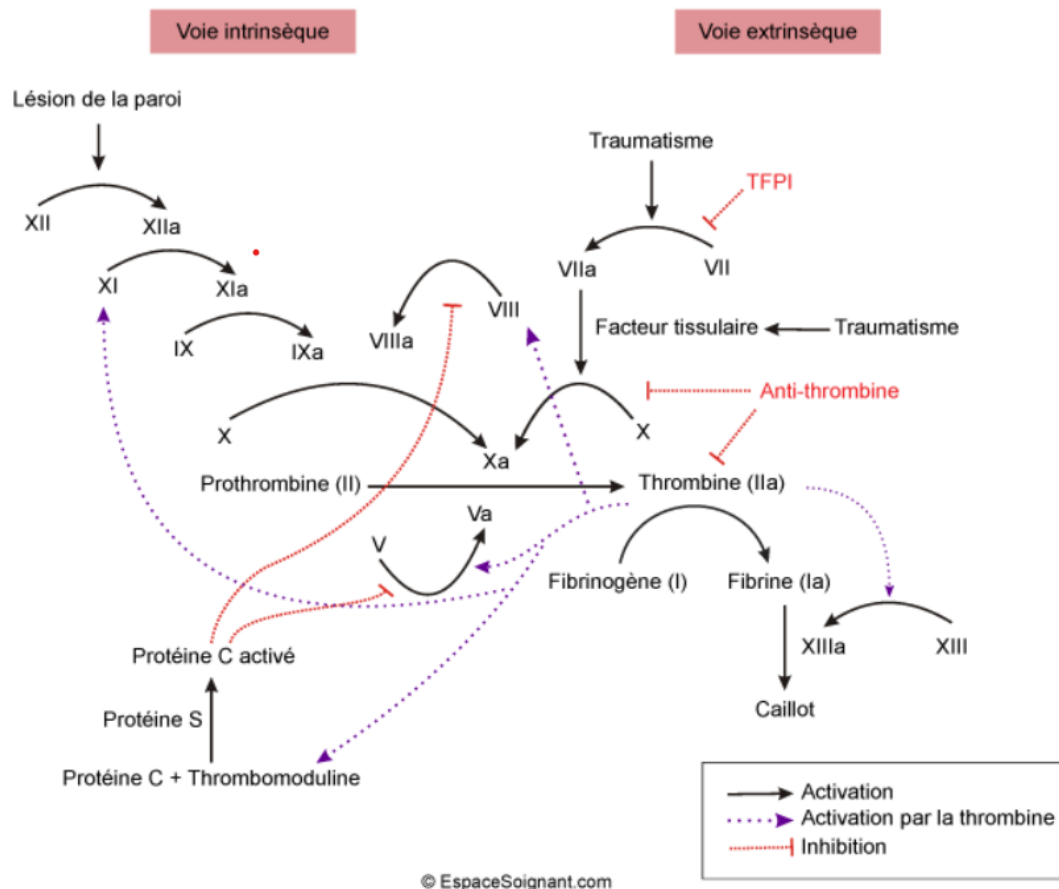


Figure 3 : Cascade de la coagulation

Fibrinolyse :

Le rôle du processus de fibrinolyse (1), dernière étape de cette mécanique, est de dissoudre le caillot sanguin et de permettre la reperméabilisation des vaisseaux réparés. La fibrinolyse empêche ainsi la formation de thrombose. Ce système permet l'activation du plasminogène en plasmine qui va par la suite protéolyser la fibrine (1).

La plasmine est générée à partir d'un zymogène, le plasminogène, après son activation par deux protéases : l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA) et l'urokinase (uPA) (1). Le tPA (sérine-estérase libérée par les cellules endothéliales) et le plasminogène se lient tous deux à la surface d'un caillot de fibrine initiant le clivage de celui-ci en plasmine. La voie secondaire d'activation du plasminogène passe par l'uPA qui est activé par le système contact de la coagulation (sérine-estérase libérée par les cellules endothéliales). Pour permettre la cicatrisation de l'endothélium une molécule, l'alpha2-antiplasmine 5, rend la plasmine biologiquement non disponible afin qu'elle ne dissolve pas trop tôt le caillot. La plasmine

devient active une fois que l'alpha2-antiplasmine est entièrement consommée. La fibrinolyse est, elle aussi, régulée négativement par divers mécanismes. L'urokinase et le t-PA se retrouvent inactivés par les inhibiteurs de l'activateur du plasminogène (PAI-1 et PAI-2) (12).

L'hémostase est un équilibre entre les systèmes procoagulants et les systèmes anticoagulants. Si un déséquilibre quelconque à lieu, en raison d'un défaut dans l'un de ces systèmes, cela peut engendrer soit une thrombose (coagulation excessive) soit un saignement (coagulation insuffisante). Les risques hémorragiques sont généralement attribués à un déficit en facteurs de coagulation tandis que le risque de thrombose est associé à un déficit en inhibiteurs de la coagulation.

Dans ce manuscrit, nous allons nous intéresser aux risques d'évènements hémorragiques dus à un déficit en FVIII et FIX de la coagulation à l'origine de l'hémophilie. Nous ne détaillerons pas les autres maladies de l'hémostase telles que la thrombose artérielle et veineuse, les troubles plaquettaires génétiques et la Maladie de Willebrand, maladie génétique et héréditaire causée par une anomalie quantitative ou qualitative en facteur de von Willebrand et entraînant un défaut dans l'hémostase primaire et secondaire.

2 L'HEMOPHILIE

2.1 Histoire de l'hémophilie

L'hémophilie est évoquée dans la littérature dès le II^{ème} siècle avant J.-C. En effet, il en est fait mention dans le « Talmud de Babylone », écrit fondamental du judaïsme hébraïque (17-18). Ce texte identifie l'hémophilie comme « une maladie hémorragique héréditaire » et dispense de circoncision les jeunes garçons ayant eux deux frères aînés décédés en raison d'hémorragie post-circoncision. Cependant, le terme « hémophilie » n'est attribué à la maladie qu'en 1828 avant de gagner le surnom de « maladie des rois » avec la reine Victoria. En effet la reine Victoria d'Angleterre portait le gène muté d'un des facteurs anti-hémophilique faisant d'elle une femme conductrice qui, par sa descendance, a transmis la mutation aux familles royales d'Espagne, d'Allemagne et de Russie. (16) (17)

Les recherches autour de cette maladie du sang ont débuté au XX^{ème} siècle avec les premiers essais thérapeutiques utilisant des transfusions de sang total ou de plasma frais. Cependant, ces approches n'ont pas rencontré un succès significatif. Dans les années 1960, après la distinction entre les deux types d'hémophilie A et B, les premiers traitements utilisant les facteurs VIII ou IX extraits de plasma humain ont révolutionné la prise en charge de la maladie en augmentant considérablement l'espérance de vie des hémophiles. Cependant, dans les années 90 l'affaire du sang contaminé éclate en France, des milliers de patients ont été infectés par les virus du VIH, VHB et VHC après avoir reçu des transfusions de concentrés de facteurs de coagulation dérivés du plasma. Afin de répondre au but premier qui est la sécurité sanitaire individuelle et collective, l'ensemble des professionnels et des responsables de santé publique ont pris des mesures pour rendre les médicaments dérivés du sang (MDS) sécuritaires pour tous les patients. Celles-ci permettent de garantir la qualité de la matière première en sélectionnant les donateurs de sang, avec mise en place de conditions réglementaires du don du sang, en sélectionnant les dons avec le dépistage par screening individuel et en mini-pool (obligation en France depuis le 1^{er} juillet 2001) (18). De plus, une amélioration de la purification des produits, de l'inactivation et/ou élimination viral tout au long du processus de fabrication et un contrôle du produit fini permettent de garantir l'absence d'agents infectieux. L'inactivation des virus est réalisée via un traitement par solvant-détergeant, inefficace contre les virus nus et par un traitement thermique dont l'action est limitée sur les virus nus qui sont souvent thermorésistants. L'élimination des virus est quant à elle faite par nanofiltration. Elle a été mise en place pour palier à la problématique des virus nus (16) (17) (19) (18). L'ensemble de ces améliorations permet de garantir l'absence de risque infectieux lors de transfusions de médicaments contrôlés à l'ensemble des patients.

Depuis le début du XX^{ème} siècle la recherche progresse dans la prise en charge de l'hémophilie afin de développer des traitements adaptés aux patients qui, permettent de limiter au quotidien les contraintes engendrées par la maladie. Le développement de molécules à demi-vie longue et de thérapies innovantes telles que celles issues de la thérapie génique est actuellement en plein essor (16) (20).

2.2 Epidémiologie

L'hémophilie est une maladie hémorragique héréditaire à transmission récessive liée au chromosome X. Elle résulte d'une déficience d'un facteur impliqué dans la voie intrinsèque de la coagulation sanguine (19). Elle touche environ 210 000 personnes dans le monde (21). Du fait de la transmission récessive par la mère de cette maladie monogénique, les hommes sont cliniquement atteints et les femmes sont dites « conductrices » de la maladie (19). Il est néanmoins possible que certaines femmes présentent une symptomatologie hémorragique (homozygotes mutées) (22).

Une femme hétérozygote « conductrice » a un risque de 50% de transmettre son chromosome X porteur de l'allèle mutée (Figure 4). Ses filles ont un risque de 50% d'être conductrices et ses fils ont un risque de 50% d'être atteints (23). Dans le cas d'un père hémophile ses filles seront toutes « conductrices » et ses fils ne seront pas atteints d'hémophilie (Figure 5).

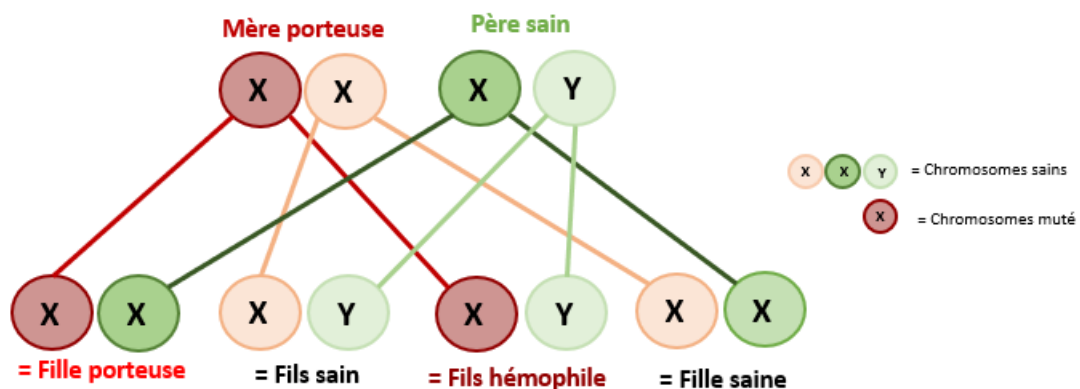


Figure 4 : transmission du chromosome X muté d'une mère porteuse

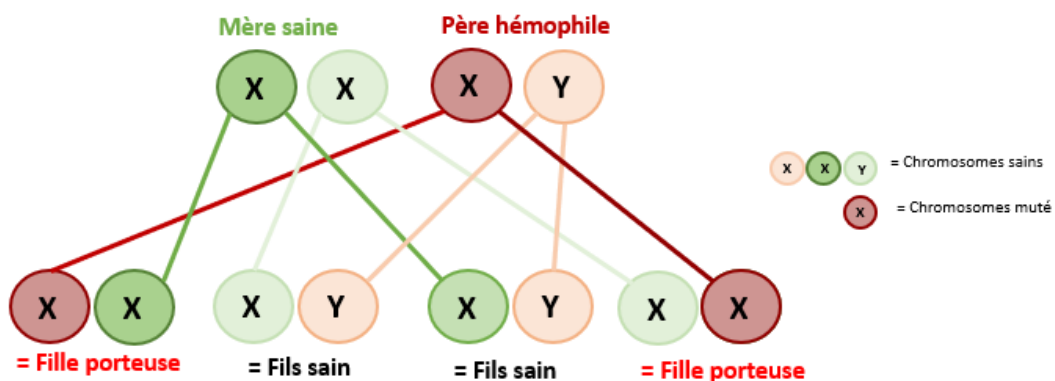


Figure 5 : transmission du chromosome X muté d'un père hémophile

Deux types d'hémophilie peuvent être diagnostiqués. L'hémophilie de type A, liée à un déficit en facteur VIII de la coagulation, est le type d'hémophilie le plus fréquent avec une prévalence de 1/5 000 naissances de garçons. L'hémophilie de type B est quant à elle, la conséquence d'un déficit en facteur IX de la coagulation et présente une prévalence de 1/30 000 naissances de garçons. Les 2 types d'hémophilies sont réparties de façon homogène dans la population mondiale (22) (23).

Les cas d'hémophilies (de type A et de type B) sont classés en 3 grades de sévérité selon l'activité du facteur de la coagulation déficient (22-23):

- L'hémophilie sévère découle d'un taux en facteur FVIII ou FIX inférieur à 1%. Elle est retrouvée dans 50 % des cas ;
- L'hémophilie modérée avec un taux en facteur FVIII ou FIX compris entre 1% et 5% est retrouvée dans 15% des cas ;
- L'hémophilie mineure avec un taux en facteur FVIII ou FIX compris entre 6% et 40% est retrouvée dans 35% des cas. La prévalence dans la population générale est estimée à 1/12 000 (22) (23).

Prévalence de l'hémophilie dans l'Union-Européenne en 2020

La détermination de la prévalence de l'hémophilie dépend de l'enregistrement des patients sur des registres nationaux de chaque pays (24). Il est donc difficile d'obtenir des données précises concernant l'épidémiologie. Néanmoins, la Fédération Mondiale de l'Hémophilie (FMH) émet un rapport du sondage mondiale annuel, correspondant à la compilation des données d'une enquête menée auprès des organisations nationales membres de la FMH (24). De plus, Francesca Tomeo *et al.* présentent dans leur revue parue dans le British Journal of Clinical Pharmacology en 2021 (21), une étude intéressante sur la prévalence de l'hémophilie en Europe en utilisant l'enquête de la Fédération mondiale de l'hémophilie (FMH) de 2018, complétée par des données de la littérature pour les pays manquants (Tableau 2). Une récente méta-analyse a proposé une estimation de 2,46 cas pour 10 000 hommes pour l'hémophilie A toutes sévérités confondues et de 0,5 cas pour 10 000 hommes pour l'hémophilie B également toutes sévérités prises en compte (21). Ces estimations sont plus élevées que celles historiquement citées, mais l'hémophilie A ou B restent toujours des maladies rares selon les définitions utilisées dans l'Union européenne (moins de 5 cas pour 10 000 personnes ; Règlement [CE] n° 141/2000 du Parlement européen et du Conseil).

En 2022, le dernier rapport du sondage mondial mené par la FMH énonce une prévalence médiane estimée à 17,1/100 000 hommes pour tous les types d'hémophilies A et de 3,8/100 000 hommes pour tous les types d'hémophilies B (24).

Tableau 2 : Prévalence de l'hémophilie A et B en dans l'Union-Européenne en 2020 (21)

Pays	Population	Sujets avec Hémophilie A	Prévalence (par 10 000)	Sujets avec Hémophilie B	Prévalence (par 10 000)
Albanie	2 876 101	161	0,56	33	0,11
Autriche	8 747 358	658	0,75	117	0,13
Belgique	11 348 159	970	0,85	242	0,21
Bulgarie	6 981 642	560	0,8	68	0,1
Chypre	1 172 458	43	0,37	-	-
République Tchèque	10 561 633	937	0,89	136	0,13
Danemark	5 731 118	410	0,72	102	0,18
Espagne	47 042 984	1679	0,36	-	-
Estonie	1 316 481	97	0,74	10	0,08
Finlande	5 495 096	150	0,27	33	0,06
France (Métropolitaine)	66 896 109	5864	0,88	1498	0,22
Allemagne	82 667 685	3686	0,45	628	0,08
Grèce	10 746 740	873	0,81	184	0,17
Hongrie	9 817 958	893	0,91	230	0,23
Irlande	4 773 095	617	1,38	243	0,51
Italie	61 680 122	3992	0,65	886	0,14
Lettonie	1 960 424	129	0,66	21	0,11
Lituanie	2 872 298	147	0,51	24	0,08
Norvège	5 232 929	325	0,62	90	0,17
Pays-Bas	16 877 351	1026	0,61	125	0,07
Pologne	37 948 016	2413	0,64	428	0,11
Portugal	37 948 016	539	0,52	112	0,11
Roumanie	19 705 301	1615	0,82	210	0,11
Royaume -Uni	65 637 239	6559	1,00	1518	0,23
Slovaquie	5 428 704	512	1,00	79	0,15
Slovénie	2 064 845	207	1,00	30	0,15
Suède	9 798 871	860	0,88	195	0,20

2.3 Hémophilie de type A : généralités.

L'hémophilie de type A découle d'un déficit ou d'une absence en facteur VIII (FVIII) de la coagulation, aussi appelé facteur anti-hémophilique A. Le gène *FVIII*, codant pour le facteur VIII (FVIII) comprend 26 exons. Positionné à l'extrémité distale du bras long du chromosome X (Xq28), il code pour la protéine FVIII mature de 2 332 acides aminés composé de plusieurs domaines : A1, A2, A3, B, C1 et C2 (25) (26) (27). Le domaine B est, quant à lui, clivé lors de l'activation FVIII qui devient alors FVIIIa.

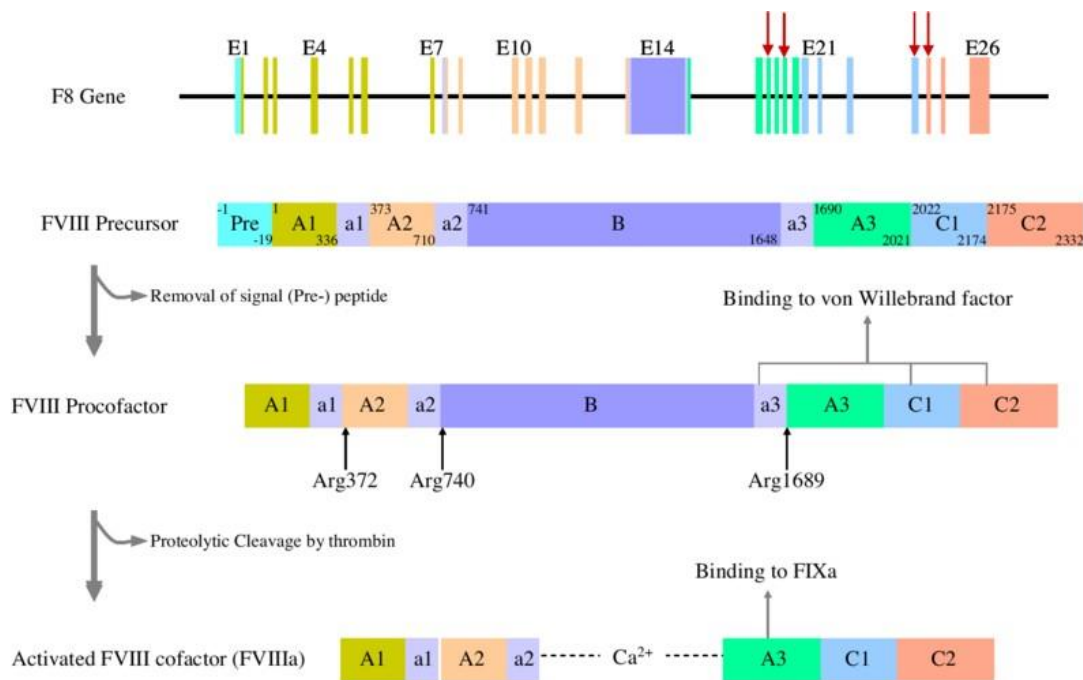


Figure 6 : Organisation du gène *FVIII* en correspondance avec l'architecture des domaines de la protéine FVIII. Les flèches rouges dans le gène *FVIII* indiquent les exons présentant des taux de mutation significativement élevés. Les limites du prépeptide et de chaque domaine (A1, A2, B, C1 et C2) sont indiquées. Les sites de clivage activateurs des résidus d'Arginine sont montrés par des flèches dans le troisième schéma. (27)

Celle-ci est majoritairement synthétisée dans le foie par les cellules endothéliales sinusoidales hépatiques et de façon minoritaire au niveau extra-hépatique, notamment par les cellules endothéliales microvasculaires pulmonaires (28) (29) (30) (31). La demi-vie du FVIII est d'environ 12h une fois complexé au facteur de Willebrand qui le protège d'une dégradation prématurée. Le FVIII n'a aucune activité enzymatique, néanmoins il est le cofacteur du facteur IX (FIX) activé. Tous deux forment le complexe Ténase et vont activer le facteur X (FX) de la coagulation. Etant le cofacteur du FIX, le FVIII va permettre d'accélérer l'interaction du FX avec le FIX (32).

Le réseau FranceCoag a fait un état des lieux, en 2017, en France métropolitaine et outre-mer de la proportion des différents grades de sévérité de l'hémophilie de type A. La forme sévère de la maladie est retrouvée dans 32 % des cas, la forme modérée dans 14% et la forme mineure dans 54 % des cas d'hémophilie A (Figure 7) (33). Ces différents grade de sévérité entraînent des manifestations physiologiques diverses et d'intensités variées (voir tableau 3) (19).

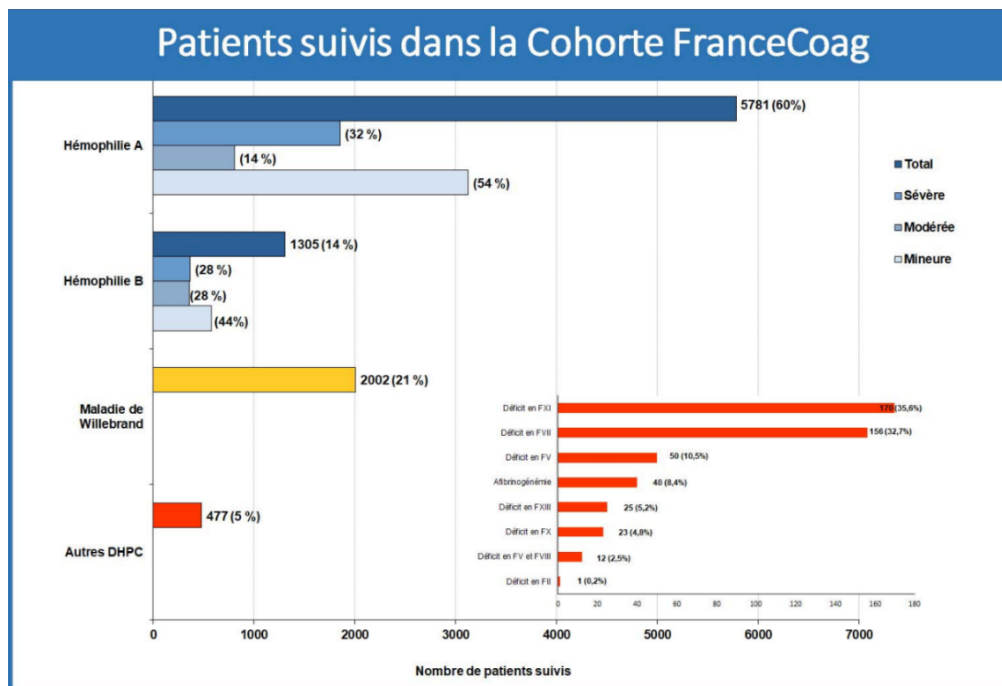


Figure 7 : Outil épidémiologique de suivi du nombre de patients ayant une maladie hémorragique due à un déficit héréditaire, en France métropolitaine et d'outre-mer de la filière MHEMO 2017 (33).

Le déficit ou l'absence de FVIII sont provoqués par des polymorphismes au sein du gène *FVIII*. Ceux-ci correspondent à des mutations ponctuelles dans 50% des formes sévères, dans 95% des formes modérées ou mineures (34) (35) et correspond dans 45% des formes sévères à une inversion de l'intron 22 (32) (35).

Le Centers for Disease Control and Prevention (CDC) est une base de données qui regroupe la liste des différentes mutations dans le gène *FVIII* ainsi que leur répartition en fonction de la gravité de la maladie (Figure 8). La version de 2020 (dernière version éditée), présente les différentes proportions de mutations ainsi que leur localisation (34) (36).

Les mutations ponctuelles correspondent à la modification d'un seul nucléotide et peuvent avoir 3 types de conséquences sur la séquence d'acides aminés du FVIII.

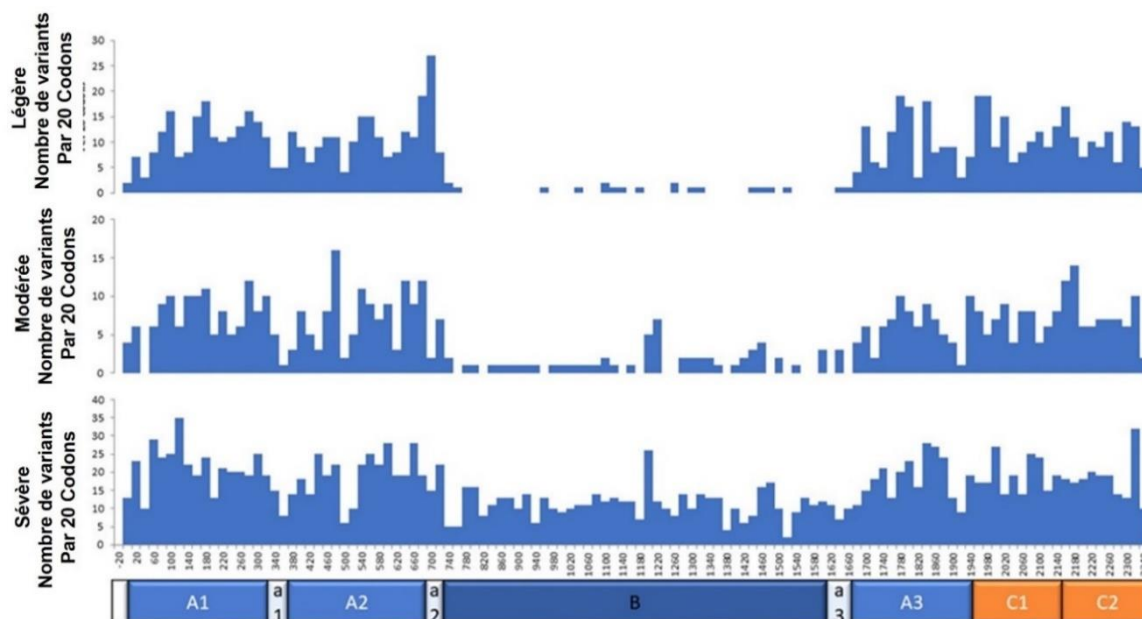


Figure 8: répartition des mutations sur le gène *FVIII* en fonction de la sévérité de l'hémophilie A(34)

On retrouve :

- Les mutations faux-sens, où la modification du nucléotide entraîne la substitution d'un acide aminé différent dans la protéine, représente 46,5 % des mutations ponctuelles.
- Les mutations non-sens, où le nucléotide modifié entraîne l'apparition d'un codon stop prématuré et donc à l'obtention d'une protéine plus courte et non fonctionnelle, représente 11,1% des mutations ponctuelles.
- Les mutations décalantes, où l'addition ou suppression d'un nucléotide entraîne un décalage du cadre de lecture, représente 24,2% des mutations ponctuelles.

Tableau 3 : synthèse des différents grades de sévérité de l'HA et des principales mutations qui en sont responsables.

Grade de sévérité		Hémophilie de type A			
		Mineure	Modérée	Sévère	Inhibiteur
Proportion de patient HA atteint		54%	14%	32%	30%
Mutation ponctuelle	Faux-sens : 46,5%	95%	95%	50%	9,5%
	Non-sens : 11,1%				31%
	Décalante : 24,2%				26,9
Inversion de l'intron 22		-	-	45%	-

Notons toutefois qu'il existe un cas particulier et rare d'hémophilie A acquise (37). Il s'agit d'un déficit acquis en FVIII qui se manifeste le plus souvent chez le sujet âgé. Cette pathologie apparaît de façon brutale chez un sujet indemne de toute maladie hémorragique mais qui, dans la majorité des cas, présentait déjà une maladie auto-immune (ex : lupus) ou un syndrome lymphoprolifératif, etc. Cette forme d'hémophilie est causée par l'apparition d'auto-anticorps dirigés contre le FVIII.

2.4 Hémophilie de type B généralités

L'hémophilie de type B est issue d'un déficit en facteur IX (FIX) de la coagulation. Celui-ci est codé par le gène *FIX* situé en Xq27 sur le bras long du chromosome X (38) composé de 8 exons et 7 introns (38) (Figure 9). La synthèse du FIX se fait au niveau des hépatocytes, et dépend de la présence de vitamine K. La demi vie de ce facteur de la coagulation est de 20 à 28 heures et a pour rôle d'activer le facteur X (FX) en formant le complexe Ténase avec le facteur VIII (FVIII) (32). Etant vitamine K dépendant, il se trouve diminué en cas de carence en cette vitamine, notamment chez les nouveaux nés en raison d'une immaturité hépatique. Il est donc important de suppléer en vitamine K1 les nourrissons (39).

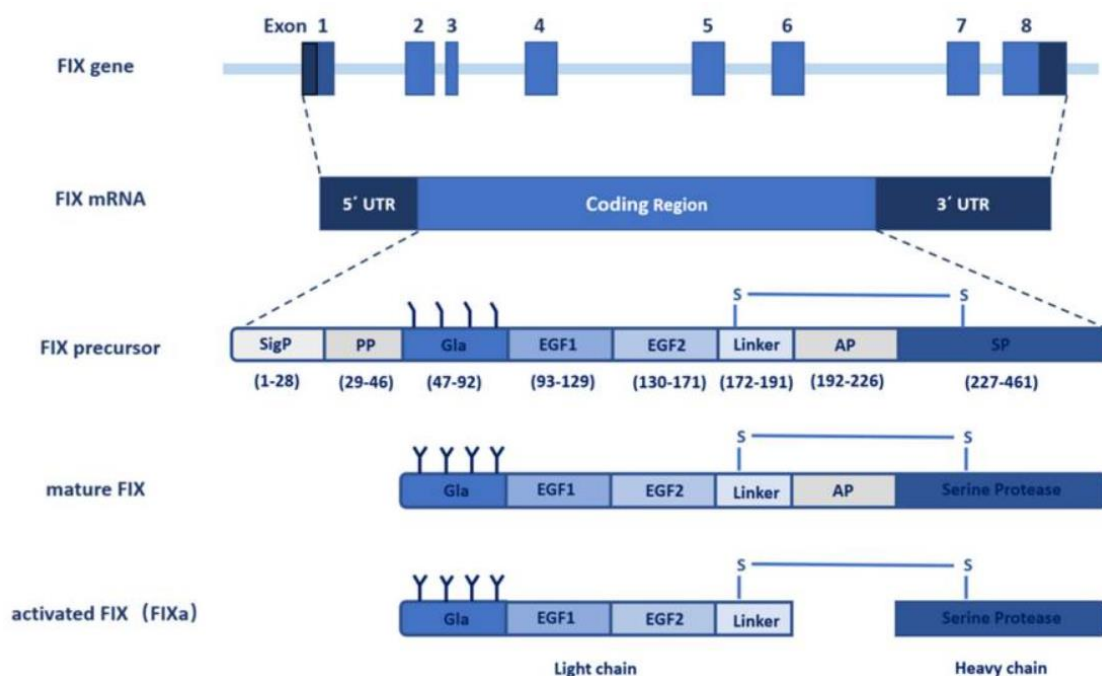


Figure 9 : gène du FIX (38)

Selon le rapport de France coag en 2019 on retrouve 29% de formes sévères, 28% de formes modérées et 44% de formes mineures dans l'hémophilie de type B (Figure 7).

Le déficit ou l'absence de transcription du FIX sont dans 90% des cas dus à une mutation ponctuelle sur le gène *FIX* (38), tous types de gravité confondus (selon le CDC et l'association des praticiens de génétique moléculaire). De même que pour l'hémophilie de type A, des mutations faux-sens, 58,1% des patients, non-sens, 8 % d'entre eux, et décalante, 16,1% des patients, sont retrouvées dans la majorité cas (34).

La base de données du CDC fournit pour l'hémophilie B des données supplémentaires concernant la proportions des différents types de mutation en fonction du grade de sévérité de la maladie (version éditée en 2020) (36). D'après la collecte de données du CDC, les mutations faux-sens sont retrouvées dans 54,7% des formes sévères, 69,6% des formes modérées et 83,3% des formes mineures. Les mutations non-sens représentent quant à elle 11,8% des formes sévères, 5,2% des formes modérées et 1,5% des formes mineurs. Les autres types mutations sont généralement associées aux formes sévères (Tableau 4) (36).

Tableau 4 : synthèse des différents grades de sévérité de l'HB et des principales mutations qui en sont responsables.

Grade de sévérité		Hémophilie de type B		
		Mineure	Modérée	Sévère
Proportion de patient HB atteint		44%	28%	29%
Mutation ponctuelle	Faux-sens : 58,1%	83,3%	69,6%	54,7%
	Non-sens : 8%	1,5%	5,2%	11,8%
	Décalante : 16,1%	1,5%	7,6%	18,4%

La base de données du CDC fournit également le taux de répartition des mutations sur le gène *FIX* en fonction de la gravité (Figure 10) :

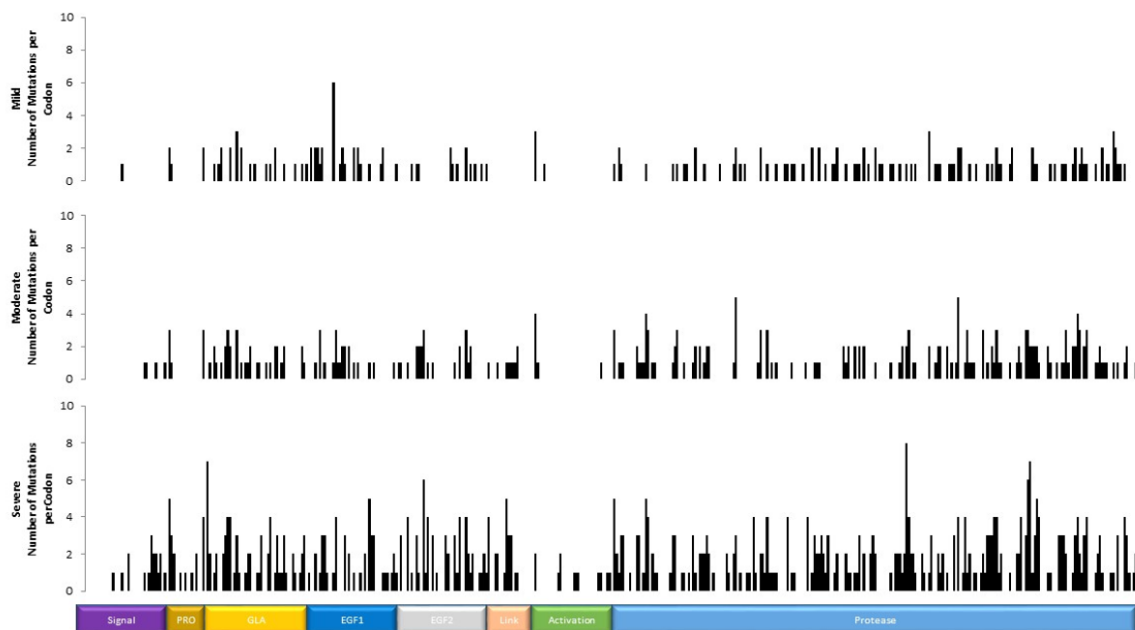


Figure 10 : répartition des mutations sur le gène *FIX* en fonction de la gravité de la maladie (36)

2.5 Signes cliniques

La suspicion d'un cas d'hémophilie peut être évoquée chez un enfant ou un adulte en présence de symptômes caractéristiques de la maladie tels que les saignements mais dont l'intensité varie selon la forme de gravité (Tableau 5). Les consultations peuvent être motivées par des antécédents familiaux d'hommes hémophiles ou de mères conductrices. Dans les familles avec des antécédents de cette maladie, la distribution des cas est homogène, contrairement à d'autres maladies hémorragiques, telle que la maladie de Willebrand. Cependant, de nouveaux cas d'hommes hémophiles ou de mères conductrices peuvent être diagnostiqués dans des familles sans antécédent de la maladie (19).

Pour les formes sévères d'hémophilie, la découverte de la maladie se fait dans les premières années de vie, souvent lors de l'apprentissage de la marche. Les premières chutes, peuvent révéler des saignements superficiels, tels que les ecchymoses provoquées, mais aussi des saignements spontanés en fonction du degré de sévérité (familièrement appelés des « bleus »). Ceux-ci correspondent à la présence de sang en petite quantité sous la peau et sont généralement sans gravité. A contrario, l'apparition d'hématomes musculaires, résultant de saignements intra-musculaires spontanés (dans les formes sévères) ou traumatiques (dans les

formes modérées et mineures) est préoccupante. Ces hématomes, douloureux, peuvent être dangereux en raison du risque de compression vasculo-nerveuse en particulier s'ils se situent dans des endroits sensibles et à risques comme l'œil, les aisselles, les poignets, les mains, l'aîne. Ces symptômes observés chez les jeunes enfants peuvent parfois susciter des soupçons de maltraitances au sein du corps médical.

La présence d'hémarthroses (Figure 11), c'est-à-dire d'hémorragies intra-articulaires, qu'elles soient provoquées ou spontanées dans les formes sévères, varie selon le stade de la maladie, et se localisent principalement au niveau des genoux, des chevilles et des coudes. Les signes cliniques sont moins visibles que dans les cas précédents. Ils se caractérisent par des gonflements, des douleurs au niveau de l'articulation et une limitation de la mobilité. A long terme, la répétition d'hémarthroses dans une même articulation entraîne une pression intra-articulaire, causée par l'accumulation de sang, conduisant à une synovite chronique. Il s'en suit une hypertrophie de la membrane synoviale de l'articulation ce qui se traduit par une diminution de la mobilité pouvant entraîner un handicap fonctionnel. Ce stade correspond à l'arthropathie hémophilique. Dans les stades avancés de l'arthropathie, une destruction irréversible du cartilage peut survenir. Ces saignements spontanés sont généralement retrouvés dans les formes sévères.

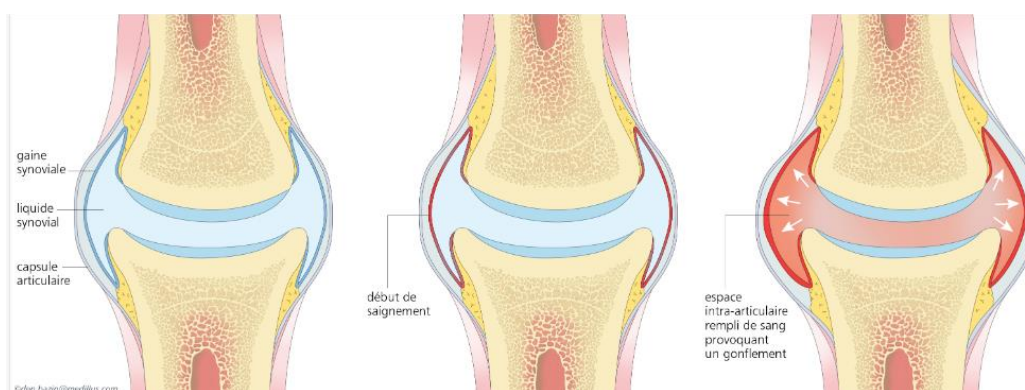


Figure 11 : formation de l'hémarthrose (20)

D'autres saignements spontanés ou provoqués peuvent être visibles, telles que les hématuries, les hémorragies buccales, les rectorragies et les hématoméses. Le cas le plus critique est l'hémorragie du système nerveux central généralement liée à un traumatisme crânien (prise en charge en urgence).

Les symptômes d'un patient hémophile diffèrent donc dans leur intensité (Tableau 5) et localisation en fonction du grade de sévérité de la maladie. Celui-ci est déterminé via le dosage isolé en facteur VIII et FIX qui sera abordé dans le chapitre « Diagnostic biologique ».

Tableau 5 : risque hémorragique en fonction de la sévérité de l'hémophilie de type A ou B d'après la Fédération Mondiale de l'hémophilie (19)

Gravité	Taux des facteurs de coagulation	Episodes hémorragiques
Sévère	< 1 IU/dL (<0,01 IU/mL) ou <1% du taux normal	Saignement spontané dans les articulations ou les muscles, principalement en l'absence de cause hémorragique identifiable.
Modéré	1-5 IU/dL (0,01 à 0,05 IU/mL) ou entre 1 et 5 % du taux normal	Saignement spontané occasionnel ; saignement prolongé lors d'un traumatisme mineur ou d'une intervention chirurgicale.
Légère (mineure)	5-40 IU/dL (0,05 à 0,40 IU/mL) ou entre 5- 40% du taux normal	Hémorragie lors d'un traumatisme majeur ou d'une intervention chirurgicale. Le saignement spontané est rare.

2.6 Diagnostic des Hémophilies

Le diagnostic de l'hémophilie est pluriel et s'effectue lors de suspicion de la maladie ou dans le cas d'un dépistage en raison d'antécédents familiaux. Celui-ci, ainsi que la prise en charge initiale du patient sont effectués dans les CRH, CRC-MCH, CTH dans le cadre d'une hospitalisation ou d'une consultation.

2.6.1 Circonstances du diagnostic de l'hémophilie de type A et de type B

L'âge auquel le diagnostic de l'hémophilie A et / ou B est posé varie en fonction de la sévérité de la forme de la maladie (Tableau 6) (22):

Tableau 6 : Age moyen de diagnostic des différents types d'hémophilie d'après le rapport annuel de 2022 du réseau Francecoag (40)

	HA sévère	HA modérée	HA mineure	HB sévère	HB modérée	HB mineure
Age moyen lors du diagnostic (mois)	13,7 (1,1ans)	50,2 (4,2 ans)	188,9 (15,7ans)	1,4	7,1	16,5
Age max du diagnostic (années)	44,3	69,0	82,2	56,9	68,9	74,6

Les circonstances du diagnostic se répartissent en 3 catégories et peuvent varier en fonction de la sévérité de la maladie (Figure 12- 13) :

- Le diagnostic clinique peut faire suite à des signes hémorragiques évocateurs. Dans ce cas de figure, les professionnels de santé peuvent s'aider de score, tel que le score ISTH-BAT chez les sujets de moins de 18 ans, et chez les femmes conductrices afin de déterminer s'il est nécessaire de prescrire un bilan d'hémostase (test de dépistage).
- Le diagnostic peut faire suite à la connaissance d'au moins un cas d'hémophilie dans la famille, celui-ci constitue la seconde cause la plus fréquente de diagnostic.
- Le diagnostic fortuit lors d'un bilan d'hémostase perturbé (ex : en préopératoire), cas le moins fréquent, généralement dans les cas de formes mineures.

Remarque : 30% des cas sont associés à une néomutation sans antécédant familial (40).

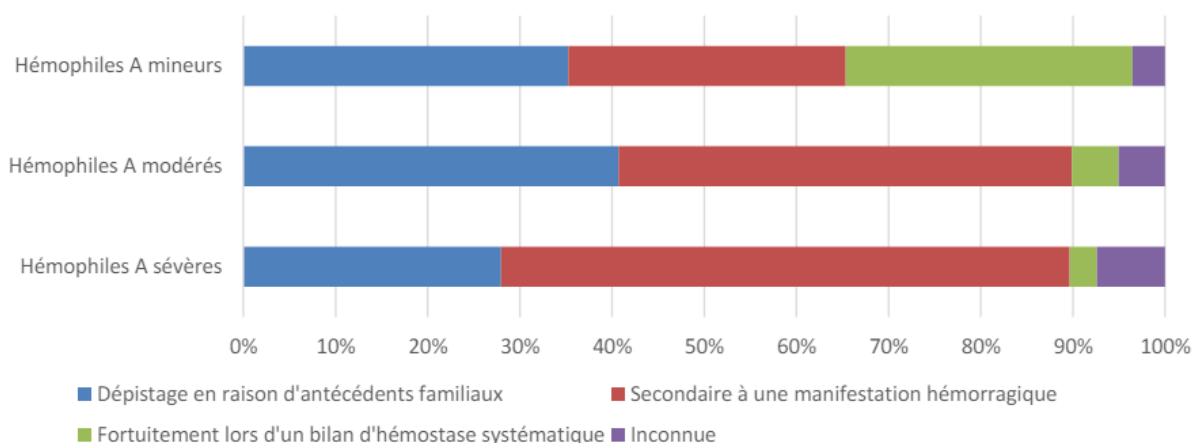


Figure 12 : Principales circonstances amenant au diagnostic selon la sévérité de l'hémophile A (rapport annuel 2022 du réseau France Coag) (40)

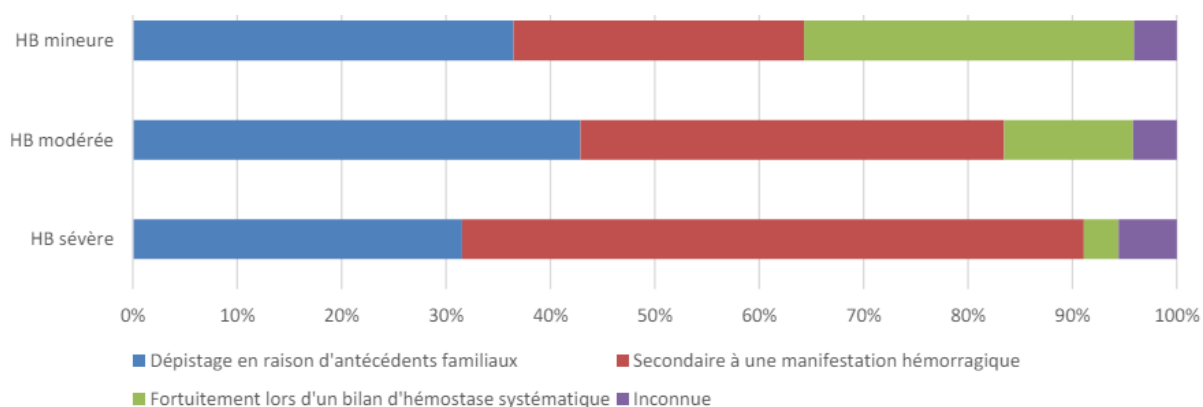


Figure 13 : Principales circonstances amenant au diagnostic selon la sévérité de l'hémophile B (rapport annuel 2022 du réseau France Coag) (40)

Lors d'une suspicion de cas d'hémophilie ou après un dépistage, le diagnostic s'effectue en plusieurs étapes. On retrouve, le diagnostic biologique, le diagnostic différentiel et le diagnostic moléculaire.

2.6.2 Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique est entrepris lors d'une suspicion d'hémophilie à la fois clinique et /ou antécédant familiale et à la suite de résultats anormaux des tests de dépistage (41) (22).

Ces derniers sont réalisés afin d'identifier la source possible des saignements du patient et comprennent (42) (22):

- La détermination du groupe sanguin. Effectivement, les sujets du groupe O ont un taux physiologiquement plus bas en FVIII par rapport aux autres groupes sanguins ;
- La numération plaquettaire, dont la valeur physiologique est comprise entre 150 et 450 G/L ;
- Le temps de saignement (TS), correspond au temps nécessaire à l'arrêt du saignement après une incision cutanée normalisée, dont la valeur physiologique est comprise entre 2 et 4 minutes avec la méthode d'Ivy trois points ou entre 4 et 8 minutes avec la méthode d'Ivy incision ;
- Le TCA (taux de céphaline + activateur), est un test qui explore la voie intrinsèque de la coagulation avec l'étude des facteurs anti-hémophiliques FVIII et FIX mais également des facteurs FXI, FXII, PK, KHPM, FII, FV, FX, et du fibrinogène. Il correspond au temps de coagulation d'un plasma citraté déplaqueté en présence de calcium, de céphaline (substitut de phospholipides) et d'un activateur du système contact. C'est un test sensible à l'héparine et aux anticorps antiphospholipides. Les résultats s'expriment en ratio TCA malade / TCA témoin avec une valeur usuelle qui doit être physiologiquement comprise entre 0,80 et 1,20 ;
- Le temps de Quick (TQ), correspond au temps de coagulation d'un plasma citraté déplaqueté en présence de calcium et de thromboplastine. C'est un test global de la voie extrinsèque de la coagulation qui permet d'explorer les FII, FVII et FX mais aussi le FV et le fibrinogène. C'est un test non sensible à l'héparine et peu sensible aux

anticorps antiphospholipides. Les résultats sont exprimés en **taux de prothrombine** (TP) dont la valeur usuelle doit être physiologiquement comprise entre 70 et 130% ;

- Le dosage chronométrique du fibrinogène. Ce test mesure le temps de coagulation d'un plasma citraté déplaqueté en présence de calcium et d'un excès de thrombine purifiée. Le résultat est directement proportionnel au taux de fibrinogène plasmatique. La valeur usuelle doit être physiologiquement comprise entre 2 et 4g/L. Cependant les résultats peuvent augmenter en cas de syndrome inflammatoire.

Le profil typique d'un patient hémophile se caractérise par un allongement isolé du TCA (rapport TCA malade/TCA témoin > 1,2) tout en conservant un TS, un TQ, ainsi qu'un dosage du fibrinogène et la numération plaquettaire dans des valeurs normales (Figure 14). Lors d'un allongement du TCA il faut exclure la présence d'anticoagulant thérapeutique (telle que l'Héparine) dans l'échantillon car ceux-ci allongent le TCA et entreprendre des analyses complémentaires pour confirmer le dépistage. De plus, étant donné la variabilité de la sensibilité du TCA selon la méthode utilisée, un cas d'hémophilie ne peut être exclu en présence d'un résultat de TCA normal. Dans de telles situations, des analyses complémentaires doivent être effectuées (42). Cette vérification peut se faire via une épreuve de correction par addition de plasma normal, permettant de calculer l'indice de Rosner ($\text{TCA mélange} - \text{TCA témoin} / \text{TCA malade}$). Ce calcul permet d'orienter le diagnostic vers la présence ou non d'un anticoagulant circulant notamment si l'indice est supérieur à 15 (22). En cas d'allongement isolé du TCA ou devant un TCA normal mais avec un profil clinique caractéristique de l'hémophilie, un dosage de l'activité coagulante des facteurs FVIII et FIX est entrepris afin de mettre en évidence un taux en FVIII ou FIX inférieur à 40% (19). La WFH décrit dans le manuel de laboratoire « Le diagnostic de l'hémophilie et autres troubles de la coagulation » l'ensemble des tests à réaliser en laboratoire ainsi que les tests complémentaires en cas de résultats en dehors des valeurs seuil (42).

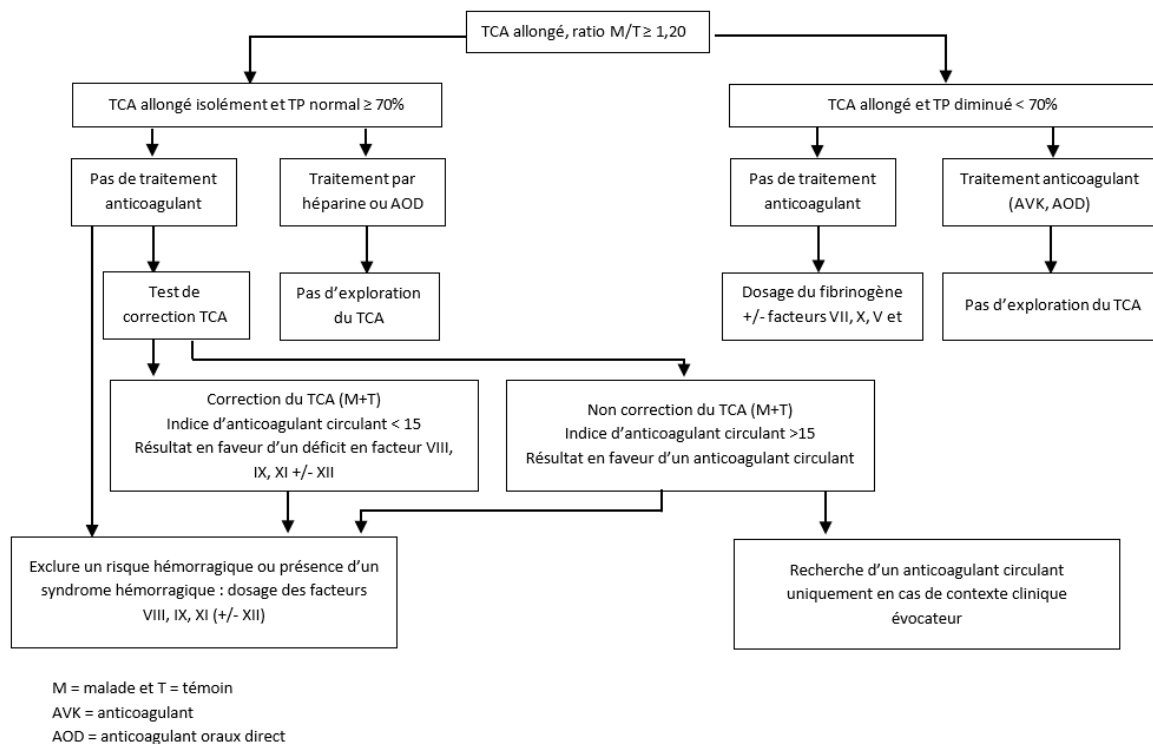


Figure 14 : Conduite à tenir devant un TCA allongé (schéma issu de la figure 6.2 de l'ANPGM) (35)

Le diagnostic biologique est posé après la mise en évidence d'un dosage de l'activité des facteurs FVIII et FIX inférieur à 40% soit inférieur à 0,4 UI/mL, les valeurs physiologiques attendues étant entre 50% et 150% en FVIII et entre 70-120% en FIX.

Diagnostic biologique de l'hémophilie A

Un patient atteint d'hémophilie A peut-être diagnostiqué en combinant deux méthodes de dosage du facteur VIII (34).

- La méthode par **mesure chromométrique en 1 temps (FVIII : C)**, permet de mesurer un temps de coagulation dans un mélange à volume égal d'une dilution du plasma du malade et du plasma réactif déficitaire en facteur VIII (contenant moins de 1 UI/dL d'activité du FVIII) mais devant contenir des niveaux normaux des autres facteurs de la coagulation pouvant affecter le TCA, tels que FII, FV, FIX, FX, FXI, FXII. Cette méthode reste la plus utilisée de nos jours (19) (43).
- La **mesure chromogénique du FVIII en 2 temps (FVIII : am)**, mesure quant à elle une activité enzymatique via une méthode colorimétrique. Dans cette méthode le facteur VIII agit comme cofacteur dans l'activation du FX par le FIXa. La réaction débute par

l'incubation de l'échantillon du patient à tester en présence de FIXa, de FX inactivé, de phospholipides et de calcium. La formation du FX activé (FXa) est directement proportionnelle au taux de FVIII présent dans le sérum du patient (43). La quantité de FXa formé est mesurée par le clivage d'un substrat chromogène du FXa et l'apparition d'une coloration liée à la formation de p-nitroaniline qui absorbe à la longueur d'onde de 405 nm. La valeur de l'absorbance à 405 nm augmente en fonction de la quantité de FXa généré, celle-ci est directement proportionnelle à l'activité du complexe Ténase (FVIII / FIX) (19).

Les résultats de ces deux méthodes sont généralement bien corrélés et complémentaires. Cependant des discordances peuvent être observées dans 30% des cas d'hémophilie de type A modérée ou mineure (22). La discordance la plus fréquente réside dans un taux de FVIII supérieur obtenu par méthode chromométrique par rapport à la méthode chromogénique (43). Néanmoins, la méthode chromogénique semble être plus étroitement corrélée au stade de gravité de la maladie. La Fédération Mondiale de l'Hémophilie (FMH) recommande l'utilisation des deux méthodes lors du diagnostic initial de l'hémophile de type A (41). De plus, le dosage du FVIII via ces deux méthodes permet également de déterminer le degré de sévérité de la maladie.

Dans le cadre du diagnostic de l'hémophilie de type A et dans des cas exceptionnels, un dosage immunologique du FVIII peut être réalisé par méthode ELISA pour différencier les déficits quantitatifs des déficits qualitatifs (22).

Quel que soit les résultats obtenus via une ou les deux méthodes, ils doivent être interprétés en tenant compte du contexte clinique. Par exemple, un syndrome inflammatoire ou une grossesse peuvent masquer un déficit en FVIII. Un diagnostic différentiel peut être alors nécessaire.

Diagnostic biologique de l'hémophilie B :

Le diagnostic biologique d'une hémophilie de type B suit une procédure similaire à celle de l'hémophilie de type A (20) (35). En présence d'un allongement du TCA, en excluant la prise d'anticoagulant, lors des tests de dépistage, un dosage de l'activité coagulante du facteur IX (FIX) peut être effectué via la méthode chromogénique en 2 temps et la méthode chromométrique en 1 temps (FIX : C). La méthode en 1 temps implique l'utilisation d'un plasma

(pris comme réactif) dépourvu de FIX ou contenant moins de 1 UI/dL d'activité du FIX et des niveaux normaux d'autres facteurs de la coagulation pouvant affecter le TCA, c'est-à-dire en FII, FV, FVIII, FX, FXI, FXII. Ce dosage permet également de déterminer le stade de gravité de la maladie. La Fédération Mondiale de l'Hémophilie recommande l'utilisation du dosage en 1 temps du FIX dans le diagnostic initial en raison du manque de données concernant l'utilisation du test en 2 temps. Un dosage immunologique (FIX :Ag) du FIX par une méthode ELISA peut également être effectué afin de différencier les déficits quantitatifs des déficits qualitatifs. Mais ce dosage n'est pas effectué en pratique courante (19).

Un dosage isolé mettant en évidence une diminution en FVIII ou en FIX avec des dosages normaux pour les autres facteurs confirme une hémophilie type A ou type B, respectivement.

2.6.3 Diagnostic différentiel

Dans le cas de l'hémophilie de type A (HA) :

Afin de confirmer un diagnostic d'hémophilie de type A, il est essentiel d'éliminer toute autre maladie potentielle des troubles de l'hémostase telle que la maladie de Willebrand (20) (22). Celle-ci est une maladie hémorragique constitutionnelle par anomalie quantitative ou qualitative en facteur de Von Willebrand et de transmission autosomique dominante.

Pour rappel, FVIII est transporté dans la circulation sanguine par le facteur de Von Willebrand, qui le stabilise et le protège contre la dégradation protéolytique. De ce fait, la concentration en FVIII est corrélée à la concentration en facteur de Von Willebrand (VWF). C'est pour cette raison qu'un déficit en VWF entraîne une diminution de facteur VIII et donc un allongement du TCA. Il est donc important d'exclure l'hypothèse de cette maladie.

Dans le cas d'une diminution du taux de facteur VIII et en l'absence d'un contexte familial évocateur d'une transmission récessive liée au chromosome X (par exemple dans le cas d'une mère atteinte cliniquement) les dosages antigéniques du facteur de Willebrand (VWF : Ag) et de l'activité cofacteur de la ristocétine (VWF : RCo) sont effectués afin de confirmer ou non la présence d'une maladie de Von Willebrand. De plus, l'étude de la liaison entre le facteur VIII et le facteur de Willebrand (VWF : FVIII B) est effectuée afin d'éliminer les cas de maladie de Willebrand de type 2N (anomalie qualitative du VWF basée sur la diminution de l'interaction VWF-FVIII) (19) (22).

Lors du diagnostic d'un patient hémophile de type A (HA), il est important de faire la distinction entre l'hémophilie constitutionnelle et l'hémophilie acquise. Le contexte clinique de celle-ci est différent. Effectivement, l'hémophilie acquise est d'apparition brutale chez un patient adulte indemne de toute pathologie hémorragique. Cette forme de la maladie est due à un déficit en FVIII associé à la présence d'autoanticorps anti-FVIII pouvant apparaître en post partum ou chez des patients atteints d'une pathologie auto-immune ou lymphoproliférative. Il faut noter que le FVIII se comporte comme une protéine de l'inflammation et s'élève dans un contexte d'inflammation ou de grossesse.

Dans le cas de l'hémophilie de type B (HB) :

Il existe peu de diagnostic différentiel concernant l'hémophilie de type B. Il est cependant important de distinguer l'hémophilie de type B des déficits acquis combinés liés à une carence en vitamine K ou à une insuffisance hépatique. Effectivement, la synthèse de FIX étant dépendante de la vitamine K, en cas de déficit la production en FIX se voit impactée malgré la présence du gène codant le FIX fonctionnel.

2.6.4 Diagnostic génétique

Le diagnostic génétique est recommandé chez les patients hémophiles de type A ou de type B quel que soit le grade de sévérité. Il doit être réalisé dès que possible. Ces recommandations sont publiées depuis 2006 par le « United Kingdom Haemophilia Centre Doctors Organization » (35). Le génotypage permet de confirmer les diagnostics biologiques et cliniques. De plus, il permet d'évaluer le risque d'apparition d'inhibiteurs, des anticorps neutralisant l'activité des FVIII et FIX, apparaissant suite aux injections répétées de traitements de substitution et qui sont présents dans environ 30% des cas d'HA et 5% des cas d'HB. Ce diagnostic permet également de prédire la réponse aux traitements, notamment à la Desmopressine et de détecter les femmes conductrices. Un génotypage est également préconisé pour un diagnostic prénatal ou préimplantatoire dans les formes sévères.

Le diagnostic génotypique a pour objectif d'identifier au sein des gènes codant pour les facteurs anti-hémophiliques la mutation responsable du déficit/absence en facteur VIII ou IX. Les techniques majoritairement utilisées sont la PCR (Polymerase Chain Reaction) et le séquençage (via la méthode de Sanger ou de nouvelle génération) (20) (35).

La stratégie de ce diagnostic n'est pas aléatoire. Elle a été établie par le réseau national des laboratoires de génétique, Génostase (réseau qui réalise les caractérisations génétiques des maladies constitutionnelles de la coagulation, de la fibrinolyse et des plaquettes) (36) puis validée par l'association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire (ANPGM) (35). Le réseau Génostase, est une organisation de laboratoires depuis 2006, composé de 2 niveaux de laboratoires afin de couvrir de façon homogène le territoire national (les activités des 2 niveaux sont décrit dans le tableau 7) (35). Le diagnostic génétique n'est pas un test anodin et est encadré par la loi de bioéthique. Ce processus nécessite d'obtenir le consentement éclairé du patient après que celui-ci ait pris connaissance des informations nécessaires (orales et écrites) auprès du conseil génétique (lié au CRH). Le diagnostic génétique ne peut être réalisé que dans un laboratoire autorisé et par un praticien agréé.

Cependant il est possible que le test génétique ne parvienne pas à identifier le variant (35).

Tableau 7 : Analyses réalisées par les laboratoires du réseau Génostase (35)

Analyses	Niveau 1	Niveau 2
Hémophilie A		
Recherche des inversions du gène F8 intron 22 / intron 1	X	X
Séquençage du gène F8 :		
Régions codantes et sites d'épissage des 26 exons	X	X
Promoteur	X	X
Région 3'UTR	X	X
Queue poly(T) de la séquence AluY localisée dans l'intron 13	X	X
Gène entier (incluant les régions introniques)		X
Etude des grands ré-arrangements du gène F8	X	X
Etudes fonctionnelles du gène F8		
ARNm		X
Minigène		X
Expression cellulaire de variants		X
Hémophilie B		
Séquençage du gène F9 :		
Régions codantes et sites d'épissage des 8 exons	X	X
Promoteur	X	X
Région 3'UTR	X	X
Gène entier (incluant les régions introniques)		X
Etude des grands ré-arrangements du gène F9	X	X
Etudes fonctionnelles du gène F9		
Minigène		X
Expression cellulaire de variants		X

Le diagnostic prénatal est réalisé dans le cas où un des parents est porteur d'une mutation sur un des gènes codant pour un des facteurs anti-hémophiliques. Avant la réalisation du test, le conseil génétique doit fournir aux parents toutes les informations et les conseils nécessaires sur le diagnostic prénatal et sur les risques de fausse couche associés ainsi que sur le suivi de la grossesse et la gestion de l'accouchement. Pour sa réalisation, il est nécessaire de déterminer le sexe du fœtus à partir de la 8^{ème} semaine de gestation sur le sang maternel.

Dans le cas où le fœtus est de sexe masculin, le diagnostic prénatal est réalisé par génotypage via 2 méthodes de prélèvement possibles. La première est réalisée entre la 11^{ème} et 14^{ème} semaine de gestation par une biopsie du trophoblaste (villosités choriales). La seconde méthode de prélèvement a lieu à partir de la 15^{ème} semaine de grossesse par amniocentèse (prélèvement du liquide amniotique). En cas d'hémophilie sévère, une interruption thérapeutique de grossesse est proposée.

3 TRAITEMENTS ACTUELS DANS L'HEMOPHILIE DE TYPE A ET DE TYPE B

Les traitements actuels de l'hémophilie (HA et HB) ne permettent pas de guérir de la maladie, mais uniquement de prévenir les épisodes hémorragiques et ne se résument pas en l'administration unique d'une molécule. Au contraire, la thérapeutique de l'hémophilie se base sur une prise en charge plurielle faisant intervenir un grand nombre de professionnels dans le parcours de soins de chaque patient. Nous pouvons citer l'équipe médicale et paramédicale du CRH, CRC-MHR, CTH (médecins, pédiatres, hématologues, infirmiers, pharmaciens, kinésithérapeutes, psychologues, généticiens, etc.) mais également des spécialistes, le médecin traitant, des professionnels libéraux, etc (22).

La prise en charge précoce et un bon suivi de la maladie conditionnent l'efficacité du traitement notamment en :

- identifiant les situations à risques hémorragiques de chaque patient, afin de les traiter le plus précocement possible,
- discutant avec la famille et le patient des modalités thérapeutiques adaptées au type d'hémophilie et de sa sévérité,
- prévenant, dépistant et traitant précocement l'arthropathie hémophilique,
- prévenant, dépistant et traitant les complications du ou des traitement(s),
- organisant la prise en charge des gestes invasifs (soins dentaires, etc.),
- proposant un accompagnement éducatif au patient et à la famille,
- proposant un accompagnement psychologique.

Le but de cette prise en charge est d'obtenir une thérapeutique adaptée à chaque patient et de les accompagner pour faciliter leur quotidien, améliorer leur qualité de vie et augmenter leur espérance de vie (22) (44).

Plusieurs types de traitements existent et peuvent être proposés aux patients en fonction du type de l'hémophilie et de sa sévérité (Tableau 8).

Nous pouvons citer :

- Les traitements substitutifs en facteur FVIII ou FIX standards ou à demi-vie allongée (plasmatique ou recombinant) ;
- Les traitements non substitutifs avec :
 - les traitements mimant l'activité du FVIII : anticorps bispécifiques comme l'emicizumab pour l'hémophilie de type A,
 - les agents de contournement, aussi appelé « By-passant »,
 - les traitements « non spécifiques », traitements annexes : l'acide tranexamique (AT), la desmopressine, l'induction de la tolérance immunitaire (ITI), les hémostatiques d'appoint.

Tableau 8 : Différentes thérapeutiques en prophylaxie pour les différents types d'hémophilie.

	Hémophilie de type A					Hémophilie de type B				
	Mineure	Modérée	Sévère	Avec inhibiteur	Urgence	Mineure	Modérée	Sévère	Avec inhibiteur	Urgence
Traitement substitutif	Cas par cas	Cas par cas	Oui	Non	Oui	Cas par cas	Cas par cas	Oui	Non	Oui
Agent by-passant	Non	Non	Non	Oui	Non	Non	Non	Non	Oui	Non
Emicizumab	Non	Cas par cas	Oui	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Desmopressine	Oui	Oui	Non	Cas par cas	Non	Non	Non	Non	Non	Non
AT	Oui	Oui	Non	Cas par cas	Non	Non	Non	Non	Non	Non
ITI	Non	Non	Non	Oui	Non	Non	Non	Non	Oui : vigilance	Non
Hémostatique d'appoint	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Non

3.1 Les thérapies substitutives

Le traitement par injection intra-veineuse en facteurs FVIII ou FIX d'origine plasmatique (facteurs dérivés de sang humain : pdFVIII et pdFIX) ou issu du génie génétique (facteurs recombinants, mis en place suite à la tragédie du sang contaminé (44)) est utilisé dans le traitement prophylactique et/ou à la demande chez les patients atteints d'hémophilie de type A ou de type B sévères, modérées/mineures à phénotypes hémorragiques sévères. Une autre approche thérapeutique sera utilisée pour les formes mineures (22) (19).

Afin de répondre au mieux aux risques d'évènements hémorragiques en fonction du phénotype hémorragique de chaque patient 2 schémas thérapeutiques sont applicables concernant les traitements substitutifs en facteurs FVIII ou FIX. Tout d'abord, le traitement par prophylaxie pour les symptomatologies sévères (44) d'HA et HB sévères et pour les formes modérées et mineures à phénotype hémorragique sévère. Cette stratégie implique l'administration par injection, une à trois fois par semaine, de facteur déficitaire FVIII ou FIX, en fonction des besoins et dans le but de maintenir un taux constant de facteur sur une longue durée. L'objectif est de transformer une hémophilie sévère en modérée sans que le facteur manquant ne revienne à son niveau de base afin de limiter la survenue des accidents hémorragiques. Cette stratégie thérapeutique est généralement débutée dans l'enfance soit :

- En prévention primaire, avant l'âge 3 ans au moment de l'acquisition de la marche et avant la 2^{ème} hémarthrose.
- En prévention secondaire après l'âge de 3 ans suite à 2 accidents hémorragiques sévères.
- En prévention tertiaire, après l'apparition de maladie articulaire reconnue par un examen physique et des radiographies rectilignes des articulations concernées.

Dans le cas des patients atteints de formes modérées ou mineures, le schéma de soins est à discuter au cas par cas en fonction du profil hémorragique du patient. Plus la thérapeutique est précoce, notamment pour les formes sévère, plus l'apparition des effets délétères de la maladie sont retardés (44).

Le second schéma thérapeutique disponible est le traitement à la demande, pour les hémophilies sévères, modérées et mineures. Celui-ci consiste en l'injection immédiate, une

ou plusieurs fois par semaines, du facteur manquant lors d'un accident hémorragique pour prévenir des séquelles de ces événements ou avant un acte chirurgical.

3.1.1 Facteur VIII et hémophilie de type A

Les traitements :

Le traitement prophylactique et/ou à la demande des patients hémophiles de type A peut se faire via plusieurs spécialités disposant d'une AMM en France. Deux traitements sont à base de FVIII d'origine humaine et 7 spécialités sont issues du génie génétique (22). Pour ces dernières, des modifications protéiques ont pu être apportées dans le but d'allonger la demi-vie du rFVIII et *in fine* de diminuer le nombre d'injections et ainsi d'améliorer le quotidien des patients (45). Nous retrouvons notamment l'Efmoroctog alfa, qui résulte de la fusion d'un fragment Fc d'immunoglobuline au FVIII (44). D'autres spécialités, non commercialisées en France, avec des peguylation ont également montrées des propriétés pharmacocinétiques similaires (46) (47) (48) (49).

Les injections de facteur VIII sont prescrites en 1^{ère} intention chez les patients hémophiles de type A avec une forme sévère en prophylaxie et à la demande. De plus, elles sont prescrites dans les formes modérées et mineures à phénotype hémorragique sévère. Ce traitement n'est cependant pas prescrit en 1^{ère} intention pour les phénotypes modérés et mineurs en raison du déclenchement non spontané des saignements (dans la majorité des cas). La thérapeutique est donc déterminée pour chaque patient en fonction de son profil hémorragique et des risques (19).

Les spécialités présentées dans le tableau 9 ont obtenu une AMM dans le traitement prophylactique des épisodes hémorragiques pour les patients de tout âge, atteints d'hémophilie de type A.

Tableau 9 : principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques dans le traitement de l'hémophilie de type A.(22)

Traitement	Origine caractéristiques	Etapas spécifiques (inactivation virale pour les rFVIII)	Dosage / flacon (UI)	Volume (mL)	Conservation entre 2 et 8°C	Laboratoire
FACTANE®	Plasmatique	Traitement solvant détergent et nanofiltration 15-35 nm	250	2,5	3ans	LFB Biomédicament
			500	5		
			1000	5		
			2000	10		
l'OCTANATE®	Plasmatique	Traitement solvant détergent et chauffage à sec	250	5	2ans	Octapharma
			500	10		
			1000	10		
l'ADVATE® (octocog alfa)	Recombinante : lignées CHO : rFVIII pleine longueur	Traitement par un solvant détergent	250	2	2ans	Takeda
			500			
			1000			
			1500			
			2000	5		
3000						
l'AFSTYLA® (lanoctocog alfa)	Recombinante : lignées CHO : rFVIII simple chaîne	Traitement par un solvant détergent et une filtration 20 nm	250	2,5	3ans	CSL Behring
			500			
			1000			
			1500	5		
			2000			
			3000			
NOVOEIGHT® (turoctocog alfa)	Recombinante : lignées CHO : rFVIII tronqué/déléte	Traitement par un solvant détergent et une filtration 20 nm	250	4	30 mois	Novo Nordisk
			500			
			1000			
			1500			
			3000			
REFACTO AF® (moroctocog alfa)	Recombinante : lignées CHO : rFVIII tronqué/déléte	Traitement par un solvant détergent et une filtration 35 nm	250	4		Pfizer
			500			
			1000			
			3000			
KOVALTRY® (octocog alfa)	Recombinante : lignées BHK : rFVIII pleine longueur	Filtration 20 nm	250	2,5	30 mois	Bayer Healthcare
			500			
			1000			
			2000	5		
3000						
NUWIQ® (simoctocog alfa)	Recombinante : lignées HEK 293: rFVIII tronqué/déléte	Traitement par un solvant détergent et une filtration 20 nm	250	2,5	2ans	Octa pharma
			500			
			1000			
			2000			
			3000			

Traitement	Origine caractéristiques	Etapes spécifiques (inactivation virale pour les rFVIII)	Dosage / flacon (UI)	Volume (mL)	Conservation entre 2 et 8°C	Laboratoire
			4000			
l'ELOCTA® (efmoroctocog alfa)	Recombinante : lignées HEK 293 : rFVIII pleine longueur, fusion fragment Fc d'Ig	Traitement par un solvant détergent et une filtration 15 nm	250	3	3ans	Sobi
			500			
			750			
			1000			
			1500			
			2000			
			3000			
			4000			

Tous les traitements substitutifs de FVIII doivent être conservés à l'abri de la lumière et ne doivent en aucun cas être congelés. De plus, des précautions de conservation sont à prendre en été lors des fortes chaleurs (49).

L'administration des spécialités est réalisée à domicile soit par un(e) IDE soit en auto-injection par le patient. Dans ce dernier cas, le patient doit en amont réaliser une formation sur l'administration de son traitement (vitesse d'administration rapide de 4mL/min) (49). Celle-ci se déroule dans les CRH, CRC-MCH, CTH par des IDE coordinatrices ou lors d'ateliers éducatifs (19) (23).

Mise en place du traitement et schéma posologique de la prophylaxie par le FVIII :

Dans le cas des patients hémophiles de type A sans inhibiteur, le FVIII utilisé en prophylaxie est administré à de faibles doses (25 à 40 UI/kg). Toute injection d'1 UI/kg de FVIII entraîne une augmentation moyenne d'environ 2 % du taux de FVIII circulant.

Le schéma posologique des spécialités de FVIII est similaire quel que soit l'origine de la spécialité avec des spécificités sur l'intervalle inter doses en fonction de la demi-vie du produit. Selon les recommandations françaises, les schémas posologiques d'une prophylaxie efficace et personnalisée, prennent en compte l'âge, le poids, le type de saignement, l'état articulaire, le niveau et l'horaire des activités physiques, le taux de facteurs de la coagulation, l'observance du traitement et l'accessibilité des veines (19).

De plus, depuis 2009 les recommandations de la CoMETH en France sont d'effectuer les injections intra-veineuses par paliers jusqu'à atteindre l'objectif clinique, (voir tableau 13) (21).

Une exception au schéma posologique du tableau 10 est apportée dans les cas d'accident hémorragique. Dans ce cas précis l'injection en FVIII correspond directement à un palier 3 et est poursuivie durant tout le mois suivant l'accident, avant de diminuer les doses par paliers pour revenir à la posologie adaptée du patient.

Tableau 10 : schéma thérapeutique de la prophylaxie précoce et progressive intensifiée adaptée de Meunier selon le PNDS 2023 (22)

Schéma thérapeutique de la prophylaxie longue durée précoce et progressive intensifiée			
	HA FVIII à demi vie standard et allongée	HB FIX à demi vie standard	HB FIX à demi vie allongée
Palier 1	50 UI/kg 1 fois par semaine	70 UI/kg 1 fois par semaine	ALPROLOX : 50 U/kg/7j à 100 U/kg/10 j en ajustant la dose et le rythme en fonction de la réponse patient ; 50-60 U/kg/7j chez l'enfant plus jeune ; schéma identique à l'adulte pour les enfants ≥ 12 ans ; max 100 U/kg/dose IDELVION : 35-50 U/kg/7j max 75 U/kg/10-14j avec des intervalles plus courts ou des doses plus élevées chez les enfants plus jeunes
Palier 2	30 UI/kg 2 fois par semaine (jours fixes)	Soit 50 UI/kg 2 fois par semaine (jours fixes) Soit 50 UI/kg toutes les 72 heures	
Palier 3	Soit 30 UI/kg 3 fois par semaine (jours fixes) Soit 30UI/kg toutes les 72heures (tous les 3 jours)	50 UI/kg toutes les 72 heures	
Palier 4	25 à 30 UI/kg toutes les 48 heures	NA	

3.1.2 Facteur IX et hémophilie de type B

Les traitements :

Le traitement substitutif en prophylaxie et/ou à la demande est disponible pour les patients atteint d'hémophilie de type B de forme sévère (50) (23) sans inhibiteur pour tous les groupes d'âge ainsi que pour les patients avec inhibiteurs dont le titre est inférieur à 5 UB/mL (Unités Bethesda) et pour les femmes conductrices à taux bas en FIX, lors des accidents hémorragiques et avant une chirurgie.

Plusieurs spécialités pharmaceutiques ont obtenu une AMM en France pour ces indications précises (Tableau 11). Deux d'entre elles sont des FIX d'origine plasmatique et 4 sont issues du génie génétique. Tout comme les spécialités pour le traitement de l'HA, ces spécialités se présentent sous forme de poudre et sont à reconstituer avant injection. De la même façon,

ces produits doivent être conservés à l’abri de la lumière, ne doivent pas être congelés et des précautions de conservation sont à prendre en été lors des fortes chaleurs (49).

Tableau 11 : principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques dans le traitement de l’hémophilie de type B.(22)

Spécialités	Origine caractéristiques	Etapes spécifiques (inactivation virale pour les rFIX)	Dosage flacon (UI)	Volume (mL)	Conservation entre 2 et 8°C	Laboratoires
BETAFACT®	Plasmatique	Traitement Solvent Détergent et nanofiltration 15nm	500	5	30 mois	LFB Biomédicament
			1000	10		
OCTAFIX®	Plasmatique	Traitement Solvent Détergent et nanofiltration 20nm	500	5	2ans	Octapharma
			1000	10		
ALPROLIX® (eftrenonacog alfa)	Recombinant : lignée HRK : rFIX pleine longueur et fusion fragment Fc d'Ig	Nanofiltration 15 nm	250	5	4ans	Sobi
			500			
			1000			
			2000			
			3000			
BENEFIX® (nonacog alfa)	Recombinant : lignée CHO : rFIX pleine longueur	Traitement Solvent Détergent et nanofiltration 20nm	250	5	2ans	Pfizer
			500			
			1000			
			2000			
			3000			
IDELVION® (albutrepenonacog alfa)	Recombinant : lignée CHO : rFIX pleine longueur et fusion albumine	Traitement Solvent Détergent et nanofiltration 20nm	250	2,5	3ans	CSL Behring
			500			
			1000			
			2000	5		
			3000			
RIXUBIS® (nonacog gamma)	Recombinant : lignée CHO :rFIX pleine longueur	Traitement Solvent Détergent et nanofiltration 15nm	250	5	3ans	Takeda
			500			
			1000			
			2000			
			3000			

L’eftrenonacog alpha et l’albutrepenonacog alpha sont deux spécialités pharmaceutiques avec une demi-vie allongée en raison de modifications structurales, respectivement issu d’une fusion à un fragment Fc d’immunoglobuline et d’une fusion à l’albumine (51). L’allongement de leur demi-vie permet de diminuer le nombre d’injections (52).

L'administration de l'ensemble des spécialités de FIX se fait par injection intra-veineuse et nécessite un apprentissage préalable dans un CR, CRC-MCH, CTH par des IDE coordinatrices ou lors d'ateliers éducatifs incluant le patient et la famille. Une attention particulière doit être apportée lors de ces 1^{ère} injections, en raison du fort risque d'allergie au FIX. De ce fait, il est recommandé d'effectuer les premières injections en milieu hospitalier(19) (22).

Mise en place et schéma posologique de la prophylaxie du FIX

Le schéma posologique (Tableau 12) est similaire quelle que soit la spécialité de FIX, avec des spécificités sur l'intervalle inter doses en fonction des demi-vies du FIX. Il est intéressant de noter que l'injection d'1 UI/kg de FIX entraîne une augmentation moyenne d'environ 0,8 à 1 % du taux de FIX circulant. La posologie est calculée en fonction du niveau de risque de l'accident hémorragique ou de l'acte chirurgical (22).

Tableau 12 : schéma posologique usuel en fonction des caractéristiques produits (RCP) selon le PNDS 2023 (22)

Spécialités	Prophylaxie à long terme
FIX standard	20 à 40 UI/KG tous les 3 jours, à adapter en fonction de la réponse du patient (la dose unitaire à injecter est déterminée en fonction du taux de récupération qui varie selon l'utilisation de FIX standard ou recombinant)
ALPROLIX (eftrenonacog alfa)	50 UI/kg 1 fois/semaine en ajustant la dose en fonction de la réponse du patient ou 100 UI/kg 1 fois tous les 10 jours en ajustant l'intervalle interdoses en fonction de la réponse du patient. Chez certains patients, lorsque les saignements sont bien contrôlés, un allongement du traitement à 14 jours ou plus peut être possible. Enfants < 12 ans : dose initiale recommandée de 50-60 UI/kg tous les 7 jours.
IDELVION (albutrepenonacog alfa)	Doses usuelles : 35 à 50 UI/kg 1 fois/semaine. Certains patients contrôlés 1 fois/semaine, peuvent être traités avec un maximum de 75 UI/kg sur un intervalle de 10 à 14 jours. Enfant < 12 ans : 35 à 50 UI/kg 1 fois/semaine

3.1.3 Traitements substitutifs et inhibiteurs

Un des effets indésirables les plus sévère observé lors de l'administration répétée d'un traitement substitutif à base de FVIII et/ou de FIX chez les patients atteints d'hémophilie de type A et de type B, majoritairement dans les formes sévères, est l'aggravation des symptômes hémorragiques malgré la mise en place d'un traitement. Celui-ci est dû à l'apparition d'anticorps, appelés inhibiteurs, neutralisant l'activité des FVIII et FIX. Ces inhibiteurs

entraînent une majoration des saignements et une difficulté à les traiter (45) (53). Ce contrôle insuffisant des saignements et notamment des hémarthroses, est à l'origine du développement plus rapide et fréquent d'arthropathies hémophiliques. De ce fait, en comparaison avec les patients sans inhibiteur, les patients avec inhibiteurs ont une qualité de vie diminuée et une mortalité accrue par saignements avec un coût de leur prise en charge supérieure (45).

Le dépistage et le titrage des inhibiteurs se fait par les méthodes fonctionnelles, avec notamment la méthode Bethesda qui est considérée comme la méthode de référence. Ici l'activité neutralisante est mesurée en Unités Bethesda (UB/mL). On considère que 1 UB neutralise 50% de l'activité du FVIII/FIX présent dans 1mL de plasma témoin. Pour ces techniques de dépistage le seuil de positivité est à 0,6 UB/mL. Cependant, il existe une incertitude diagnostic entre 0,4 et 0,6 UB/mL ne permettant ni d'exclure ni d'affirmer la présence d'un inhibiteur : il est donc recommandé de réitérer le dépistage.

Les inhibiteurs sont classés comme « faibles répondeurs » ou « forts répondeurs » en fonction de la réactivité du système immunitaire de l'individu aux concentrés de facteurs de coagulation. Un inhibiteur est dit faible répondeur lorsque son taux inférieur à 5 UB n'augmente pas après un traitement par facteur, un inhibiteur fort répondeur présente un taux supérieur à 5 UB et augmente après un traitement par facteur.

Cas des patients hémophiles de type A avec inhibiteurs :

Les inhibiteurs anti-FVIII, aussi appelés anticorps anti-FVIII neutralisant peuvent apparaître chez les patients hémophiles de type A avec une forme sévère (30% des patients (54)), ou dans les formes modérées / mineures (5 à 10% des patients selon le nombre d'exposition) à la suite d'un traitement substitutif par un FVIII d'origine humaine ou recombinante. Selon des études nationales et internationales (24) ainsi que les données du réseau FranceCoag (23), l'apparition d'un inhibiteur serait moins élevée chez les patients HA à forme sévère traités par un FVIII d'origine plasmatisque par comparaison à ceux traités par un FVIII recombinant produit à partir de lignées cellulaires BHK (cellules de rein d'hamsters). Au vue de ces résultats, la Haute Autorité de Santé (HAS) recommande de ne pas utiliser de FVIII produit sur ces lignées cellulaires comme traitement de première intention chez les patients HA atteints de formes sévères non préalablement traités (55) (56).

Ces auto-anticorps sont des IgG polyclonales de haute affinité ciblant majoritairement les domaines A2 et/ou C2 du FVIII et vont ainsi neutraliser son activité coagulante. Cette activité neutralisante de l'anticorps est titrée en Unités Bethesda (UB/mL), avec 1 UB neutralisant 50% de l'activité du FVIII présent dans 1 mL de plasma témoin.

Chez les patients avec un titre d'inhibiteurs supérieur à 5 UB/mL le traitement par injection de FVIII devient inefficace et une nouvelle thérapie doit être envisagée par le corps médical.

Les facteurs de risque de l'apparition d'IgG dans cette population de patients dépendent :

- des antécédents familiaux d'hémophilie avec inhibiteur,
- de l'ethnicité (ascendance noire africaine, hispanique),
- des variants génétiques (le type de mutation, gènes de régulation immunitaire polymorphes),
- du type de concentré de facteur de coagulation utilisé et de la fréquence d'administration du produit.

La stratégie thérapeutique chez un patient avec inhibiteurs s'opère au cas par cas en fonction du titre de l'inhibiteur, de sa nature, de la réponse clinique aux produits, de la localisation et de la nature des épisodes hémorragiques.

Le traitement pour les patients avec inhibiteurs « faibles répondeurs » consiste en l'administration de facteur de remplacement pour les saignements aigus. Le taux de facteur VIII doit être mesuré 15 minutes après l'administration du bolus. Pour les inhibiteurs dits « forts répondeurs », il convient d'utiliser un agent dit de contournement (facteur VII activé recombinant ou concentré de complexe de prothrombine activé) ou un facteur VIII d'origine porcine.

Cas des patients hémophiles de type B avec inhibiteurs :

L'apparition d'inhibiteurs chez un patient hémophile B représente environ 5% des patients (formes sévères dans la majorité des cas). Le développement d'auto-anticorps est considéré comme la complication la plus grave dans cette population de patients en raison de l'absence de réponse au traitement par facteur IX, du risque accru de réactions anaphylactiques (50% des cas d'HB avec inhibiteur) et des risques d'apparition d'un syndrome néphrotique (disparition des symptômes à l'arrêt du traitement). En raison de ce fort risque d'allergie, les premières administrations de FIX sont effectuées sous surveillance médicale avec un dispositif

d'urgence pour traiter l'anaphylaxie (22). De plus, il est recommandé aux patients de surveiller étroitement le taux d'auto-anticorps et d'effectuer un test de dépistage des inhibiteurs tous les 6 à 12 mois suivant le début du traitement substitutif, puis une fois par an. Le dépistage des inhibiteurs neutralisants du FIX est semblable à celui du dépistage des inhibiteurs du FVIII. Les facteurs de risque d'apparition d'inhibiteurs chez un patient HB dépendent du type de concentré de FIX administré (inhibiteurs retrouvés en majorité après l'utilisation de facteurs d'origine plasmatisque) et à la présence de variants dit « nuls », ne produisant aucun facteur de coagulation endogène (57).

La prophylaxie chez un patient atteint HB sévère avec inhibiteurs se discute au cas par cas, en tenant compte du titrage des inhibiteurs, de la réponse clinique aux produits, de la localisation et de la nature des évènements hémorragiques.

3.2 Traitements non substitutifs

Lorsqu'un patient hémophile de type A ou de type B développe des inhibiteurs, le traitement par des substituts des FVIII/FIX devient difficile voire impossible. En effet, lorsque le titre en inhibiteurs atteint 5 UB/mL ou plus, il est souvent nécessaire de recourir à d'autres stratégies thérapeutiques qui permettent de court-circuiter l'effet de l'inhibiteur. De plus, ces traitements non substitutifs sont utilisés dans le circuit de soins classiques lors des interventions chirurgicales en traitement à la demande. L'emicizumab est utilisé dans le traitement de l'hémophilie de type A. Dans les cas d'hémophilie de type B les « agents by-passant » sont préconisés.

3.2.1 Traitement de l'hémophilie de type A par l'Emicizumab

L'Emicizumab (HEMLIBRA®) est prescrit en injection sous-cutanée, hebdomadaire, bimensuelle ou mensuelle en prophylaxie uniquement, chez les patients de tout âge atteints d'HA sévère avec inhibiteurs et sans inhibiteur (52) (58), chez les patients avec une HA modérée de phénotype sévère et chez les patients avec un accès veineux difficile. Cette spécialité pharmaceutique est un anticorps monoclonal humanisé bispécifique issu d'une lignée CHO (lignée cellulaire issue d'ovaires de hamsters) mimant la fonction du FVIIIa en se liant au FIXa et au FX (52) (58). Celui-ci restaure partiellement le mécanisme de l'hémostase préalablement endommagé. En 2023, l'Emicizumab a eu une extension d'AMM destinée au

traitement des HA modérées à phénotype hémorragique sévère (autorisation d'accès précoce disponible en l'attente des autorisations réglementaires). Cependant, ce traitement n'est pas indiqué pour les événements hémorragiques urgents. Dans ces cas d'urgence les patients atteints de HA sévère sans inhibiteur et traités par Emicizumab reçoivent des injections de FVIII ou de rFVIII (Novoseven®) (58).

L'Emicizumab a pour avantage de n'avoir aucune homologie de séquence et de structure avec le FVIII, ce qui lui permet de ne pas être la cible des inhibiteurs anti-FVIII (58). De plus, son administration par injection sous-cutanée a permis de diminuer l'anxiété des patients vis-à-vis du traitement et de favoriser leur activité physique.

Pour ce traitement, il existe 3 schémas posologiques différents. Chacun débute par la même dose de charge de 3mg/kg/semaine maintenue pendant 4 semaines. A partir de la 5^{ème} semaine, la dose d'entretien varie : elle peut être de 1,5mg/kg/semaine, 3mg/kg/quinzaine ou de 6mg/kg/mois. Cette adaptation de posologie se fait en fonction du poids du patient sans tenir compte de l'âge et de la fonction rénale ou hépatique. En cas d'oubli ou retard de doses, le patient doit s'injecter la dose oubliée dès que possible, ou au plus tard la veille de l'administration prévue de la dose suivante. Le patient ne doit, en aucun cas, s'injecter de double dose pour compenser un oubli. Peu de cas d'immunisation contre ce médicament ont été rapportés.

3.2.2 Les agents « By-passant »

L'alternative thérapeutique dans le cas des patients hémophiles de type A et de type B avec inhibiteurs peut se faire via un agent « by passant » (facteurs de contournement) (59). On retrouve le Feiba® (laboratoire Takeda), concentré du complexe prothrombique activé (FII, FVII, FIX, FXa, traces de FIIa, thrombine) d'origine plasmatique et le Novoseven® (laboratoire Novo Nordisk) qui est de l'Eptacog activé d'origine recombinante (rFVIIa) (59) (60) (61). Ces deux spécialités (voir tableau 16), induisent la formation d'une activité coagulante court-circuitant l'action du FVIII et FIX.

Tableau 13 : Principales indications et schémas posologiques des médicaments dits « agents by passant » issu du PNDS 2023 (22)

Spécialités (DCI)	Indications de l'AMM	Posologie
Feiba® (CCPa)	<ul style="list-style-type: none"> - Traitement des hémorragies et en situation chirurgicale dans le déficit en FVIII chez les patients ayant un inhibiteur « fort répondeur » contre le FVIII. - En cas d'échec de traitement par le facteur VIIa dans le traitement et la prévention des hémorragies et en situation chirurgicale dans le déficit en FIX chez les patients ayant développé un inhibiteur « fort répondeur » contre le FIX. - En prophylaxie pour prévenir ou réduire la fréquence des hémorragies chez les patients présentant des épisodes hémorragiques très fréquents, chez les hémophiles A ayant développé un inhibiteur « fort répondeur », dirigé contre le FVIII ou les hémophiles B ayant développé un inhibiteur « fort répondeur dirigé contre le FIX, après échec du traitement par le facteur VIIa. 	<p>Traitement des épisodes hémorragiques :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 50 à 100 U/kg 2 à 3 fois par jour - Max 100 U/kg/ injection - Max 200 U/kg/injection <p>Prévention des épisodes hémorragiques :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 50 à 100 U/Kg de poids corporel 3 fois par semaine (adaptation en fonction du phénotype hémorragique et de la réponse individuelle) - Max 100 U/kg/injection
Novoseven®	<p>Traitement et prévention des accidents hémorragiques survenant lors d'interventions chirurgicales ou de procédures invasives :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pour des patients ayant une hémophilie congénitale avec inhibiteur dirigé contre le FVIII ou le FIX de titre > 5 UB. • Patients ayant une hémophilie congénitale chez lesquels une forte réponse anamnesticque à l'administration de FVIII ou de FIX est prévisible. • Recommandation temporaire d'utilisation pour le traitement prophylactique chez l'hémophile de type A ou de type B avec inhibiteurs hors situations d'interventions chirurgicales et/ou de procédures invasives et lorsqu'il n'y a aucune autre alternative thérapeutique. 	<ul style="list-style-type: none"> - 90 µg/kg en bolus IV à répéter toutes les 2-3 heures jusqu'à hémostase puis espacer les doses. - Episodes hémorragiques mineurs à modérés : possibilité d'injection unique 270 µg/kg. - CPC prophylaxie : doses initiale 90 µg/kg/j en cas d'inefficacité augmentation de la dose par palier - Max 270 µg/kg/J.

En raison des graves effets indésirables chez des patients hémophiles B, le Feiba® est prescrit en 2nd intention par rapport au Novosen®. En effet, celui-ci peut provoquer ou aggraver une réaction allergique ou anaphylactique. De même la FMH recommande le recours au facteur VII activé recombinant pour traiter les saignements aigus chez les patients avec inhibiteurs « forts

répondeurs ». Toutefois, en l'absence d'une telle réaction, le concentré de complexe de prothrombine activé est tout aussi efficace pour contrôler les saignements aigus(19).

De plus le Feiba® (CCPa) à dose élevée entraîne des risques d'évènements thromboemboliques de type coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), thrombose veineuse, embolie pulmonaire, infarctus du myocarde et accident vasculaire cérébral. Le CCPa est donc contre-indiqué en cas de signes biologiques et/ou cliniques de CIVD, d'insuffisance hépatique et de risque thrombotique, notamment cardiovasculaires (19) ainsi qu'un risque d'allergie due à la faible quantité en FVIII (62). Le recours au Feiba® est donc réservé, sur avis du Centre de Référence ou d'un CRC-MHR, aux situations sans alternative d'efficacité thérapeutique équivalente, et à doses réduites dans le contexte d'associations, notamment chez un patient sous Emicizumab (risque de micro-angiopathie thrombotique et d'accident thrombotique veineux quand Feiba® est administré à plus de 100 U/kg pendant plus de 24 heures) (22) (58). Concernant le Novoseven®, des précautions sont à prendre lors de son administration, en raison du risque de complications thromboemboliques chez les nouveaux nés, les patients avec une maladie coronaire, une maladie hépatique, en situation post opératoire, ou présentant un risque thromboembolique ou de CIVD. Ce médicament est contre-indiqué en cas d'hypersensibilité aux protéines de hamsters ou bovines (22).

3.2.3 Traitements annexes

Le traitement des hémophilies de type A et B mineures consiste à traiter et prévenir les évènements hémorragiques avant tout acte chirurgical.

La Desmopressine :

En première intention dans les cas d'hémophilie de type A mineure (45) ou chez les femmes conductrices d'HA avec un risque hémorragique, c'est la Desmopressine qui est prescrite avant un acte chirurgical. Cette spécialité pharmaceutique est un analogue de synthèse de la vasopressine qui, en conditions physiologiques, aide à la libération du FVIII. Si la Desmopressine est insuffisante, l'injection de FVIII peut-être réalisée.

Malheureusement, il n'existe pas de traitement équivalent pour la prévention des gestes chirurgicaux chez les patients HB.

Plusieurs spécialités sont disponibles sur le marché, selon le PNDS (22) on retrouve le MINIRIN® (desmopressine trihydrate acétate) en injection intraveineuse administré chez

l'adulte en 15-30 min à une posologie 0,3microg/kg dilué dans 50 à 100 mL de NaCl 0,9%. Pour les enfants (traitement non recommandé pour les moins de 2 ans), les sujets âgés ou présentant des troubles cardiovasculaires, la posologie est de 0,2microg/kg dilué dans 50 à 100mL de NaCl 0,9%. Une restriction hydrique doit être observée lors de l'utilisation de la Desmopressine pendant les 24h post administration. La seconde spécialité prescrite est l'OCTIM® (desmopressine trihydrate acétate), utilisée en pulvérisation nasale dès le début du saignement ou 1 heure avant une chirurgie. Pour les patients de moins de 50 kg, il est recommandé d'administrer une pulvérisation, soit 150 µg dans une narine. Les patients de plus de 50 kg peuvent s'administrer 2 pulvérisations, soit 300 µg dans chaque narine. L'administration doit être précoce et ne doit pas se prolonger au-delà de 48 h (22).

Ce traitement présente un inconvénient. Effectivement, son efficacité pharmacologique peut diminuer lors d'administrations répétées sur une courte période. Ce phénomène est appelé la tachyphylaxie. De plus, il est nécessaire d'effectuer des tests en milieu hospitalier pour évaluer la réponse au traitement (forte variabilité inter-individuelle).

L'acide tranexamique (AT)

En second traitement annexe nous retrouvons l'Acide Tranexamique. Celui-ci est un inhibiteur de l'activité fibrinolytique de la plasmine qui permet de stabiliser le caillot sanguin. Il est prescrit sur demande, en prévention ou en traitement curatif d'évènements hémorragiques localisés (chirurgie, ménorragie, amygdalectomie, épistaxis) chez des patients atteints d'HA déjà sous traitement non substitutif. Pour les saignements mineurs chez les adultes, la posologie (ampoules buvables ou comprimés) recommandée est de 2 à 4 g par 24 heures en 2 ou 3 prises (2 à 4 amp/j). Pour les enfants âgés d'au moins un an, il est recommandé d'administrer 20 mg/kg/j répartis en 2 à 3 prises (données limitées). En cas d'insuffisance rénale une adaptation des doses est nécessaire. Ce traitement peut également être utilisé à des posologies supérieures en cas de saignement majeur.

L'induction de la tolérance immune (ITI) :

Pour les patients hémophiles avec inhibiteur (HA en majorité et HB dans de rares cas), il existe une thérapeutique particulière, l'induction de la tolérance immune (ITI) (54-55). Cette méthode a pour but d'éradiquer les auto-anticorps anti-FVIII et FIX pour restaurer l'efficacité

des FVIII et FIX (62). L'ITI est un traitement lourd, prolongé, contraignant et onéreux qui s'initie au cas par cas après discussion collégiale en vue de restaurer la possibilité de traitements par prophylaxie par injection de FVIII et FIX. Cependant avec l'arrivée de l'Emicizumab pour les patients HA avec inhibiteurs la stratégie mène à évoluer.

Le mécanisme d'action de l'ITI est encore mal défini. Le protocole consiste en l'administration régulière et répétée de FVIII (54) (62) ou FIX par voie IV. Cette méthode permet d'exposer de façon répétée le système immunitaire au FVIII/FIX dans des conditions non inflammatoires conduisant ainsi à une modulation négative des anticorps anti-FVIII, et induit une tolérance immunitaire (54). L'éventuel mécanisme d'action de cette méthode, serait une apoptose antigène-spécifique des cellules B mémoires en plus d'une anergie antigène-spécifique des cellules T effectrices et du développement des cellules T régulatrices ou encore le développement d'un réseau d'anticorps anti-idiotypiques (62). L'ITI est à ce jour le traitement de référence pour éradiquer les inhibiteurs et doit être proposé à tout patient hémophile avec inhibiteur (63) (64).

Cependant, compte tenu de la faible prévalence des inhibiteurs dans l'hémophilie B, et du faible nombre de données disponibles, la FMH n'émet aucune mesure de recommandation concernant la mise en place de l'ITI pour les patients HB avec inhibiteur. Néanmoins, dans le cas où une ITI est entreprise chez un patient HB avec inhibiteurs à l'instar des recommandations pour l'hémophilie A, un traitement avec facteur de remplacement à forte dose, en envisageant le recours à l'immunosuppression est évoqué. Il est important de noter que le risque de syndrome néphrotique peut augmenter par le recours à une induction de la tolérance immune à forte dose ainsi qu'une anaphylaxie (28) (65) (57). De plus il existe un risque de récurrence après l'arrêt du traitement (directement ou quelques années plus tard) (62).

3.3 Prescription des traitements anti-hémophiliques et éducation thérapeutique

Les traitements anti-hémorragiques nécessitent une prescription initiale hospitalière délivrée par un médecin spécialiste en maladies hémorragiques constitutionnelles sur une ordonnance bizona. Le renouvellement de cette ordonnance peut être réalisé par le médecin généraliste tous les 6 mois. La délivrance a lieu en rétrocession dans les pharmacies hospitalières, sauf pour l'emicizumab (HEMLIBRA®) qui depuis 2021 bénéficie d'un double circuit de dispensation, à la fois hospitalier et officinal. Les pharmaciens d'officine autorisés à dispenser ce traitement

doivent suivre une formation spécifique et respecter des normes d'organisation définies par le CRH. La listes des hôpitaux autorisés à pratiquer la rétrocession est disponible sur le site du Centre de Référence Hémophilie et autres déficits constitutionnels et protéines de la coagulation (CRH)

3.3.1 Traitements à domicile

Les traitements conventionnels (ex. l'administration d'un facteur de remplacement) ou les nouveaux traitements, peuvent être administrés à domicile. Pour se faire, l'éducation thérapeutique des aidants et du patient doit être renforcée. Le traitement à domicile doit être supervisé par l'équipe responsable de la prise en charge qui doit s'assurer de l'acquisition des connaissances concernant (selon les bonne pratique de la WFH) (19) :

- La reconnaissance des saignements et des complications courantes,
- Les mesures de premiers soins ;
- Le calcul de la dose ;
- Le stockage, la préparation et l'administration des concentrés en facteurs de la coagulation et/ ou des autres médicaments ;
- Les règles d'asepsie ;
- La ponction veineuse et l'autoperfusion ou autotraitement ;
- La tenue du carnet de santé (en version papier ou électronique) ;
- Le stockage et l'élimination appropriés des aiguilles ;
- Les mesures à prendre pour tout matériel utilisé souillé de sang ;
- L'autogestion des soins ;
- La gestion de la douleur ;
- La gestion des risques.

Cette acquisition doit se faire sous forme d'une formation certifiante du patient et / ou de l'aidant. Lors des visites de suivi l'équipe soignante doit vérifier le niveau de compréhension du traitement et des symptômes. Cette possibilité d'effectuer le traitement à domicile permet d'alléger le quotidien des patients et d'être autonome dans leur prise en charge. Effectivement il permet un traitement précoce, une réduction de la douleur, une diminution

du taux d'hospitalisation en raison des complications liées aux saignements, une diminution de l'absentéisme à l'école et au travail et un accès plus varié aux activités physique (19) (22).

3.3.2 Visites médicales et éducation thérapeutique

Le suivi des enfants atteints d'hémophilie sévère consiste en des consultations régulières dans un CRH, CRC-MHR ou CTH (au minimum une fois tous les trimestres lors des deux premières années). Lors des consultations, l'enfant bénéficie d'un suivi clinique, biologique et d'ateliers d'éducation thérapeutique. Ces visites à l'hôpital vont permettre (22):

- D'apprendre aux patients et à leur famille à reconnaître les signes hémorragiques ;
- De mettre en place une bonne prophylaxie ;
- De faire le point sur la qualité de vie (scolarisation, activité sportive) ;
- De surveiller l'apparition d'inhibiteur et également ;
- De vérifier l'état articulaire de l'enfant, l'efficacité la tolérance et l'adhésion du traitement et le carnet de suivi du patient.

Par la suite, le nombre et le contenu des consultations sont adaptés à chaque enfant (à son phénotype hémorragique, son mode de vie, etc...) en gardant a minima une consultation tous les trois à six mois.

Pour les adultes, il est recommandé d'effectuer une consultation par an afin, notamment :

- D'évaluer les syndromes hémorragiques spontanées et leur retentissement sur la vie quotidienne ;
- De rechercher certaines complications telles que l'arthropathie hémophilique, les anémies par carence martiale, ou l'apparition d'inhibiteurs (anticorps anti-FVIII ou anti-FIX) ;
- De réaliser une mesure du taux en FVIII ou FIX.

Pour les formes modérées et mineures une consultation tous les 3 ans dans un centre CRH est recommandé si le patient n'a pas eu de problématique hémorragique ou d'atteinte articulaire, des saignements ORL, digestif, gynécologique, etc... (22)

Les centres CRH, CRC-MHR ou CTH ne sont pas les seuls à proposer des ateliers d'éducation thérapeutique. Effectivement l'Association Française des Hémophiles (AFH) propose aux patients et à leur famille, un accompagnement pour vivre au quotidien avec la maladie. Ces ateliers peuvent être proposés sous diverses formes selon l'âge des concernés, tels que les colonies de vacances pour les enfants, des week-ends ou des journées d'information. Ces ateliers permettent d'aborder la gestion de la maladie et le savoir vivre avec la maladie en passant par l'acquisition de l'auto-soins (notamment les points sur la sécurité du patient) et par l'adaptation du quotidien.

La prise en charge médicamenteuse n'est pas la seule dimension de l'éducation thérapeutique. Effectivement le maintien d'une activité physique régulière (au moins 30 min par jours et 5 jours par semaine) est essentiel pour la préservation du capital ostéoarticulaire. Néanmoins une évaluation ostéoarticulaire doit précéder toute reprise d'activité. L'activité sportive (à dissocier ici de l'activité physique) est également fortement recommandée mais doit être encadrée par un moniteur de sport diplômé et qualifié. Le sport choisi devra être adapté en fonction de l'évaluation et du suivi du capital ostéoarticulaire (une fois par an) et à proximité des traitements. Le type d'activité sportive ainsi que la compétition devront être réfléchis en fonction risque.

4 PRINCIPE DE LA THERAPIE GENIQUE

La thérapie génique est une méthode de traitement en plein essor et plus particulièrement pour les maladies en impasse thérapeutique (66). Cela fait partie des médicaments de thérapies innovantes (MTI). Cette nouvelle thérapeutique est décrite par l'ANSM comme étant « un médicament biologique » contenant « un acide nucléique recombinant qui est administré à des personnes en vue de réguler, de réparer, de remplacer, d'ajouter ou de supprimer une séquence génétique », dont l'« effet thérapeutique, prophylactique ou diagnostique dépend directement de la séquence d'acides nucléiques recombinants qu'il contient ou au produit de l'expression génétique de cette séquence » (67). Pour ce faire, le nouveau matériel génétique est introduit dans une cellule cible (68) d'un patient via un vecteur viral ou non viral (66). Cette « introduction » peut se faire *in vivo* (administration directe de l'acide nucléique vectorisé) ou *ex vivo* (modification de cellules en culture qui seront administrées ensuite au patient). Cette définition de la thérapie génique comme médicament

biologique ne prend cependant pas en compte les vaccins contre les maladies infectieuses (67) (69).

L'aventure de la thérapie génique débute avec la découverte de la structure en double hélice de l'ADN par Francis Crick et James Watson (70). Le terme « ingénierie génétique » a été utilisé pour la première fois dans les années 1930. Les principes de base du transfert de gènes chez les bactéries ont été découverts dans les années 1960, puis adaptés au développement de techniques de transfection chez les eucaryotes. Les enzymes de restriction et de ligation, décrites pour la première fois dans les années 1970, constituent la base de la manipulation génétique. Les techniques d'ADN recombinant ont permis aux chercheurs d'introduire des gènes thérapeutiques sélectionnés dans des vecteurs génétiquement modifiés (71). Avec la découverte de la capacité des virus à transférer du matériel génétique, les vecteurs viraux sont apparus comme des outils prometteurs et efficaces pour le transfert de gènes (71). Ces avancées technologiques ont permis aux scientifiques de créer des vecteurs de thérapie génique capables de transférer des matériaux génétiques spécifiques dans des cellules mammifères cibles (70).

Initialement la thérapie génique a été développée pour les maladies monogénique c'est-à-dire causées par une mutation qui affecte un seul gène. Dès les années 1970, Stanfield Rogers, un médecin américain, a proposé le premier essai de thérapie génique dans le cas du traitement de l'argininémie en injectant un papillomavirus contenant le gène de l'arginase (72). Malgré ces premiers résultats non concluants, la recherche dans ce domaine s'est poursuivie. En 1990, William French Anderson et coll. ont mené un essai sur une fillette de 4 ans diagnostiquée avec une immunodéficiences combinée sévère (SCID) (72). Un vecteur rétroviral a été utilisé pour transférer une copie normale de l'adénosine désaminase (ADA) dans ses lymphocytes T (72). Il s'agissait du premier protocole de thérapie génique approuvé par le gouvernement fédéral (73). Bien que la fillette n'ait pas complètement cessé d'avoir besoin d'ADA recombinante (PEG-ADA), elle mène actuellement une vie normale. Cependant, bien que les stratégies de base de la thérapie génique aient été identifiées plus tôt, l'utilisation de vecteurs viraux accompagnée de certains événements indésirables tels que la mutagenèse insertionnelle (74) et les réactions immunitaires voire même le décès d'un patient ont ralenti la progression des thérapies géniques cliniques (74). Après une période de déclin, la recherche en thérapie génique connaît un renouveau depuis les années 2000. Ceci est due en partie à l'optimisation des vecteurs viraux afin d'augmenter la sécurité pour le patient ainsi que

l'efficacité du transgène (75). Le nombre de produits de thérapie génique approuvés augmente chaque année. Les avancées technologiques telles que CRISPR devraient permettre une accélération des thérapies proposées. Ainsi la technologie CRISPR a récemment été utilisée *ex vivo* pour traiter la drépanocytose et la bêta-thalassémie (76), ainsi que *in vivo* pour traiter l'amylose transthyrétine.

Actuellement les essais cliniques ainsi que les traitements commercialisés couvrent un plus large panel de maladies telles que le cancer tête et cou avec la Gendicine® (expression du gène de la p53 mis sur le marché en 2003 en Chine) (71) (75), le mélanome non résecable avec l'Imlygic® (utilisation d'un virus de l'herpès simplex de type 1 atténué et contenant un gène exprimant une protéine immunostimulante des granulocytes et de macrophage ayant eu une AMM en 2015 (69) (77)), l'ADA-SCID avec le Strimvelis® constitué de cellules CD34+ autologues exprimant le gène ADA (premier médicament combinant thérapie génique et cellulaire à avoir été autorisé au monde (78). Il a été approuvé en Europe en 2016), les cancers du sang (leucémie aiguë lymphoblastique à cellules B, le lymphome diffus à grandes cellules B et le lymphome folliculaire) avec le Kymriah® (79), la dystrophie rétinienne liée à la mutation RPE65 avec le Luxturna® (approuvé dans l'UE en 2018) (71) (80) (Figure 15).

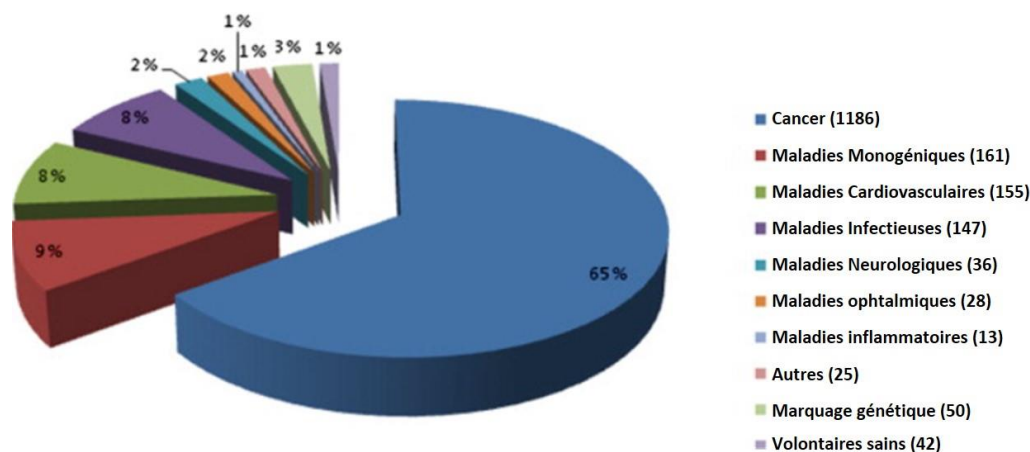


Figure 15 : Situation actuelle des essais cliniques en thérapie génique (69)

Deux stratégies peuvent être envisagées pour transférer du matériel génétique dans les cellules. La première d'entre elle consiste à soit suppléer un gène dysfonctionnel soit à rajouter un gène apportant une nouvelle fonction en y ajoutant du matériel génétique. Comme évoqué précédemment, pour y parvenir deux méthodes peuvent être utilisées. La

première, dite « *in vivo* », permet d'introduire directement le gène d'intérêt dans l'organisme cible du patient. La seconde méthode est quant à elle appelée « *ex vivo* » et consiste à utiliser soit les cellules du patients soit les cellules d'un donneur compatible qui vont, par la suite, être génétiquement modifiées avant d'être réinjectées au patient (66). La stratégie utilisée varie en fonction des essais et des maladies à traiter (exemple : facilité à prélever des cellules sanguines via une prise de sang).

La seconde stratégie aussi appelée « édition génomique » va, *via* des outils tels que des nucléases à doigt de zinc ou autres ciseaux moléculaires spécifiques comme la CAS9 couplé à des ARN guides (CRISPR cas9) , couper le génome afin soit d'introduire du matériel génétique, soit de réparer ou d'éliminer un gène de façon ciblée dans tout type de cellules.

D'autres méthodes d'utilisation de la thérapie génique existent, telles que l'utilisation de virus oncolytiques ou l'utilisation d'oligonucléotiques anti-sens. Dans le cadre de cette thèse nous allons traiter des stratégies *in vivo* et *ex vivo* (66).

Une des grandes problématiques a été de pouvoir introduire un acide nucléique étranger, à l'intérieur des cellules d'un patient. Pour se faire des vecteurs viraux ou non, sont utilisés en fonction du but recherché et du transgène.

Les vecteurs viraux sont le plus souvent utilisés (75% des essais cliniques) en raison de la bonne efficacité du transfert du gènes et d'une expression prolongée du gène traduit (68). On retrouve soit les vecteurs intégratifs, qui vont permettre l'intégration de l'acide nucléique véhiculé à l'ADN du génome du patient. Le gène fonctionnel sera alors transmis aux cellules filles. Les vecteurs non intégratifs véhiculent l'ADN à l'intérieur de la cellule mais celui-ci ne s'intégrera pas à l'ADN. Ici, le gène s'exprimera seulement durant la vie de la cellule (66) (81) ou pourra uniquement être transmis à une des deux cellules filles à la mitose.

L'utilisation de vecteurs viraux nécessite un niveau de biosécurité supérieur en raison du risque de répllication et dissémination virale (75). Il existe également un risque de mutagénèse, d'oncogénèse, de recombinaison du virus avec un virus sauvage, de réactions immunitaires vis-à-vis des protéines de l'enveloppe virale et de transformation en cellules malignes des cellules transduites. Ces divers risques augmentent quand le vecteur intègre l'ADN véhiculé à l'intérieur de zones de régulation des gènes ou dans des zones transcriptionnellement actives (69). Afin de limiter les risques de répllication virale, les vecteurs sont modifiés en ôtant les

séquences codant pour les protéines permettant la multiplication virale et en ajoutant un promoteur d'expression spécifique aux cellules cibles avec une capacité à promouvoir l'expression du gène adéquat (81). Un autre inconvénient des vecteurs viraux est la taille limitée du transgène pouvant être insérée. Dans cette quête du vecteur « idéal » des recherches sont toujours en cours.

Ces dernières années les adénovirus (82), les lentivirus et les virus adéno-associés (AAV) font partie des vecteurs viraux les plus utilisés (81), dans les essais cliniques (Figure 16).

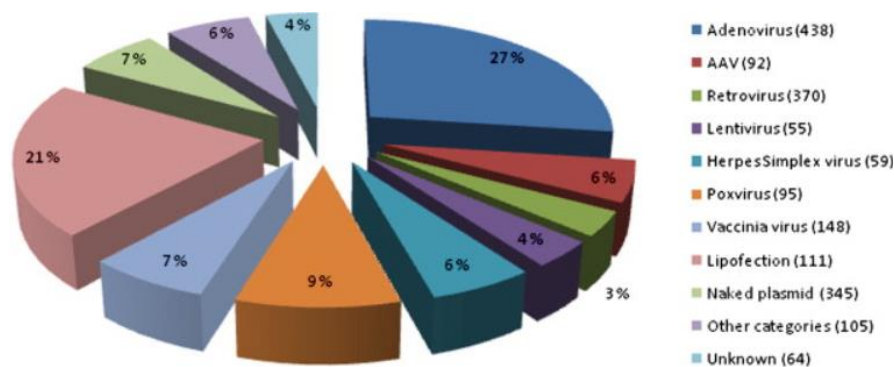


Figure 16: Répartition des différents types de vecteurs utilisés dans les essais cliniques en cours (69)

4.1 Les virus adéno-associés (AAV)

Les AAV sont des virus de la famille des parvovirus découverts dans des préparations d'adénovirus comme contaminant (73). Les AAV de type sauvage sont des virus non enveloppés, d'ADN simple brin et de capsid icosaédrique (composés de trois types de protéines structurelles, VP1, VP2 et VP3). Ils présentent 12 sérotypes naturels avec des tropismes tissulaires différents (73). Ils sont peu immunogènes, non pathogènes, déficients en réplication et ont besoin d'un autre virus, tels que l'adénovirus ou le virus de l'herpès, pour se répliquer (73) (28).

En tant qu'outils thérapeutiques les AAV sont des vecteurs non intégratifs, infectant les cellules au repos et en division, pouvant délivrer une cassette transgénique d'environ 5kb d'ADN étranger. Une fois dans la cellule hôte le génome du AAV, non intégratif, forme des concatémères épisomiques dans le noyau et reste intact. En raison de leurs divers avantages ces vecteurs viraux sont de bons candidats pour la thérapie génique *in vivo* (73) (75).

Effectivement, ils ont une faible immunogénicité, ils sont non pathogènes, ils ont une bonne capacité à transduire un gène à la fois dans des cellules en division ou quiescentes. De plus, ils ont une expression stable sur le long terme dans les cellules au repos et chaque sérotype naturel a un tropisme pour des cellules et tissus spécifiques différents (par exemple l'AAV8 pour le foie, l'œil). En raison de leur profil non intégratif, il y a une perte progressive du transgène dans le temps lors de leur utilisation dans des cellules en division (28).

L'utilisation de vecteurs viraux dérivés d'AAV ne comporte malheureusement pas uniquement des avantages. Effectivement la taille limitée de l'insert dans l'ADN de l'AAV est un frein pour son utilisation (81). Pour pallier à cette problématique, le génome de l'AAV est combiné, via une recombinaison homologue, aux mêmes séquences de répétition terminale inversée ou en coupant en différents fragments le gène d'intérêt. Seules les régions fonctionnelles du gène sont alors intégrées au vecteur (solution appliquée pour le gène du facteur FVIII de la coagulation). De plus, une réponse immunitaire innée peut apparaître contre la capsid, le produit transgénique ou les deux à la fois et peut être responsable de la diminution de l'efficacité de la thérapeutique. Une réponse adaptative (cellulaire et humorale) peut également se déclencher. Effectivement, 50% des Hommes (entre 30% et 80% selon les sérotypes) peuvent avoir développé des anticorps neutralisants anti-AAV malgré que le virus n'ait jamais été mis en cause dans une pathologie. De ce fait lors de l'administration de la thérapeutique utilisant un vecteur AAV une réponse immunitaire adaptative dirigée contre la capsid virale peut se manifester. Cette réponse immunitaire peut également avoir lieu chez des patients non infectés par le virus sauvage mais ayant eu plusieurs injections d'un même sérotype d'AAV. Dans ce cas de figure, l'utilisation d'un autre sérotype peut être réalisée. Toutefois cette pratique n'est pas applicable dans tous les protocoles (75). Afin de minimiser la réponse immunitaire anti-capsid, des études sont menées sur l'identification de nouveaux variants (utilisation d'AAV infectant d'autres espèces par exemple) et sur la modification des capsides par ingénierie.

Actuellement les vecteurs AAV sont principalement développés pour traiter des maladies monogéniques appartenant aux maladies rares (73). Le choix du sérotype et l'utilisation de promoteurs spécifiques d'un tissu permet d'avoir une expression du vecteur dans un ou plusieurs types cellulaires et tissulaires définis. Le tableau 14 présente des exemples

d'utilisations des différents sérotypes d'AAV dans les essais cliniques (exemples non exhaustifs).

Tableau 14 : exemples de différents sérotypes d'AAV utilisés dans les essais cliniques (73)

Sérotipe AAV	Pathologies	Gène délivré	Etape de l'essai clinique
AAV1	Déficit en lipoprotéine lipase	Lipoprotéine lipase	Approuvé mais retrait de l'AMM
AAV2	Ophthalmopathie héréditaire	Rab escorte protéine 1	Phase III terminée, suspendue
AAV5	Hémophilie de type A	Facteur VIII de la coagulation	Approuvé
AAV6	Hémophilie de type A	Facteur VIII de la coagulation	Phase III
AAV8	Rétinoschisis lié à l'X	Régulateur de la pigmentosa GTPase	Phase III, suspendue
AAV9	Dystrophie musculaire de Duchenne	Dystrophine tronquée	Phase III

4.2 Les adénovirus

Les adénovirus sont des virus à capsidie icosaédrique, non enveloppée à ADN double brin linéaire volumineux et complexe, de 26 à 45kb (73) (75) (82). Le virus sauvage, isolé pour la première fois en 1953 à partir de végétations adénoïdes humaines (82) (83), est responsable d'infections des voies respiratoires pouvant s'avérer être graves chez les patients immunodéprimés (environ 49 types de virus sauvage peuvent infecter l'Homme) (83). En tant qu'outil thérapeutique, il ne permet pas l'intégration de l'ADN véhiculé dans le génome des cellules cibles et possède un large éventail de cibles cellulaires et tissulaires (84). L'adénovirus a été le premier virus à ADN à entrer dans le développement d'une thérapeutique en raison de sa biologie bien définie, d'un certain nombre de sérotypes connus, de sa stabilité, de son profil de sécurité, de sa grande capacité transgénique et de sa facilité à être produit à grande échelle (73) (83). Trois générations de vecteurs à base d'adénovirus ont été développées (Figure 17) afin d'optimiser leur utilisation. La première s'est vue délétée des gènes E1 et E2 mais malgré ces modifications elle induisait une forte réponse inflammatoire dans les 24 heures suivant la transduction (73) (75). Pour pallier à cette réponse immunitaire innée, une

seconde puis une troisième génération ont été développées. Cette dernière permet une transduction efficace avec un tropisme élevé tout en ayant réduit l'immunogénicité. Le profil de sécurité des adénovirus a été augmenté en supprimant le gène E1 du vecteur permettant ainsi l'obtention d'un vecteur déficient pour la réplication et d'augmenter, par la même occasion sa capacité d'hébergement d'ADN étranger (83). Cependant des stratégies utilisant des vecteurs réplicatifs sont spécifiquement utilisés afin de se répliquer dans des cellules tumorales.

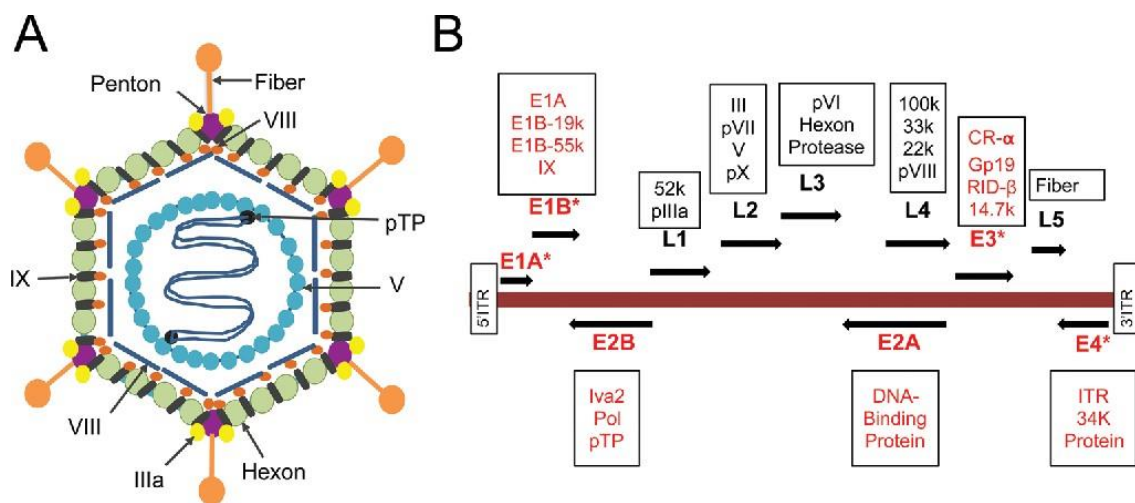


Figure 17 : Structure et organisation du génome de l'adénovirus. (A) : Représentation graphique de la structure de l'adénovirus et des diverses protéines. (B) : Organisation du génome de l'adénovirus montrant divers transcrits précoces (E), tardifs (L) et les protéines codées par chaque transcrit. Les régions indiquées en rouge avec (*) sont supprimées dans divers vecteurs adénoviraux. Les régions E1 et E3 ont été supprimées dans les vecteurs adénoviraux de première génération, et les régions E1, E2, E3, et/ou E4 ont été supprimées dans les vecteurs adénoviraux de deuxième génération. Les vecteurs adénoviraux les plus récents, appelés vecteurs adénoviraux dépendants d'un auxiliaire, ne contiennent que les ITR et les signaux de conditionnement (85).

Actuellement les vecteurs adénoviraux les plus utilisés sont issus du sérotype Ad humain 2 et 5 (Ad2 et Ad5) (83) (84) qui est un virus « de rhume » qui circule chez l'Homme avec un taux de séropositivité de 40-60%, ayant été rendu déficient pour la réplication par la suppression des portions de gène responsable de la réplication (73). L'utilisation des vecteurs adénoviraux est cependant associé au développement d'une réaction inflammatoire dans le foie entraînant une forte hépatotoxicité (84). De plus par rapport à l'AAV, l'adénovirus a une courte durée d'expression *in vivo* (jusqu'à 7 ans) (73) (86).

Initialement les vecteurs basés sur l'adénovirus ont été utilisés pour la transduction dans des cellules cérébrales au début des années 1990 puis en 1992 en thérapie génique dans le traitement d'un individu atteint d'un déficit en α 1AT (83). En 1999 suite au décès d'un patient lors d'un traitement contre le déficit en ornithine transcarbamylase, les recherches autour du vecteur adénovirus ont drastiquement diminué (83). Puis ces vecteurs sont de nouveau utilisés dans des études pour la production de vaccins et dans les traitements de cancers, de l'arthrite et des dysfonctionnements vasculaires (83). A ce jour, ils sont utilisés, en grande partie dans les traitements par thérapie génique de différents types de cancers détectés à des stades avancés, notamment en raison de leur efficacité, de leur capacité de pénétration tumorale et de l'amplification locale de l'effet antitumoral (73). Ces adénovirus oncolytiques peuvent de plus réduire la tumeur en provoquant une forte réponse immunitaire antivirale et antitumorale. Le prix Nobel de physiologie ou médecine de 2018 a notamment été attribué à James Allison et Tasuku Honjo pour la découverte d'une thérapie anticancéreuse basée sur l'inhibition de la régulation immunitaire négative.

4.3 Les lentivirus

Les lentivirus (LV) appartiennent au genre des rétrovirus et contiennent un génome diploïde avec deux molécules d'ARN simple brin de sens positif (87). L'avantage de ces vecteurs par rapport aux vecteurs adénoviraux et AAV réside dans le fait qu'ils génèrent peu d'anticorps neutralisants après leur administration. De plus, ce sont des outils thérapeutiques pouvant transporter 8Kb de matériel génétique exogène. Ils ont la capacité de transduire de façon efficace des cellules cibles en division ou quiescentes et permettent l'intégration de l'acide nucléique véhiculé dans le génome de la cellule hôte avec une expression stable et à long terme (73). Ces vecteurs sont essentiellement utilisés dans la thérapie génique *ex vivo* (dans la leucémie lymphoblastique aigüe à cellules B par exemple). Cependant de nombreuses problématiques restent à solutionner. Effectivement, une des problématiques majeures de l'utilisation des lentivirus est la possibilité de générer des LV compétents pour la réplication lors de la production du vecteur. De plus, il existe un risque de mobilisation du vecteur par un rétrovirus endogène dans le génome du patient. Il y a également un risque de mutagénèse insertionnelle aléatoire pouvant conduire à un cancer (73) (75). L'utilisation de vecteurs LV

non intégrateurs réduit le risque de mutagenèse insertionnelle et le risque de transformation des cellules traitées en cellules malignes.

Actuellement quatre générations de vecteurs à Lentivirus ont été développées. La première contenait une partie importante du génome du VIH notamment les gènes gag et pol codant respectivement pour des protéines structurales et pour des enzymes nécessaires à la fois pour la transcriptase inverse et l'intégration du génome (87). Ces vecteurs ont une fréquence élevée de transfert de matériel génétique dans la cellule hôte. Les vecteurs de seconde génération ont été développés dans le but d'augmenter la sécurité de l'utilisation de tels vecteurs via la suppression de gènes accessoires du lentivirus (gènes non essentiels à la croissance virale) (73) (87) (Figure 18).

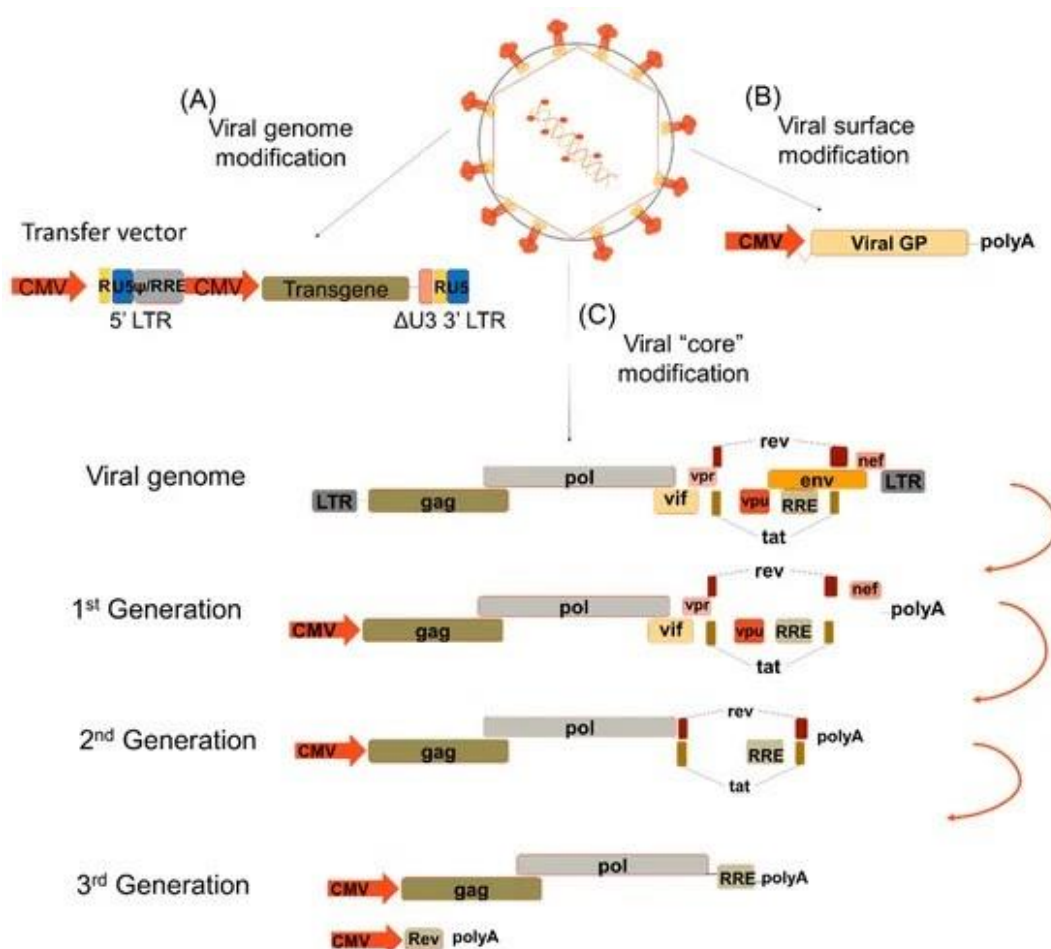


Figure 18 : Modifications des Lentivirus. (A) Le vecteur de transfert contient les Longues Répétitions Terminales (LTR) et le transgène est sous un promoteur interne fort, par exemple, CMV. (B) Les protéines virales de surface sont remplacées par différentes glycoprotéines virales pour leur conférer un tropisme différent en fonction de

la cellule ciblée pour la transduction. (C) Le génome viral code trois types de gènes flanqués par des LTR : structurels (gag, pol et env), régulateurs (rev et tat) et accessoires (vif, vpr, vpu et nef). Les vecteurs lentiviraux (LV) de 1ère génération étaient obtenus en transfectant des cellules transcompétentes avec un plasmide codant toutes les protéines virales. Les LV de 2ème génération sont obtenus en transfectant des cellules transcompétentes avec deux plasmides. le premier permet de faire exprimer les protéines structurelles gag et pol et la protéine régulatrice rev tandis que l'autre permettra l'expression de la protéine Env. les LV de 3ème génération sont obtenus en co-transfectant 3 plasmides en plus du plasmide codant le transgène : le premier permet de faire exprimer les protéines structurelles gag et pol ; le deuxième l'expression la protéine régulatrice rev (88) et le 3ème les protéines env.

Les vecteurs de troisième génération (Figure 17) sont quant à eux considérés comme auto-inactivants ne permettant pas le reconditionnement des gènes intégrés et comme incompetents pour la réplication. Cela est notamment dû à la suppression des gènes responsables de la réplication du VIH-1 ainsi qu'à l'inclusion d'un quatrième plasmide pour diviser le génome viral, réduisant ainsi les risques de recombinaison (87). Malgré leur profil de sécurité supérieur à la seconde génération, les vecteurs LV de troisième génération gardent un risque de recombinaison homologue entre les constructions. Dans le but d'améliorer la sécurité d'utilisation, les lentivirus de quatrième génération ont vu leur séquence RRE remplacée par des séquences hétérologues de fonction similaire et ne nécessitant pas de protéine REV. Une optimisation des codons peut également aider à solutionner la problématique des anticorps neutralisants (73). Cependant les vecteurs de quatrième génération ont une application limitée par rapport aux autres générations en raison de la diminution de leur titre (73) (89). Néanmoins, les vecteurs LV ont de nombreux avantages, contrairement aux autres vecteurs, leur injection entraîne une expression génique stable et à long terme dans les cellules en division et au repos et ils ne génèrent que rarement des anticorps neutralisants (73).

Les lentivirus sont des vecteurs couramment utilisés dans les essais cliniques (Tableau 15). Cependant, en raison de ce risque de mutagenèse insertionnelle, potentiellement augmenté par le développement d'un lentivirus compétent pour la réplication lors de la fabrication des vecteurs, la Food and Drug Administration, l'Agence européenne des médicaments et d'autres agences de réglementation exigent la réalisation de tests pour détecter les lentivirus compétents (et rétrovirus) dans les produits vectoriels avant leur injection aux patients ainsi

qu'une surveillance des patients. Avec l'avènement des Lentivirus de troisième génération, il convient de revoir la nécessité de ces tests, compte tenu du haut niveau de sécurité de ces nouveaux vecteurs (87).

Tableau 15 : exemples d'utilisation des lentivirus dans les essais cliniques

Indications	Essais cliniques
β-thalassémie transfusionnelle	Phase ½ et essai en phase 3
Adrénoleucodystrophie cérébrale	Phase 2 et 3
Drépanocytose	Phase 1
Anémie de Fanconi	Phase 2
Maladie granulomateuse chronique liée à l'X	Phase 1 et 2

4.4 Différentes thérapies géniques approuvées

Suite à de nombreux essais cliniques certaines spécialités à base de vecteurs viraux ont donné des résultats concluants et ont été approuvées dans certains pays pour une utilisation dans des indications précises (Tableau 16) :

Tableau 16 : thérapies géniques approuvées et applications (75)

Vecteurs	Nom commercial	Nom générique	Emplacements approuvés	Indications
Adénovirus	ADSTILADRINE	Nadofaragène firadenovec	US	Cancer de la vessie non invasif sur le plan musculaire (NMIBC) avec carcinome <i>in situ</i> (CIS) avec ou sans tumeurs papillaires
	GENDICINE	Gène p53 recombinant	CHN	Cancer de la tête et du cou.
	ONCORINE	Adénovirus déficient en E1B/E3	CHN	Cancer de la tête et du cou ; Cancer du nasopharynx.
Lentivirus	ABECMA	Idécabtagene vicleucel	US, UE, JP, CAN	Myélome multiple.
	BREYANZI	Lisocabtagene maraleucel	US, EU, CAN, JP, UK, CH	Lymphome à grandes cellules B (LBCL)
	CARVYKTI	Ciltacabtagene autoleucel	US, EU, UK, JP, CAN	Myélome multiple récidivant ou réfractaire.
	KYMRIAH	Tisagenlecleucel	US, EU, UK, CAN, JP, AUS, KR, CH	Lymphome folliculaire récidivant ou réfractaire

Vecteurs	Nom commercial	Nom générique	Emplacements approuvés	Indications
	SKYSONA	Elivaldogene autotemcel	US, EU, UK #	Dysfonctionnement neurologique chez les garçons âgés de 4 à 17 ans atteints d'adrénoleucodystrophie cérébrale précoce et active (CALD).
	ZYNTGLO	Betibeglogene autotemcel	US, CAN, EU #	Patients adultes et pédiatriques atteints de β -thalassémie nécessitant des transfusions régulières de globules rouges (GR).
	LIBMELDY	Atidarsagene autotemcel	UE, UK, ISL,	Leucodystrophie métachromatique (MLD).
	RELMA-CEL	Relmacabtagene autoleucl	CHN	Lymphome diffus à grandes cellules B
Virus de l'herpès simplex –1	IMLYGIQUE	Talimogene laherparepvec	US, EU, CHN, UK, AUS	Lésions cutanées, sous-cutanées et ganglionnaires non résécables chez les patients avec un mélanome récurrent après la chirurgie initiale.
	DÉLYTACT	Teserpaturev	JP	Gliome malin.
AAV	HEMGENIX	Etranacogene dezaparvovec	US	Hémophilie B.
	LUXTURNA	Voretigene neparvovec	US, EU, UK, AUS, CAN, KR	Dystrophie rétinienne biallélique associée à la mutation RPE65 confirmée
	ZOLGENSMA	Onasemnogène abéparvovec	États-Unis, UE, JP, AUS, CAN, BRA, TWN, KR, ISL, NO, LIE, UK	Amyotrophie musculaire spinale (type I)
	GLYBÈRE	Alipogène tiparvovec	UE (AMM retirée)	Déficit en lipoprotéine lipase.
	ROCTAVIEN	Valoctocogène roxaparvovec	UE, Royaume-Uni	Hémophilie A
	UPSTAZA	Eladocagène exuparvovec	UE, Royaume-Uni	Carence sévère en L-aminoacide décarboxylase aromatique (AADC).
Rétrovirus	TECARTUS	Brexucabtagene autoleucl	US, EU, UK, CAN	Lymphome à cellules du manteau (LCM) en rechute ou réfractaire et leucémie lymphoblastique aiguë (LAL) à précurseurs de cellules B.
	YESCARTA	Axicabtagene ciloleucl	US, EU, UK, JP, CHN, CAN	Lymphome à grandes cellules B.
	STRIMVELIS	Cellules autologues enrichies en CD34 +	UE, Royaume-Uni	Déficit immunitaire combiné sévère dû à un déficit en adénosine désaminase (ADA-SCID)

Vecteurs	Nom commercial	Nom générique	Emplacements approuvés	Indications
	REXINE	Gene mutant cycline-G1	PHL	Tumeurs solides
	ZALMOXI	NA	UE (AMM retirée)	Transplantation de cellules souches hématopoïétiques haploidentiques (GCSH) de patients adultes avec un risque élevé d'hémopathies malignes
	INVOSSA-K	NA	KR (AMM retirée)	Arthrose
Échovirus 7	RIGVIR	NA	BT, EE, PL, AM, BLR	Traitement local des métastases cutanées et sous-cutanées du mélanome.

Dans le cadre des recherches en thérapie génique pour les maladies orphelines, l'hémophilie de type A et de type B se trouve être un bon candidat. Effectivement l'hémophilie est une maladie monogénique liée au chromosome X avec un emplacement d'expression du gène dysfonctionnel connu. De plus, afin d'obtenir un effet thérapeutique et une diminution de la morbidité et mortalité des patients il n'est pas nécessaire d'arriver à une normalisation du taux en FVIII et en FIX (28). Après une modification de leur capsid, les virus adéno-associés (AAV) semble être les vecteurs de choix. Effectivement, cette modification permet d'augmenter le tropisme hépatique des AAV et leur confère également une résistance aux anticorps neutralisants et à leur élimination des hépatocytes par les cellules T cytotoxiques (28) (90).

5 NOUVEAUX PROTOCOLES DE THERAPIE GENIQUE POUR LE TRAITEMENT DES DIFFERENTS TYPES D'HEMOPHILIE

5.1 Essais cliniques

Les traitements actuels pour les patients atteints d'hémophilie A et B se limitent à des solutions prophylactiques lourdes et contraignantes au quotidien. Pour répondre à cette problématique, des essais précliniques et cliniques de thérapie génique sont menés dans de nombreux pays. Ces études visent à permettre aux patients éligibles de bénéficier d'un traitement en une unique injection par voie intraveineuse d'un vecteur, dirigé vers le foie, véhiculant l'ADNc codant un FVIII ou FIX fonctionnel. L'ADNc va s'exprimer en ARNm dans les

cellules hépatiques. Ce dernier sera traduit en protéines et permettra une synthèse continue et pérenne de facteurs VIII ou IX.

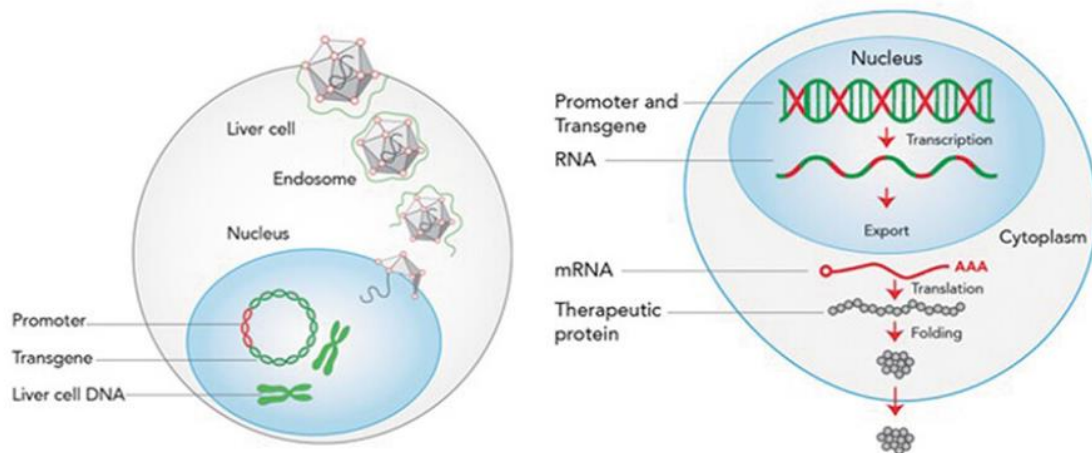


Figure 19 : vecteur viral recombinant utilisé en thérapie génique ciblée (91)

A la sortie de la recherche et du développement, les candidats médicaments à l'étude, doivent être validés par des essais pré-cliniques sur les animaux avant d'être testés chez l'Homme lors des essais cliniques. Les essais pré-cliniques ont pour but de déterminer le profil pharmacologique du candidat médicament en validant son mécanisme d'action et son activité. Ils permettent également de définir le profil pharmacocinétique, c'est-à-dire de modéliser l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination de la molécule dans un organisme vivant. Enfin, le profil toxicologique est établi dans le but de déterminer la dose toxique. Les résultats des études pré-cliniques font partie intégrante du dossier d'AMM. Cependant, ces études ne permettent pas toujours de prédire les résultats chez l'Homme, tel que le montre des études très efficaces sur les modèles animaux utilisant des vecteurs rAAV8, mais peu efficaces sur les hépatocytes humains (90). D'autres études pré-cliniques prometteuses de transfert de gènes via des vecteurs AAV8 réalisées notamment chez quatre chiens mâles adultes atteints d'hémophilie A sévère dont deux présentaient une mutation simulant l'inversion de l'intron 22 observée chez l'Homme (dose de $2,5 \times 10^{13}$ vg/kg d'AAV8-cFVIII-LC et $2,5 \times 10^{13}$ vg/kg d'AAV8-cFVIII-HC) ont révélé avoir une potentielle induction de la tolérance immune (ITI) (92) (93). Ces résultats restent à prouver chez l'Homme.

5.1.1 Critères d'exclusion aux essais cliniques

Les patients éligibles aux essais cliniques pour l'hémophilie sont généralement des hommes de plus de 18 ans atteints d'hémophile A ou B (selon l'étude) de forme sévère ou modérément sévère, en bonne santé, sans signe de dysfonctionnement hépatique, suivis dans le centre de traitement de l'hémophilie où se déroule l'essai clinique (88). Les patients de moins de 18 ans ne sont pas inclus dans les études en raison de l'immaturation hépatique qui entraînerait une perte d'expression du transgène (14).

Les critères d'exclusion varient en fonction de la finalité des essais cliniques. Effectivement certaines études excluent des populations spécifiques d'hémophiles, telles que les patients ayant des anticorps dirigés contre les FVIII ou FXI ou contre le vecteur utilisé ainsi que les patients traités en pédiatrie. De façon générale pour des essais ayant pour but d'évaluer l'efficacité, l'innocuité et la tolérance d'un nouveau transgène chez des hommes adultes hémophiles, les critères d'exclusion majoritairement retrouvés dans la base de données de la WFH sont :

- Les antécédents d'inhibiteurs aux facteur IX ou VIII ou la présence d'un test positif aux inhibiteurs lors du dépistage avant l'intégration à l'essai.
- Les anticorps préexistants, détectables contre la capsid du sérotype d'AAV utilisé comme vecteur.
- Un dysfonctionnement hépatique (fibrose, cirrhose, ...)
- Un test positif au virus du VIH lors du dépistage, non contrôlé par un traitement antiviral.
- Une infection active par le virus de l'hépatite B ou C lors du dépistage.
- Des antécédents d'exposition à l'hépatite B ou C, actuellement contrôlée par un traitement antiviral à la fin de la phase d'introduction.
- Un traitement par thérapie génique antérieur.

Tous les critères listés ci-dessus sont variables. Cependant la bonne santé du foie est le critère récurant du fait de l'augmentation des enzymes hépatiques entraînée par le transgène causant une toxicité hépatique décrite dans de nombreuses études.

5.2 Administration de Transgènes-médicaments

L'administration des spécialités de thérapie génique pour traiter l'hémophilie A et B, se fait *via* une injection unique, d'une à quatre heures, par voie intraveineuse au niveau du bras (stratégie *in vivo*) du vecteur viral véhiculant le gène thérapeutique. Le patient restera hospitalisé plusieurs heures après la perfusion (voire une nuit) afin de s'assurer de la bonne tolérance du traitement. L'effet thérapeutique se manifeste généralement à partir de la troisième ou quatrième semaine après l'injection et augmente jusqu'à se stabiliser après plusieurs mois. Cependant, la cinétique d'apparition des effets recherchés est patient dépendante. De plus, les essais cliniques étant relativement récents il n'existe pas suffisamment de données pour juger l'efficacité du traitement sur du très long terme (94). Une fois le transgène introduit dans les cellules hépatiques du patient, il utilise la machinerie transcriptionnelle de ses cellules pour synthétiser les facteurs VIII ou FIX. Cette production permet une diminution des saignements. Dans le traitement des maladies hémophiliques, il n'est pas nécessaire d'atteindre des taux élevés en facteurs de la coagulation pour observer une diminution significative des saignements, ce qui représente un avantage dans l'utilisation des traitements par thérapie génique. Une légère augmentation en facteur de la coagulation stable dans le temps est suffisante pour un traitement efficace. Cette alternative thérapeutique offre la possibilité d'améliorer la qualité de vie de chaque patient mais également de réduire les coûts de prise en charge étant donné qu'une seule administration est souvent suffisante (90).

Cependant, la thérapie génique n'est pas adaptée à tous les patients, certains ne sont pas éligibles et d'autres n'y ont pas accès du fait des prix et des politiques de remboursement des thérapies par les instances gouvernementales. De plus certains patients éligibles ayant bénéficiés de l'injection d'une des spécialités commercialisées ou d'un essai clinique (candidat médicament) peuvent ne pas répondre favorablement au traitement. Cela peut se traduire par une augmentation insuffisante du taux en facteur FVIII/FXI ou par un taux en FVIII/FXI instable dans le temps pouvant conduire à un stade d'expression protéique insuffisant responsable d'une réapparition des symptômes hémorragiques. Dans ce cas une nouvelle injection de matériel génétique n'est pas envisageable pour le traitement de l'hémophilie. Les patients devront reprendre leur ancien traitement ou changer de thérapeutique après discussion avec l'équipe médicale et leur médecin traitant.

La décision d'entreprendre un traitement par thérapie génique doit se faire lors d'une concertation avec le patient et ses proches. Il est nécessaire de prévoir plusieurs rendez-vous afin de mettre en place une prise de décision partagée (95) entre l'équipe soignante, les personnes de confiance (familles/proches) et le patient afin que ce dernier prenne une décision éclairée. Ce processus tient compte de l'historique de santé du patient, de ses objectifs de vie et de ses préférences en matière de traitement. Chaque patient est un membre à part entière de son équipe soignante (19). Le site de la WFH propose un outil de prise de décision partagée destiné aux patients afin de les aider (96). Les risques et avantages doivent être discutés (19), notamment le risque de toxicité hépatique qui se manifeste par une augmentation probable des taux des enzymes hépatiques telles que l'alanine aminotransférase (ALAT) et de l'aspartate aminotransférase (ASAT). Ce risque est observé dans 80% des cas chez les patients HA et dans 20-40% des cas chez les patients HB (97) (94). Comme vu dans le chapitre IV « Principe de la thérapie génique », cette toxicité est principalement due au fait qu'il est nécessaire d'administrer une dose élevée de vecteur AAV pour obtenir un effet thérapeutique (de l'ordre de 10^{13} pv). En effet des essais cliniques ont décrit une corrélation entre la quantité de vecteur viral administrée et l'expression du transgène. Le vecteur viral peut induire une réponse immune à médiation cellulaire (lymphocytes T CD8 + cytotoxiques) dirigée contre la capsid virale, le produit de transgène ou les deux (28).

Afin de limiter la réponse immune due au médicament de thérapie génique, des traitements complémentaires (immunosuppresseurs), peuvent être proposés au moment de l'injection ou après à la suite d'une élévation du taux en enzymes hépatiques liée à la capsid du vecteur. Afin de s'assurer de l'origine de cette élévation enzymatique des tests de la fonction hépatique sont effectués ainsi qu'un dosage de l'activité en FIX ou FVIII qui permet d'évaluer l'expression du transgène. Un test ELISPOT d'interféron- γ est proposé pour l'évaluation indirecte de l'activation des lymphocytes T CD8+ (98). Cependant ces tests biologiques ne sont pas standardisés dans les essais cliniques en cours et les résultats prennent du temps à être obtenus. Par conséquent la décision concernant le traitement est généralement prise avant l'obtention des résultats. Les traitements par corticostéroïdes ou autres médicaments immunosuppresseurs (protocole à l'étude) doivent être pris pendant plusieurs mois après leur introduction (94)(97)(98). Cependant toutes élévations en enzymes hépatiques n'est pas obligatoirement due à cette réponse immunitaire. Des causes potentielles sont actuellement étudiées, telle que le stress cellulaire causé par la surexpression en FVIII non physiologique

par les hépatocytes ou par d'autres causes non encore déterminées (99). Le choix du sérotype AAV est également crucial, l'AAV8 est celui qui fournit une activité FVIII plus élevée que les AAV2, 3, 5 et 7.

Des examens médicaux sont effectués chez les patients avant toute injection et un accompagnement éducatif adapté doit être assuré par les professionnels de santé et par l'Association Française des Hémophiles.

5.3 Protocoles d'essais cliniques

Si nous nous intéressons à l'historique du développement de la thérapie génique pour le traitement de l'hémophilie nous notons que les premières études cliniques ont évalué divers vecteurs, comme les rétrovirus, les adénovirus ou les vecteurs non viraux. Leur utilisation à mener à des résultats non concluants (21). Une expression transitoire et de faible niveau ainsi qu'une sécurité des patients non concluante ont mené à un arrêt prématuré de ces études. L'utilisation de vecteurs AAV a permis la reprise des essais cliniques avec des résultats positifs dans les recherches pour le traitement de l'hémophilie (21).

Conception des vecteurs :

Un des éléments clés du succès de la thérapie génique dans l'hémophilie réside dans la conception de la cassette d'expression. En effet, la capsid du vecteur AAV a été modifiée pour améliorer le tropisme hépatique, résister aux anticorps neutralisants et échapper à l'élimination des hépatocytes transduits par les cellules T cytotoxiques. La puissance du vecteur est augmentée grâce à la conception de promoteurs synthétiques spécifiques du foie, l'optimisation des codons, la suppression du domaine B du gène *FVIII* (le domaine B est non utile au fonctionnement du FVIII car clivé lors d'activation du FVIII), et l'utilisation de variants tels que le Padoue (AAV5-hFIXco-Padua, AMT-061) étudié dans le cadre de l'essai clinique NCT03569891 pour l'hémophilie de type B (Tableau 17).

L'avancée en ingénierie des cassettes d'expression soulève donc de nouvelles préoccupations. La surexpression du facteur de coagulation, notamment du FVIII pourrait entraîner un stress cellulaire, une toxicité hépatique et une réponse immunitaire accrue. Pour atténuer ce risque,

certaines études cherchent à retirer les motifs immunostimulants des cassettes, bien que leur élimination totale ne soit pas encore possible.

Une autre problématique est la taille excessive du gène *FVIII* par rapport à la capacité d'accueil du vecteur AAV (100). Le gène humain du FVIII est composé de plusieurs exons codant pour un domaine central B accompagné des domaines A1, A2, A3, C1 et C2. Le domaine B peut être supprimé sans impact significatif sur l'activité procoagulante. Cette réduction de taille rend la délivrance génique du FVIII plus réalisable.

Tableau 17 : Exemples de l'utilisation des différents vecteurs dans l'hémophilie de type A et B (101)

Vecteurs recombinants	Type d'hémophilie
AAV 5 contenant une variante du facteur VIII humain délété du domaine B appelé BMN 270	HA
AAV 6 codant pour le facteur VIII humain délété du domaine B : appelé SB-525	HA
AAV 8 contenant une copie fonctionnelle de l'ADNc codon-optimisé du facteur VIII codant pour le facteur VIII humain délété du domaine B	HA
AAV contenant une capsid issue de la bio-ingénierie et une cassette d'expression codon-optimisée pour induire l'expression de la forme SQ d'un facteur VIII humain délété du domaine B : appelé SPK-8011	HA
AAV 2 non réplicatif exprimant la variante Padoue (R338L) du facteur IX humain, sous le contrôle de l'amplificateur hépatique spécifique à l'apolipoprotéine E/alpha1-antitrypsine (hAAT)	HB
AAV rh10 contenant le gène humain du facteur IX	HB
AAV 3 avec une cassette d'expression de codon-optimisée codant pour une variante connue du facteur IX humain : le FLT180a	HB
AAV contenant le FIX-Padua-optimisé : appelé AMT-061	HB
Lentivirus codant pour le facteur VIII humain ou le facteur IX.	HA et HB

Au total, plus de 40 essais cliniques actifs sur la thérapie génique ont été identifiés concernant l'hémophilie de type A et B sur la base des données enregistrées sur les registres ClinicalTrials (*via* la WFH) et le Registre européen des essais cliniques (101). Les tableaux 18 et 20 sont des extraits de différents essais cliniques en cours pour l'HA et HB, respectivement.

Tableau 18 : Essais cliniques en thérapie génique avec des vecteurs AAV pour l'hémophilie A. Données
extraites de Clinical Trial Pipeline (mise à jour le 22 septembre 2023) (101)

Hémophilie A					
Vecteurs	Spécialités	Indications	Laboratoires	Phase de l'essai	Identification ClinicalTrials.gov
AAV5	Valoctogène Roxarovec - BM270	Evaluation de l'efficacité et de l'innocuité chez les patients à taux résiduels de FVIII < 1 UI/dL recevant un traitement prophylactique de FVIII.	BioMarin pharmaceutical	Phase 3 : approuvé (France)	NCT03370913
AAV5	Valoctogène Roxarovec - BM270	Evaluation de l'efficacité et de l'innocuité chez les patients à une dose de 4E13 vg/kg chez des patients avec un taux résiduel FVIII < 1 UI/dL.	BioMarin pharmaceutical	Phase 3	NCT03392974
AAV5	Valoctogène Roxarovec - BM270	Evaluation de l'efficacité et l'innocuité avec des stéroïdes prophylactiques.	BioMarin pharmaceutical	Phase 3	NCT04323098
AAV5	Valoctogène Roxarovec - BM270	Evaluation de l'innocuité et efficacité de doses croissantes dans les formes sévères de HA.	BioMarin pharmaceutical	Phase 1-2	NCT02576795
AAV5	Valoctogène Roxarovec	Étude de l'innocuité, de la tolérance et de l'efficacité chez des patients avec un taux résiduel de FVIII < 1 UI/dL et des anticorps contre l'AAV5 contenant un variant délété du domaine B du gène du FVIII.	BioMarin pharmaceutical	Phase 1-2	NCT03520712
AAV5	Valoctogène Roxarovec	Étude de l'innocuité, de la tolérance et de l'efficacité pour des formes sévères de HA présentant des inhibiteurs actifs ou antérieurs (GENEr8-INH).	BioMarin pharmaceuticaul	Phase 1-2	NCT04684940
AAV2/6	PF-07055480 / Giroctocogene Fitelparovec	Évaluation de l'efficacité et de l'innocuité du PF-07055480 chez les adultes atteints de formes modérément sévères à sévères (AFFINE) de HA.	Pfizer	Phase 3 : dont France	NCT04370054
AAV	ASC618	Thérapie génique ASC-618 chez les patients atteints de formes sévères et modérément sévères de HA.	ASC Thérapeutique	Phase 1-2	NCT04676048

Hémophilie A					
Vecteurs	Spécialités	Indications	Laboratoires	Phase de l'essai	Identification ClinicalTrials.gov
AAV	BAY 2599023 (DTX 201)	Evaluation de l'innocuité et de la réponse des patients atteints des formes sévères de HA, d'un transfert de gène par le vecteur AAV hu37 (domaine B du gène du F VIII délété).	Bayer/Ultragenyx Pharma Inc	Phase 1-2 : dont France	NCT03588299
AAV6	PF-07055480	Une étude sur la thérapie génique recombinante du facteur 8 humain AAV2/6 SB-525 (PF-07055480) pour les formes sévères de HA.	Pfizer	Phase 1-2	NCT03061201
AAV	SPK-8011	Etude de l'innocuité et de l'efficacité du transfert de gènes avec SPK-8011	Thérapeutique Spark	Phase 1-2	NCT03003533
AAv8	BAX 888	Détermination des effets secondaires et de la dose de BAX 888 (domaine B délété) pour les formes sévères de HA.	Takeda	Phase 1-2 : dont France	NCT03370172
AAv8	AAV2/8-HLP-FVIII-V3	Nouveau vecteur viral adéno-associé pseudotypé de capsid de sérotype 8 codant pour le facteur VIII-V3	Collège universitaire de Londres	Phase 1-2	NCT03001830

Le tableau 19 regroupe la chronologie des différentes études cliniques actuellement en cours en thérapie génique pour le traitement de l'hémophilie A. Ce tableau a été extrait de la publication de Pipe et col. Publiée en 2022 (91) et établi à partir du site <https://clinicaltrials.gov>

Tableau 19 : chronologie des différents essais cliniques en cours pour l'hémophilie de type A

Laboratoires/ Spécialités	Phase de l'étude	Numéro identification essai clinique	Début de l'étude	Première estimation de l'achèvement	date estimée d'achèvement de l'étude
BioMarin/Roctavian	Phase 1/2	NCT02576795	Aug 2015	Mar 2024	Mar 2024
Spark/ SPK-8011	Phase 1	NCT03003533	Jan 2017	May 2020	May 2020
UCL/AAV2/8-HLP-FVIII-V3	Phase 1	NCT03001830	Jun 2017	Dec 2020	Jun 2025
Pfizer-Sangamo/SB-525	Phase 1/2	NCT03061201	Jun 2017	Jul 2024	Jul 2024
BioMarin/Roctavian	Phase 3	NCT03370913	Dec 2017	Dec 2022	Sep 2023
BioMarin/Roctavian	Phase 3	NCT03392974	Mar 2018	Dec 2022	Mar 2024
Takeda-Shire/ TAK-754	Phase 1/2	NCT03370172	Mar 2018	Sep 2021	Sep 2024
BioMarin/Roctavian	Phase 1/2	NCT03520712	Apr 2018	Jun 2025	Jun 2025
Pfizer-Sangamo/SB-525	Phase 3	NCT03587116	Jul 2018	Sep 2021	Sep 2021
Spark/ SPK-8011	Observational	NCT03432520	Aug 2018	Dec 2022	Dec 2022
Bayer-Ultragenix/BAY 2599023	Phase 1/2	NCT03588299	Nov 2018	May 2022	Jul 2026
Spark/SPK-8016	Phase 1/2	NCT03734588	Jan 2019	May 2020	May 2020
BioMarin/Roctavian	Phase 3b	NCT04323098	Jun 2020	Dec 2021	Dec 2021
Shenzhen/YUVA-GT-F801	Phase 1	NCT03217032	Jun 2020	May 2022	Jun 2022
Pfizer-Sangamo/SB-525	Phase 3	NCT04370054	Jul 2020	Aug 2022	Nov 2026
Expression Therapeutics	Phase 1	NCT04418414	Feb 2021	Apr 2025	Apr 2039

Tableau 20 : Essais cliniques en thérapie génique avec des vecteurs AAV pour l'hémophilie B. Données extraites de Clinical Trial Pipeline (mise à jour le 22 septembre 2023) (101)

Hémophilie B					
Vecteurs	Spécialités	Indications	Laboratoires	Phase de l'essai	Identification ClinicalTrials.gov
AAV5	Etranacogene Dezaparvec	Détermination l'efficacité et l'innocuité du AAV5-hFIXco-Padua (AMT-061) pour les formes sévères et modérément sévères de HB.	CSL Behring	Phase 3 : approuvée	NCT03569891
AAV5	Etranacogene Dezaparvec	Efficacité et innocuité de la thérapie génique CSL222 (AAV5-hFIXco-Padua) chez les adultes avec prétraitement d'anticorps neutralisants (Nabs) contre l'AAV5.	CSL Behring	Phase 3	NCT06003387
AAV5	Etranacogene Dezaparvec	Essais de confirmation des doses d'AAV5-hFIXco-Padua (AMT-61) pour les formes sévères et modérément sévères de HB.	CSL Behring	Phase 2	NCT03489291
AAV5	AAV5-hFIX	Essais cliniques d'AAV5-hFIX (gène humain optimisé en codon) dans l'hémophilie B sévère ou modérément sévère.	CSL Behring	Phase 1-2 : complétée	NCT02396342
AAV	fidanacogene elaparvec	Evaluation de l'efficacité, innocuité et tolérance du transfert de gène FIX avec le (PF-06838435) chez des sujets pédiatriques de sexe masculin < 18 ans atteints de formes modérées à sévères (FIX : C ≤ 2 %) de HB (BeneGene 3).	Pfizer Absence d'information	Phase 3	NA
AAV	fidanacogene elaparvec	Evaluation de l'efficacité et de l'innocuité avec le PF-06838435 chez des hommes adultes atteints de formes modérément sévères à sévères de HB. (BENEGENE-2).	Pfizer	Phase 3 : dont France	NCT03861273
AAV8	fidanacogene elaparvec SPK-9001	Etude réalisées sur des doses croissantes du PF-06838435.	Pfizer	Phase 2 Complétée	NCT02484092
AAV	ZS801	Evaluation de l'innocuité et de l'efficacité du ZS801 chez les patients adultes atteints d'hémophilie B.	Institut d'hématologie et d'hôpital des	Phase 1-2	NCT05641610

Hémophilie B					
Vecteurs	Spécialités	Indications	Laboratoires	Phase de l'essai	Identification ClinicalTrials.gov
			Maladies du sang, Chine		
AAV	BBM-H901	Évaluation de l'innocuité, de la tolérance et de l'efficacité pour les patients avec un taux résiduel de FIX < 2 UI/dL .	Shanghai Croyance- Livraison BioMed Inc	Phase 1-2	NCT05203679
AAV8	AskBio009	Evaluation des doses croissantes uniques de AskBio009	Takeda	Phase 1-2	NCT01687608
AAV	BBM-H901	Evaluation de l'innocuité, de la tolérance et de la cinétique chez les patients avec un taux résiduel de FIX < 2 UI/dL.	Institut d'hématologie et d'hôpital des Maladies du sang, Chine	Phase 1	NCT04135300
AAV	BBM-H901	Evaluation de l'innocuité, de l'efficacité et de la tolérance chez des sujets âgés de 12 à 18 ans avec des taux résiduels de FIX < 2UI/dL	Institut d'hématologie et d'hôpital des Maladies du sang, Chine	Phase 1	NCT05709288
AAV2/8	scAAV 2/8- LP1-hFIXco	Étude d'augmentation de la dose d'un vecteur viral adéno-associé auto-complémentaire pour le transfert de gènes dans l'hémophilie B	Hôpital de recherche pour enfants St. Jude	Phase 1	NCT00979238

La FMH met à disposition de tous les patients ayant recours à un traitement par thérapie génique, le registre de la thérapie génique permettant aux chercheurs de suivre l'efficacité des traitements sur le long terme.

5.3.1 Suivi des patients après les essais cliniques

Après injection du vecteur viral, chaque patient doit suivre un protocole de contrôle afin de surveiller son état de santé et le taux en facteurs de coagulation FVIII ou FXI. Généralement, selon les recommandations de la WFH, chaque participant doit suivre une ou deux consultations de suivi par semaine les six premiers mois puis une consultation toutes les une à quatre semaines au cours des 6 mois suivants (94) (97). Ces consultations comprennent des examens biologiques en laboratoire ou de simples visites chez le médecin traitant. Lors de la

seconde année post-injection, le nombre de visites médicales se réduit à une fois tous les trois mois puis s'espace à une fois tous les six mois à partir de la 3^{ème} année. Dans le cas où un patient présente un taux dans la circulation sanguine en FVIII ou FIX inférieur à 5%, les consultations se font à des fréquences plus rapprochées. Une fois le protocole de suivi initiale terminé, les patients continuent les consultations dans les centres CRH, CRC-MHR, CTH de façon régulière pour un suivi de la maladie et de leur état de santé (94) (97).

En 2020, la FDA a publié un guide « Human Gene Therapy for Hemophilia; Guidance for Industry» (102) contenant des recommandations pour le développement de la thérapie génique humaine pour l'hémophilie pour les essais précliniques, cliniques et pour le développement de tests d'activité de coagulation en FVIII et FIX.

5.3.2 Résultats des essais cliniques dans l'hémophilie de type A

Les essais cliniques ont été nombreux ces dix dernières années. Leurs résultats varient en fonction du type de vecteur utilisé, du sérotype des virus utilisés, du transgène et de la dose administrée. Ceux-ci donnent de réelles perspectives dans la progression de la prise en charge des patients hémophiles. L'ensemble des résultats obtenus au cours des essais cliniques sont regroupés dans le tableau 21.

Résultats des essais cliniques pour le traitement de l'hémophilie A

Les premiers résultats concernant l'hémophilie A ont été rapportés en 2017 par le laboratoire BioMarin Pharmaceutical. L'utilisation du Valoctogene Roxaparvovec avec l'AAV5 dans l'hémophilie de type A a montré des résultats très satisfaisants et a permis son approbation comme vu précédemment. Ces études utilisaient le vecteur AAV5-hFVIII-SQ (valoctogène roxaparvovec, Roctavian). Ce vecteur comprend un transgène du facteur VIII humain délété dans le domaine B (variante SQ) (Figure20).

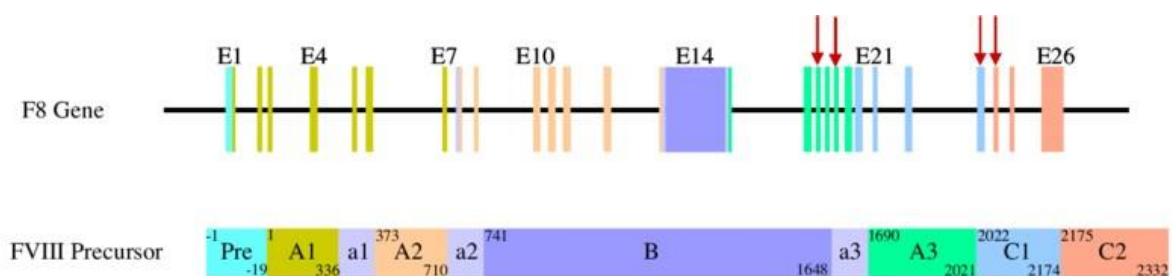


Figure 20 : Rappel de la construction du gène *FVIII* et de sa traduction en précurseur (27)

En résumé, une première étude clinique de phase 1/2 utilisant le vecteur AAV5–hFVIII-SQ (Étude BMN270-201, NCT02576795 (101) (103)) a été menée par le laboratoire BioMarin Pharmaceutical pour évaluer les effets d'une administration unique de différentes doses croissantes (deux patients ont reçu la dose 4×10^{13} vg/kg et 7 patients ont reçu la dose 6×10^{13} génomes viraux (vg)/kg de poids corporel), avec un suivi sur 3 ans (103). Ces essais ont été réalisés sur 9 hommes atteints d'hémophilie A sévère (104). Le traitement ayant considérablement réduit le Taux Annuel de Saignements (TAS), l'utilisation prophylactique du FVIII a pu être arrêtée. Au cours du suivi sur 3 ans après l'administration unique, aucun des participants n'a développé d'inhibiteurs, de thrombose, cependant les patients ayant reçu la dose élevée ont bénéficié d'un traitement prophylactique prolongé de prednisolone en raison de l'élévation des transaminase chez un patient. Aucun patient n'est décédé (28) (101).

Le traitement par thérapie génique utilisant l'AAV5–hFVIII-SQ est maintenant testé dans des études cliniques supplémentaires de phase 1/2 et de phase 3 (Tableau 18) par le laboratoire BioMarin Pharmaceutical. Une étude mondiale de phase 3 de l'AAV5–hFVIII-SQ à la dose de 6×10^{13} gv/kg (GENEr8-1, Étude BMN 270–301, NCT03370913, n = 134 participants) visant à comparer l'efficacité de l'AAV5–hFVIII-SQ à la thérapie prophylactique standard actuelle par FVIII est en cours. Les données d'au moins un an de suivi indiquent une réduction de 84 % du TAS moyen et une réduction de 99 % du taux annuel moyen d'injection de FVIII (Tableau 21) (99).

D'autres études utilisant le Valotocogène Roxaparavec parrainées par BioMarin Pharmaceutique sont en cours avec des objectifs variés. Notamment l'essai N° NCT03520712 qui inclut des patients atteints hémophilie A sévères ayant des anticorps anti-AAV5 et l'essai N° NCT04684940 qui inclut des patients atteint d'hémophilie A avec des inhibiteurs actifs ou antérieurs (101) .

Une étude clinique réalisée par Spark thérapeutique (SPK8011), la N° NCT03003533, utilisant des doses de 0,5 à 2×10^{12} vg/kg (inferieures aux doses utilisées dans les études de BioMarin), a abouti à des taux sanguin de FVIII compris entre 12 et 30 UI/dL (28) (99). Cette expression a été suffisante pour prévenir les saignements sans nécessiter de traitement de prophylaxie supplémentaire (28). Récemment, les données d'un sous-groupe de cinq patients ayant

atteint une expression stable du FVIII 8 à 12 semaines après traitement n'ont révélé aucune diminution du FVIII sur une période de 2 ans (FVIII:C entre 5,2 % et 19,8 %). Cependant, deux patients de la cohorte initiale ont perdu l'expression du FVIII et ont repris un traitement par prophylaxie (28) (Tableau 21).

Tableau 21: Résultats d'essais cliniques en thérapie génique dans le traitement de l'hémophilie A (99)

Exemple de résultats d'essais clinique pour l'hémophilie de type A								
Laboratoire	Identification ClinicalTrials.gov	Phase	Nombre de patients	Dose de vecteur (/kg)	Expression à court terme (1-6mois)	1 an (UI/dL ou %)	> 2 ans (UI/dL ou%)	Durée Et Stabilité
Biomarin	NCT02576795	1-2	7	6x10 ¹³	Augmentation progressive jusqu'à 24 semaines	Médiane : 77 UI/dL Moyenne : 64 UI/dL	Médiane : 36 UI/dL Moyenne: 26 UI/dL	Diminution de l'expression Après 1 an : 33% : moyenne Après 3 ans : 20% :médiane
Biomarin	NCT03370913	3	134	6x10 ¹³	NA	Médiane 23,9 UI/dL Moyenne : 42,9 UI/dL	NA	Aucune donnée à long terme disponible
Spark therapeutic	NCT03003533	1-2	12	2x10 ¹²	16-49 (n=5) et réponse < 5 pour 2 patients	NA	5,2%-19,8 % (n = 5)	2 patients ont perdu l'expression du FVII
Pfizer	NCT03061201	1-2	5	3x10 ¹³	Augmentation à la plage normale dans les 5 semaines	50,2 :État d'équilibre médian 80,1 :moyenne (SD 93,3)	NA	NA
Bayer	NCT03588299	1-2	2	2x10 ¹³	12 et 72 UI/dL	NA	NA	Suivi trop court pour évaluation

L'étude N° NCT03588299 de phase 1/2 réalisée par les laboratoires Bayer/ultragenix (Tableau 21) et concernant le médicament BAY 2599023 (DTX201) a pour but de rechercher une dose optimale en utilisant le vecteur AAVhu37 (101) (100). Celui-ci est constitué d'un transgène

FVIII humain optimisé pour les codons avec le domaine B remplacé par un lien SQ de 14 acides aminés (BDD-hFVIIIco-SQ) (100). Dans cet essai, réalisé en collaboration entre plusieurs pays dont la France, six patients sont répartis en trois cohortes de doses. Les trois groupes ont présentés une expression variable du FVIII qui s'est maintenue jusqu'à 16 mois. Les 2 patients de la cohorte ayant reçu la plus forte dose de 2×10^{13} copies de gène (gc) /kg ont présenté des taux en FVIII compris entre 12 et 72 UI/dL (99). Cependant la durabilité de l'expression ne peut pas être déterminée à ce jour en raison du court suivi. De plus, deux participants traités à forte dose ont présenté une élévation des enzymes hépatiques ALAT ce qui a nécessité l'administration de corticostéroïdes durant 6 mois (100) (101).

5.3.3 Résultats des essais Cliniques dans l'Hémophilie de type B

Pour l'hémophilie B de nombreux essais sont également en cours avec l'utilisation de vecteurs AAV. L'essai N°NCT00979238 parrainé par l'University College de London et le St.Jude Children's Research Hospital utilisant un vecteur scAAV 2/8-LP1-hFIXco (101), a été le premier à avoir de bons résultats au long terme (premier patient traité en 2009) (Tableau 22). Cependant les résultats montrent une diminution précoce des taux de FIX liée à une transaminite transitoire associée chez plusieurs patients à une réponse des lymphocytes T à la capsid virale (28). Cette dernière est stabilisée après un traitement par prednisolone dégressif. Dans la cohorte de six patients recevant la dose la plus élevée (2×10^{12} vg/kg), la moyenne du taux sanguin en FVIII était de 6,1% avec une plage de 2,89% à 7,2%. Une nouvelle étude utilisant un vecteur AAV-9 est sur le point de débiter (28).

L'étude de phase 2b de CSL Behring (N° : NCT03489291 (101)) ayant pour but de confirmer la dose de l'AAV5-hFIXco-Padua à administrer, a montré en 2019 que les trois hommes ayant reçu une dose de 2×10^{13} vg/kg, présentaient un taux sanguin moyen en facteur IX de 31% six semaines après traitement et de 47% après vingt-six semaines (avec une plage de 33% à 57%) sans traitement de prophylaxie supplémentaire. Aucun effet indésirable grave n'est survenu et aucun traitement stéroïdien n'a été instauré. Ces résultats s'appuient également sur l'étude N° : NCT02396342 (28).

Spark thérapeutique (Pfizer) avec son étude complétée de phase 2 N° NCT02484092 (101) (Tableau 22) utilisant une capsid AAV8 et une cassette d'expression hyperactive FIX-Padua a obtenue, pour une dose injectée de 5×10^{11} vg/kg, une activité moyenne après 52 semaines de 33,7% avec une plage de 14% à 81%, pour dix participants à l'étude en 2019. Aucun évènement indésirable n'a été relevé après l'injection de SPK-9001. Cependant 2 participants ont dû recevoir un traitement stéroïdien suite à l'augmentation asymptomatique des enzymes hépatiques. Suite aux bons résultats obtenus à l'aide de ce variant hyperactif Padua, de nombreux essais de thérapie génique concernant l'hémophilie de type B l'utilise (28).

Tableau 22 Résultats d'essais cliniques dans le traitement de l'hémophilie de type B (99),(101)

Exemple de résultats d'essais cliniques pour l'hémophilie de type B								
Laboratoire	Identification ClinicalTrials.gov	Phase	Nombre de patients	Dose de vecteur /kg	Expression à court terme (1-6mois)	1 an (UI/dL ou %)	> 2 ans (UI/dL ou %)	Durée et stabilité
UCL/ St Judes CRH	NCT00979238	1	6	2×10^{12}	1%,4-7,2%	Moyenne : 5,1%	NA	Expression stable sur 8 ans
Baxalta/ Takeda	NCT01687608	1-2	2	3×10^{12}	Niveau max moyens : 45,3 %F	NA	20% pour 1 patient	Expression transitoire à court terme et perte d'expression au long terme
UniQure BioPharma	NCT02396342	1-2	5	2×10^{13}	Moyenne : 6,9%	NA	7,4%	Expression stable sur 5 ans
UniQure Biopharma	NCT03489291	2b	3	2×10^{13}	Moyenne : 47%	NA	NA	Aucune donnée au long terme disponible
UniQure Biopharma	NCT03569891	3	54	2×10^{13}	Moyenne : 37,2% (12 et 72 UI/dL)	NA	NA	Aucune donnée au long terme disponible

Actuellement les essais cliniques de thérapie génique sont dans la plus grande majorité des cas réalisés dans l'hémisphère Nord. Ceux-ci se trouvent être dans diverses phases de développement que ce soit pour l'hémophilie de type A ou de type B. Ils montrent des

résultats très encourageant au niveau de la clinique *via* la diminution des saignements du fait de l'augmentation du taux de facteur FVIII ou FIX. Néanmoins les études en cours ainsi que les études pour les spécialités approuvées n'ont pas assez de recul pour faire la preuve d'une efficacité et d'une tolérance au long terme. Le taux en facteur VIII ou IX produit, ainsi que sa stabilité dans le temps après injection d'une même thérapeutique, est patient dépendant et ne peut pas être anticipée. La thérapie génique a donc de nombreux avantages mais a aussi des limites qui seront présentées ci-après.

5.4 Encadrement de la thérapie génique

Les traitements issus de la thérapie génique font partie des Médicaments de Thérapie Innovante (MTI). De ce fait, ils sont reconnus par la réglementation Européenne. Les spécialités de thérapie génique représentent une avancée significative dans le domaine des traitements et sont encouragés.

5.4.1 Désignation de médicaments orphelins

Pour aider la recherche et le développement de médicaments destinés aux traitements contre les maladies rares, les agences du médicament telles que l'Agence Européenne du Médicament (EMA) pour l'Europe et la Food and Drug Administration (FDA) pour les Etats-Unis ont mis en place le statut de médicaments orphelins (105). Ce statut est attribué à un médicament destiné à être utilisé dans le traitement d'une maladie rare afin d'inciter les laboratoires/entreprises à développer de tels candidats médicament. Les avantages sont nombreux, tels que l'assistance protocolaire, la possibilité de bénéficier d'un conseil scientifique (conseil sur les tests et études appropriés), l'obtention de réduction de frais et d'une garantie de protection contre la concurrence une fois le médicament sur le marché (105).

L'attribution de cette dénomination, par le comité des médicaments orphelins des agences du médicament (le COMP pour l'EMA), est donnée sur la base des activités potentielles des candidats médicaments en cours d'étude et repose sur 3 critères :

- La gravité de la maladie (mise en danger du patient ou chronicité débilante.)
- L'existence d'aucune méthode satisfaisante de diagnostic, de prévention ou de traitement, et / ou de traitement apportant un bénéfice significatif aux patients.

- La rareté de la maladie (la prévalence de la maladie dans l'UE ne doit pas dépasser 5 personnes sur 10 000 cas) ou le coût du traitement en question, généré lors de la commercialisation, ne permet pas de justifier l'investissement du développement (105).

Actuellement, le réseau Orphanet et le site de l'EMA enregistrent 29 médicaments à désignation « orpheline » pour l'hémophilie de type B et 32 pour l'hémophilie de type A (avec ou sans autorisation de mise sur le marché).

Les candidats médicaments et les spécialités de thérapie génique approuvées pour l'hémophilie de type A et B bénéficient de la désignation de médicaments orphelins. Cependant celle-ci ne garantit pas automatiquement une autorisation de mise sur le marché (AMM). Pour obtenir cette dernière, les industriels doivent démontrer la qualité, la sécurité et l'efficacité du médicament à travers les résultats des essais pré-cliniques et cliniques. L'AMM d'une spécialité faisant partie des MTI, implique une procédure centralisée, où l'AMM est obtenue dans l'ensemble des Etats membres de l'UE. Le dossier d'AMM est évalué par le Comité des Médicaments à Usage Humain, (CHMP), ainsi que le Committee for Advanced Therapies (CAT). (106)

Les essais cliniques en thérapie génique sont strictement encadrés sur le plan juridique, et le respect des bonnes pratiques cliniques est une obligation. Leur mise en place est exigeante et complexe avec une priorité absolue accordée à la sécurité des patients. C'est pour cette raison que chaque lancement d'essais cliniques nécessite préalablement l'avis favorable du Comité de Protection des Personnes (CPP) et de l'ANSM. La procédure « Fast Track 1 » du 15 octobre 2018 permet de réduire le délai d'instruction pour les MTI à 110 jours maximum.

L'essor des études cliniques en thérapie génique a suscité de nombreux questionnements éthiques en raison de la manipulation du génome humain. Le Comité Consultatif National d'Ethique a émis un avis favorable (Avis N°22 de décembre 1990) quant à l'utilisation de la thérapie génique somatique pour corriger des maladies monogéniques graves et plus spécifiquement héréditaires ou acquises (Avis N°36 de juin 1993) (107) (108). L'utilisation de vecteurs viraux destinés à être administrés à des embryons humains ainsi que la thérapie génique germinale sont strictement interdites. La thérapie génique germinale implique la

modification du génome des cellules germinales qui serait, de ce fait, transmis à la descendance. Ce comité met également en garde contre les potentielles dérives que pourrait entraîner une telle thérapeutique en laissant la porte ouverte à l'amélioration des caractéristiques physiques et psychiques de l'Homme. Il souligne l'importance d'une vigilance accrue dans la protection des données génétiques des patients (Avis N°124 d'avril 2013) (108) (109).

5.4.2 Spécialités approuvées dans le traitement de l'hémophilie

Actuellement il existe plusieurs médicaments de thérapie génique autorisés en Europe. Ils reposent sur le même principe d'un vecteur AAV véhiculant le gène codant le facteur absent. Parmi ceux-ci nous pouvons citer, le ROCTAVIAN® (Valoctogène roxaparvovec) (110) qui est une spécialité dédiée au traitement de l'hémophilie de type A, et l'HEMGENIX® (Etranacogène dezaparvovec) destiné aux patients atteints d'hémophilie de type B (111).

Traitement de l'hémophilie A

Le traitement de thérapie génique actuellement autorisé dans l'hémophilie de type A est le ROCTAVIAN®. Une dose correspond à 2×10^{13} génome du vecteur AAV5/mL (valoctogène roxaparvovec). Ce vecteur exprime la forme SQ dépourvue du domaine B du gène *FVIII* (hFVIII-SQ). Cette spécialité a obtenu la désignation de médicament orphelin le 21 mars 2016 et une autorisation de mise sur le marché conditionnelle le 24/08/2022 en Europe et aux Etats-Unis après de nombreuses péripéties (110) (112).

Une autorisation de mise sur le marché conditionnelle est accordée aux médicaments qui répondent à un besoin médical non satisfait pour traiter des maladies graves lorsque les avantages de leur utilisation sont supérieurs aux risques, en attendant des preuves supplémentaires. L'Agence Européenne du Médicament (EMA) examine chaque année les nouvelles données disponibles pour évaluer l'efficacité et la sécurité du traitement.

Le laboratoire BIOMARIN INTERNATIONAL LIMITED est le titulaire de l'AMM du Roctavian® dans la prophylaxie au long terme des saignements chez les patients atteints de formes sévères d'hémophilie A sans antécédent d'inhibiteurs de FVIII et sans anticorps contre le

vecteur AAV5 (94) (112). Cependant avant d’obtenir des résultats satisfaisants BIOMARIN INTERNATIONAL LIMITED a été contrainte de retirer sa demande d’AMM le 4 novembre 2020 pour ensuite la soumettre à nouveau. A cette époque, l’entreprise n’était pas en mesure de fournir la totalité des données demandées par l’Agence Européenne du médicament comme indiqué dans la lettre de retrait disponible sur le site de l’HAS (112)).

En raison du risque de toxicité hépatique (utilisation d’immunosuppresseurs chez 74% des patients lors des essais cliniques), le Roctavian® est contre-indiqué chez les patients ayant une infection hépatique active, aiguë ou chronique non contrôlée ou ayant une fibrose hépatique avancée ou une cirrhose. Les données disponibles n’excédant pas 3 ans post-administration, les équipes médicales n’ont qu’un faible recul concernant la stabilité des taux en FVIII et les potentiels effets indésirables.

Lors des essais clinique concernant le Roctavian®, (Tableau 23) les taux sanguin moyens en facteur FVIII des patients hémophiles par rapport aux patients sains étaient de 42% après 1 an, de 23% après 2 ans et de 15% après 3 ans (94). Des études sont actuellement en cours avec la même spécialité afin de suivre la potentielle décroissance des taux en FVIII sur le long terme. Lors des essais de phase 3, les patients traités par Roctavian® ont présenté très peu d’épisodes hémorragiques avec une moyenne de 2,6 saignements par an dont 0,8 saignements par an ayant nécessité un traitement d’appoint (94) (113). De même, 74% des patients traités n’ont présenté aucun saignement et 96% des patients n’ont pas eu besoin de reprendre un traitement prophylactique deux ans après l’injection (94) (113). Les patients traités par Roctavian seront régulièrement suivis par une équipe médicale. La commission de transparence recommande un dépistage de carcinome hépatocellulaire (CHC) semestriel incluant une échographie hépatique ainsi qu’une évaluation du taux en facteur VIII (112) (113).

Tableau 23 : Variation du taux de facteur VIII chez les personnes atteintes d’hémophilie A jusqu’à trois ans après le traitement ROCTAVIAN – WFH - (94)

Taux d’expression du FVIII ¹	Pourcentage de personnes atteintes d’hémophilie A sous ROCTAVIAN		
	Année 1 (n = 134)	Année 2 (n = 134)	Année 3 (n = 19)
0–3%	10%	15%	26%
3–5%	2%	10%	11%
5–15%	17%	34%	42%
15–40%	34%	26%	5%
> 40%	31%	13%	16%

Remarque : dans certains cas, les personnes atteignent des taux de facteur supranormaux > 150 %; ce qui nécessite une surveillance régulière.

Suite aux bons résultats cliniques et à son approbation, des directives concernant l'utilisation de la spécialité Roctavian® ont été établies dans le RCP validé. La thérapie est complexe et doit être initiée sous la supervision d'un médecin expérimenté dans l'hémophilie et dans un établissement médical adapté aux risques liés à la perfusion. La conservation du Roctavian® se fait à -60°C, à l'abri de la lumière, jusqu'à son utilisation. Avant administration, il doit être décongelé à température ambiante pendant au moins 2 heures. Une fois décongelé, il doit être utilisé dans un délai maximum de 10 heures, en incluant les 2 à 5 heures nécessaires pour la perfusion. Sa préparation doit être effectuée de façon aseptique par du personnel compétent vêtu d'un équipement de protection individuel approprié en raison du statut d'Organisme Génétiquement Modifié (OGM) de la spécialité. Du fait du risque hépatique observé lors des essais cliniques, les patients ayant un taux en enzymes ALAT augmenté doivent recevoir de la prednisone pendant au moins deux semaines. Une surveillance accrue de l'ensemble des patients est primordiale, lors de l'injection et après. Le RCP de la spécialité recommande un dosage hebdomadaire des enzymes hépatiques ALAT et ASAT ainsi qu'une évaluation du taux de FVIII hebdomadaire au cours des 26 premières semaines après l'injection puis toutes les 2 à 4 semaines jusqu'à la 52^{ème} semaine. Les patients ayant un taux en facteur FVIII supérieur à 5 UI/dL devront effectuer ces examens tous les 3 mois durant les 2 premières années. La fréquence des contrôles est augmentée dans le cas de patients présentant un taux en FVIII inférieur à 5 UI/dL ou en cas de persistance des saignements. Les examens s'espaceront par la suite à tous les 6 mois après la seconde année pour les patients dont le taux en FVIII est au-dessus de 5 UI/dL. Dans le cas contraire, la fréquence des dosages est augmentée en fonction des patients.

Chaque patient ayant reçu une injection de Roctavian® doit s'inscrire sur le registre de suivi des patients hémophiles pendant 15 ans afin d'obtenir les informations au long terme concernant l'efficacité du traitement et la sécurité des patients.

Avant d'arriver à cette thérapeutique satisfaisante pour les patients hémophile A, le chemin a été long. En effet, en raison de la grande taille du gène *FVIII*, l'élimination du domaine B s'est avérée nécessaire afin de pouvoir insérer dans leur entièreté les domaines fonctionnels de FVIII dans les vecteurs AVV.

Des études pré-cliniques et cliniques telles que l'étude N° 270-401 évaluant la sécurité et l'efficacité à long terme 5 ans après l'étude initiale, l'étude N°270-801 analysant rétrospectivement les cohortes de patients traités et les données des registres, et l'étude N°270-601 dédiée à la caractérisation du rapport bénéfice/risque au long terme, sont toujours en cours en vue du développement d'un traitement curatif actif en une seule administration. Les vecteurs AAV, pouvant avoir différentes capsides virales, sont les vecteurs viraux les plus fréquemment utilisés pour maintenir une expression de niveau élevé et sur le long terme des facteurs de la coagulation (90).

Traitement de l'hémophilie de type B

Le traitement actuellement autorisé en thérapie génique dans l'hémophilie de type B est l'HEMGENIX® qui correspond à 1×10^{13} copies de génome/mL. L'Etranacogène Dezaparvovec (HEMGENIX®) est constitué d'un vecteur AAV5 contenant l'ADNc à codons optimisés avec le gène variant R338L du facteur IX de coagulation, FIX-Padua (114). Cette spécialité, détenue par le laboratoire CSL BEHRING LLC, a obtenu la désignation orpheline le 21 mars 2018 puis une Autorisation de Mise sur le Marché Conditionnelle en Europe et aux Etats-Unis le 20 février 2023, renouvelée le 07 décembre 2023. Cette spécialité est indiquée pour les adultes atteints d'hémophilie B sévère et modérément sévère n'ayant pas développé d'inhibiteurs contre le facteur IX et ayant préalablement bénéficié d'examens biologiques vérifiant l'état de santé de leur foie (114). Ce traitement doit être injecté en une seule fois dans un établissement adapté sous la supervision d'un médecin expérimenté dans le traitement de l'hémophilie, avec une dose poids dépendant (111). Tout comme le Roctavian®, l'Hemgenix® a pour principal effet indésirable l'augmentation des enzymes hépatiques ALAT et ASAT. C'est pourquoi il est contre indiqué chez les patients atteints d'une fibrose hépatique avancée ou d'une cirrhose. Afin d'assurer la sécurité des patients, un suivi régulier est nécessaire avec des examens médicaux mesurant le taux en enzymes hépatiques et le taux en facteur FIX de coagulation (Tableau 24). Dans le cas où le taux en facteur IX est inférieure à 5% ou dans le cas de persistance ou réapparition des saignements, la fréquence des consultations médicales est augmentée (114). Dans le cas d'une augmentation des enzymes hépatique ALAT dans les 3 mois post-injection un traitement par prednisone ou prednisolone doit être apporté jusqu'à un retour à la norme.

Tableau 24 : Suivi minimum recommandé en cas de thérapie génique selon la FMH (97)

Fréquence des consultations post-administration de l’Hemgénix®	
Semaines 1 à 12	Hebdomadaire
Semaines 13 à 52	Trimestriel
Année 2	Tous les 6 mois
Année 3 +	Une fois par an

L’efficacité de l’Hemgénix® a été montrée lors des essais cliniques de phase 3 avec notamment l’absence d’apparition de saignement chez 64% des patients traités et une moyenne de 1,1 saignements par an dont 0,8 saignements par an ayant nécessité un traitement complémentaire (97). Sur la période de 2 ans décrite dans les documents de l’Agence Européenne du Médicament, il est mentionné que pour 96% des patients le traitement a été efficace. Ils n’ont pas eu à reprendre de traitement prophylactique 2 ans après le traitement. De plus, les taux moyens en facteur IX obtenus dans le temps sont de 42% après 1 an et 37% après 1 an et demi et 2 ans post-injection.

Tous les patients ayant eu recours à l’Hemgénix® doivent être suivis dans une étude pendant 15 ans afin d’évaluer l’efficacité et la sécurité au long terme (Tableau 24).

Malgré son AMM l’Hemgénix® s’est vu refusé sa demande d’accès précoce par la HAS le 25 mai 2023 car les critères énoncés dans l’article L.5121-12 du code de la santé publique ne sont pas remplis. Effectivement, il a été considéré qu’il existe déjà des traitements appropriés dans l’indication déposée (« Traitement de l’hémophilie B sévère et modérément sévère chez les patients adultes sans antécédents d’inhibiteur du facteur IX »), notamment avec l’apport des concentrés recombinants de facteur IX de durée de vie prolongées qui permettent d’espacer les injections en maintenant une prophylaxie efficace au long terme (Alprolix® et Idelvion®).

Le BEQVEZ® (Fidanacogene Elaparvovec) était un médicament à désignation orpheline (accord donné le 19 novembre 2018 par la commission européenne) qui a été retiré du registre de l’Union des Médicaments Orphelins en décembre 2023 à la demande du promoteur. Les patients traités ont eu en moyenne 2,2 saignements par an, dont 0,8 saignements nécessitant un traitement par prophylaxie et 64% des patients traités n’ont présentés aucun saignement (97). Deux ans après le traitement 100% des patients de l’essai clinique n’ont pas eu besoin

de reprendre un traitement par prophylaxie. Pour le BEQVEZ[®], les taux en facteur IX sont moins élevés qu'avec le traitement à l'HEMGENIX[®] mais sont néanmoins stables dans le temps avec un taux en facteur IX de 28% après 6 mois, de 28% après 15 mois et de 25% après 24 mois.

Des études concernant ces deux spécialités sont en cours afin d'étudier la stabilité dans le temps du FIX (97). Malheureusement pour l'instant le BEQVEZ[®] n'a plus de désignation de médicament orphelin.

5.5 Bénéfices de la thérapie génique

La thérapie génique pour les patients hémophiles présente de multiples avantages et se révèle d'une grande efficacité. Tout d'abord sur le plan clinique, une seule injection permet une diminution des saignements grâce à une augmentation stable et durable du taux de production en facteur de la coagulation VIII ou IX. Cette diminution d'évènements hémorragiques offre également une protection contre les complications clinique, notamment l'hémarthrose. Les patients ayant eu recours à cette thérapeutique n'ont plus la nécessité de recourir aux traitements conventionnels en complément, que ce soit en prophylaxie ou à la demande. Récemment George *et al.* (95) ont réalisé une appendicectomie et une discectomie lombaire chez des patients hémophiles B ayant été traités par Fidanacogene Elaparvove. Celles-ci se sont déroulées sans incident et n'ont pas nécessité d'administration supplémentaire de FIX exogène (99). De plus ces avantages cliniques contribuent à diminuer la morbidité des patients atteints d'hémophilie sévère et à améliorer leur qualité de vie. En effet, ceux-ci n'ont plus besoin de recevoir de nouvelles injections de traitement, ils peuvent avoir une vie professionnelle sans un absentéisme dû aux consultations médicales et peuvent participer à des activités jusqu'à présent déconseillées (99).

D'un point de vue économique la thérapie génique peut être rentable en réduisant le besoin de traitements traditionnels coûteux sur le long terme.

Des recherches approfondies sont néanmoins à mener afin de déterminer l'impact potentiel de la thérapie génique sur la qualité de vie des patients hémophiles et d'établir une comparaison avec les traitements traditionnels.

5.6 Les limites de la thérapie génique

Le traitement par thérapie génique a cependant certaines limites, que ce soit tant au niveau physiologique que psychologique. Malgré l'allègement du nombre d'injections les patients ayant eu recours à la thérapie génique doivent se rendre très fréquemment à des visites médicales lors des 2 premières années avec des examens médicaux. De plus, la non connaissance de la durabilité de l'expression du transgène et donc de la présence d'un taux suffisant en facteur de coagulation pose également un problème. Effectivement, un patient hémophile de type A ou de type B n'ayant plus aucune problématique hémorragique depuis plusieurs années pourrait un jour voir son taux en facteur diminuer en dessous du seuil de normalité. Dans ce cas le patient serait face à un échec thérapeutique sans pouvoir (à l'heure actuelle) bénéficier d'une seconde injection. De même un soutien psychologique des patients traités par thérapie génique est essentiel. En effet, les patients hémophiles une fois libérés des contraintes liées à leur maladie peuvent éprouver un sentiment de perte d'identité en tant que personne hémophile, et ressentir une exclusion de la communauté des hémophiles. Ce sentiment pourrait avoir un impact négatif sur les résultats de la thérapie génique.

Outre l'aspect psychologique, le traitement par thérapie génique peut entraîner des effets secondaires notamment en raison de l'utilisation de vecteurs AAV. Cela peut provoquer l'apparition d'une réponse immunitaire innée suivi d'une réponse immunitaire adaptative conduisant au développement d'anticorps neutralisants chez tous les individus au long terme. Ce risque de développer une réponse immunitaire dépend de la dose et du type de vecteur utilisé. Cette réponse peut entraîner une perte d'expression du facteur de coagulation si aucun traitement par immunosuppresseurs n'est pratiqué. Des réponses cytotoxiques des lymphocytes T dirigés contre la capsid du vecteur, dépendant de la dose administrée, peuvent également survenir chez 30 à 60% des patients (99). De plus, la présence d'anticorps neutralisants préexistants contre l'AAV sont largement répandus dans la population générale (notamment contre l'AAV5 et l'AAV8), avec un degré élevé de réactivité croisée. Bien qu'il existe des tests de dépistage pour ces anticorps, ceux-ci ne sont pas standardisés. La présence d'anticorps anti-vecteur est un critère d'exclusion à la thérapeutique (93).

Les études cliniques ont révélé un risque d'augmentation des enzymes hépatiques entraînant une toxicité hépatique. De ce fait, tous les patients hémophiles ne peuvent bénéficier de cette thérapeutique. Pour pallier aux diverses problématiques hépatiques, un traitement par immunosuppresseurs doit souvent être administré aux patients directement après injection du traitement ce qui constitue un inconvénient majeur. En plus de la réponse immunologique, la production non physiologique de FVIII dans les hépatocytes peut provoquer un stress cellulaire. Une quantité élevée en capsid virale peut également expliquer le phénomène de mort des cellules hépatique et donc l'hépatotoxicité (93) .

En plus de la grande variabilité d'expression des transgènes (pouvant aller de 0 à > 200 UI/dL), due à la variabilité des cassettes d'expression, les réactions immunitaire (anti-capsid ou anti-transgène) conduisent à une perte de l'expression des FVIII et FIX, empêchant donc la garantie du maintien de celle-ci après plusieurs années post-injection (99). De plus, le manque d'études au long terme ne permet pas d'évaluer le risque de développement de tumeurs malignes. Bien que les rAAV restent principalement épisomiques après la transduction hépatique, des recherches plus approfondies sont nécessaires pour évaluer le risque d'intégration du génome viral dans le génome de l'hôte (99). Des essais précliniques chez la souris ont montré que l'injection d'AAV pouvait entraîner le développement d'un carcinome hépatocellulaire (CHC) chez 33% des animaux (99). D'autres menées chez le chien ont montré une intégration du transgène principalement dans des régions intergéniques et n'ont pas entraîné de tumeur. Il est cependant important de noter qu'aucun des quatre patients traités il y a 12 et 15 ans avec une thérapie génique à base d'AAV2 n'a développé de carcinome hépatocellulaire (99). Les résultats à long terme des études de phase 3 en cours sont néanmoins nécessaires pour prouver la sécurité des patients avant que les traitements par thérapie génique puissent devenir largement disponibles.

Les bénéfices de la thérapie génique sont grands mais tous les patients hémophiles ne sont pas éligibles à ce traitement. En raison des divers effets secondaires, les patients ayant des anticorps anti-AAV préexistants, des inhibiteurs (anticorps anti-FVIII/FIX), des pathologies hépatiques, ainsi que les enfants et les patients ayant une comorbidité sévère ne pourront pas bénéficier de cette nouvelle thérapeutique. (93) (99)

Un autre aspect à considérer est le risque de perte de vue des patients. En effet, grâce à l'efficacité à long terme de la thérapie génique, les patients n'auront plus besoin de nouvelles injections. Dans ce contexte, comment garantir que les patients continueront à suivre avec rigueur les contrôles médicaux même après plusieurs années. Il est donc crucial de sensibiliser les patients sur l'importance du suivi rapproché des consultations, de la prise en charge pluridisciplinaire ainsi qu'aux risques au long terme malgré l'absence de symptômes (99).

Les études de thérapie génique sont majoritairement réalisées dans les pays Européens, aux Etats-Unis et en Asie dans les centres disposant d'une expertise et de financements. De plus, le coût pour une seule injection de traitement est très important (de l'ordre de million d'euros) et n'est donc, malheureusement pas accessible à tous les patients dans le monde (99).

6 PROBLEMATIQUE DE SANTE PUBLIQUE

6.1 Prix et accessibilité à tous

Dans l'Union Européenne, après l'obtention de l'AMM, la fixation du prix et du taux de remboursement à lieu au niveau national. En France, le détenteur de l'AMM soumet une demande d'évaluation *via* un dossier de transparence à l'HAS. Après analyse du dossier et des données disponibles, la commission de transparence de la HAS va émettre deux avis médico-économiques. Un avis concernant le service médical rendu (SMR) qui va conditionner le taux de remboursement. Le SMR est divisé en 4 niveaux : important, modéré, faible et insuffisant (115). La catégorisation du médicament évalué est fonction de la gravité de la maladie, de l'efficacité du traitement, des effets indésirables, de la place de la spécialité dans la stratégie thérapeutique de la maladie, du caractère préventif, curatif ou symptomatique du traitement et son intérêt pour la santé publique (115) (116). Les informations sont par la suite transmises à l'Union Nationale des Caisses de l'Assurance Maladie (UNCAM) qui va fixer le taux de remboursement. Si le niveau de SMR est important le remboursement se fera à hauteur de 65%, s'il est modéré il se fera à 30% et 15% si le niveau est faible. Dans le cas où le service médical rendu est jugé insuffisant, aucun remboursement ne sera octroyé. Cependant en cas de traitement irremplaçable et coûteux ou lors d'affections de longue durée ou de maladies graves, un remboursement de 100% sera possible *via* des mécanismes spécifiques. Le SMR d'un médicament est une évaluation à un moment donné du médicament et peut être modifié

(116). Le second avis posé par la Commission de Transparence de la HAS est l'Amélioration du Service Médical Rendu (ASMR) apporté par la spécialité et qui permet de fixer le prix. L'ASMR correspond au progrès thérapeutique apporté par le médicament et est divisée en cinq niveaux, le cinquième niveau correspondant à l'absence de progrès apporté par rapport au traitement de référence, le prix octroyé sera inférieur au prix du traitement comparateur et devra générer des économies. Le rapport d'information sera transmis au Comité Economique des Produits de Santé (CEPS) en charge de fixer les prix.

Les traitements en thérapie génique sont connus pour être onéreux. Prenons pour exemple l'Hemgenix utilisé pour traiter l'hémophilie B sévère. Ce médicament est actuellement considéré comme un des plus cher au monde avec un prix fixé à 3 500 000\$ par le laboratoire. L'entreprise justifie ce coût par les économies réalisées par rapport aux traitements prophylactiques plutôt qu'en fonction des coûts de fabrication et de recherches (117). En France, après l'obtention de l'AMM, l'Hemgénix a obtenu une évaluation SMR « important » pour son indication thérapeutique comme décrit dans l'AMM et un ASMR de niveau IV par rapport à la prophylaxie par concentré de facteur IX (118). Le faible niveau d'ASMR a été justifié, entre autres, par la Commission de Transparence pour les raisons suivantes :

- Une surestimation du bénéfice observé. Le faible nombre de patients inclus dans les études cliniques et une prophylaxie préalable des patients par FIX potentiellement non optimisée.
- Absence de preuve sur le maintien d'efficacité à long terme. Seul trois patients ont été suivis 3 ans post-injection.
- Questions sur la tolérance au traitement (111).

En plus de ces deux évaluations médicales, l'Hemgénix a reçu un avis économique de la commission d'évaluation économique et de santé publique (CEESP) le 6 février 2024. Cette commission a conclu qu'au prix revendiqué par l'industriel pour une injection, les dépenses générées augmenteraient de 63% sur 5 ans.

En 2004, en France, le montant moyen annuel de remboursement par l'Assurance Maladie pour un patient hémophile ou atteint d'affection de l'hémostase est de 26 464 € (119). Sans atteindre le niveau stratosphérique du tarif appliqué aux États-Unis, il s'agit néanmoins de l'affection longue Durée (ALD) la plus coûteuse du tableau de l'Assurance Maladie en 2004

(117) (119). Le coût de l'Hemgénix en Europe, bien que légèrement inférieur à celui des Etats Unis reste extrêmement élevé avec une approximation de 2,5 millions d'euros. Outre le prix exorbitant du traitement, il est crucial de prendre en compte les coûts des traitements annexes. En effet, la prise en charge des patients hémophiles est multidimensionnelle incluant des soins en kinésiologie, psychologie mais également des interventions en cas d'hospitalisation d'urgence. De plus, la durée de l'efficacité à long terme de l'Hemgénix n'étant pas encore démontrée, un retour à un traitement prophylactique et donc à un cout déjà élevé pourrait être nécessaire après plusieurs années post-injection (117).

Concernant le Roctavian dans le traitement de l'hémophilie de type A, après l'obtention de l'AMM, la commission de Transparence a attribué au Roctavian un SMR « important » pour l'indication selon l'AMM. Cependant, elle a évalué son ASMR à un niveau V, indiquant une absence d'amélioration du service rendu par rapport au traitement de référence tels que les concentrés de FVIII et l'emicizumab (112). De plus, la CEESP a conclu que l'analyse économique basée sur les années de vie gagnées ajustée par la qualité de vie est invalidée (112). Ce traitement, bien qu'innovant, ne présente donc pas de supériorité économique claire par rapport aux alternatives existantes. Le coût du Roctavian est également significativement élevé, estimé à environ 500 000 \$.

De façon plus générale, le coût des traitements par thérapie génique est particulièrement élevé. Les industriels justifient ces prix en mettant en avant le caractère « transformant » qu'ils offrent dans la vie des patients ainsi que les coûts élevés de la recherche et de la production, l'étroitesse du marché et la nécessité de promouvoir et récompenser l'innovation (120).

Cependant, cette situation restreint l'accès à des thérapeutiques innovantes et efficaces. Non seulement l'indication limitée de l'AMM restreint l'accès au traitement mais souvent le prix indécemment élevé du traitement rend également leur accessibilité difficile. De plus, seuls les centres hospitaliers experts peuvent administrer de telles spécialités ce qui crée une autre barrière à l'accessibilité au traitement.

Cette inégalité dans l'accès aux soins se creuse, laissant seulement les plus chanceux capables d'obtenir un traitement efficace qui améliore leur qualité de vie de manière significative. Il est

crucial de trouver des solutions pour rendre ces thérapies plus accessibles afin que tous les patients ayant besoin puissent bénéficier de ces avancées médicales prometteuses.

CONCLUSION

L'hémophilie, maladie hémorragique génétique, a toujours représenté un défi thérapeutique considérable. Malgré les progrès notables dans la prise en charge de cette pathologie, la recherche du traitement optimal est toujours en cours. Actuellement, les traitements prophylactiques et sur demande avec des concentrés de facteur VIII ou IX sont efficaces pour prévenir les hémorragies. Cependant, ces traitements nécessitent des injections fréquentes en raison de la courte durée de vie des facteurs dans la circulation sanguine, ce qui affecte la qualité de vie des patients. Ces derniers doivent adapter leur quotidien en fonction des injections intraveineuses et des multiples rendez-vous médicaux nécessaires à leur suivi.

Les facteurs recombinants à demi-vie prolongée ont significativement amélioré cette situation. Cependant, l'apparition d'auto-anticorps dirigés contre le facteur VIII ou IX, connus sous le nom d'inhibiteurs, chez un nombre significatif de patients atteints de HA sévère ou HB sévère complique la gestion thérapeutique. Ces inhibiteurs représentent une complication sérieuse des traitements conventionnels, rendant ceux-ci inefficaces pour certains patients

A l'heure actuelle peu de solutions ont été développées pour neutraliser ces inhibiteurs. L'effet de ces inhibiteurs peut néanmoins être court-circuité *via* de nouveaux traitements non substitutifs, les agents de contournement. Le Feiba® (concentré du complexe prothrombique activé d'origine plasmatique) et le Novoseven® (Eptacog activé d'origine recombinante : rFVIIa) sont deux spécialités qui induisent une activité coagulante et sont compatibles avec la présence d'inhibiteurs. En raison de leurs effets indésirables, ces deux médicaments sont donnés au cas par cas sur avis du Centre de Référence ou d'un CRC-MHR sans alternative thérapeutique équivalente.

L'introduction de l'Emicizumab (Hemlibra®), un anticorps monoclonal humanisé pour le traitement de l'hémophilie A sévère avec inhibiteurs, représente une avancée majeure. Grâce à son mécanisme d'action innovant qui mime la fonction du facteur VIII sans en partager la structure, et à son mode d'administration sous-cutané, l'Emicizumab a permis une

amélioration significative de la qualité de vie des patients en réduisant l'anxiété liée aux injections.

Ce panel thérapeutique a permis d'adapter la prise en charge en fonction des patients mais la présence d'inhibiteurs reste à solutionner. L'induction de la tolérance immune (ITI) reste une option pour certains patients afin de neutraliser ces inhibiteurs. Toutefois, l'ITI est un traitement lourd, contraignant et coûteux, et son mécanisme d'action reste encore mal compris. L'exposition répétée à de fortes doses de facteur VIII ou IX semble induire une tolérance immunitaire, mais cette approche nécessite des études supplémentaires pour en optimiser l'efficacité et en réduire les effets secondaires.

La recherche continue également sur les anticorps monoclonaux anti-inhibiteurs de la voie du facteur tissulaire, (Concizumab et Marstacimab) (91). Ces candidats médicaments essaient d'éliminer les auto-anticorps anti-FVIII et anti-FIX.

Malgré ces avancées, la gestion des inhibiteurs demeure un défi non résolu. La recherche visant à améliorer le traitement des patients hémophiles, tant en ce qui concerne la prévention des événements hémorragiques que l'amélioration de leur qualité de vie, est en pleine expansion. Dans ce cadre, les progrès récents en thérapie génique offrent une perspective prometteuse. Les essais cliniques ont montré des résultats encourageants avec une élévation durable des taux de facteur VIII et IX après une seule injection, ce qui pourrait potentiellement éliminer la nécessité des injections prophylactiques régulières. Néanmoins le manque de données au long terme, les essais cliniques établis sur des cohortes de patients réduites et non représentatives de la totalité de la population de patients hémophiles ne permettent pas d'affirmer que ces nouveaux traitements vont remplacer les traitements de références. Les deux AMM conditionnelles attribuées aux deux spécialités de thérapie génique sont particulièrement encourageantes.

Actuellement, l'administration des thérapies géniques approuvées est limitée aux patients répondant à des critères d'éligibilité stricts, notamment ceux sans inhibiteurs, sans réponse immunitaire anti-AAV, et avec une fonction hépatique saine. De plus, le coût élevé de ces traitements et les critères stricts d'éligibilité restreignent également l'accès à ces nouvelles thérapies. Comme dans d'autres maladies les nouveaux traitements pouvant sauver des vies, ou réduire les effets indésirables des traitements conventionnels sont souvent réservés qu'aux patients qui en ont les moyens.

Néanmoins, des études cliniques et pré-cliniques continuent dans le but de proposer une solution au long terme et d'offrir une meilleure qualité de vie aux patients. Dans ce cadre de nouveaux transgènes administrables à l'ensemble de la population hémophile, y compris la population pédiatrique sont en cours de développement. L'ingénierie des cassettes d'expression avec les virus adéno-associés est en plein essor offrant l'espoir d'un futur sans injections régulières pour les patients hémophiles.

Une autre méthode, plus controversée d'un point de vue éthique et sécuritaire, l'édition génomique ciblée pourrait être une alternative dans le but de corriger les mutations génétiques au niveau du génome via des cassures double brin de l'ADN avec des nucléases (nucléases à doigts de zinc, l'utilisation du système CRISPR). Cette solution n'étant actuellement pas acceptable a été stoppée (121).

En conclusion, bien que des avancées significatives aient été réalisées dans le traitement de l'hémophilie, de nombreux défis subsistent. La poursuite de la recherche et du développement de nouvelles thérapies est essentielle pour améliorer la qualité de vie des patients et leur offrir des traitements plus efficaces et accessibles. La collaboration entre chercheurs, cliniciens et décideurs politiques sera cruciale pour surmonter les obstacles actuels et garantir un avenir meilleur pour les patients atteints d'hémophilie.

BIBLIOGRAPHIE

1. Gale AJ. Current Understanding of Hemostasis. *Toxicol Pathol.* 2011;39(1):273-80.
2. Versteeg HH, Heemskerk JWM, Levi M, Reitsma PH. New Fundamentals in Hemostasis. *Physiol Rev.* janv 2013;93(1):327-58.
3. Zucker-Franklin D, Philipp CS. Platelet Production in the Pulmonary Capillary Bed. *Am J Pathol.* juill 2000;157(1):69-74.
4. Jackson SP. The growing complexity of platelet aggregation. *Blood.* 15 juin 2007;109(12):5087-95.
5. Ruggeri ZM, Mendolicchio GL. Adhesion Mechanisms in Platelet Function. *Circ Res.* 22 juin 2007;100(12):1673-85.
6. Luo BH, Springer TA. Integrin structures and conformational signaling. *Curr Opin Cell Biol.* oct 2006;18(5):579-86.
7. Kahn M, Zheng YW, Huang W, Bigornia V, DW Z, Moff S, et al. A dual thrombin receptor system for platelet activation. *Nature.* 1 sept 1998;394:690-4.
8. Siediecki C, Lestini B, Kottke-Marchant K, Eppell S, Wilson D, Marchant R. Shear-dependent changes in the three-dimensional structure of human von Willebrand factor. *Blood.* 15 oct 1996;88(8):2939-50.
9. Falati S, Gross P, Merrill-Skoloff G, Furie BC, Furie B. Real-time in vivo imaging of platelets, tissue factor and fibrin during arterial thrombus formation in the mouse. *Nat Med.* oct 2002;8(10):1175-80.
10. Dahlbäck B. Blood coagulation. *The Lancet.* 6 mai 2000;355(9215):1627-32.
11. Esmon C, Owen W. Identification of an endothelial cell cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *Proc Natl Acad Sci.* avr 1981;78(4):2249-52.
12. Rau JC, Beaulieu LM, Huntington JA, Church FC. Serpins in thrombosis, hemostasis and fibrinolysis. *J Thromb Haemost.* 2007;5(s1):102-15.
13. MHEMO [Internet]. [cité 23 oct 2023]. Physiologie de l'hémostase. Disponible sur: <https://mhemmo.fr/les-pathologies/physiologie-de-lhemostase/>
14. Urofrance | [Internet]. [cité 1 nov 2023]. Disponible sur: <https://www.urofrance.org/>
15. O'Connor SD, Taylor AJ, Williams EC, Winter TC. Coagulation Concepts Update. *Am J Roentgenol.* déc 2009;193(6):1656-64.
16. Schramm W. The history of haemophilia – a short review. *Thromb Res.* 1 nov 2014;134:S4-9.
17. Ingram GI. The history of haemophilia. *J Clin Pathol.* juin 1976;29(6):469-79.
18. Barin F. La sécurité virale des médicaments d'origine biologique. *Ann Pharm Fr.* juin 2008;66(3):129-39.
19. Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, Kitchen S, Sutherland M, Pipe SW, et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia.* août 2020;26(S6):1-158.
20. MHEMO [Internet]. [cité 1 nov 2023]. L'hémophilie. Disponible sur: <https://mhemmo.fr/les-pathologies/lhemophilie/>

21. Tomeo F, Mariz S, Brunetta AL, Stoyanova-Beninska V, Penttila K, Magrelli A. Haemophilia, state of the art and new therapeutic opportunities, a regulatory perspective. *Br J Clin Pharmacol*. 2021;87(11):4183-96.
22. PNDS [Internet]. CRH. [cité 30 avr 2024]. Disponible sur: <https://www.hemophilie-crh.fr/professionnels-de-sante/ressources-recommandations-pnds-videos-publications/pnds/>
23. RESERVES IUTD. Orphanet: Hémophilie [Internet]. [cité 23 oct 2023]. Disponible sur: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=448
24. Le Rapport du Sondage mondial annuel 2022 [Internet]. eLearning Platform. [cité 29 avr 2024]. Disponible sur: <https://elearning.wfh.org/fr/resource/le-rapport-du-sondage-mondial-annuel-2022/>
25. Lenting PJ, van Mourik JA, Mertens K. The Life Cycle of Coagulation Factor VIII in View of Its Structure and Function. *Blood*. 1 déc 1998;92(11):3983-96.
26. Shen BW, Spiegel PC, Chang CH, Huh JW, Lee JS, Kim J, et al. The tertiary structure and domain organization of coagulation factor VIII. *Blood*. 1 févr 2008;111(3):1240-7.
27. Chavali S, Mahajan A, Ghosh S, Mondal B, Bharadwaj D. Protein molecular function influences mutation rates in human genetic diseases with allelic heterogeneity. *Biochem Biophys Res Commun*. 16 août 2011;412:716-22.
28. Perrin GQ, Herzog RW, Markusic DM. Update on clinical gene therapy for hemophilia. *Blood*. 31 janv 2019;133(5):407-14.
29. Jacquemin M, Neyrinck A, Hermanns MI, Lavend'homme R, Rega F, Saint-Remy JM, et al. FVIII production by human lung microvascular endothelial cells. *Blood*. 15 juill 2006;108(2):515-7.
30. Fahs SA, Hille MT, Shi Q, Weiler H, Montgomery RR. A conditional knockout mouse model reveals endothelial cells as the principal and possibly exclusive source of plasma factor VIII. *Blood*. 12 juin 2014;123(24):3706-13.
31. Shahani T, Lavend'homme R, Luttun A, Saint-Remy JM, Peerlinck K, Jacquemin M. Activation of human endothelial cells from specific vascular beds induces the release of a FVIII storage pool. *Blood*. 10 juin 2010;115(23):4902-9.
32. Bolton-Maggs PH, Pasi KJ. Haemophilias A and B. *The Lancet*. 24 mai 2003;361(9371):1801-9.
33. MHEMO [Internet]. [cité 30 avr 2024]. La Cohorte FranceCoag. Disponible sur: <https://mhemo.fr/la-filiere-mhemo/le-reseau-francecoag/la-cohorte-francecoag/>
34. Payne AB, Miller CH, Kelly FM, Michael Soucie J, Craig Hooper W. The CDC Hemophilia A Mutation Project (CHAMP) Mutation List: A New Online Resource. *Hum Mutat*. 2013;34(2):E2382-92.
35. Arbres décisionnels • ANPGM [Internet]. [cité 2 déc 2023]. Disponible sur: <https://anpgm.fr/arbres-d%C3%A9cisionnels/>
36. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. 2023 [cité 30 avr 2024]. CHAMP | Hemophilia | CDC. Disponible sur: <https://www.cdc.gov/ncbddd/hemophilia/champs.html>
37. Pai M. Acquired Hemophilia A. *Hematol Oncol Clin North Am*. déc 2021;35(6):1131-42.
38. Shen G, Gao M, Cao Q, Li W. The Molecular Basis of FIX Deficiency in Hemophilia B. *Int J Mol Sci*. janv 2022;23(5):2762.

39. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 8 nov 2023]. Accueil du nouveau-né en salle de naissance. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_2820763/fr/accueil-du-nouveau-ne-en-salle-de-naissance
40. Réseau FranceCoag - Documents à télécharger - Rapports annuels (publics) [Internet]. [cité 29 avr 2024]. Disponible sur: https://www.francecoag.org/SiteWebPublic/html/rapports_annuels.html
41. Kitchen S, Careta F de P, Tagny CT, Toulon P, Pierce GF, Srivastava A. DIAGNOSTIC ET CONTRÔLE EN LABORATOIRE.
42. Diagnosis of Hemophilia and Other Bleeding Disorders: A Laboratory Manual [Internet]. eLearning Platform. [cité 30 avr 2024]. Disponible sur: <https://elearning.wfh.org/resource/diagnosis-of-hemophilia-and-other-bleeding-disorders-a-laboratory-manual/>
43. Potgieter JJ, Damgaard M, Hillarp A. One-stage vs. chromogenic assays in haemophilia A. *Eur J Haematol.* févr 2015;94 Suppl 77:38-44.
44. Powell JS, Josephson NC, Quon D, Ragni MV, Cheng G, Li E, et al. Safety and prolonged activity of recombinant factor VIII Fc fusion protein in hemophilia A patients. *Blood.* 29 mars 2012;119(13):3031-7.
45. Balkaransingh P, Young G. Novel therapies and current clinical progress in hemophilia A. *Ther Adv Hematol.* 1 févr 2018;9(2):49-61.
46. Jiménez-Yuste V, Auerswald G, Benson G, Lambert T, Morfini M, Remor E, et al. Achieving and maintaining an optimal trough level for prophylaxis in haemophilia: the past, the present and the future. *Blood Transfus.* juill 2014;12(3):314-9.
47. Peyvandi F, Garagiola I, Young G. The past and future of haemophilia: diagnosis, treatments, and its complications. *The Lancet.* juill 2016;388(10040):187-97.
48. Manco-Johnson MJ, Lundin B, Funk S, Peterfy C, Raunig D, Werk M, et al. Effect of late prophylaxis in hemophilia on joint status: a randomized trial. *J Thromb Haemost.* 1 nov 2017;15(11):2115-24.
49. Les traitements des pathologies hémorragiques [Internet]. CRH. [cité 3 mars 2024]. Disponible sur: <https://www.hemophilie-crh.fr/les-traitements-des-pathologies-hemorragiques/>
50. MHEMO [Internet]. [cité 24 févr 2024]. Quel médicament pour quelle pathologie ? Disponible sur: <https://mhemo.fr/les-traitements/les-medicaments-anti-hemorragiques/quel-medicament-pour-quelle-pathologie/>
51. Graf L. Extended Half-Life Factor VIII and Factor IX Preparations. *Transfus Med Hemotherapy.* 2018;45(2):86-91.
52. Arruda VR, Doshi BS, Samelson-Jones BJ. Novel approaches to hemophilia therapy: successes and challenges. *Blood.* 23 nov 2017;130(21):2251-6.
53. Gouw SC, van den Berg HM, Oldenburg J, Astermark J, de Groot PG, Margaglione M, et al. *Type de mutation du gène F8 et développement d'inhibiteurs chez les patients atteints d'hémophilie A sévère : revue systématique et méta-analyse.* *Blood.* 22 mars 2012;119(12):2922-34.
54. Shima M, Lillicrap D, Kruse-Jarres R. Alternative therapies for the management of inhibitors. *Haemophilia.* 2016;22(S5):36-41.

55. Calvez T, Chambost H, d'Oiron R, Dalibard V, Demiguel V, Doncarli A, et al. Analyses of the FranceCoag cohort support differences in immunogenicity among one plasma-derived and two recombinant factor VIII brands in boys with severe hemophilia A. *Haematologica*. janv 2018;103(1):179-89.
56. Peyvandi F, Mannucci PM, Garagiola I, El-Beshlawy A, Elalfy M, Ramanan V, et al. A Randomized Trial of Factor VIII and Neutralizing Antibodies in Hemophilia A. *N Engl J Med*. 26 mai 2016;374(21):2054-64.
57. Berntorp E, Shapiro A, Astermark J, Blanchette VS, Collins PW, Dimichele D, et al. Inhibitor treatment in haemophilias A and B: summary statement for the 2006 international consensus conference. *Haemophilia*. 2006;12(s6):1-7.
58. Oldenburg J, Mahlangu JN, Kim B, Schmitt C, Callaghan MU, Young G, et al. Efficacy of Emicizumab Prophylaxis in Hemophilia A with Inhibitors. *N Engl J Med*. 31 août 2017;377(9):809-18.
59. Franchini M, Mannucci PM. Non-factor replacement therapy for haemophilia: a current update. *Blood Transfus*. sept 2018;16(5):457-61.
60. Collins PW, Palmer BP, Chalmers EA, Hart DP, Liesner R, Rangarajan S, et al. Factor VIII brand and the incidence of factor VIII inhibitors in previously untreated UK children with severe hemophilia A, 2000-2011. *Blood*. 27 nov 2014;124(23):3389-97.
61. Franchini M, Santoro C, Coppola A. Inhibitor incidence in previously untreated patients with severe haemophilia B: a systematic literature review. *Thromb Haemost*. janv 2016;116(07):201-3.
62. Kempton CL, Meeks SL. Toward optimal therapy for inhibitors in hemophilia. *Blood*. 27 nov 2014;124(23):3365-72.
63. Schep SJ, Schutgens REG, Fischer K, Boes ML. Review of immune tolerance induction in hemophilia A. *Blood Rev*. 1 juill 2018;32(4):326-38.
64. Role of anti-idiotypic antibodies in immune tolerance induction - GILLES - 2010 - Haemophilia - Wiley Online Library [Internet]. [cité 2 janv 2024]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2516.2010.02226.x>
65. Miller CH. Laboratory testing for factor VIII and IX inhibitors in haemophilia: A review. *Haemoph Off J World Fed Hemoph*. mars 2018;24(2):186-97.
66. Inserm [Internet]. [cité 31 mars 2024]. Thérapie génique · Inserm, La science pour la santé. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/therapie-genique/>
67. ANSM [Internet]. [cité 6 avr 2024]. Nos missions - Les produits biologiques. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/qui-sommes-nous/notre-perimetre/les-produits-biologiques/p/les-produits-biologiques-1>
68. Académie nationale de médecine | Une institution dans son temps – L'Académie nationale de médecine a pour missions de répondre au Gouvernement sur la santé publique, de contribuer aux progrès de l'art de guérir et de promouvoir la médecine française. [Internet]. [cité 1 avr 2024]. Disponible sur: <https://www.academie-medecine.fr/>
69. Wirth T, Parker N, Ylä-Herttua S. History of gene therapy. *Gene*. 10 août 2013;525(2):162-9.
70. Watson JD, Crick FHC. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature*. avr 1953;171(4356):737-8.
71. Friedmann T. A brief history of gene therapy. *Nat Genet*. oct 1992;2(2):93-8.

72. Blaese RM, Culver KW, Miller AD, Carter CS, Fleisher T, Clerici M, et al. T Lymphocyte-Directed Gene Therapy for ADA⁻ SCID: Initial Trial Results After 4 Years. *Science*. 20 oct 1995;270(5235):475-80.
73. Li X, Le Y, Zhang Z, Nian X, Liu B, Yang X. Viral Vector-Based Gene Therapy. *Int J Mol Sci*. 23 avr 2023;24(9):7736.
74. Hacein-Bey-Abina S, Garrigue A, Wang GP, Soulier J, Lim A, Morillon E, et al. Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. *J Clin Invest*. 2 sept 2008;118(9):3132-42.
75. Lundstrom K. Viral Vectors in Gene Therapy: Where Do We Stand in 2023? *Viruses*. 7 mars 2023;15(3):698.
76. Édition génétique CRISPR-Cas9 pour la drépanocytose et la β-thalassémie | Journal de médecine de la Nouvelle-Angleterre [Internet]. [cité 28 mai 2024]. Disponible sur: https://www-nejm-org.gorgone.univ-toulouse.fr/doi/10.1056/NEJMoa2031054?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed
77. Imlygic | Agence européenne des médicaments [Internet]. [cité 3 juill 2024]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/imlygic>
78. Strimvelis | Agence européenne des médicaments [Internet]. [cité 3 juill 2024]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/strimvelis>
79. Kymriah | Agence européenne des médicaments [Internet]. [cité 3 juill 2024]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/kymriah>
80. Luxturna | Agence européenne des médicaments [Internet]. [cité 3 juill 2024]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/luxturna>
81. Les vecteurs viraux, une aide précieuse pour la recherche [Internet]. Fédération pour la Recherche sur le Cerveau (FRC). [cité 18 avr 2024]. Disponible sur: <https://www.frcneurodon.org/informer-sur-la-recherche/actus/les-vecteurs-viraux-une-aide-precieuse-pour-la-recherche/>
82. Crystal RG. Adenovirus: The First Effective In Vivo Gene Delivery Vector. *Hum Gene Ther*. 1 janv 2014;25(1):3-11.
83. Syyam A, Nawaz A, Ijaz A, Sajjad U, Fazil A, Irfan S, et al. Adenovirus Vector System: Construction, History and Therapeutic Applications. *BioTechniques*. 1 déc 2022;73(6):297-305.
84. Wang Z, Zhang X. Adenovirus vector-attributed hepatotoxicity blocks clinical application in gene therapy. *Cytherapy*. 1 déc 2021;23(12):1045-52.
85. Desheva Y. Adenoviruses. *BoD – Books on Demand*; 2019. 103 p.
86. Lundstrom K. Viral vectors engineered for gene therapy. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2023;379:1-41.
87. Milone MC, O'Doherty U. Clinical use of lentiviral vectors. *Leukemia*. juill 2018;32(7):1529-41.
88. ResearchGate [Internet]. [cité 2 juill 2024]. Lentiviral modifications. (A) The transfer vector contains the long... Disponible sur: https://www.researchgate.net/figure/Lentiviral-modifications-A-The-transfer-vector-contains-the-long-terminal-repeats_fig1_344288723
89. Tomás HA, Rodrigues AF, Alves PM, Coroadinha AS, Tomás HA, Rodrigues AF, et al. Lentiviral Gene Therapy Vectors: Challenges and Future Directions. In: *Gene Therapy - Tools*

- and Potential Applications [Internet]. IntechOpen; 2013 [cité 29 mai 2024]. Disponible sur: <https://www.intechopen.com/chapters/43276>
90. Lisowski L, Dane AP, Chu K, Zhang Y, Cunningham SC, Wilson EM, et al. Selection and evaluation of clinically relevant AAV variants in a xenograft liver model. *Nature*. févr 2014;506(7488):382-6.
 91. Pipe SW, Gonen-Yaacovi G, Segurado OG. Hemophilia A gene therapy: current and next-generation approaches. *Expert Opin Biol Ther*. 2 sept 2022;22(9):1099-115.
 92. Finn JD, Ozelo MC, Sabatino DE, Franck HWG, Merricks EP, Crudele JM, et al. Eradication of neutralizing antibodies to factor VIII in canine hemophilia A after liver gene therapy. *Blood*. 23 déc 2010;116(26):5842-8.
 93. Doshi BS, Arruda VR. Gene therapy for hemophilia: what does the future hold? *Ther Adv Hematol*. 1 sept 2018;9(9):273-93.
 94. Fiche d'information sur la thérapie génique pour l'hémophilie A [Internet]. eLearning Platform. [cité 3 mai 2024]. Disponible sur: <https://elearning.wfh.org/fr/resource/fiche-dinformation-sur-la-therapie-genique-pour-lhemophilie-a/>
 95. WFH Shared Decision Making Workbook for Hemophilia Treatment [Internet]. eLearning Platform. [cité 21 juin 2024]. Disponible sur: <https://elearning.wfh.org/resource/wfh-shared-decision-making-workbook-for-hemophilia-treatment/>
 96. SDM de la FMH [Internet]. [cité 21 juin 2024]. Disponible sur: <https://sdm.wfh.org/>
 97. Fiche d'information sur la thérapie génique pour l'hémophilie B [Internet]. eLearning Platform. [cité 3 mai 2024]. Disponible sur: <https://elearning.wfh.org/fr/resource/fiche-dinformation-sur-la-therapie-genique-pour-lhemophilie-b/>
 98. George LA. Hemophilia gene therapy comes of age. *Blood Adv*. 12 déc 2017;1(26):2591.
 99. Leebeek FWG, Miesbach W. Gene therapy for hemophilia: a review on clinical benefit, limitations, and remaining issues. *Blood*. 16 sept 2021;138(11):923-31.
 100. Pipe SW, Arruda(Late) VR, Lange C, Kitchen S, Eichler H, Wadsworth S. Characteristics of BAY 2599023 in the Current Treatment Landscape of Hemophilia A Gene Therapy. *Curr Gene Ther*. 26 janv 2023;23(2):81-95.
 101. Pipeline d'essais cliniques [Internet]. [cité 14 mai 2024]. Disponible sur: <http://shiny.wfh.org/pipeline/>
 102. Research C for BE and. Human Gene Therapy for Hemophilia [Internet]. FDA; 2020 [cité 20 mai 2024]. Disponible sur: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/human-gene-therapy-hemophilia>
 103. Pasi K, John, Rangarajan Savita, Mitchell Nina, Lester Will, Symington Emily, Madan Bella, et al. Multiyear Follow-up of AAV5-hFVIII-SQ Gene Therapy for Hemophilia A. *N Engl J Med*. 2 janv 2020;382(1):29-40.
 104. Rangarajan Savita, Walsh Liron, Lester Will, Perry David, Madan Bella, Laffan Michael, et al. AAV5–Factor VIII Gene Transfer in Severe Hemophilia A. *N Engl J Med*. 2017;377(26):2519-30.
 105. Désignation orpheline : Aperçu | Agence européenne des médicaments [Internet]. [cité 16 mai 2024]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory-overview/orphan-designation-overview>

106. Autorisation des médicaments | Agence européenne des médicaments [Internet]. [cité 21 juin 2024]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/about-us/what-we-do/autorisation-medicines>
107. Avis 22 sur la thérapie génique | Comité Consultatif National d’Ethique [Internet]. [cité 3 juin 2024]. Disponible sur: <https://www.ccne-ethique.fr/fr/publications/avis-22-sur-la-therapie-genique>
108. Avis 36 sur l’application des procédés de thérapie génique somatique | Comité Consultatif National d’Ethique [Internet]. [cité 3 juin 2024]. Disponible sur: <https://www.ccne-ethique.fr/publications/avis-36-sur-lapplication-des-procedes-de-therapie-genique-somatique?taxo=0>
109. Avis 124 Réflexion éthique sur l’évolution des tests génétiques liée au séquençage de l’ADN humain à très haut débit | Comité Consultatif National d’Ethique [Internet]. [cité 3 juin 2024]. Disponible sur: <https://www.ccne-ethique.fr/publications/avis-124-reflexion-ethique-sur-levolution-des-tests-genetiques-liee-au-sequencage-de?taxo=0>
110. Autorisation - Accueil [Internet]. [cité 11 mai 2024]. Disponible sur: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/index.php#result>
111. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 10 mai 2024]. HEMGENIX (etranacogene dezaparvovec) - Hémophilie B. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3444027/fr/hemgenix-etranacogene-dezaparvovec-hemophilie-b
112. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 11 mai 2024]. ROCTAVIAN (valoctocogène roxaparvovec) - Hémophilie A. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3461362/fr/roctavian-valoctocogene-roxaparvovec-hemophilie-a
113. Clara D. ROCTAVIAN 2 x 10¹³ génomes vecteurs/mL., 2023;
114. Hemgénix | Agence européenne des médicaments [Internet]. [cité 11 mai 2024]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/hemgenix>
115. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 10 juin 2024]. Commission de la Transparence. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_412210/fr/commission-de-la-transparence
116. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 10 juin 2024]. Certification des logiciels des professionnels de santé (Logiciels d’Aide à la Prescription (LAP) et d’Aide à la Dispensation (LAD)). Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_671889/fr/certification-des-logiciels-des-professionnels-de-sante-logiciels-d-aide-a-la-prescription-lap-et-d-aide-a-la-dispensation-lad
117. Jordan B. Une thérapie très attendue... et un prix exorbitant ! - Chroniques génomiques. *médecine/sciences*. 1 févr 2023;39(2):187-90.
118. Clara D. HEMGENIX 1 x 10¹³ copies de génome/mL., 2023;
119. Coût des trente affections de longue durée (ALD) pour l’Assurance Maladie | L’Assurance Maladie [Internet]. 2006 [cité 11 juin 2024]. Disponible sur: <https://www.assurance-maladie.ameli.fr/etudes-et-donnees/2006-cout-ald-2004>
120. Fischer A, Dewatripont M, Goldman M. L’innovation thérapeutique, à quel prix ? *médecine/sciences*. 1 avr 2020;36(4):389-93.
121. Ohmori T. Advances in gene therapy for hemophilia: basis, current status, and future perspectives. *Int J Hematol*. 1 janv 2020;111(1):31-41.

RESUME en français

La thérapie génique dans le traitement de l'hémophilie de type A et de type B vise à révolutionner la prise en charge des patients atteints de formes sévères de cette maladie. Malgré les traitements de prophylaxie conventionnels et les nouveaux traitements à demi-vie allongée à base des anticorps monoclonaux, la qualité de vie des patients hémophiles reste complexe en raison de la fréquence des injections médicamenteuses et de la prise en charge plus globale de la maladie. Bien que ces dernières années, la recherche ait permis d'élargir l'éventail des spécialités pharmaceutiques pour pallier la diminution des facteur VIII ou FIX de la coagulation, la qualité de vie des patients demeure encore insuffisante. La thérapie génique, bien qu'en développement, cherche à améliorer drastiquement la qualité de vie des patients. Les candidats médicaments et spécialités en thérapie génique approuvés sont récents et ont été testés sur de faibles cohortes de patients, avec un recul insuffisant sur le long terme pour évaluer pleinement l'efficacité et la tolérance des transgènes. Néanmoins, cette nouvelle voie thérapeutique a ouvert des perspectives prometteuses, offrant des résultats satisfaisants. À l'avenir, l'optimisation des techniques de thérapie génique et l'augmentation des cohortes d'étude devraient permettre de confirmer ces résultats et d'élargir les bénéfices à un plus grand nombre de patients.

MOTS-CLES : Hémophilie de type A, hémophilie de type B, maladie rare, hémostase, Facteur VIII, Facteur IX, hémorragie, coagulation, prophylaxie, thérapie génique, vecteur, virus adéno-associé, transgène, Valoctocogene Roxaparovec, Etranacogene Dezaparovec, essais cliniques

ABSTRACT:

Gene therapy for the treatment of hemophilia A and B aims to revolutionize the management of patients with severe forms of this disease. Despite conventional prophylactic treatments and new long-acting monoclonal antibody-based therapies, the quality of life for hemophiliac patients remains complex due to the frequency of drug injections and the overall management of the disease. Although recent research has expanded the range of pharmaceutical specialties to address the deficiency of coagulation factors VIII or IX, the quality of life for patients remains insufficient. Gene therapy, though still in development, seeks to drastically improve the quality of life for patients. The candidate drugs and gene therapy specialties that have been approved are recent and have been tested on small cohorts of patients, with insufficient long-term data to fully assess the efficacy and tolerance of the transgenes. Nevertheless, this new therapeutic avenue has opened promising perspectives, offering encouraging results. In the future, optimizing gene therapy techniques and increasing study cohorts should help confirm these results and extend the benefits to a larger number of patients.

KEY WORDS : Hemophilia, Hemostasis, Factor VIII, Factor IX, Prophylaxis, Gene therapy, Adenovirus, Transgene, Valoctocogene roxaparovec, Etranacogene Dezaparovec, Clinical

DISCIPLINE administrative : PHARMACIE

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Faculté de Pharmacie – Université Paul Sabatier Toulouse 3

DIRECTEUR DE THESE : Pr Bettina Couderc

DATE DE SOUTENANCE : Vendredi 13 septembre 2024

AUTEUR : SOUCHARD Lucile