UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER

FACULTE DE SANTE

DEPARTEMENT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE: 2022 THESE: 2022/TOU3/2072

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

par

PUYO PAULINE

THERAPIE GENIQUE EN HEMOPHILIE : IDENTIFICATION DE LA COHORTE DE PATIENTS ET DEFINITION DU CIRCUIT AU CHU DE TOULOUSE

21 octobre 2022

Directeur de thèse : Dr. Isabelle QUELVEN-BERTIN

JURY

Président : Pr. Bettina COUDERC

1er assesseur : Dr. Ian SOULAIROL

2ème assesseur : Dr. Caroline OUDOT-CHALLARD

3ème assesseur : Dr. Julien JOUGLEN

4ème assesseur : Dr. Marie-Léa PIEL-JULIAN

PERSONNEL ENSEIGNANT

du Département des Sciences Pharmaceutiques de la Faculté de santé

au 4 avril 2022

Professeurs Emérites

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
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. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BERNARDES-GENISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. DELCOURT N.	Biochimie
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 COSTE A. (*)	Parasitologie
Mme DERAEVE C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
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 JOUANJUS E.	Pharmacologie
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
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 VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) 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 LARGEAUD L	Immunologie
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
Mme STRUMIA M.	Pharmacie clinique
Mme TRIBAUDEAU L	Droit Pharmaceutique

Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Mme AMRANE Dyhia	Chimie Thérapeutique

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Bettina Couderc,
Je suis honorée que vous ayez accepté de présider ma soutenance de thèse, ainsi que de juger ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de ma considération.

A Madame le Docteur Isabelle Quelven-Bertin,
Je te remercie d'avoir encadré ce travail et de la confiance que tu m'as accordée. Je tiens à te remercier chaleureusement de m'avoir apporté de nombreuses connaissances dans le domaine de la pharmacotechnie et plus particulièrement des MTI. Merci pour tes conseils, ta disponibilité, et tes encouragements qui m'ont permis d'aboutir à ce mémoire, témoin de ma sincère reconnaissance.

A Monsieur le Docteur Ian Soulairol,
Je vous suis très reconnaissante de me faire l'honneur de composer ce jury et d'avoir accepté de juger ce travail.

A Madame le Docteur Caroline Oudot-Challard,
Je suis honorée de vous compter dans mon jury et de pouvoir bénéficier de votre expertise dans ce domaine si pointu qu'est l'hémophilie. Je vous remercie grandement d'avoir accepté de me fournir des données patient sans lesquelles tout ce travail n'aurait pu aboutir.

A Monsieur le Docteur Julien Jouglen,
Je te remercie d'avoir accepté de juger ce travail et pour l'intérêt que tu y as porté. Je tiens également à te remercier de ta disponibilité et de ton soutien que tu m'as apporté dans le déroulement de ma thèse.

A Madame le Docteur Marie-Léa Piel-Julian,
Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail et pour l'intérêt que vous y avez porté ainsi que de votre disponibilité. Veuillez recevoir l'expression de ma gratitude.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ANNEXES 9
TABLE DES ILLUSTRATIONS 10
LISTE DES TABLEAUX 11
LISTE DES ABREVIATIONS 12

INTRODUCTION 15

PARTIE I : CADRE REGLEMENTAIRE DES MEDICAMENTS DE THERAPIE INNOVANTE 17
I. Généralités 17
A. Définitions 17
B. Différents types de MTI 18
1. Médicaments de thérapie cellulaire somatique 18
2. Médicaments issus de l'ingénierie cellulaire ou tissulaire 19
3. Médicaments combinés de thérapie innovante 20
4. Médicaments de thérapie génique 20
II. Cadre réglementaire 23
A. Règlementation des MTI 23
1. Règlement national 23
2. Règlement européen 24
B. Règlementation des essais cliniques 25
1. Au plan national 25
2. Au plan européen 26
C. Règlementation des OGM 28
III. Conditions d'utilisation des MTI 28
A. Autorisation PUI d'utilisation des MTI 28
B. Règlementation et recommandations des sociétés savantes 30
1. Locaux 30
2. Equipements 31
3. Personnels 32
4. Circuit du médicament 32
a. Réception et stockage 32
b. Préparation 33
c. Transport et dispensation 33
d. Gestion des déchets 33
e. Traçabilité 34
C. Autorisation d'utilisation des OGM 35

PARTIE II : L'HEMOPHILIE 37
I. Définition et épidémiologie 37
II. Origine de l'hémophilie 40
A. Physiologie de l'hémostase 40
1. Hémostase primaire 40
a. Principaux acteurs 40
b. Mécanisme 44

2. Coagulation 46
a. Principaux acteurs 47
b. Mécanisme 49
c. Régulation de la coagulation 51
3. Fibrinolyse 52
a. Mécanisme 52
b. Régulation 52
B. Physiopathologie : mécanisme mutationnel 53
1. Pathologie moléculaire 53
a. Facteur VIII 53
b. Facteur IX 55
2. Conséquence du déficit en facteur anti-hémophilique sur l'hémostase 56
III. Signes cliniques et complication de la pathologie 56
IV. Diagnostic 58
A. Circonstance du diagnostic 58
1. Symptomatologie hémorragique 58
2. Dépistage familial avec antécédents connus 59
3. Découverte fortuite 59
B. Diagnostic 59
1. Diagnostic biologique 59
2. Diagnostic différentiel de l'hémophilie A 60
3. Diagnostic différentiel de l'hémophilie B 61

PARTIE III : PRISE EN CHARGE DE L'HEMOPHILIE 62
I. Stratégie de prise en charge 62
II. Les traitements médicamenteux actuellement disponibles 63
A. Traitements substitutifs : présentation de l'évolution des différentes générations de traitements 63
1. Le plasma frais congelé 63
2. Le cryoprécipité 64
3. Les facteurs de coagulation 64
a. Les concentrés de facteurs de coagulation plasmatique 64
b. Les facteurs de coagulation recombinants 65
B. Traitements non substitutifs 68
1. Les agents by-passants 68
2. Emicizumab (HEMLIBRA®) 69
3. Desmopressine 71
4. Acide Tranexanique 71
C. Utilisations pratiques 73
1. Modalités de traitement 73
a. Traitement à la demande 73
b. Traitement prophylactique 73
2. Cibles posologiques couramment utilisées 74
a. Posologie cible et durée 74
b. Paliers 75
c. Particularités des inhibiteurs : Induction de tolérance immune (ITI) 76

III. Limites des traitements 77
A. Risque infectieux 77
B. Réaction anaphylactique 78
1. Hémophilie A 78
2. Hémophilie B 79
C. Apparition d'inhibiteurs 79
1. Hémophilie A 80
a. Mécanisme d'action 80
b. Physiopathologie 81
2. Hémophilie B 82
IV. Développement de la TG dans l'hémophilie 83
A. Place de la TG dans la prise en charge de l'hémophilie 83
B. Vecteurs recombinants appliqués à la TG de l'hémophilie 83
1. Les vecteurs en thérapie génique 84
2. Le foie : organe cible de la thérapie génique 88
3. Limites de la thérapie génique 91
a. Durée d'efficacité inconnue de la TG ciblant le foie 91
b. Population étudiée restreinte 91
c. Données de sécurité et effets indésirables (EI) 91
C. Cassette d'expression du vecteur recombinant 93
1. Cassette d'expression de l'AAV recombinant 94
a. Le transgène 94
b. Le promoteur 94
c. L'amplificateur 94
d. Les répétitions terminales inversées 95
e. Le terminateur de transcription 95
2. Optimisation de la cassette 95
a. Transgène 95
b. Promoteur 96
D. Etat des lieux des essais en cours 97

PARTIE IV : UTILISATION DE LA TG EN HEMOPHILIE AU CHU DE TOULOUSE 99
I. Matériel et méthodes 99
A. Identification des étapes critiques du circuit de la TG en hémophilie 99
B. Définition de la file active 100
C. Elaboration du questionnaire 100
II. Résultats 101
A. Identification des étapes critiques du circuit de la TG en hémophilie 101
1. Réception – Stockage – Préparation – Dispensation 101
2. Administration et traçabilité 102
3. Gestion des déchets 103
4. Surveillance clinique 104
B. Définition de la file active 104
1. Extraction des critères d'inclusion et de non inclusion 104
2. Définition et synthèse des critères retenus 108
a. Sexe : masculin 108

b. Age : 18-65 ans 108
c. Sévérité de la maladie 109
d. Antécédents d'inhibiteurs de facteurs de coagulation 109
e. Anticorps dirigés contre la capside du vecteur de l'AAV 109
f. Atteintes hépatiques et substances hépatotoxiques 110
g. Patients à haut risque cardiovasculaire 111
h. Autres comorbidités 111
i. Autres 111
3. Application à la cohorte de patients suivis au CHU 111
a. Description de la cohorte de patients suivis au CHU 111
b. Application des critères retenus à la cohorte 114
C. Elaboration du questionnaire 117
1. Analyse bibliographique 117
2. Elaboration de la grille et du déroulé de l'étude 119
III. Discussion du travail 121
A. Circuit 121
B. File active 123
C. Questionnaire 126

CONCLUSION 127

BIBLIOGRAPHIE 129

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1: Liste des manipulations non substantielles 134
Annexe 2: Essais cliniques de TG en cours dans l'hémophilie B 135
Annexe 3: Essais cliniques de TG en cours dans l'hémophilie A 136
Annexe 4: Extraction des essais cliniques (Clinical Trials) 137
Annexe 5: Lettre d'information destinée aux patients 151
Annexe 6: Questionnaire destiné aux patients hémophiles 153

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1: Les deux voies de la thérapie génique 21
Figure 2 : Correspondance des groupes de risque et niveaux de confinement 22
Figure 3: Transmission de l'hémophilie 38
Figure 4: Structure de la paroi vasculaire 41
Figure 5: Rôle clé de la cellule endothéliale dans la régulation de l'hémostase 42
Figure 6: Les quatre étapes de l'hémostase primaire 46
Figure 7: Mécanisme de coagulation 50
Figure 8: Mécanisme et régulation de la fibrinolyse 53
Figure 9: Structure du FVIII 54
Figure 10: Structure du FIX 55
Figure 11: Mécanisme d'action de l'emicizumab 69
Figure 12: Stratégie de substitution 74
Figure 13 : Mécanisme d'action des anticorps anti FVIII 81
Figure 14: Structure de l'AAV sauvage 87
Figure 15: Structure du rAAV 87
Figure 16: Réponses immunitaires limitant la transduction du rAAV et l'expression des transgènes 89
Figure 17: Les différentes fonctions du foie 90
Figure 18: Structure de la cassette d'expression du rAAV 95
Figure 19 : Optimisation du transgène dans la thérapie génique pour l'hémophilie 96
Figure 20: Circuit de la thérapie génique en hémophilie 101
Figure 21 : File active des patients hémophiles A au CHU de Toulouse 115
Figure 22 : File active des patients hémophiles B au CHU de Toulouse 116
Figure 23: Présentation du circuit de la TG et les contraintes associées 122

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Donnés démographiques (âge/sexe) – Hémophilie A 39
Tableau 2: Donnés démographiques (âge/sexe) – Hémophilie B 39
Tableau 3: Les facteurs de coagulation 47
Tableau 4: Corrélation entre la gravité du saignement et le taux des facteurs de coagulation 57
Tableau 5: Interprétation des tests de dépistage 60
Tableau 6 : Différentes présentations de facteurs de coagulation disponibles sur le marché français 67
Tableau 7: Différentes présentations de desmopressine disponibles sur le marché français 71
Tableau 8: Différentes présentations d'acide tranexamique disponibles sur le marché français 72
Tableau 9: Cibles posologiques en fonction du risque hémorragique 75
Tableau 10: Stratégie de prophylaxie primaire par pallier 76
Tableau 11: Schéma posologique de l'ITI en fonction du titre d'inhibiteur chez l'hémophile A 77
Tableau 12: Les principaux types de vecteurs viraux 86
Tableau 13 : Médicaments en cours d'essais cliniques 98
Tableau 14 : Essais clinique en cours sur la thérapie génique en hémophilie A et B 105
Tableau 15 : Critères d'inclusion utilisés dans les essais cliniques en cours 106
Tableau 16 : Critères de non inclusion utilisés dans les essais cliniques en cours 107
Tableau 17 : Répartition de la cohorte de patients selon sexe 112
Tableau 18 : Répartition de la cohorte de patients selon l'âge 113
Tableau 19 : Répartition de la cohorte de patients selon la sévérité de la maladie et l'âge 114

LISTE DES ABREVIATIONS

a : Activé
AAV : Virus adéno-associés
ADN : Acide désoxyribonucléique
ARN : Acide ribonucléique
ARNm : Acide ribonucléique messager
AMM : Autorisation de mise sur le marché
ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament
ARS : Agence régionale de santé
AT : Antithrombine
BHK : (*Baby hamster kidney*) Fibroblastes rénaux de bébé hamster
BPC : Bonnes pratiques cliniques
BPP : Bonnes Pratiques de Préparation
BPPH : Bonnes Pratiques de Pharmacie Hospitalière
CAT : (*Comite for Advanced Therapies*) Comité des thérapies avancées
CE : Conformité européenne
CEUCO : Comité d'expertise des utilisations confinées d'OGM
CHU : Centre hospitalo-universitaire
CHO : (*Chinese hamster ovary*) Ovaires de hamster de Chine
CLIN : Comité de lutte contre les infections nosocomiales
CPP : Comités de protection des personnes
CRC-MHC : Centre de ressources et de compétences des maladies hémorragiques constitutionnelles
CRH : Centre de référence de l'hémophilie et autres déficits constitutionnels en protéines de la coagulation
CSH : Cellule souche hématopoïétique
CSP : Code de la santé publique
CTIS : (*Clinical Trial Information System*) Système d'information sur les essais cliniques
EC : Essais cliniques

EEE : Espace économique européen

EI : Effet indésirable

EM : Etat membre

EMA : (*European Medicine Agency*) Agence européenne des médicaments

EPI : Equipements de protection individuelle

F : Facteur de coagulation

FT : Facteur tissulaire

HCB : Haut Conseil des Biotechnologies

Ig : Immunoglobuline

ISO : (*International organization for standardization*) Organisation internationale de normalisation

ITI : Induction de tolérance immune

LD : Ligne directive

MAT : Micro-angiopathies thrombotiques

MESRI : Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation

MK : Mégacaryocyte

MTI : Médicaments de thérapie innovante

MTG : MTI de thérapie génique

MTI-PP : Médicament de thérapie innovante préparé ponctuellement

MW : Maladie de Willebrand

OGM : Organisme génétiquement modifié

PAI : Inhibiteurs des activateurs du plasminogène

PC : Protéine C

PDF : Produits de dégradation de la fibrine

PFC : Plasma frais congelé

PUI : Pharmacies à usage intérieur

PS : Protéine S

PSM : Poste de sécurité microbiolgique

rAAV : AAV recombinant

rF : Facteur recombiné

RIPH : Recherche impliquant la personne humaine

TCA : Temps de Céphaline avec Activateur

TFPI : (*Tissue factor pathway inhibitor*) Inhibiteur de la voie du facteur tissulaire

TG : Thérapie génique

t-Pa : Activateur tissulaire du plasminogène

TP : Taux de prothrombine

TQ : Temps de Quick

TS : Temps de saignement

TXA : Acide tranexamique

UB : Unité Bethesda

UE : Union européenne

u-Pa : Pro-urokinase

VHA : Virus de l'hépatite A

VHB : Virus de l'hépatite B

VHC : Virus de l'hépatite C

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

vWF : Facteur de von Willebrand

ZAC : Zone à atmosphère contrôlée

INTRODUCTION

L'hémophilie est une maladie hémorragique héréditaire récessive liée au chromosome X. Elle se définit par l'absence ou le déficit d'un facteur de coagulation, protéine nécessaire à la coagulation du sang et à l'arrêt des saignements. Il existe deux types d'hémophilie. L'hémophilie A est la forme la plus fréquente et consiste en un défaut de facteur VIII. L'hémophilie B est, quant à elle, définie par un déficit en facteur IX.

L'évolution des traitements a considérablement amélioré le pronostic de l'hémophilie. Cette évolution a permis d'augmenter l'espérance de vie et aussi d'améliorer la qualité de vie des patients. Pour pallier au déficit en facteur VIII ou IX, des traitements substitutifs sont utilisés dans le but d'apporter le facteur manquant à titre prophylactique ou épisodiquement : on parle de facteur antihémophilique (FAH). Ces traitements ont le désavantage de nécessiter plusieurs injections par semaine.

Des évolutions thérapeutiques permettent de prolonger la demi-vie des FAH afin d'alléger les contraintes importantes des injections intraveineuses en cherchant à les espacer, à mimer l'action du Facteur VIII (FVIII), à modifier la balance hémostatique avec des médicaments qui agissent par voie sous-cutanée. Le développement de l'emicizumab, un anticorps monoclonal bispécifique humanisé imitant le FVIII activé, a été une avancée majeure dans la prise en charge de l'hémophilie en permettant d'espacer les injections. Cependant, tous ces traitements nécessitent une ou plusieurs injections par semaine ou par mois ce qui a un impact négatif sur la qualité de vie des patients.

Dans ce contexte, la thérapie génique apparait comme un nouvel espoir thérapeutique. Ce traitement intraveineux pourrait permettre en une injection unique l'expression à long terme de facteur de coagulation, le maintien des concentrations plasmatiques à l'état d'équilibre et la minimisation des épisodes hémorragiques. Plusieurs thérapies géniques ont été évaluées dans des essais cliniques, avec des résultats très encourageants. L'AMM est en cours d'obtention pour plusieurs de ces thérapies et la question se pose de la mise en place de ce type de thérapie au niveau du CHU de Toulouse.

L’objectif de ce travail a été d’évaluer les contraintes de cette thérapie ainsi que l’organisation nécessaire pour la mettre en place en évaluant notamment la cohorte de patients concernés.

La thérapie génique fait partie d’une nouvelle classe de médicaments en plein développement, les médicaments de thérapie innovante (MTI).
Dans une première partie, la classification des MTI ainsi que la règlementation associée sera présentée. Dans une seconde partie, un rappel sur la pathologie qu’est l’hémophilie sera développé puis nous aborderons la prise en charge de cette pathologie dans la partie suivante.
Enfin, la quatrième partie permettra de répondre à l’objectif de ce travail avec d’une part une réflexion sur le circuit nécessaire à la réalisation de TG en hémophilie en tenant compte des différentes étapes critiques de la préparation, de l’administration et du suivi. D’autre part, la cohorte de patients du CHU éligibles au traitement a été défini à l’aide des critères d’inclusion et de non-inclusion utilisés par les essais cliniques en cours sur les TG en hémophilie. L’élaboration d’un questionnaire à destination de ces patients nous permettra de prendre en compte l’acceptabilité de ce type de traitement.

PARTIE I : CADRE REGLEMENTAIRE DES MEDICAMENTS DE THERAPIE INNOVANTE

I. Généralités

A. Définitions

Les médicaments de thérapie innovante (MTI) sont une nouvelle catégorie de médicaments définis par le règlement européen n°1394/2007 [1]. Ces traitements offrent de nouvelles opportunités pour le traitement des maladies pour lesquelles les approches thérapeutiques conventionnelles se sont révélées inefficaces.
Il existe quatre classes de produits les médicaments de thérapie génique, les médicaments de thérapie cellulaire somatique, les médicaments issus de l'ingénierie cellulaire et tissulaire et les médicaments combinés de thérapie innovante. [2]
Les MTI se différencient des préparations de thérapie cellulaire par le fait que les cellules ou tissus les constituant ont été soumis à au moins une manipulation complexe dite substantielle, ou que les cellules ou tissus ne sont pas destinés à être utilisés pour la ou les mêmes fonctions essentielles chez le receveur et chez le donneur.

Ces produits sont appelés médicaments de thérapie innovante expérimentaux lorsqu'ils sont évalués chez l'homme dans le cadre de recherches biomédicales.[3]
Le règlement (CE) N° 1394/2007 du Parlement européen et du Conseil du 13 novembre 2007 concernant les médicaments de thérapie innovante et modifiant la directive 2001/83/CE ainsi que le règlement (CE) no 726/2004 [1] introduit le terme d'« exemption hospitalière » afin de répondre aux besoins des hôpitaux et universités en matière de recherche et développement. Cette exemption hospitalière habilite les États membres à autoriser l'utilisation de MTI en l'absence d'une autorisation de mise sur le

[1] Règlement (CE) n°1394/2007 du Parlement européen et du Conseil du 13 novembre 2007 concernant les médicaments de thérapie innovante et modifiant la directive 2001/83/CE ainsi que le règlement (CE) n°726/2004.

[2] Partie IV de l'Annexe I de la Directive 2001/83/CE

[3] Article L.5121-1-1 du Code de la Santé Publique

marché (AMM) européenne à condition que ces derniers soient utilisés dans un hôpital, sous la responsabilité d'un médecin, pour exécuter une prescription médicale à l'attention d'un patient donné.[4] En France, elle donne naissance au statut de médicament de thérapie innovante préparé ponctuellement (MTI-PP). Ces derniers doivent répondre aux mêmes exigences de qualité, traçabilité et pharmacovigilance que les produits autorisés. Ils peuvent au même titre que les MTI autorisés, être fabriqués, importés ou exportés dans le cadre de recherches impliquant la personne humaine (MTI-pp expérimental). [5]

B. Différents types de MTI

Les quatre types de MTI définis par la réglementation en vigueur[6],[7] sont les suivants :

- Les médicaments de thérapie cellulaire somatique ;
- Les médicaments de l'ingénierie tissulaire ou cellulaire ;
- Les médicaments combinant dispositifs médicaux et cellules ou tissus ;
- Les médicaments de thérapie génique.

1. Médicaments de thérapie cellulaire somatique

Un **médicament de thérapie cellulaire somatique** est un médicament biologique présentant les deux caractéristiques suivantes :

- Il « contient ou consiste en des cellules ou des tissus :
  - qui ont fait l'objet d'une **manipulation substantielle** de façon à modifier leurs caractéristiques biologiques, leurs fonctions physiologiques ou leurs propriétés structurelles; ou
  - qui ne sont **pas destinés à être utilisés pour la ou les mêmes fonctions essentielles chez le receveur et le donneur** ».

[4] Article 28, paragraphe 2, du règlement MTI, modifiant l'article 3 de la directive 2001/83/CE

[5] Article L.5121-1 du Code de la Santé Publique

[6] Règlement européen CE N° 1394/2007 du 13 novembre 2007

[7] Décret n° 2012-1236 du 6 novembre 2012 relatif aux médicaments de thérapie innovante

- Deuxièmement, il possède « des propriétés permettant de traiter, de prévenir ou de diagnostiquer une maladie à travers l'action métabolique, immunologique ou pharmacologique de ses cellules ou tissus, ou est utilisé chez une personne ou administré à une personne dans une telle perspective. »

La modification est dite substantielle si elle entraine « une modification des propriétés biologiques ou fonction initiale » de la cellule ou du tissu.
Cependant, une succession de modifications non substantielles peut conduire à un procédé qui modifie les propriétés de cellules et ainsi constituer une modification substantielle. (1)
Une liste de manipulations (Annexe 1) n'étant pas reconnues comme des manipulations substantielles est fourni par l'annexe I du règlement 1394/2007/CE.

2. Médicaments issus de l'ingénierie cellulaire ou tissulaire

Un **médicament se définit comme issu de l'ingénierie cellulaire ou tissulaire** si les cellules ou tissus qui le constituent répondent à au moins l'une des conditions suivantes :

- ont fait l'objet de **manipulation substantielle** afin d'obtenir des caractéristiques biologiques, des fonctions physiologiques ou des propriétés structurelles utiles à la régénération, à la réparation ou au remplacement recherchés.
- ne sont **pas destinés à être utilisés pour la même fonction essentielle chez le receveur et chez le donneur**.

Il est présenté comme possédant des propriétés lui permettant de **régénérer, réparer ou remplacer un tissu humain**, ou est utilisé chez l'être humain ou administré à celui-ci dans ce but. **Il ne diffère donc des médicaments de thérapie cellulaire somatique que par l'effet recherché lors de son utilisation**.

3. Médicaments combinés de thérapie innovante

Un **médicament combiné de thérapie innovante** est un médicament de thérapie innovante (médicament de thérapie cellulaire, thérapie génique ou d'ingénierie tissulaire) qui intègre dans sa composition :

- Un ou plusieurs **dispositifs médicaux**
  - Au sens de l'article 1er, paragraphe 2, point a), de la directive 93/42/CEE
  - Ou au sens de l'article 1er, paragraphe 2, point c), de la directive 90/385/CEE s'il s'agit de dispositifs médicaux implantables
- Et une **partie cellulaire ou tissulaire** pouvant contenir des cellules ou des tissus viables comme non viables. Elle est susceptible d'avoir sur le corps humain une action qui peut être considérée comme essentielle par rapport à celle des dispositifs précités.

4. Médicaments de thérapie génique

Un **médicament de thérapie génique** est un médicament biologique qui présente les deux caractéristiques suivantes réunies :

- Il contient ou constitue un **acide nucléique** recombinant administré à des personnes en vue de **réguler, de réparer, de remplacer, d'ajouter ou de supprimer une séquence génétique**
- Son effet thérapeutique, prophylactique ou diagnostique dépend directement de la séquence d'acide nucléique recombinant qu'il contient ou du produit de l'expression génétique de cette séquence.

Les vaccins contre les agents infectieux transmissibles sont exclus de cette définition et donc de ce règlement.

Il existe deux approches possibles en thérapie génique (TG) (Figure 1) :

- Une modification des cellules ***in vivo***, consistant à injecter directement le matériel génétique fonctionnel dans l'organisme qui assurera l'intégration de celle-ci au sein des cellules du patient

- Une modification des cellules ***ex vivo***, soit multiplier le matériel génétique fonctionnel d'abord en laboratoire dans des cellules mutées de l'organisme puis réinjecter ces cellules génétiquement modifiées dans l'organisme (2)

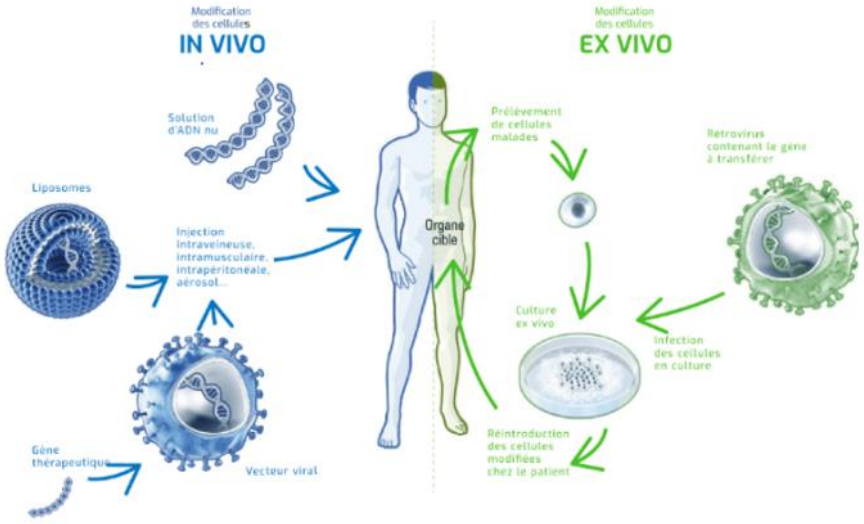

FIGURE 1:LES DEUX VOIES DE LA THERAPIE GENIQUE (2)

Un **organisme génétiquement modifié** (OGM) se définit comme tout organisme dont le matériel génétique a été **modifié autrement que par multiplication ou recombinaison naturelles**. Ainsi, les MTI de thérapie génique (MTG) répondent également à la définition d'OGM.

Étant conçus à l'aide de vecteurs viraux ou étant eux-mêmes des virus génétiquement modifiés, les MTG/OGM constituent un risque potentiel de contamination virale.

Une **classification des risques** a été mise en place dans le but de **maîtriser le risque** inhérent à ces OGM et d'adapter les mesures de confinement spécifiques à leur utilisation.

Ils sont classés en **quatre groupes distincts** en fonction des risques qu'ils présentent pour la santé publique ou l'environnement, et notamment de leur pathogénicité. [8]

[8] Article 2 de la directive 2000/54/CE du Parlement Européen et du Conseil du 18 septembre 2000

Le **groupe I** comprend des agents biologiques n'étant pas susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme, les animaux ou les végétaux ni de causer des effets négatifs sur l'environnement

Le **groupe II** comprend les agents biologiques pouvant provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les travailleurs, ou causer des effets négatifs sur l'environnement. Leur propagation dans la collectivité est peu probable et il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace.

Le **groupe III** comprend les agents biologiques pouvant provoquer une maladie grave chez l'homme et constituer un danger sérieux pour les travailleurs, ou causer des effets négatifs sur l'environnement. Leur propagation dans la collectivité est possible mais il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace.

Le **groupe IV** comprend les agents biologiques qui provoquent des maladies graves chez l'homme et constituent un danger sérieux pour les travailleurs, ou causent des effets négatifs sur l'environnement. Le risque de leur propagation dans la collectivité est élevé et il n'existe généralement ni prophylaxie ni traitement efficace.

En fonction de leur groupe de risque, le Haut Conseil des Biotechnologies (HCB) a adopté un système de 4 niveaux de risques du moins dangereux (C1) au plus dangereux (C4) qui correspondent aux 4 niveaux de confinement dans lequel doit être effectuée toute manipulation de ces produits (Figure 2).

GROUPES DE RISQUE	NIVEAU DE CONFINEMENT
Groupe 1 : Ne provoque pas de maladie chez l'Homme ou ne provoque pas d'effets négatifs sur l'environnement	Confinement de niveau 1 (C1) : Met en œuvre des OGM de groupe I dont les risques pour la santé et l'environnement sont nuls ou négligeables (virus non ou peu réplicatifs)
Groupe 2 : Provoque des maladies chez l'Homme ou peut causer des effets néfastes dans l'environnement mais leur propagation est peu probable et il existe une prophylaxie ou un traitement efficace	Confinement de niveau 2 (C2) : Met en œuvre des OGM de groupe II dont les risques pour la santé et l'environnement sont faibles
Groupe 3 : Provoque des maladies graves chez l'Homme ou peut causer des effets néfastes dans l'environnement mais leur propagation est peu probable mais il existe une prophylaxie ou un traitement efficace	Confinement de niveau 3 (C3) : Met en œuvre des OGM de groupe III dont les risques pour la santé et l'environnement sont modérés
Groupe 4 : provoque des maladies graves chez l'Homme et peut causer des effets néfastes dans l'environnement avec une propagation possible sans traitement et prophylaxie efficaces	Confinement de niveau 4 (C4) : Met en œuvre des OGM de groupe IV dont les risques pour la santé et l'environnement élevés

FIGURE 2 : CORRESPONDANCE DES GROUPES DE RISQUE ET NIVEAUX DE CONFINEMENT

Ces classes de confinement correspondent aux quatre niveaux de confinement définis à l'annexe IV de la directive 2009/41/ CE du Parlement européen et du Conseil du 6 mai 2009 relative à l'utilisation confinée de micro-organismes génétiquement modifiés.

II. Cadre réglementaire

A. Règlementation des MTI

De nombreux produits de thérapies cellulaires et géniques sont en cours de développement et représentent une des voies de l'innovation thérapeutique en France, en Europe et dans le monde.

Ces « candidats traitements » entrent cependant dans un cadre réglementaire complexe, ancien au niveau national (premiers textes en 1996) mais plus récent au niveau européen (directives de 2004 et règlement de 2007). La réglementation européenne, élaborée et publiée après les textes Français, impose de revoir les définitions et les bases règlementaires du cadre national. En effet, certains produits, considérés initialement par les textes français comme des « préparations de thérapies cellulaires », changent de statut pour devenir des « médicaments de thérapie innovante » ou encore les « préparations de thérapie génique » et les « médicaments de thérapie génique » passent sous la définition unique de « médicaments de thérapie génique » inclus dans les médicaments de thérapie innovante.

Ces changements de statuts vont impacter à plusieurs niveaux la réglementation et les régimes d'autorisation en France pour les produits eux-mêmes et pour les établissements qui développent et souhaitent exploiter ces produits en faisant évoluer les standards et les référentiels de fabrication (1)

1. Règlement national

Depuis les années 1990, de nombreux produits de thérapie cellulaire et génique ont été développés. Un premier cadre réglementaire est apporté par la loi n°96-452 du

28 mai 1996 et vient compléter les articles L-665 et L-676 du code de la santé publique (CSP). Ils proposent les définitions suivantes :

- les produits de thérapie génique sont définis par leur capacité à transférer du matériel génétique ;
- les produits de thérapie cellulaire sont des produits biologiques à effet thérapeutique issus de préparations de cellules vivantes humaines ou animales.

Il est décrit que la préparation, la conservation et la distribution des produits de thérapie génique et cellulaire doivent être réalisées par des établissements ou des organismes autorisés.
Le prélèvement des cellules utilisées dans le cadre de thérapie cellulaire ou génique ainsi que leur administration ne peuvent être réalisés que dans des établissements de santé ou de transfusion sanguine autorisés par le Ministre de la santé.

2. Règlement européen

La réglementation nationale présentait plusieurs limites. En effet, l'absence d'un cadre réglementaire harmonisé au niveau européen limitait le développement de ces produits innovants et ainsi que l'accès des patients à de nouvelles approches prometteuses pour des maladies graves actuellement sans solution thérapeutique. (1)

Entré en vigueur le 30 décembre 2008, le règlement européen (CE) n°1394/2007 sur les médicaments de thérapie innovante a considérablement fait évoluer la réglementation applicable aux approches thérapeutiques utilisant dans leurs mécanismes d'actions des gènes, tissus ou cellules.
Ce règlement confirme le statut de spécialité pharmaceutique aux produits de thérapie génique, de thérapie cellulaire, de l'ingénierie tissulaire et aux médicaments combinés de thérapie innovante. Il introduit des dispositions spécifiques pour ces médicaments qui complètent les dispositions générales énoncées dans la directive 2001/83/CE instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain.

Les objectifs de ce règlement sont :

- De faciliter et stimuler la recherche sur ces nouvelles approches du fait d'un cadre harmonisé au niveau européen,
- D'assurer un accès au marché de l'ensemble des Etats-Membres de l'Union européenne via une procédure d'AMM centralisée (l'AMM octroyée par la Commission Européenne s'impose dans tous les pays de l'Union Européenne),
- De développer la qualité et la sécurité de ces nouveaux produits par l'établissement de référentiels adaptés applicables sur l'ensemble de l'Union européenne et l'introduction d'obligations de suivi de la sécurité et de l'efficacité une fois le produit mis sur le marché,
- D'améliorer l'évaluation de ces produits innovants avec la mise en place d'un comité des thérapies innovantes, le Comite for Advanced Therapies (CAT) au sein de l'European Medicine Agency (EMA) regroupant les expertises spécifiques nécessaires pour assurer un niveau élevé d'évaluation scientifique dans tous les domaines que couvrent ces produits (bio ingénierie, biologie cellulaire et moléculaire, production biologique, toxicologie, pharmacologie et immunopharmacologie, clinique)
- De stimuler la recherche et le développement de ces produits par la mise en place de mesures incitatives (1).

B. Règlementation des essais cliniques

La majorité des MTI sont actuellement en phase d'essais cliniques et répondent donc aux exigences réglementaires concernant la recherche biomédicale et les essais cliniques.

1. Au plan national

Les essais cliniques doivent respecter les textes réglementaires nationaux :

- Les articles L-1121 du CSP relatifs aux recherches impliquant la personne humaine
- La loi n° 2012-300 du 5 mars 2012 (Loi Jardé), relative à la « recherche impliquant la personne humaine »

- La réglementation des Recherches Impliquant la Personne Humaine ou RIPH (décret n° 2016-1537 du 16 novembre 2016 et décret rectificatif n° 2017-884 du 9 mai 2017), les recherches sur les MTI et MTI-PP relèvent des RIPH de type I7 (recherche interventionnelle qui comporte une intervention sur la personne humaine non justifiée par sa prise en charge habituelle);
- L'autorisation des recherches biomédicales étant une compétence nationale, il convient de prendre en compte la réglementation française et plus particulièrement la loi N° 2004-806 du 9 août 2004 relative à la politique de santé publique et ses textes d'applications. L'ensemble de ces textes et de nombreux guides explicatifs, dont un avis aux promoteurs, sont disponibles sur le site de l'ANSM.

2. Au plan européen

Conformément à la directive 2001/20/CE applicables aux essais cliniques de médicaments humains, les essais cliniques doivent être réalisés conformément aux bonnes pratiques cliniques (BPC) fixées par la directive 2005/28/CE, et aux guidelines applicables décrites dans EudraLex volume 10.

Cette directive a été remplacée par le nouveau règlement européen 536/2014 portant sur les essais cliniques des médicaments, adopté en mai 2014, et entré en vigueur le 31 janvier 2022.

Il vise à renforcer et harmoniser dans l'Union européenne (UE) l'ensemble de la réglementation relative aux essais cliniques de médicaments (EC) afin de :

- Faciliter l'accès des patients aux traitements ;
- Renforcer l'attractivité de l'Europe en matière d'essais cliniques ;
- Augmenter la transparence et l'accès aux données issues de ces essais.

Ce règlement reprend des principes déjà posés dans la directive 2001/20/CE sur les EC de médicaments, à savoir :

- L'obligation d'information préalable et de consentement éclairé et expresse des personnes participant à l'EC,

- Un EC ne peut commencer dans un état membre (EM) qu'après avis favorable d'un comité d'éthique compétent sur les aspects éthiques de l'EC dans cet EM et l'autorisation de l'autorité compétente sur les aspects scientifiques de l'EC dans cet EM
- Le promoteur, responsable de l'EC, doit être établi dans l'UE. A défaut, il désigne un représentant légal qui doit être établi dans l'UE,
- L'EC doit être conduit et surveillé par un investigateur qui est un médecin ou un chirurgien-dentiste pour les EC dans le domaine de l'odontologie,
- Les EM doivent pouvoir prendre des mesures correctives (suspension, interdiction, modification) sur les EC conduits sur leurs territoires.

L'évolution majeure est la création du portail Clinical Trial Information System (CTIS) qui remplace ainsi Eudra-CT.
Le système d'information CTIS, mis en place par l'EMA est accessible aux promoteurs, qu'ils soient industriels ou institutionnels, à leurs autorités sanitaires respectives ainsi qu'au grand public à travers trois espaces numériques distincts.
Il prend en charge les procédures administratives des autorités et des promoteurs tout au long du cycle de vie des EC grâce à des outils de collaboration et de communication pour les promoteurs et les autorités ainsi que pour les autorités entre elles. Il propose également des fonctions de flux de travail, de gestion de documents et de rapports.
Ce portail unique est accessible à l'ensemble des 27 États membres de l'UE auxquels s'ajoutent l'Islande, le Liechtenstein et la Norvège, en tant que pays signataires du traité de l'Espace économique européen (EEE).

Ce nouveau règlement propose également la mise en place d'une procédure d'évaluation coordonnée de la partie scientifique (partie I) du dossier initial de demande d'EC et des demandes de modifications substantielles. La coordination de l'évaluation scientifique est assurée par un EM dit rapporteur. L'EM rapporteur est désigné parmi les EM concernés c'est à dire les autres EM dans lesquels l'EC est mené.
L'évaluation éthique (partie II) reste quant à elle réalisée au niveau national. Les comités de protection des personnes (CPP) sont chargés d'émettre un avis préalable

sur les conditions de validité de toute recherche impliquant la personne humaine.[9]

C. Règlementation des OGM

Les médicaments contenant ou constitués d'OGM doivent également respecter les exigences applicables en vertu de :

- La directive 98/81/CE sur l'utilisation confinée des OGM.
- La directive 2001/18/CE relative à la dissémination volontaire dans l'environnement d'organismes génétiquement modifiés (« cadre de dissémination volontaire ») et/ou en vertu de la directive 2009/41/CE sur l'utilisation confinée de micro-organismes génétiquement modifiés (« cadre d'utilisation confinée »).
- La loi du 25 juin 2008 réglementant l'utilisation des OGM. Cette loi crée le HCB, instance indépendante chargée d'éclairer la décision publique, placé auprès des ministères chargés de l'Environnement, de l'Agriculture, de la Recherche, de la Santé et de la Consommation. Il rend des avis sur toutes questions intéressant les biotechnologies, notamment les OGM. Il a la charge du classement des OGM comme défini précédemment et examine les demandes d'utilisation des OGM en milieu confiné.
- L'arrêté du 19 mars 2007 (2007/358) relatif à la dissémination volontaire à toute autre fin que la mise sur le marché de produits composés en tout ou partie d'organismes génétiquement modifiés.

III. Conditions d'utilisation des MTI

A. Autorisation PUI d'utilisation des MTI

Les pharmacies à usage intérieur (PUI) répondent aux besoins pharmaceutiques des personnes prises en charge au sein des établissements de santé, de certains établissements médicaux-sociaux ou par les services d'incendie et de secours. Elles

[9] Article L 1123-7 du CSP

constituent un acteur essentiel de la qualité et la sécurité du circuit du médicament et des dispositifs médicaux stériles au sein de ces structures.

L'ordonnance n° 2016-1729 du 15 décembre 2016 aux pharmacies à usage intérieur (PUI) a réformé le droit applicable à ces pharmacies, notamment en permettant de nouvelles possibilités de coopérations et en soumettant les activités comportant des risques particuliers à une autorisation limitée à sept ans.
Le décret n° 2019-489 du 21 mai 2019 relatif aux pharmacies à usage intérieur dans la sous-section 2, de l'article 5126-9, précise que :
« Pour assurer une ou plusieurs des activités prévues aux 1° à 10° suivants, la pharmacie à usage intérieur est tenue de disposer d'une autorisation mentionnant expressément cette ou ces activités ou délivrée tacitement à la suite d'une demande mentionnant expressément cette ou ces activités :

- 4° La reconstitution de spécialités pharmaceutiques, y compris celle concernant les médicaments de thérapie innovante définis à l'article 2 du règlement (CE) n° 1394/2007 du Parlement européen et du Conseil du 13 novembre 2007 concernant les médicaments de thérapie innovante et modifiant la directive 2001/83/ CE ainsi que le règlement (CE) n° 726/2004, et celle concernant les médicaments expérimentaux de thérapie innovante ;
- 5° La mise sous forme appropriée, en vue de leur administration, des médicaments de thérapie innovante préparés ponctuellement y compris expérimentaux, conformément à la notice ou au protocole de recherche impliquant la personne humaine »

Ce texte conforte le monopole pharmaceutique, à la fois sur la reconstitution des MTI et sur la mise sous forme approprié des MTI-PP y compris expérimentaux.

De fait, la reconstitution de MTI est soumise à autorisation. Le directeur de l'établissement doit adresser la demande d'autorisation au directeur général de l'Agence régionale de santé (ARS) territorialement compétente. Le dossier de demande d'autorisation précisera les activités souhaitées et les moyens affectés aux différentes activités.

Il est précisé à l'Article R. 5126-5 que :

« Pour les médicaments de thérapie innovante y compris ceux préparés ponctuellement mentionnés aux 4° et 5° du I de l'article R. 5126-9, la pharmacie à usage intérieur peut organiser, sur la base d'une convention, avec un établissement ou organisme autorisé conformément aux dispositions des articles L. 1243-2, L. 4211-9-1 ou L. 4211-9-2, la conservation, la reconstitution ou la mise sous forme appropriée conformément à la notice ou au protocole de recherche impliquant la personne humaine nécessaires à la dispensation de ces médicaments.

La convention signée est transmise à l'autorité mentionnée au I ou au IV de l'article L. 5126- 4. »

Si une PUI ne dispose pas des moyens, équipements ou locaux, elle peut ainsi mettre en place des conventions avec d'autres établissements. Ceci peut être en particulier le cas pour la partie stockage en azote pour laquelle les PUI ne disposent souvent pas de moyens.

B. Règlementation et recommandations des sociétés savantes

1. Locaux

La préparation des MTI requiert des locaux pharmaceutiques dédiés en raison de la spécificité de leur manipulation et des risques engendrés. De fait, ils doivent être signalés par un sigle de type « risque biologique » et leur accès restreint et contrôlé.

L'organisation des locaux s'appuie sur les principes généraux décrits dans les Bonnes Pratiques de Préparation (BPP) et les Bonnes Pratiques de Pharmacie Hospitalière (BPPH) et permet de maitriser les circuits des personnels, les flux des matières, les flux des MTI et les circuits des déchets (3) (4).

La LD2 souligne la nécessité de s'appuyer sur une approche fondée sur l'analyse du risque afin de s'assurer que les substances sont manipulées dans des conditions adaptées (3).

Ces locaux dédiés à la préparation des MTI doivent bénéficier d'une zone à atmosphère contrôlée (ZAC) avec gradient de pression adapté au risque des produits manipulés (3) (4).
Pour les médicaments de thérapie cellulaire et les médicaments de thérapie génique de classe I, des locaux existants, répondant aux exigences règlementaires, pourront être dédiés temporairement sous réserve d'un vide de production comportant un bionettoyage encadrant les préparations (3) (4).
Pour les médicaments de thérapie génique de classe II et les virus réplicatifs, les locaux sont strictement dédiés à cette activité. Une pièce de préparation en dépression par rapport à un SAS en pression positive doit être privilégiée permettant de conserver le confinement (5).

En cas de conception de nouveaux locaux, la mise en œuvre des mesures permettant de répondre aux situations les plus défavorables de l'analyse de risque réalisée au préalable est recommandée (6).

2. Equipements

L'installation des équipements doit être réalisée dans des zones classées selon la norme ISO 14 644. Les dispositions géographiques et fonctionnelles sont décrites dans les BPP ; l'organisation des locaux doit s'inspirer des fiches INRS (7).

Tout type de MTI doit être préparé sous un poste de sécurité microbiologique (PSM) de type IIB ou III. L'utilisation de sur-gants stériles est recommandée. Toute autre manipulation conjointe ou concomitante, sous le même équipement, est à proscrire.

La procédure de nettoyage et de désinfection du PSM doit être validée par le promoteur ou le laboratoire pharmaceutique commercialisant le MTI ; elle est indispensable entre deux préparations de nature différente.
En l'absence d'agent décontaminant universel, il est nécessaire de vérifier la compatibilité de l'agent avec les surfaces à nettoyer, y compris le conditionnement

primaire du médicament. Une décontamination à base de peroxyde d'hydrogène ou d'acide peracétique expose à un risque de dégradation des MTI.

3. Personnels

Le personnel impliqué dans le circuit de ces médicaments doit bénéficier d'une formation spécifique et adaptée à chaque équipement et à chaque type de MTI.
Le promoteur ou le laboratoire commercialisant le MTI doit fournir toutes les informations nécessaires ainsi que les données de sécurité concernant les MTI, pour le personnel concernant ses produits, et les conduites à tenir en cas d'exposition accidentelle.
Entre deux préparations de nature différentes, le manipulateur doit changer intégralement ses équipements de protection individuelle (EPI).
Un kit d'urgence contenant a minima des EPI, un absorbant, et un produit inactivant de type eau de Javel doit être immédiatement disponible en cas d'incident.
Tous les incidents doivent faire l'objet d'une déclaration à la médecine du travail.

4. Circuit du médicament

a. Réception et stockage

Les locaux de stockage doivent être signalés par un logo « risque biologique ». Il est recommandé de définir des zones de stockage spécifiques aux MTI (compartiment, étagère, tiroir) et de séparer les différents produits.

Selon le MTI, la température de stockage diffère. Le plus fréquemment, la conservation des MTI implique un stockage à -80°C ou -150°C. Des congélateurs adaptés voir un stockage en azote sont donc nécessaires. En cas de stockage en azote, une cuve à azote alimentée régulièrement en azote, d'accès contrôlé et placé dans des locaux adaptés est requise. Le stockage en vapeur d'azote est recommandé pour éviter d'éventuelles contaminations croisées. Le personnel doit porter des EPI spécifiques lors de manipulation de carboglace ou d'azote liquide.

b. Préparation

Il est obligatoire de réaliser l'étape de décongélation des MTI dans les conditions définies par le promoteur ou le laboratoire commercialisant le MTI. Ces conditions (température, horaire) doivent être tracées.

Pour les étapes de préparation, les techniques et dispositifs utilisés permettent d'éviter la dispersion du MTI dans l'air ambiant et les accidents d'exposition professionnelle. Pour cela, la compatibilité des dispositifs médicaux et des matériaux utilisés dans la préparation ou l'administration des MTI, doit être vérifiée avec le promoteur ou le laboratoire commercialisant le MTI. Les MTI à base de cellules devront être perfusés à l'aide d'un transfuseur et non d'un perfuseur. Toutes les préparations doivent être conditionnées de manière à assurer l'étanchéité.

c. Transport et dispensation

Les conditions de transport notamment en termes de protection des chocs, d'étanchéité, de température, de délai doivent être maîtrisées et conformes aux recommandations du promoteur ou du laboratoire commercialisant le MTI.
Le contenant doit être rigide, étanche et dédié au transport du MTI.
Dans le cas des OGM, seul un personnel formé peut effectuer le transport de MTI. En cas d'incident au cours du transport, un kit d'urgence doit être immédiatement disponible, accompagné d'une procédure d'utilisation.
Afin d'éviter tout risque d'erreur ou de perte du MTI, la préparation doit être remise en main propre au personnel en charge du patient, avec traçabilité (date, horaire, effecteur).

d. Gestion des déchets

L'élimination des déchets issus de la manipulation des MTI se fait dans le circuit DASRI. Cependant, selon le MTI, en particulier dans le cadre des thérapies géniques, une étape supplémentaire d'inactivation peut être nécessaire. Le promoteur ou le

laboratoire commercialisant le MTI doit donner les conditions particulières de traitement des déchets lié à son MTI. Les équipes d'hygiène et du comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) peuvent participer à la définition du circuit d'élimination des déchets d'activité de soins.

Le HCB précise la gestion des OGM. Selon les avis et recommandations du HCB, les déchets solides subissent une inactivation thermique préférentiellement, définie par un cycle d'autoclave à 134 °C pendant 20-30 minutes. Idéalement, un autoclave dédié dans l'unité de MTI doit être utilisé. Les autoclaves de la stérilisation centrale ne doivent pas être utilisés ; ils doivent être dédiés uniquement à l'inactivation thermique des médicaments biologiques (6).
En cas d'impossibilité, il est possible de réaliser une inactivation chimique des déchets solides et liquides par immersion dans une solution d'eau de javel à 0,43 % pendant 12 heures. L'inactivation des déchets doit être tracée.

e. Traçabilité

Un système de traçabilité complète (matière première, produit fini et patient) fiable est nécessaire afin de permettre une traçabilité ascendante et descendante de chaque MTI administré. Ces données doivent être archivées pendant 30 ans.
Pour chaque préparation, un dossier de lot comporte un double de la prescription, l'identification des personnels ayant réalisé la préparation, la fiche de fabrication, un double de l'étiquette, l'enregistrement du contrôle, la traçabilité de la dispensation et la traçabilité de l'inactivation des déchets.
Lors de la dispensation d'un MTI, une vigilance particulière doit être apportée au contrôle de l'identité du patient et à la conformité au produit manipulé ou délivré sachant que certaines préparations seront anonymes sous forme d'un code produit ou code identifiant.

C. Autorisation d'utilisation des OGM

Afin de simplifier l'utilisation des médicaments composés en tout ou partie d'OGM, tels que les médicaments de thérapie génique et les vaccins contenant des OGM, les démarches ont été progressivement regroupées auprès de l'agence nationale de sécurité du médicament (ANSM)[10], au travers de nouvelles modalités de dépôt des déclarations d'utilisations confinées.

Ces démarches sont effectuées via la plateforme « Démarches simplifiées » depuis le 1 juin 2022. Elle remplace désormais l'application DUO du ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation (MESRI).

Cette procédure centralisée concerne à la fois la « déclaration d'utilisations confinées » dans le cadre d'essais cliniques et la « demande d'autorisation de dissémination volontaire » dans le cadre des demandes d'autorisations d'accès précoces, d'accès compassionnel et de MTI-PP de thérapie génique.

La « déclaration d'utilisations confinées » dans le cadre d'essais cliniques est effectué par les promoteurs des essais cliniques. Ils déclarent pour chaque essai les utilisations confinées d'OGM de classe de confinement 1 (risque nul ou négligeable) pour tous les sites impliqués.
La mise en œuvre de l'utilisation confinée déclarée est subordonnée à l'autorisation de la RIPH délivrée par l'ANSM après avis favorable du Comité de protection des personnes. Pour toute déclaration concernant une RIPH, le dossier doit également comprendre la liste des sites dans lesquels les essais seront mis en œuvre.
Les dossiers de « demande d'autorisation de dissémination volontaire » sont déposés par les laboratoires.

Cette réforme prévoit également le remplacement du HCB. L'ANSM peut soit saisir le comité d'expertise des utilisations confinées d'OGM (CEUCO) placé auprès du MESRI afin qu'il rende un avis sur l'utilisation confinée visée, soit l'Agence nationale

[10] Décret n° 2021-1905 du 30 décembre 2021

de sécurité sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) afin qu'il rende un avis sur le risque de dissémination volontaire visée.

Toutes les demandes d'autorisation sont accompagnées d'un dossier technique. Son contenu est fixé par l'arrêté du 25 janvier 2022 et doit comporter une évaluation des risques de l'utilisation pour la santé publique et pour l'environnement.

PARTIE II : L'HEMOPHILIE

I. Définition et épidémiologie

L'hémophilie est une maladie héréditaire qui se caractérise par une incapacité du sang à coaguler (8). En effet, la coagulation est un processus complexe nécessitant l'activation en cascade de plusieurs protéines appelées facteurs de coagulation. Dans l'hémophilie, un déficit de facteur de coagulation est présent.

On distingue :

- L**'hémophilie A** caractérisée par un déficit du facteur de coagulation VIII (FVIII ou facteur anti-hémophilique A)
- L**'hémophilie B** liée à un déficit du facteur de coagulation IX (FIX ou facteur anti-hémophilique B) (9).

L'hémophilie est la plus fréquente des maladies hémorragiques graves. La prévalence de l'hémophilie est estimée à environ 1 cas sur 10 000 naissances (10). L'hémophilie A est la forme la plus représentée avec environ 80 à 85% de la population hémophile totale (10). La prévalence est d'environ 1/7500 naissances de sexe masculin pour l'hémophilie A et d'1/30000 pour l'hémophilie B (8).

D'après les sondages mondiaux annuels réalisés par la Fédération mondiale de l'hémophilie, on estime que 400 000 personnes dans le monde seraient atteintes d'hémophilie (11). On compte en France environ 8800 patients hémophiles (12).

Cette maladie héréditaire a une transmission **récessive liée au chromosome X** où se situent les gènes incriminés**.**

De fait, l'hémophilie congénitale touche principalement les garçons, **systématiquement atteints dès lors qu'ils héritent d'un gène muté**. A l'inverse, les filles ne sont malades que si elles héritent de deux chromosomes X portant chacun un gène muté ; cette situation est rarissime (9). Lorsqu'elles possèdent un seul chromosome X muté, on dit qu'elles sont conductrices. Dans ce cas, le niveau de sévérité de la maladie est variable (8) (Figure 3).

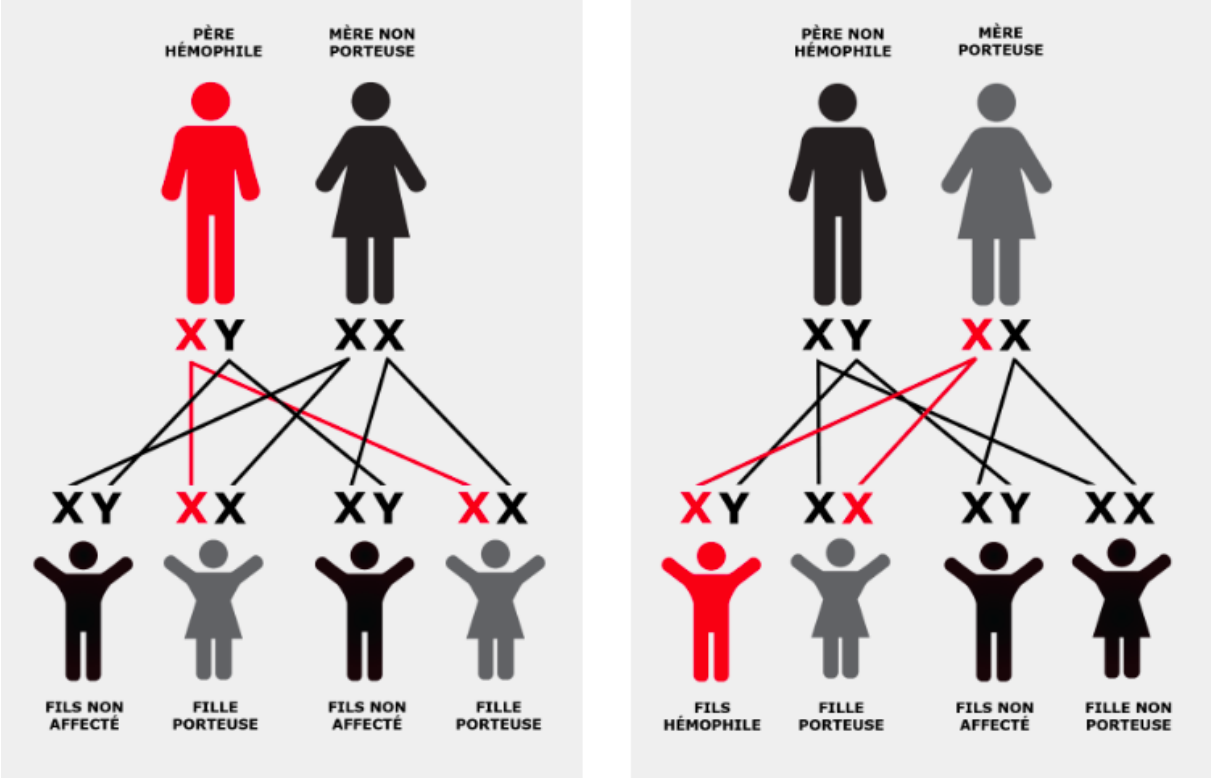

FIGURE 3: TRANSMISSION DE L'HEMOPHILIE

Toutefois, les gènes F8 et F9 sont sujets à de nouvelles mutations. Au total, un tiers de tous les cas sont imputables à une mutation spontanée, et ce, en l'absence d'antécédent familial.

Selon la nature de la mutation génétique à l'origine de la maladie, le facteur anti-hémophilique affecté peut être totalement ou partiellement absent de l'organisme du patient, ou présent, mais sous une forme dysfonctionnelle.
Ces différences de taux de facteurs circulant se traduisent par des **degrés variables de sévérité de la maladie** :

- Une **hémophilie sévère** est définie par des taux de FVIII ou de FIX inférieurs à 1%,
- Des taux de FVIII ou de FIX compris entre 1 et 5% définissent une **hémophilie modérée**,
- Des taux de FVIII ou de FIX compris entre 5 et 40% définissent une **hémophilie mineure** (8).

TABLEAU 1: DONNES DEMOGRAPHIQUES (AGE/SEXE) – HEMOPHILIE A (12)

	Hémophilie sévère	**Hémophilie modérée**	**Hémophilie mineure**	**Total**
Patients	2089 (29%)	864 (12%)	4174 (59%)	7127
Age* (ans)				
Médiane	28.2	32.4	30.6	
(min-max)	(0.0-87.4)	(0.0-97.3)	(0.0-94.3)	
Sexe				
Homme	2083	855	3750	6688
Femme	6	9*	424*	439

** Les femmes atteintes d'hémophilie modérée et mineure sont considérées comme conductrices.*

TABLEAU 2: DONNES DEMOGRAPHIQUES (AGE/SEXE) – HEMOPHILIE B (12)

	Hémophilie sévère	**Hémophilie modérée**	**Hémophilie mineure**	**Total**
Patients	410 (24%)	415 (24%)	872 (51%)	1697
Age* (ans)				
Médiane	29.2	30.1	29.1	
(min-max)	(0.1-5.1)	(0.0-89.2)	(0.0-91.2)	
Sexe				
Homme	406	409	720	1535
Femme	4	6*	152*	162

** Les femmes atteintes d'hémophilie modérée et mineure sont considérées comme conductrices.*

II. Origine de l'hémophilie

A. Physiologie de l'hémostase

1. Hémostase primaire

L'hémostase est définie par l'ensemble des phénomènes mis en jeu lors de l'apparition de la brèche vasculaire. L'objectif est de stopper rapidement le saignement par la création d'un clou plaquettaire obturant la brèche vasculaire.

a. Principaux acteurs

Quatre acteurs permettent ce contrôle hémorragique ; ce sont aussi bien des éléments cellulaires que des protéines plasmatiques.

i.Acteurs cellulaires

Les éléments cellulaires sont représentés par la paroi vasculaire, notamment les cellules qui la composent, et par les plaquettes sanguines.

<u>Paroi vasculaire</u>

Elle se compose de trois grandes parties qui sont de l'extérieur vers l'intérieur (Figure 4) :

- L'***adventice***, faisant le lien avec les autres tissus péri-vasculaires. Dans ce tissu conjonctif, circulent les vasa vasorum et s'y trouvent les ramifications nerveuses
- La ***media***, riche en fibres musculaires permettant la vasoconstriction grâce au système nerveux autonome ainsi qu'à des médiateurs chimiques synthétisés par les cellules endothéliales (NO et endothéline notamment)
- L'***intima***, composée d'une couche cohésive et continue de cellules endothéliales. Ces cellules viennent tapisser la surface interne des vaisseaux

et sont séparées du sous-endothélium par la membrane basale. Le sous-endothélium est constitué de microfibrilles de collagène (13).

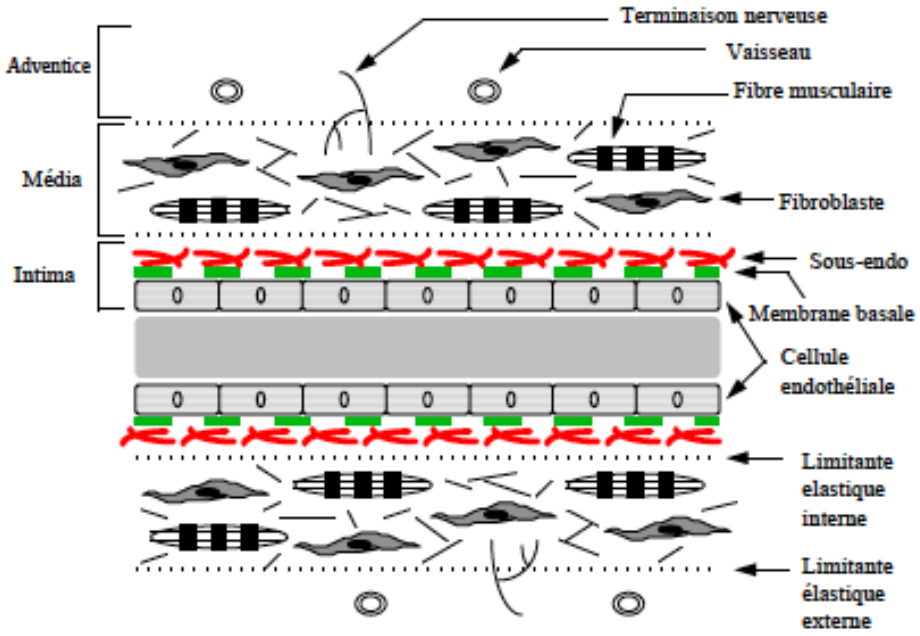

FIGURE 4: STRUCTURE DE LA PAROI VASCULAIRE (14)

L'hémocompatibilité, propriété fondamentale de la paroi vasculaire, repose sur les fonctions intrinsèques des cellules endothéliales. Leurs propriétés sont les suivantes (Figure 5) :

- Une **fonction anti-thrombotique** au repos. Cette thromborésistance de la face interne de la cellule endothéliale est rendue possible grâce à la charge négative de la membrane mais également à la production locale d'antiagrégants plaquettaires, d'inhibiteurs de la coagulation ou encore d'activateurs de la fibrinolyse.
- Une **fonction prothrombotique** lorsque les cellules endothéliales sont activées. Dans cette situation, elles expriment des protéines pro-thrombotiques (phospholipides et facteur tissulaire) à l'origine du phénomène d'agrégation plaquettaire ou de coagulation.
- Une **activité métabolique**. On retiendra la synthèse de :
    - La prostaglandine PGI2 (propriété antiagrégante et vasodilatatrice) ;
    - La thromboxane TXA2 (propriété proagrégante et vasoconstrictive) ;

- Le facteur tissulaire (FT), récepteur du FVII ;
- L'activateur tissulaire du plasminogène (t-Pa) et son inhibiteur (PAI) ;
- Le facteur de Willebrand, protecteur du FVIII contre la protéolyse ;
- Le collagène, une des principales protéines prothrombogènes ;
- Les protéines vasoactives comme le NO et l'endothéline (13).

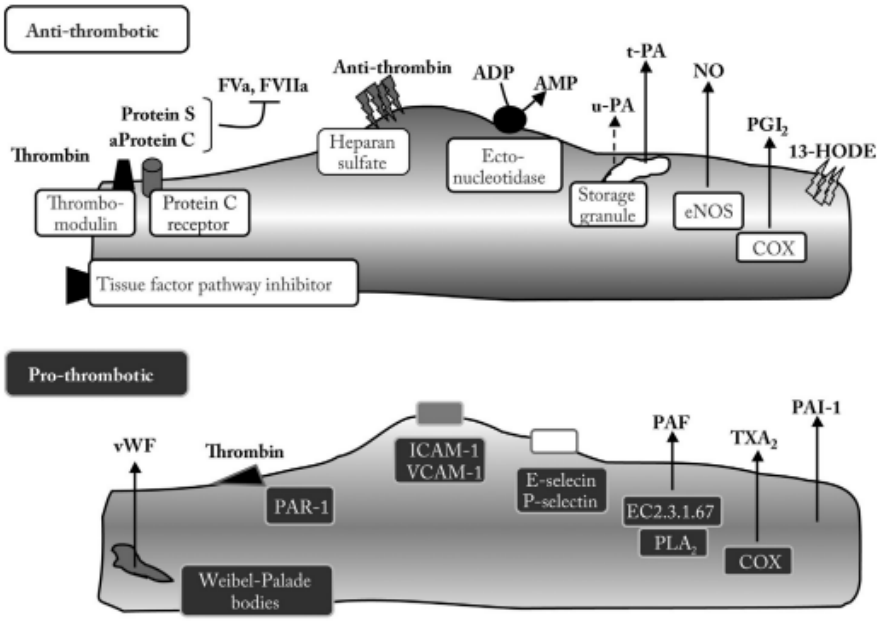

FIGURE 5: ROLE CLE DE LA CELLULE ENDOTHELIALE DANS LA REGULATION DE L'HEMOSTASE (15)

Plaquettes

Les plaquettes sont des cellules anucléées produites par la moelle osseuse en deux étapes distinctes : la mégacaryopoïèse et la thrombopoïèse.

La mégacaryopoïèse comprend l'ensemble des étapes menant de la cellule souche hématopoïétique (CSH) au mégacaryocyte (MK) mature capable d'émettre des proplaquettes. La première étape est l'engagement de la CSH dans la voie érythro-mégacaryocytaire pour donner un progéniteur commun érythroblastique-mégacaryocytaire. Ce progéniteur se différencie alors en progéniteur MK qui va proliférer et maturer. Au contact de l'endothélium, le MK mature va émettre des proplaquettes dans la circulation sanguine donnant naissance aux plaquettes. La thrombopoïèse est la génération de plaquettes à partir des MK mature.

Un tiers du pool est stocké au niveau de la rate (13).

Lors de l'activation de l'hémostase, leur durée de vie moyenne d'environ 7 jours est raccourcie. Elles jouent un rôle majeur dans l'hémostase primaire notamment à travers les étapes d'adhésion et d'agrégation plaquettaire (14).
Les phospholipides, représentant 80% des lipides membranaires, sont polarisés au niveau du feuillet interne en situation de repos. Après activation, les phospholipides sont alors exposés sur le versant externe des plaquettes. Ceci leur permet de rentrer au contact des composants plasmatiques et ainsi d'exercer leur fonction procoagulante (13).
Leur membrane cytoplasmique est riche en glycoprotéines fonctionnelles. Elles jouent un rôle de récepteur permettant alors de transmettre un signal vers les structures cytoplasmiques, contractiles ou sécrétrices. Par exemple, le complexe gpIb/IX, récepteur de vWF est impliqué dans l'adhésion plaquettaire à l'endothélium. Le complexe gpIIb/IIIa, récepteur du fibrinogène entre en jeu dans le processus d'agrégation plaquettaire (13).

Une anomalie plaquettaire peut être à l'origine de saignements qu'il s'agisse d'un déficit quantitatif, appelé thrombopénie, ou d'un déficit qualitatif, défini par les thrombopathies constitutionnelles. Les maladies plaquettaires étudiées résultent d'anomalies génétiques et présentent une très grande diversité. Les syndromes hémorragiques sont très variables en fonction de la pathologie plaquettaire concernée.

ii.Acteurs plasmatiques

Facteur von Willebrand

Le facteur von Willebrand est une protéine synthétisée par les cellules endothéliales et les mégacaryocytes. Elle permet l'adhésion des plaquettes aux cellules endothéliales activées mais aussi le transport du FVII.

Un déficit de cette protéine impliquée dans les mécanismes de l'hémostase primaire peut aboutir à la maladie de Willebrand (MW), une maladie hémorragique héréditaire.
Il existe deux grands groupes de déficit en vWF dont la classification est basée sur les anomalies quantitatives ou qualitatives observées :

- Déficits quantitatifs : partiel (type 1) ou complet (type 3)
- Déficits qualitatifs (type 2) regroupant plusieurs types (2A, 2B, 2M, 2N).

Il s'agit d'une maladie génétique dont la transmission est autosomale dominante pour la plupart des types de MW. Certaines formes plus rares (type 3, type 2N, certains types 2A) sont à transmission autosomale récessive.
Son expression clinique et biologique est très variable. Cependant, dans sa forme la plus courante, la MW se traduit essentiellement par des hémorragies cutanéo-muqueuses.

Fibrinogène

Cette protéine soluble est synthétisée par le foie. Elle joue un rôle majeur dans l'hémostase primaire, en créant des ponts moléculaires interplaquettaires à l'origine des agrégats plaquettaires.

b. Mécanisme

Quatre étapes conduisent à la formation du clou plaquettaire (Figure 6) :

- La vasoconstriction ;
- L'adhésion des plaquettes au sous-endothélium
- L'activation et la sécrétion plaquettaire ;

L'agrégation des plaquettes entre elles aboutissant au clou plaquettaire.

i.La vasoconstriction

La mise à nu de l'endothélium engendre à une vasoconstriction afin de diminuer la lumière vasculaire engendrant une perte de l'écoulement laminaire du sang et favorisant la stase sanguine. Cela permet de diminuer les pertes sanguines et d'aider au bon déroulement des étapes de l'hémostase primaire. C'est ce qu'on appelle le temps vasculaire. S'en suit le temps plaquettaire que l'on peut diviser en trois parties : adhésion, activation et agrégation.

ii.L'adhésion plaquettaire

Cette étape est un phénomène passif aboutissant à l'adhésion des plaquettes circulantes aux structures thrombogènes sous-endothéliales. La création d'une première couche de plaquette est permise grâce au facteur de Willebrand qui fixé au collagène, se lie à la membrane plaquettaire par son récepteur gpIb.

iii.L'activation plaquettaire

Le premier phénomène contribuant à l'activation plaquettaire est le changement de forme de la cellule. De forme discoïde au repos, les plaquettes prennent une forme sphérique et émettent des pseudopodes leur permettant de s'étaler sur toute la surface d'adhésion. Cette modification de forme est rendue possible par l'activation du système contractile actine-myosine, processus actif nécessitant de l'énergie sous forme d'ATP et d'ions calcium.

Le second phénomène est l'activation métabolique des plaquettes. La sécrétion plaquettaire entraine la libération de substances proagrégantes, comme le fibrinogène par exemple, et procoagulantes (facteur de coagulation V, vWF, fibrinogène). Ces substances contribuent à l'amplification du processus d'hémostase primaire et créent des conditions favorables à la coagulation. Leur activation permet de métaboliser un puissant agent vasoconstricteur et proagrégant, la thromboxane TXA2, à partir de l'acide arachidonique, un de ses phospholipides membranaires. Enfin, le phénomène de « flip-flop », permet aux structures internes de la membrane de se repositionner vers l'extérieur et ainsi d'entrer en contact avec le plasma. Une fois extériorisée, les phospholipides chargés négativement (phosphatidylsérine) deviennent alors disponibles pour la fixation des facteurs de coagulation vitamine K dépendant engendrant ainsi une amplification de la coagulation.

iv.L'agrégation plaquettaire

L'acteur clé de cette étape est le fibrinogène. Lors de l'activation plaquettaire, la configuration du récepteur membranaire GPIIbIIIa est modifié. En présence de

calcium, le récepteur est alors capable de fixer le fibrinogène. Via ce récepteur, le fibrinogène crée de véritables ponts interplaquettaires formant le clou plaquettaire.

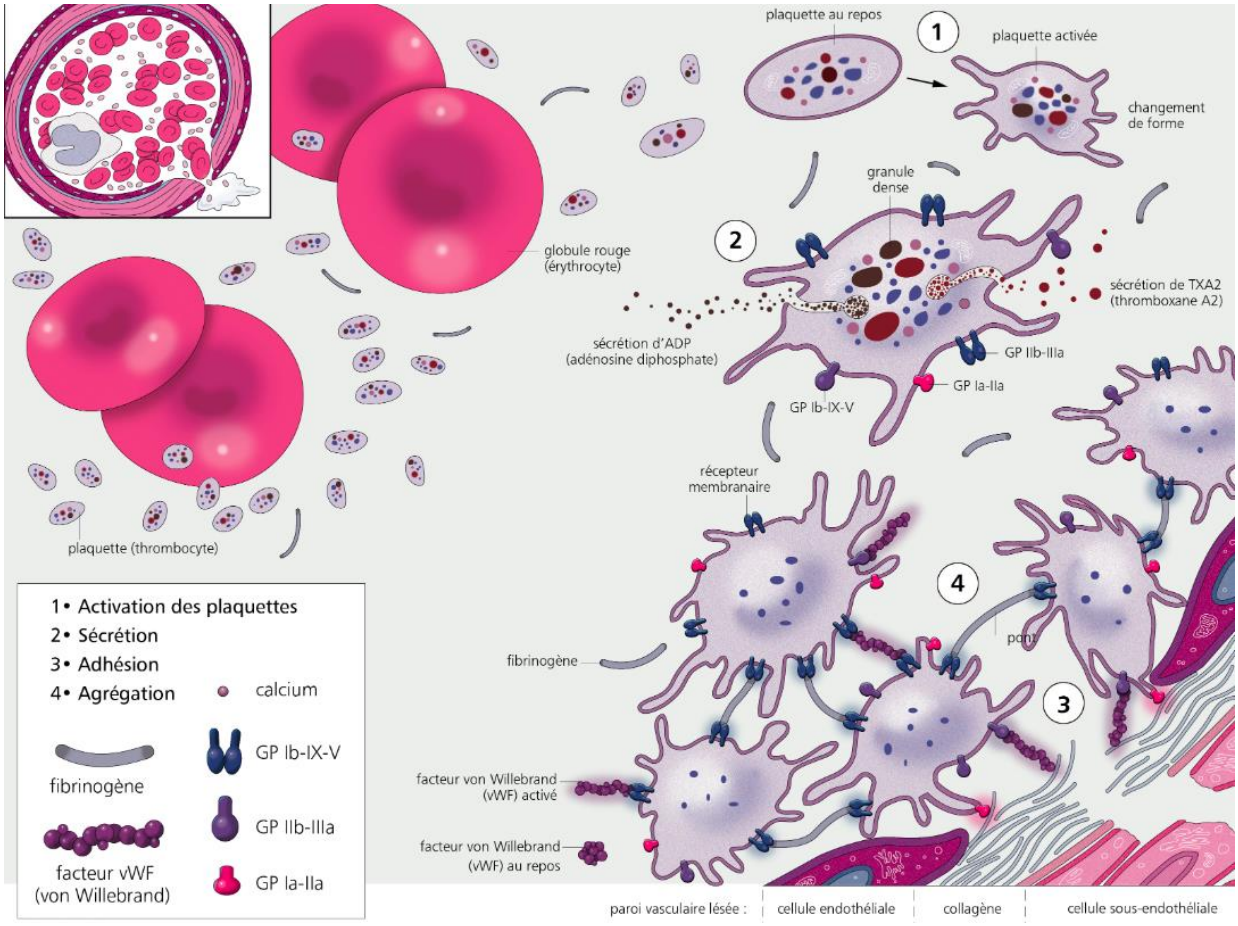

FIGURE 6: LES QUATRE ETAPES DE L'HEMOSTASE PRIMAIRE (16)

2. Coagulation

La coagulation permet la consolidation du clou plaquettaire dans le but d'obtenir une hémostase permanente.

a. Principaux acteurs

i.Acteurs cellulaires

Plusieurs cellules interviennent dans le phénomène de coagulation à savoir :

- Les cellules endothéliales et les monocytes, cellules exprimant le facteur tissulaire
- Les fibroblastes, qui expriment le facteur tissulaire et permettent la synthèse de facteurs impliqués dans la coagulation

Les plaquettes activées sur lesquelles les phospholipides chargés négativement sont externalisés et forment alors une surface de catalyse aux réactions de coagulation

ii.Acteurs non cellulaires

Les acteurs non cellulaires correspondent aux facteurs de coagulation et leurs régulateurs.

Ce sont des protéines plasmatiques synthétisées par le foie. On compte au total douze facteurs de coagulation (Tableau 3). Certains sont des protéines à activité enzymatique, d'autres sont dénués d'activité enzymatique et servent ainsi de cofacteurs. Enfin, certains ont un rôle de substrat.

TABLEAU 3: LES FACTEURS DE COAGULATION (14)

N° Facteur	Nom	Particularité	Demi-vie	Taux minimum nécessaire
Facteur I	Fibrinogène	Absent du sérum	4-6 jours	0,5 à 1 g/l
Facteur II	Prothrombine	Vit K dépendant	3-4 jours	40 % < 5 % dans sérum
Facteur V	Proaccélérine	Absent du sérum	12-36 h	10-15 %
Facteur VII	Proconvertine	Vit K dépendant	4-6 h	5-10 %
Facteur VIII	Anti-hémoph A	Absent du sérum	10-16 h	30-40%
Facteur IX	Anti-hémoph B	Vit K dépendant	24 h	30-40%
Facteur X	Stuart	Vit K dépendant	1-2 jours	10-20%
Facteur XI	Rosenthal		1-2 jours	30%
Facteur XII	Hageman		2-3 jours	0% ?
Facteur XIII	Stabilisant fibrine		3-7 jours	2%

(i) Précurseurs

Les facteurs de coagulation II, VII, X, IX sont désignés sous le terme PPSB et sont des facteurs vitamine K dépendants. En effet, la vitamine K est nécessaire à la synthèse de protéines fonctionnelles. Elle permet, la gamma-carboxylation de l'acide glutamique porté par ces facteurs de coagulation. Les résidus gamma-carboxylés sont nécessaires à la fixation du calcium rendant ainsi possible les étapes de coagulation. Ces facteurs de coagulation sont des proenzymes qui, une fois activés, ont la capacité d'activer d'autres facteurs de coagulation par hydrolyse.

D'autres facteurs de coagulation participent au processus de fibrinolyse et d'inflammation. Ce sont des facteurs de contact indépendants de la vitamine K ; il s'agit des facteurs XI, XII et de la prékallicréine.

La sérine protéase est une enzyme proacoagulante. Sa fixation à la surface des phospholipides permet une augmentation de la concentration accélérant les interactions, une protection des enzymes procaoagulantes face aux inhibiteurs circulants, une restriction locale de l'activation de la coagulation (14).

(ii) Cofacteurs : facteur V et VII

Les cofacteurs n'ont pas d'activité enzymatique propre. La thrombine les active par hydrolyse partielle. Ceci permet d'exposer leurs sites de liaisons aux substrats et aux enzymes, potentialisant ainsi les interactions au sein des complexes tenase [VIIIa-Ixa] et prothrombinase [Va-Xa] (14).

(iii) Fibrinogène

Le fibrinogène, synthétisé par le foie, joue un rôle de substrat dans le phénomène de coagulation.

b. Mécanisme

La coagulation, dont le but ultime est la génération de la thrombine, se déroule en plusieurs étapes (Figure 7).

i.Déclanchement de la coagulation par le facteur VII

La fixation du FVII au facteur tissulaire est le signal de déclanchement de la coagulation. Le facteur tissulaire est exprimé au niveau des cellules musculaires de la paroi vasculaire et des fibroblastes. Il ne sera donc présent dans la circulation sanguine que lors de brèche vasculaire. Le facteur tissulaire va alors activer le facteur VII en formant un complexe [FVII activé-FT] (14).

ii.Activation du FX et des complexes enzymatiques

Le complexe [FVIIa-FT] va activer le facteur X :

- Soit de manière directe par protéolyse du facteur X en facteur Xa ;
- Soit indirectement en activant le facteur IX. Le facteur du FIXa en présence du cofacteur VIIIa forme le complexe ténase [FVIIIa-FIXa]. Ce complexe permet ensuite la transformation de FX en Fxa. Cette voie est plus lente à se mettre en place mais est quantitativement plus importante.

Le facteur Xa va ensuite former avec le cofacteur V activé le complexe prothrombinase [Va-Xa]. Il est intéressant de noter que le Fxa peut amplifier sa propre production en activant en retour le FVII (14).

iii.Formation de la thrombine ou thrombinoformation

Le complexe [Va-Xa] prototéolyse le FII en FIIa. La performance du système repose sur la double boucle de rétro-activation de la thrombine (FIIa). En effet, la thrombine peut activer les facteurs V et VII et donc potentialiser ainsi l'activité des complexes tenase et prothrombinase permettant l'amplification du rendement de la cascade enzymatique (14).

iv.Formation du réseau insoluble

Le FIIa hydrolyse les chaines polypeptidiques du fibrinogène en monomères de fibrine. Leur association permet la formation d'un caillot de fibrine instable. Préalablement activé par la thrombine, le facteur XIII établit des liaisons covalentes entre les différentes molécules de fibrine conduisant à une polymérisation des monomères de fibrine. Ainsi, la fibrine insoluble va enserrer et consolider le clou plaquettaire (14).

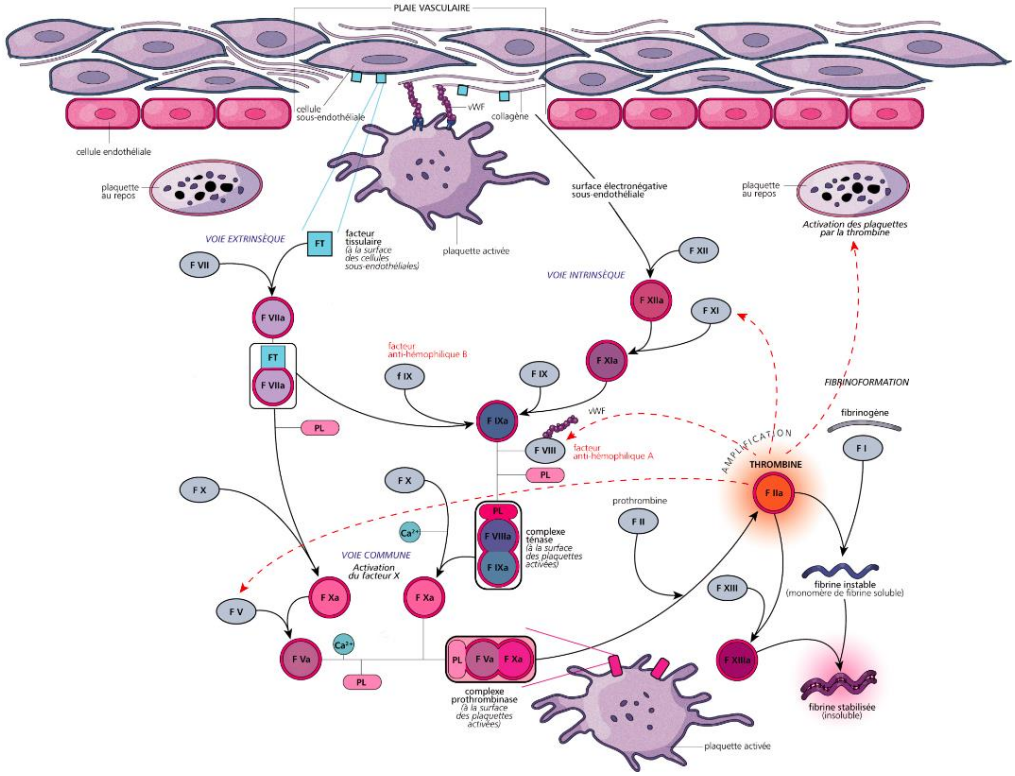

FIGURE 7: MECANISME DE COAGULATION (16)

v.Remarque : coagulation in vitro

Le phénomène de coagulation a longtemps été décrit selon 3 voies d'activation reflétant peu la physiologie de l'hémostase in vivo. Ce concept reste utilisé pour l'interprétation des résultats biologique *in vitro* :

- La voie intrinsèque (Facteurs de la voie contact, FXII, FXI, FIX, FXIII) permet l'exploration du Temps de Céphaline avec Activateur (TCA)
- La voie extrinsèque (FVII) permet l'exploration du Temps de Quick (TQ) ou taux de prothrombine (TP)
- La voie commune (FII, FV, FX, Fibrinogène) permet l'exploration du TCA, du TQ/TP et le dosage du Fibrinogène

c. Régulation de la coagulation

Une activation du processus de coagulation diffuse aurait de graves conséquences pathologiques. Trois systèmes inhibiteurs permettent de maintenir l'équilibre de coagulation à savoir le système de l'antithrombine, le système Protéine C-Protéine S et le TFPI (de l'anglais tissue factor pathway inhibitor).

i.Antithrombine

L'antithrombine (AT) est une glycoprotéine synthétisée par le foie. Elle inhibe les facteurs de coagulation, principalement le FIIa mais aussi les facteurs VIIA, Ixa et Ixa, dès lors qu'ils diffusent à distance du lieu de formation du caillot. Les déficits en antithrombine engendrent des maladies sévères responsables de thromboses à répétition (thromboses veineuses, embolies pulmonaires) (13).

ii.Système Protéine C-Protéine S

Les protéines C et S sont vitamine K dépendantes. La protéine C, après avoir été activée par la thrombine, en Protéine C activée (Pca) inhibe les facteurs Va et VIIIa. Son action est majorée en présence de la Protéine S (PS). Ce système permet de

diminuer la vitesse de génération de la thrombine (13).

iii.TFPI

Le TFPI neutralise l'activation du FX par le complexe [FVIIa– FT] (13).

3. Fibrinolyse

Dernière étape de l'hémostase, la fibrinolyse permet la dissolution du caillot de fibrine dans le but de reperméabiliser la paroi vasculaire. Tout comme la coagulation, l'équilibre de ce processus est permis par un système d'activateurs et d'inhibiteurs permettant une régulation physiologique très précise des molécules recrutées.

a. Mécanisme

Le plasminogène est une glycoprotéine d'origine hépatique. Circulant sous forme inactive, cette enzyme possède une grande affinité pour la fibrine. En s'y fixant, elle permet une synthèse locale de plasmine. La plasmine protéolyse ensuite le fibrinogène et la fibrine en divers fragments, les produits de dégradation de la fibrine (PDF). Les PDF sont épurés au niveau du foie par le système macrophagique.

b. Régulation

L'activation du plasminogène en plasmine est rendue possible grâce à deux activateurs : le t-Pa et la pro-urokinase (u-Pa). Le t-Pa est synthétisé par les cellules endothéliales ; sa sécrétion au niveau du caillot sera permise suite à de nombreux stimuli activateurs des cellules endothéliales. Le u-Pa est synthétisé par les cellules rénales, et s'active au contact du caillot de fibrine.
Parallèlement, il existe deux systèmes d'inhibiteurs de la fibrinolyse : des inhibiteurs de la plasmine et des inhibiteurs de l'activité du plasminogène (Figure 8). Le principal inhibiteur de la plasmine est une glycoprotéine hépatique, l'a–2–antiplasmine, qui neutralise la plasmine plasmatique circulante non liée à la fibrine. Les PAI de type 1

sont des glycoprotéines qui permettent l'inhibition du t-PA et de l'u-PA par formation d'un complexe covalent. Le PAI-1 est synthétisé par les cellules endothéliales et est libéré lors de l'activation plaquettaire qui initie le processus de l'hémostase.
En plus de leur activité de synthèse, les cellules endothéliales présentent sous formes activées, des récepteurs pour le plasminogène ou ses régulateurs. De fait, leur présence rend la fibrinolyse ainsi que son équilibre plus efficace.

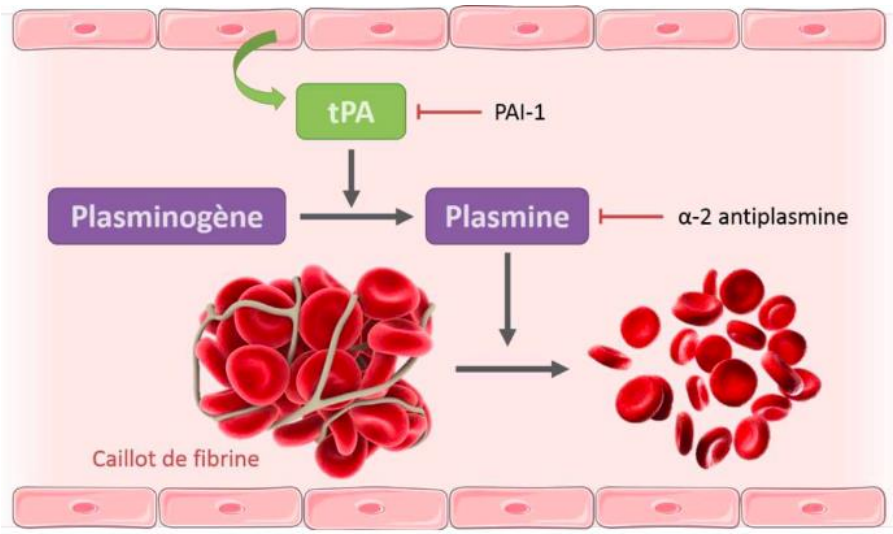

FIGURE 8: MECANISME ET REGULATION DE LA FIBRINOLYSE (17)

B. Physiopathologie : mécanisme mutationnel

L'hémophilie est une maladie hémorragique due à un déficit le plus souvent constitutionnel d'un des deux facteurs anti-hémophiliques : le FVII ou le FIX.

1. Pathologie moléculaire

a. Facteur VIII

Le FVIII est codé par un gène situé sur le bras long du chromosome X (Xq28). Il s'agit d'un long gène de 186 kb comportant 26 exons (Figure 9). De nombreuses anomalies génétiques ont été décrites, entraînant un déficit plus ou moins sévère en

FVIII, pouvant aller de la simple diminution du taux de FVIII par diminution de sécrétion ou présence de FVIII instable jusqu'à l'absence totale de FVIII fonctionnel (absence de FVIII ou FVIII tronqué).

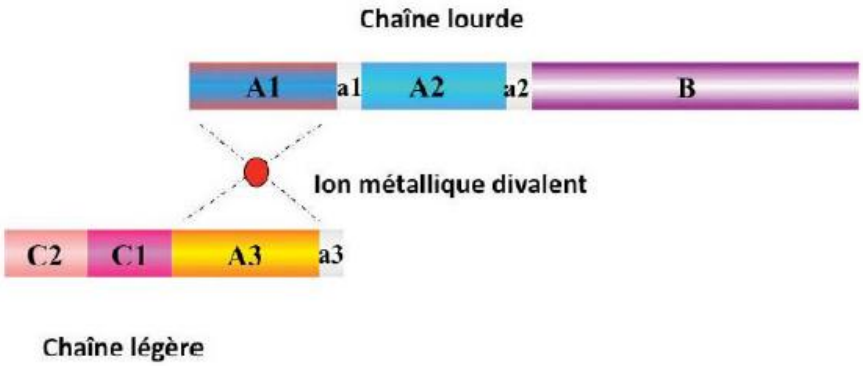

FIGURE 9: STRUCTURE DU FVIII (18)

Inversions

Près de 50 % des déficits sévères sont dus à une inversion sur l'intron 22 du gène du FVIII, qui aboutit à une impossibilité de transcription du gène et donc à un déficit très sévère en FVIII.

L'inversion portant sur l'intron 1 est quant à elle à l'origine de 3 % à 5 % des déficits sévères en FVIII.

Délétions

De larges délétions du gène FVIII sont toujours responsables de déficit sévère en FVIII. En revanche, les délétions partielles sont responsables de **degrés variables de sévérité de la maladie.**

Une délétion engendrant un décalage du cadre de lecture, peut être à l'origine d'une protéine aberrante, voire de l'apparition d'un codon stop prématuré, responsable d'un déficit très sévère. À l'inverse, la délétion d'un ou de plusieurs codons triplets ne pourra entraîner qu'un déficit partiel.

Mutations ponctuelles

De nombreuses mutations ponctuelles ont été décrites ; leur impact dépend de leur localisation. Un tiers de ces mutations ponctuelles surviennent dans des zones à haut risque de mutation notamment au niveau d'un doublet CG.

Les mutations non-sens sont habituellement sévères. Le plus souvent modérées, les mutations faux sens ont des degrés de sévérité variables. La sévérité des mutations impliquant les sites d'épissage de l'ARN dépend de la position de la mutation par rapport à la jonction exon-intron.

b. Facteur IX

Le gène codant le FIX est également situé sur le bras long du chromosome X (Xq29) mais est de plus petite taille. Il comporte 34 kb avec neuf exons et code un ARNm de 2,8 kb (Figure 10). Les déficits congénitaux en FIX sont dus, dans 95 % des cas, à des mutations ponctuelles très hétérogènes. Dans de nombreux cas, chaque famille possède sa propre mutation.

Comme pour le facteur VIII, les anomalies sur les doublets CG sont récurrentes. Les mutations faux-sens représentent deux tiers des mutations décrites mais leurs conséquences sont difficiles à définir. Les mutations non-sens ou décalantes induisent en général des déficits sévères.

Certaines mutations dans la zone du promoteur induisent un déficit particulier par son profil évolutif : sévère dans l'enfance, ce déficit se corrige partiellement ou totalement à la puberté. La forme typique est la mutation Leyden, responsable de l'hémophilie B du même nom. Elle induit une modification des sites de liaison des facteurs de transcription et une réduction de celle-ci. Après la puberté, le déficit de transcription est corrigé par les androgènes, qui seraient capables de réactiver le promoteur muté.

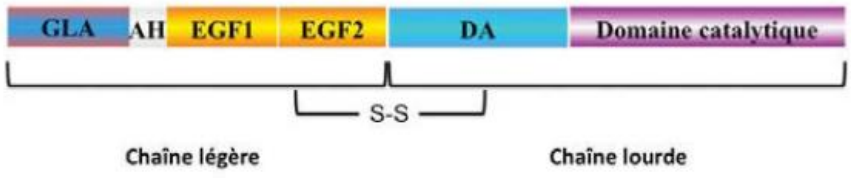

FIGURE 10: STRUCTURE DU FIX (18)

2. Conséquence du déficit en facteur anti-hémophilique sur l'hémostase

Malgré le fait que les facteurs anti-hémophiliques FVIII et FIX soient différents, le déficit de l'un ou l'autre engendre des manifestations cliniques similaires. Différents modèles ont permis d'étudier les conséquences d'une anomalie du complexe anti-hémophilique sur la coagulation et ainsi de mieux comprendre le déroulement du processus d'hémostase chez l'hémophile.

La première étape de l'hémostase, l'adhésion plaquettaire se déroule normalement au niveau de la brèche vasculaire. L'initiation de la coagulation est également possible puisque le facteur tissulaire est exprimé à la surface des cellules endothéliales.
En présence de quantités réduites de FVIII ou de FIX, la phase d'initiation est modérément ralentie.
L'absence d'un complexe ténase fonctionnel, dû à un déficit en FIXa ou en cofacteur FVIIIa, ne permet pas l'activation de FX. En l'absence d'un complexe prothrombinase [Va-Xa], et de complexe tenase, il ne peut pas y avoir de synthèse massive de thrombine, indispensable pour conférer une structure stable au caillot.
L'hémophilie apparaît ainsi essentiellement comme un défaut de la génération de thrombine à la surface des plaquettes, conduisant à la génération plus lente d'un caillot de structure altérée.

III. Signes cliniques et complication de la pathologie

Les facteurs anti hémophiliques sont indispensables à la phase d'amplification de la coagulation, permettant de générer des quantités suffisantes de thrombine pour créer un caillot. Le rôle de ces deux facteurs dans la coagulation permet de mieux comprendre les aspects cliniques de cette maladie.

La symptomatologie hémorragique est extrêmement variée mais est similaire quel que soit le type et la sévérité de l'hémophilie. En revanche, la fréquence et les

conditions de survenue des saignements varient en fonction de l'importance du déficit en facteurs (19) (Tableau 4).

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

TABLEAU 4: CORRELATION ENTRE LA GRAVITE DU SAIGNEMENT ET LE TAUX DES FACTEURS DE COAGULATION (20)

Les hémarthroses sont les manifestations les plus typiques de l'hémophile. Elles touchent surtout les genoux, les coudes et les chevilles. Les signes d'une hémarthrose sont : une sensation de compression, un gonflement de l'articulation, une douleur et une gêne à la mobilité de cette articulation. Elles peuvent être spontanées dans les formes sévères ou traumatiques (pour les formes modérées et mineures). Les saignements répétés au niveau d'une articulation peuvent évoluer à une arthropathie hémophilique (8).

Les hématomes des tissus sous-cutanés, les ecchymoses sont fréquentes chez l'enfant et généralement sans gravité (8).

En fonction de leur volume et de leur localisation, les hématomes musculaires peuvent générer un risque fonctionnel ou vital : hématome du plancher de la bouche (risque d'asphyxie), de la loge antérieure de l'avant-bras (risque de syndrome de Volkmann), du creux axillaire ou du creux poplité (risque de compression vasculaire), rétro-orbitaire (risque de cécité). Un hématome du psoas est parfois difficile à évoquer lorsqu'il est révélateur d'une hémophilie, pouvant simuler une appendicite aiguë ; le plus souvent, il faut avoir recours à une échographie pour confirmer le diagnostic (21).

Les hémorragies des cavités naturelles sont diverses. Les hématuries sont fréquentes et spontanées. Les hémorragies buccales (hémorragie du frein de la langue et de la lèvre supérieure) sont quant à elles les plus fréquentes chez l'enfant. Des rectorragies et hématémèses peuvent également être observées (8).

Les hématomes intracrâniens sont très rares, mais nécessitent une prise en charge en urgence (8).

IV. Diagnostic

A. Circonstance du diagnostic

Les circonstances du diagnostic des maladies hémorragiques sont diverses. Le diagnostic peut être fait suite à des manifestations hémorragiques (47%), en raison d'antécédents familiaux connus (35%) ou fortuitement lors d'un bilan d'hémostase systématique (18 %).
Le diagnostic des formes d'hémophilie sévère ou modérée est établi, dans 75% des cas, suite à un saignement ou en raison d'antécédents familiaux tandis que les patients atteints d'hémophilie mineure sont généralement diagnostiqués de manière fortuite.
Le diagnostic est d'autant plus précoce que le déficit en facteur est important ou que l'histoire familiale d'hémophilie est connue (19). L'âge médian du diagnostic est de 8 mois pour les formes sévères alors qu'il est de 7 ans pour les formes mineures (12).

1. Symptomatologie hémorragique

La symptomatologie hémorragique est la première cause de diagnostic d'hémophilie (19).
L'hémophilie doit être suspectée en cas d'ecchymoses fréquentes dans la petite enfance, de saignements spontanés ou lors d'hémorragie après un traumatisme ou une intervention chirurgicale (4).

2. Dépistage familial avec antécédents connus

Ce dépistage est réalisé d'autant plus tôt lorsque la mère sait qu'elle est conductrice ou qu'un de ses enfants est hémophile (19).
Dans ces conditions, un diagnostic prénatal peut être réalisé. La connaissance du sexe du fœtus est primordiale car les investigations s'arrêtent s'il s'agit d'un fœtus de sexe féminin. En revanche, s'il est de sexe masculin, les recherches d'une éventuelle anomalie génétique se poursuivent par un prélèvement de cellules fœtales. Dans les formes sévères, un diagnostic pré-implantatoire est réalisé sur les cellules embryonnaires au 3^{e} jour du développement. Seuls les embryons indemnes seront inséminés (8).

3. Découverte fortuite

Bien qu'étant le mode de diagnostic le moins fréquent, des hémophiles peuvent être diagnostiqués à partir de bilan d'hémostase anormal réalisé de manière fortuite (19).

B. Diagnostic

1. Diagnostic biologique

L'allongement isolé du TCA avec un taux de prothrombine normal, est compatible avec le diagnostic d'hémophilie (19).

Devant un TCA allongé, des analyses complémentaires doivent être demandées afin d'éliminer toutes autres hypothèses et pour confirmer la suspicion d'hémophilie (Tableau 5) :

- Recherche d'anticoagulant
- Dosage spécifique des facteurs XI et XII
- Les dosages des facteurs VIII et IX
- Dosage du facteur de Willebrand

Il est recommandé de doser les taux de facteurs VIII, IX même en l'absence d'allongement du TCA, si le contexte clinique le justifie. En effet, la sensibilité du TCA au dépistage de l'hémophilie est très variable selon la méthode utilisée ; ainsi un résultat de TCA normal n'exclut pas le diagnostic. L'allongement du TCA peut également être observé dans de nombreuses autres situations cliniques ou thérapeutiques et n'est donc pas spécifique (19).

Le diagnostic biologique de l'hémophilie repose sur la mise en évidence d'un déficit isolé en FVIII ou IX inférieur à 40 %. La démarche diagnostique de l'hémophilie A et B est superposable (19).

TABLEAU 5: INTERPRETATION DES TESTS DE DEPISTAGE (10)

Diagnostic possible	TP *(Temps de prothrombine)*	TCA (Temps de Céphaline activée)	TS (Temps de saignement)	Numération plaquettaire
Etat normal	Normal	Normal	Normal	Normale
Hémophilie A ou B	Normal	Prolongé	Normal	Normale
Maladie de Von Willebrand	Normal	Normal ou prolongé	Normal ou prolongé	Normale ou réduite
Déficit plaquettaire	Normal	Normal	Normal ou prolongé	Normale ou réduite

2. Diagnostic différentiel de l'hémophilie A

Il est important de ne pas confondre l'hémophilie A constitutionnelle :

- De l'hémophilie A acquise, survenant chez un sujet sans antécédent hémorragique antérieur. Le déficit en FVIII est systématiquement associé à la présence d'un anticorps spécifique dirigé contre le FVIII.
- Du déficit combiné en Facteur V et FVIII où le TCA et le TP sont généralement allongés mais de façon inconstante
- De la maladie de Willebrand de type 2N caractérisée par un défaut de liaison entre le vWF et le FVIII aboutissant à un déficit isolé en FVIII (rapport FVIII/ vWF:Ag < 0,7). Les profils biologiques de cette maladie et de l'hémophile A mineure sont très proches. Il faut donc mesurer systématiquement l'affinité du

vWF pour le FVIII (vWF:FVIIIB) afin de distinguer ces deux pathologies en cas de suspicion chez un patient sans antécédent familial connu d'hémophilie (19).

3. Diagnostic différentiel de l'hémophilie B

L'hémophilie B constitutionnelle ne doit pas être confondue avec :

- Des déficits acquis combinés liés à une carence en vitamine K ou à une insuffisance hépatique,
- D'une hémophilie B acquise mais si cela reste très exceptionnelle (19).

PARTIE III : PRISE EN CHARGE DE L'HEMOPHILIE

Dans cette partie, sera présentée la stratégie actuelle de traitement de l'hémophilie et ses principales limites afin d'introduire la notion de thérapie génique en tant que traitement de l'hémophilie. Sera ensuite décrit son fonctionnement et ses limites d'utilisation.

I. Stratégie de prise en charge

L'offre de soins s'organise de la manière suivante en France :

- **Un centre de référence** de l'hémophilie et autres déficits constitutionnels en protéines de la coagulation (CRH), basé sur le CHU de Lyon
- **2 sites constitutifs associés** au CRH de Lyon, basés en région parisienne au CHU du Kremlin-Bicêtre et au CHU de Nantes.
- **30 centres de ressources et de compétences des maladies hémorragiques constitutionnelles** (CRC-MHC), anciennement dénommés centres régionaux de traitement de l'hémophilie ou CRTH. Le CHU de Toulouse est l'un des CRC-MHC.

La prise en charge de l'hémophilie repose sur des soins coordonnés par une équipe pluridisciplinaire favorisant la santé physique et psychosociale du patient. Le but est d'améliorer la qualité de vie tout en réduisant la morbi-mortalité due à la pathologie.

Pour répondre à ces objectifs, la prise en charge des patients hémophiles met l'accent sur :

- La prévention des hémorragies et des complications associées, notamment les lésions articulaires
- La prise en charge rapide en cas d'accident hémorragique
- La prise en charge des complications

Le traitement est autant que possible réalisé à domicile. Ainsi, en cas d'accident hémorragique, le patient dispose immédiatement des facteurs de coagulation

nécessaires. Ceci permet une prise en charge optimale précoce et ainsi une diminution du nombre d'admissions hospitalières dues aux complications des hémorragies.
Cependant, cette prise en charge à domicile n'est possible qu'après une formation adéquate permettant de sensibiliser les patients sur différentes problématiques telles que :

- Reconnaissance des saignements et des complications fréquentes
- Premiers secours
- Calcul posologique, préparation et stockage
- Administration et technique d'asepsie
- Tenue des registres : date, site de l'hémorragie, dosage et numéro de lot du produit, effets indésirables
- Entreposage correct, élimination des aiguilles et gestion des risques

De fait, la qualité de vie des patients a été considérablement améliorée en leur permettant de voyager, de réaliser une activité physique et également d'avoir un emploi stable.

II. Les traitements médicamenteux actuellement disponibles

A. Traitements substitutifs : présentation de l'évolution des différentes générations de traitements

1. Le plasma frais congelé

Jusque dans les années 60, le Plasma Frais Congelé (PFC) était un traitement clé de l'hémophilie (22) . Le PFC contient tous les facteurs de coagulation.

Toutefois, contenant une concentration faible en facteur, de grands volumes étaient nécessaires pour stopper un saignement (22). Un millilitre de PFC équivaut à une unité d'activité de facteur. Il est difficile d'obtenir des taux supérieurs à 30 UI/dL de FVIII et 25 UI/dL de FIX (10).

En raison des préoccupations liées à la sécurité et à la qualité du PFC, son utilisation n'est plus recommandée et n'est justifiée qu'en l'absence de disponibilité de facteurs concentrés. En effet, aucune procédure d'inactivation virale n'est possible sur le Plasma Frais Congelé. Seules des mesures de mises en quarantaine jusqu'à ce que le donneur subisse un test de dépistage permettent d'atténuer le risque de transmission de pathogènes viraux (10).
Enfin, une des dernières limites quant à l'utilisation de ces produits est la fréquence des réactions allergiques, bien supérieure à celle qui est observée avec les concentrés de facteurs de coagulation (10).

2. Le cryoprécipité

Au milieu des années 60, le cryoprécipité a été développé pour traiter l'hémophilie A (22). Il s'obtient suite à une décongélation lente (10 à 24 heures) du plasma frais congelé à 4°C. Il se présente sous forme de précipité insoluble séparé par centrifugation. Le cryoprécipité contient une quantité importante de FVIII de vWF, de FXIII et de fibrinogène. Le surnageant obtenu lors de la centrifugation contient d'autres facteurs de coagulation : VII, IX, X et XI (10).
A partir d'une unité de PFC (200 à 250 ml), il est possible d'obtenir un sac de cryoprécipité contenant 70 à 80 unités de facteur VIIII dans un volume de 30 à 40 ml (10). Riche en facteurs de coagulation, il permet l'administration de volume bien plus faible qu'avec le PFC (22).

3. Les facteurs de coagulation

a. Les concentrés de facteurs de coagulation plasmatique

Dans les années 70-80, la capacité de fractionner les facteurs de coagulation à partir d'un pool de plasma a permis un dosage en facteur plus cohérent et facilite alors la prise en charge des patients : possibilité d'effectuer le traitement à domicile ou encore de faciliter les procédures chirurgicales (22).

Cependant, les années 80 seront marquées par la catastrophe sanitaire du sang contaminé. Les facteurs de coagulation ont été fabriqués en combinant des milliers de dons de plasma ce qui a alors engendré une transmission rapide aux patients hémophiles, du VIH ou des hépatites A et B (22).

Depuis, des mesures de dépistage et d'inactivation virale ont permis l'amélioration de l'innocuité.

L'amélioration de la sécurité des produits a été possible grâce à une meilleure sélection des donneurs mais surtout l'amélioration des tests de dépistage réalisés sur ces donneurs y compris les tests d'acides nucléiques ou de dépistage génomique viral (10).

Par ailleurs, le type et le nombre d'étapes d'élimination virale dans le processus de fabrication ont contribué à renforcer l'innocuité de ces produits. En effet, de plus en plus, deux étapes spécifiques de réduction virale sont réalisées lors de la fabrication des concentrés. Un traitement thermique peut être réalisé pour neutraliser un nombre important de virus avec ou sans enveloppe lipidique dont le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le virus de l'hépatite A (VHA) et le virus de l'hépatite C (VHC). Un traitement par solvant ou détergeant n'inactive pas les virus sans enveloppe comme le VHA mais permet de neutraliser le virus de l'hépatite B (VHB), VHC et VIH (10).

Certains virus, comme le parvovirus humain B19, sont résistants à ce type de procédé. La nanofiltration permet d'éliminer ce type de virus de petite taille (10).

En revanche, il n'existe aucune méthode permettant de neutraliser les prions ; il y a donc un risque de contracter une maladie à prions par le biais de produits dérivés de plasma. En l'absence de test de dépistage fiable et sans étape de fabrication établie pour inactiver le prion, les donneurs à risque sont exclus (10).

b. Les facteurs de coagulation recombinants

Le gène F8 a été cloné en 1984 ; la production du recombinant humain FVIII sera possible après obtention de la licence en 1992. Le gène F9 a été cloné en 1982 ;

pourtant la licence permettant la production du recombinant humain FIX ne sera obtenu qu'en 1997 (22).

La production de facteur recombinant humain a révolutionné la prise en charge des patients hémophiles dans le monde Occidental en réduisant de considérablement la fréquence des saignements et leurs complications. Tout ceci a conduit à une normalisation de l'espérance de vie par rapport à celle d'un individu sain du même âge (22).

L'amélioration de la qualité de vie est considérable. Cependant, une planification des activités de la vie quotidienne est toujours nécessaire. La demi-vie de ces facteurs recombinants étant relativement courte, il est nécessaire de réaliser des administrations fréquentes, généralement 2 à 3 fois par semaine chez les patients hémophiles (22).

La fréquence d'administration a été réduite grâce à l'apparition de facteurs recombinants à demi-vie prolongée (Tableau 6). La demi-vie des facteurs de coagulation recombinant a pu être prolongée grâce à la pégylation des protéines des facteurs de coagulation ou par fusion des protéines avec l'albumine ou la région Fc de l'immunoglobuline (Ig). Même si les administrations sont moins fréquentes, le traitement substitutif reste un traitement à vie. Ce type de traitement présente encore de grandes limites avec notamment la possibilité de développer des anticorps inhibiteurs ou de faire des hémorragies entre les cures. De plus, le coût croissant de ces thérapeutiques reste une limite d'utilisation dans certains pays (22).

TABLEAU 6 : DIFFERENTES PRESENTATIONS DE FACTEURS DE COAGULATION DISPONIBLES SUR LE MARCHE FRANÇAIS (23)

	Facteurs VIII antihémophiliques A	**Facteurs IX antihémophiliques B**
Plasmatique	FACTANE ® *Facteur VIII Humain* HAEMATE P ® *Facteur VIII Humain* et *Facteur de Willebrand humain* OCTANE ® *Facteur VIII Humain* OCTANE LV ® *Facteur VIII Humain*	BETAFACT® *Facteur IX Humain* MONONINE® *Facteur IX Humain* OCTAFIX® *Facteur IX Humain*
Recombinant	ADVATE® *Octocog alfa ($t_{1/2}$: 9-12,9h)* AFSTYLA® *Lonoctocog alfa ($t_{1/2}$: 14,2h)* NOVOEIGHT® *Turoctocog alfa ($t_{1/2}$: 7,65-11h)* KOVALTRY® *Octocog alfa ($t_{1/2}$: 13,3-14,8h)* NUWIQ® *Simoctocog afa ($t_{1/2}$: 9,5-14,7h)* REFACTO AF® *Moroctocog afa ($t_{1/2}$: 14,8h)*	BENEFIX® *Nonacog alfa($t_{1/2}$: 22,4h)* RIXUBIS® *Nonacog gamma($t_{1/2}$: 26,7h)*
Recombinant à demi-vie prolongée	ELOCTA® *Efmoroctocog alfa ($t_{1/2}$: 19h)*	ALPROLIX® *Eftrénonacog alfa($t_{1/2}$: 77,6h)* IDELVION® *Albutrépénonacog alfa ($t_{1/2}$: 95,3h)*

i.Utilisations thérapeutiques

L'AMM des FVIII comprend :

- Le traitement à la demande et la prévention chirurgicale chez l'hémophile A sans inhibiteur,
- Le traitement de l'accident hémorragique ou de la chirurgie chez l'hémophile A avec un taux d'inhibiteur inférieur à 5 Unité Bethesda (UB). Le Bethesda est une unité de mesure de l'activité inhibitrice d'un facteur de coagulation dans le plasma : 1,0 UB réduit le facteur de coagulation de 50% dans 1mL de plasma.
- Les prophylaxies à court, moyen et long terme,
- Le traitement des conductrices d'hémophilie à taux de facteur VIII bas ne répondant pas à la desmopressine (MINIRIN®) ou pour lesquelles la desmopressine est contre indiquée,
- L'utilisation conjointe avec facteur Von Willebrand lorsque le facteur VIII est inférieur à 40 %.
- L'induction d'un état de tolérance immune en cas d'apparition d'un inhibiteur pour FACTANE® (cette indication est hors AMM/hors RTU pour toutes les autres spécialités pharmaceutiques de facteurs VIII) (23).

L'AMM des FIX comprend :

- Le traitement à la demande et la prévention chirurgicale chez l'hémophile B sans inhibiteur,
- Le traitement de l'accident hémorragique ou de la chirurgie chez l'hémophile B avec inhibiteur avec un taux inférieur à 5 UB,
- Les prophylaxies à court, moyen et long terme,
- Le traitement des conductrices d'hémophilie à taux de facteur IX à taux bas.

B. Traitements non substitutifs

Les traitements non substitutifs n'utilisent pas la même approche thérapeutique et rendent donc l'utilisation de plusieurs stratégies possibles. L'objectif de ces traitements est de rétablir un équilibre de la balance hémostatique sans avoir donc besoin d'injecter des facteurs de la coagulation.

Ils se montrent ainsi très utiles chez les patients ayant des inhibiteurs. Chez les hémophiliques A présentant un titre élevé d'inhibiteur (≥ 5 UB), un traitement par FVIII est inefficace. Par conséquent, d'autres options thérapeutiques doivent être considérées. Chez les patients atteints d'hémophilie B, la majorité des inhibiteurs (80%) développés contre le FIX sont forts répondeurs (≥ 5 UB).

1. Les agents by-passants

Les agents by-passants ne visent pas à remplacer le facteur de la coagulation manquant par ce même facteur d'origine exogène. Leur activité coagulante fait appel à d'autres facteurs de coagulation en cour circuitant l'action des FVIII et FIX : concentrés de complexe prothrombique activé et FVII activé recombinant.

Deux spécialités sont disponibles sur le marché dans les indications suivantes :

- FEIBA ® (Complexe prothrombique activé) (24)
- Dans le traitement et la prophylaxie des hémorragies et en situation chirurgicale dans le déficit constitutionnel en FVIII ou FIX chez les patients « forts répondeurs » ayant développé un inhibiteur dirigé contre FVIII (hémophiles A) ou FIX après échec par le facteur VIIa pour les hémophiles B.

- Dans le traitement des hémorragies et en situation chirurgicale chez les patients avec hémophilie acquise par auto-anticorps anti-facteur VIII.

- NOVOSEVEN ® (Eptacog alpha) (25)

Il permet le traitement et la prévention des hémorragies survenant lors d'interventions chirurgicales ou de procédures invasives pour :

- Patients ayant une hémophilie congénitale :
    - en FVII
    - avec inhibiteurs dirigés contre FVIII ou FIX de titre > 5 UB
    - chez lesquels une forte réponse anamnestique à l'administration de FVIII ou de FIX est prévisible
- Patients ayant une hémophilie acquise
- Patients ayant une thrombasthénie de Glanzmann avec une absence de réponse antérieure ou actuelle, aux transfusions plaquettaires, ou lorsque les plaquettes ne sont pas rapidement disponibles.

2. Emicizumab (HEMLIBRA®)

L'Emicizumab est un anticorps monoclonal humanisé de type IgG4 modifiée ayant une structure bispécifique. Il peut ainsi se lier à la fois au FIX activé et au FX pour restaurer la fonction du FVIIIa manquant, nécessaire pour une hémostase efficace. En effet, en créant un pont entre le FIXa et le FX, il favorise la génération de Fxa puis de thrombine, indispensable à la formation d'un caillot de fibrine (Figure 11).

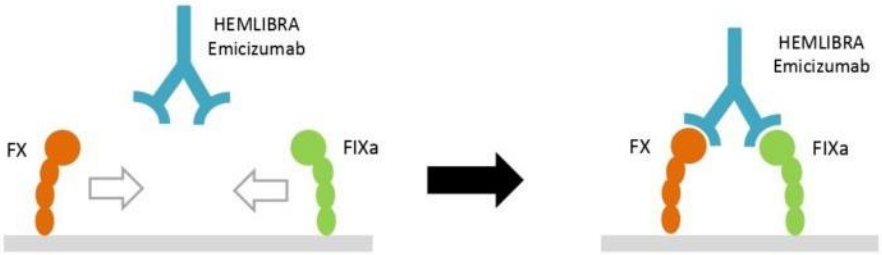

FIGURE 11: MECANISME D'ACTION DE L'EMICIZUMAB (26)

Il est indiqué en prophylaxie pour prévenir les épisodes hémorragiques chez les patients atteints d'hémophilie A. Il peut aussi bien être utilisé chez des patients avec ou sans inhibiteurs anti-facteur VIII car il n'a pas de relation structurelle ni d'homologie

de séquence avec le facteur VIII. De ce fait, il ne peut pas induire ou favoriser le développement d'inhibiteurs dirigés contre le facteur VIII.
Chez les patients hémophiles A avec inhibiteurs forts répondeurs, l'emicizumab représente ainsi une alternative aux agents by-passants, notamment en cas d'échec d'une induction de tolérance immune. Chez les hémophiles A sans inhibiteurs, l'emicizumab représente une alternative thérapeutique lorsqu'une prophylaxie est nécessaire.

La posologie recommandée est de 3 mg/kg une fois par semaine au cours des quatre premières semaines (dose de charge), suivie d'une dose d'entretien soit de 1,5 mg/kg une fois par semaine, soit de 3 mg/kg toutes les 2 semaines, soit de 6 mg/kg toutes les 4 semaines, toutes les doses étant administrées par injection sous-cutanée (27).

Les hémophiles A traités par emicizumab présente un risque hémorragique équivalent à celui d'un hémophile mineur avec des concentrations plasmatiques en FVIII de l'ordre de 10 % à 20 %. Bien que bonne, la protection n'est que partielle. Ces patients peuvent développer des manifestations hémorragiques aiguës, le plus souvent traumatiques, ou nécessiter une chirurgie en urgence pouvant imposer le recours à un traitement hémostatique complémentaire (28).
En cas de saignements intercurrents, il peut être nécessaire de recourir à un traitement hémostatique concomitant. Chez les patients sans inhibiteur, l'utilisation concomitante de FVIII ne semble pas potentialiser l'activité coagulante d'emicizumab et inversement.

En revanche, chez les patients hémophiles A avec inhibiteurs, la survenue de micro-angiopathies thrombotiques (MAT) et d'accidents thrombotiques veineux a été décrite lors d'utilisation concomitante de complexe prothrombique activé, tel que FEIBA®, à des doses supérieures à 100 U/kg. La potentialisation de l'activité coagulante s'explique par la présence de FIXa contenue dans le FEIBA®. Son utilisation doit être évitée autant que possible. En l'absence d'alternative thérapeutique, il sera utilisé à des posologies inférieures (<50 U/kg) aux posologies usuelles.

3. Desmopressine

La desmopressine est un analogue synthétique de la vasopressine permettant l'augmentation du FVIII et du facteur de von Willebrand. Elle n'a aucune incidence sur le FIX.

Elle permet de prévenir et traiter les accidents hémorragiques chez les patients atteints d'hémophilie A mineure (taux de FVIII supérieur à 5 %) et chez les conductrices d'hémophilie A à risque hémorragique. Elle s'utilise dès le début du saignement en cas d'accident hémorragique ou une heure avant le geste en cas d'intervention chirurgicale (29) (30).

N'ayant aucun impact sur le FIX, la desmopressine n'est pas un traitement de l'hémophilie B.

Elle est disponible sur le marché français sous forme de solution injectable ou de solution pour pulvérisation nasale (Tableau 7).

TABLEAU 7: DIFFERENTES PRESENTATIONS DE DESMOPRESSINE DISPONIBLES SUR LE MARCHE FRANÇAIS (29) (30)

Dénomination	Forme	Dosage	Posologie
MINIRIN ® (29) **Acétate de desmopressine trihydraté**	Solution injectable	4 µg/mL	0,3 µg/kg - si augmentation du FVIII suffisante : administrations répétées 1 à 2 fois toutes les 12 à 24 heures tant que la prophylaxie est nécessaire. - si augmentation du FVIII insuffisante : compléter par une administration de FVIII concentré.
OCTIM ® (30) **Acétate de desmopressine trihydraté**	Solution pour pulvérisation nasale	150 µg /dose	- Si < 50kg : 150 µg, soit une seule pulvérisation nasale - Si ≥ 50kg : 300 µg, soit une pulvérisation dans chaque narine

4. Acide Tranexanique

L'acide tranexamique (TXA) est un anti-fibrinolytique. Il inhibe l'activation du plasminogène en plasmine et favorise ainsi la stabilité des caillots de fibrine (10).

Il peut être utilisé seul ou en combinaison avec des doses standards de facteurs de coagulation recombinants. En effet, il a été démontré qu'un traitement simultané par TXA et rFVIII améliore significativement la stabilité du caillot chez les patients atteints d'hémophilie A (31).

Ce traitement complémentaire de l'hémophilie est fréquemment utilisé pour contrôler les saignements d'origine épidermique ou des muqueuses superficielles comme par exemple les saignements bucco-dentaires, les épistaxis ou encore les ménorragies (32).

Différentes présentations d'acide tranexamique sont disponibles sur le marché français (Tableau 8).

TABLEAU 8: DIFFERENTES PRESENTATIONS D'ACIDE TRANEXAMIQUE DISPONIBLES SUR LE MARCHE FRANÇAIS (33) (34) (35) (36) (37)

Dénomination	Forme	Dosage	Posologie
EXACYL® ou SPOTOF® (33) (34) **Acide tranexamique**	solution buvable	1 g/10 ml	**Adulte** : 2 à 4 g en 2 ou 3 prises par 24 heures **Enfant** : 20 mg/kg/jour.
EXACYL® ou SPOTOF® (35) (36) **Acide tranexamique**	comprimé pelliculé	500 mg	
EXACYL® (37) **Acide tranexamique**	solution injectable	0,5 g/5 ml	**Adulte** : 0,5 g à 1 g en IVL 2 à 3 fois par jour

L'acide tranexamique est contre-indiqué dans le traitement de l'hématurie car son utilisation peut empêcher la dissolution des caillots dans l'uretère. Il est également contre-indiqué lors d'interventions chirurgicales thoraciques car son utilisation peut engendrer la formation d'hématomes insolubles (10).

C. Utilisations pratiques

1. Modalités de traitement

a. Traitement à la demande

Le traitement à la demande consiste à injecter des facteurs substitutifs lors de saignements. L'objectif est d'arrêter le saignement dans les plus brefs délais pour limiter son extension et ses complications.

La dose et la fréquence des injections dépendent de l'intensité du saignement, de sa localisation, et du risque fonctionnel et/ou vital associé. Les objectifs « cible » des taux de facteurs à atteindre selon le niveau du risque hémorragique sont décrits dans le tableau 9.

Dans le cas d'un inhibiteur faible répondeur avec un titre bas en UB, le traitement par un concentré de FVIII ou FIX reste souvent possible à doses plus fortes de facteurs et/ou d'injections plus fréquentes.

En revanche, lorsque le titre de l'inhibiteur est élevé (> 5 UB/mL), l'utilisation de ces traitements spécifiques par concentré de FVIII ou FIX n'est généralement pas possible car même des doses très importantes de facteur sont alors neutralisées par les inhibiteurs. L'utilisation d'un agent by-passant est alors indispensable.

b. Traitement prophylactique

La prophylaxie a pour objectif de prévenir l'apparition d'un saignement, notamment la prévention des hémarthroses spontanées, de l'arthropathie hémophilique et des saignements graves. Il est donc recommandé chez tous les patients atteints de formes sévères d'hémophilie, de réaliser des injections intraveineuses de FVIII ou de FIX à intervalle régulier sur une longue durée (au moins jusqu'à la fin de la phase de croissance de l'adolescent).

La prophylaxie est dite primaire si elle débute avant l'âge de 3 ans et avant la deuxième hémarthrose, et secondaire dans toutes les autres situations (Figure 12).

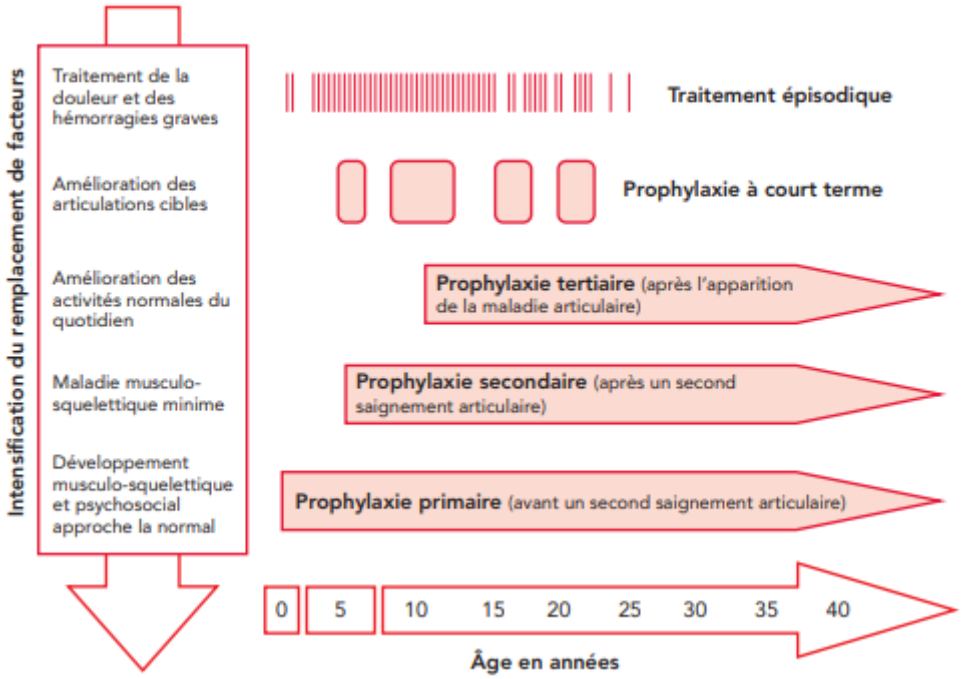

FIGURE 12: STRATEGIE DE SUBSTITUTION (10)

Chez les hémophiles avec inhibiteurs, les objectifs d'une prophylaxie sont les mêmes. Pendant longtemps, les agents by-passants (FEIBA® et NOVOSEVEN®) représentaient la seule possibilité pour envisager un traitement prophylactique. A ce jour, l'emicizumab offre une autre possibilité de traitement pour ces patients.

2. Cibles posologiques couramment utilisées

Il est essentiel de poser un diagnostic précis de l'hémophilie pour prescrire le bon traitement à posologie efficace (4).

La présence et la quantité d'inhibiteurs amènent à adapter la posologie.

a. Posologie cible et durée

Le taux de récupération pour le FVIII est donc égal à 2% ; l''injection d'1 UI/kg de FVIII entraine une augmentation du taux de FVIII circulant proche de 2 %.

Il est compris entre 0,8 et 1 pour le FIX.

Nombre d'UI à administrer = Augmentation souhaitée du taux de facteur de coagulation (% ou UI/dl) x Poids (kg) x 1/n avec n = taux de récupération observé.

La posologie et la durée du traitement substitutif (Tableau 9) sont fonction du niveau du risque hémorragique de l'accident hémorragique ou de l'acte chirurgical. En effet, le niveau du risque hémorragique définit l'objectif cible des taux de facteur de coagulation à atteindre.

TABLEAU 9: CIBLES POSOLOGIQUES EN FONCTION DU RISQUE HEMORRAGIQUE (10)

	Hémophilie A			**Hémophilie B**		
Niveau du risque hémorragique	**Objectif cible en FVIII (%)**	**Dose (UI/kg)**	Fréquence et durée	**Objectif cible en FIX (%)**	**Dose (UI/kg)**	Fréquence et durée
Risque hémorragique mineur début hémarthrose, saignement musculaire ou buccal	**30 à 50**	**15 à 20**	F : Toutes les 12 à 24 heures D : Au moins 1 jour, jusqu'à la fin de l'épisode hémorragique	**20 à 40**	**30 à 40**	F : Toutes les 24 heures D : Au moins 1 jour, jusqu'à la fin de l'épisode hémorragique
Risque hémorragique modéré hématome	**50 à 80**	**25 à 40**	F : Toutes les 12 à 24 heures D : 3 à 4 jours ou plus jusqu'à la disparition de la douleur	**30 à 60**	**40 à 80**	F : Toutes les 24 heures D : 3 à 4 jours ou plus jusqu'à la disparition de la douleur
Risque hémorragique majeur hémorragie mettant en jeu le pronostic vital	**80 à 110**	**50 à 70**	F : Toutes les 8 à 24 heures D : Jusqu'à disparition du risque vital	**60 à 100**	**80 à 100**	F : Toutes les 8 à 24 heures D : Jusqu'à disparition du risque vital
Chirurgie mineure dont extraction dentaire	**50 à 80**	F : Toutes les 24 heures D : Au moins 1 jour, jusqu'à cicatrisation		**30 à 60**	F : Toutes les 24 heures D : Au moins 1 jour, jusqu'à cicatrisation	
Chirurgie majeure	**80 à 100**	Toutes les 8, 12 puis 24 heures jusqu'à cicatrisation satisfaisante, puis poursuivre le traitement pendant au moins 7 jours supplémentaires afin de maintenir un taux de FVIII compris entre 30 % et 60 %		**80 à 100**	Toutes les 8, 12 puis 24 heures jusqu'à cicatrisation satisfaisante, puis poursuivre le traitement pendant au moins 7 jours supplémentaires afin de maintenir un taux de FVIII compris entre 30 % et 60 %	

b. Paliers

La prophylaxie est progressivement intensifiée. Ce schéma progressif permet une meilleure acceptabilité initiale pour l'enfant et sa famille et ambitionne aussi de contribuer à une meilleure observance sur le long terme.

L'intensification posologique s'effectue progressivement par palier, dès la survenue d'une nouvelle hémarthrose (Tableau 10).

La désescalade est envisageable en l'absence d'hémarthrose pendant un an, sous réserve de l'intégrité clinique et radiologique des 6 articulations principales.

TABLEAU 10: STRATEGIE DE PROPHYLAXIE PRIMAIRE PAR PALLIER (38)

Palier de prophylaxie	Dose/Schéma posologique Hémophilie A	Dose/Schéma posologique Hémophilie B
Palier 1	50 UI/kg, une fois par semaine	70 UI/kg, une fois par semaine
Palier 2	30 UI/kg, deux fois par semaine (jours fixes)	Soit 50 UI/kg trois fois par semaine (jours fixes) soit 50 UI/kg toutes les 96 heures
Palier 3	Soit 30 UI/kg trois fois par semaine (jours fixes) soit 30 UI/kg toutes les 72 heures	50 UI/kg toutes les 72 heures
Palier 4	25 à 30 UI/kg toutes les 48 heures	

Pour les paliers 3 et 4 (hémophilie A) ou les paliers 2 et 3 (hémophilie B), il est nécessaire de vérifier la détectabilité du taux résiduel de FVIII ou FIX ainsi que l'absence d'inhibiteur en cas d'inefficacité clinique (Tableau 10).

c. Particularités des inhibiteurs : Induction de tolérance immune (ITI)

Bien que plusieurs alternatives thérapeutiques pour traiter les hémophiles présentant des inhibiteurs existent, l'utilisation de FVIII ou FIX chez les hémophiles sans inhibiteurs reste le plus efficace. L'éradication des inhibiteurs anti-FVIII ou anti-FIX est donc la meilleure alternative pour la plupart de ces hémophiles ; c'est ce que l'on appelle l'ITI.

Elle consiste à injecter régulièrement de très grandes quantités de facteurs de coagulation sur des périodes de plusieurs mois voire années. L'organisme ne sera pas en capacité de répondre à l'afflux de facteur de coagulation et va ainsi s'habituer à la présence du facteur de coagulation injecté et donc arrêter de produire des inhibiteurs.

Les schémas posologiques dépendent du titre de l'inhibiteur exprimé en UB et de son évolution dans le temps (23)(Tableau 11). Le traitement de tolérance immune est efficace dans 60 à 90% des cas dans l'hémophilie A.

TABLEAU 11: SCHEMA POSOLOGIQUE DE L'ITI EN FONCTION DU TITRE D'INHIBITEUR CHEZ L'HEMOPHILE A (23)

Titre de l'inhibiteur (UB)	Doses préconisées à adapter selon le contrôle biologique de l'inhibiteur	Modalités d'administration
Initiation taux 0,6 à 5 UB	50 UI/kg/j 3 fois/semaine à 100 UI/kg/j tous les jours	ITI initiée dès que possible
Taux > 5 UB	50 UI/kg/j 3 fois/semaine à 500 UI/kg/j tous les jours	ITI initiée dès que possible
Après disparition de l'inhibiteur, taux de récupération et demi-vie normalisés	100 UI/kg/j puis 50 UI/kg/j puis 50 UI/kg tous les deux jours puis traitement prophylactique	Pallier mensuels après 3 fois/semaine pendant au moins 1 an

III. Limites des traitements

A. Risque infectieux

Etant des médicaments dérivés du sang, l'utilisation de ces produits de substitution est associée à un risque de transmission d'agents pathogènes, notamment ceux d'origine virale.

Ceci a largement été décrit dans les années 60 chez les patients traités par des produits sanguins labiles parmi lesquels on comptait environ 30% d'infections au VIH et 46 à 90% d'infections au VHC. Les patients hémophiles ont été largement concernés par cette crise sanitaire dans la mesure où ils étaient traités uniquement par des transfusions de sang total ou des concentrés de facteurs plasmatiques de la coagulation. 20% des infections à VHC aboutissaient à une cirrhose ou une maladie hépatique terminale, tout ceci pouvant être accéléré par une co-infection au VIH (40).

De nos jours, l'innocuité de ces produits est plus importante que par le passé grâce à la réglementation stricte qui encadre le prélèvement et l'utilisation des médicaments dérivés du sang, le développement de techniques d'inactivation virale toujours plus performantes, et l'utilisation de plus en plus importante de produits d'origine recombinante.

Les produits d'origine recombinante sont théoriquement dénués de risque infectieux. Cependant, ce risque ne peut pas être complètement ignoré puisque les procédés de

fabrication ont recours à des cellules et milieux de culture d'origine animale ou humaine (41).

B. Réaction anaphylactique

Des réactions anaphylactiques ont pu être décrites chez les hémophiles A et B suite à l'utilisation de produits anti-hémophiliques. La physiopathologie des réactions d'anaphylaxie au FVIII et FIX sont différentes (14).

1. Hémophilie A

Les premières réactions allergiques ont été observées suite à l'administration de cryoprécipité avec une fréquence estimée à environ 19% chez les hémophiles de type A. Il est probable que les réactions constatées ne relevaient pas d'une intolérance au FVIII lui-même mais aux nombreuses protéines que contenaient ces produits (42).

Les réactions anaphylactiques sont devenues très rares depuis l'apparition de produits hautement purifiés puis recombinants. Elles sont tout de même encore décrites, qu'il s'agisse de concentrés immunopurifiés ou de recombinants issus de cellules CHO ou BHK, voire de réaction à ces trois types de produits (42).

De nombreuses hypothèses ont été émises pour expliquer ce mécanisme de réaction anaphylactique comme l'implication :

- Des anticorps anti-albumine dans les préparations utilisant l'albumine comme agent stabilisant.
- D'un mécanisme d'hypersensibilité médiée par les IgE ou d'une activation du complément. Les résultats des études ne sont toutefois pas concluants.
- Des IgG2 et IgG4 (42).

2. Hémophilie B

Les réactions anaphylactiques chez l'hémophile B sont plus rares. Leur survenue se fait généralement tôt, c'est-à-dire dans les 5 à 20 premiers jours d'exposition. Elles sont le plus souvent signalées en association avec la survenue d'inhibiteurs et principalement chez les patients atteints d'une suppression complète du gène (43).

Le mécanisme de réactions anaphylactiques chez l'hémophile B reste à ce jour inconnu. Plusieurs hypothèses ont été avancées :

- l'immunogénicité accrue du FIX recombinant due aux différences de glycosylation ou d'autres modifications post traductionnelles.
- la nature de la mutation causale. Le risque d'anaphylaxie associé à une délétion complète du gène est le plus important, avec un risque estimé à plus de 26 %. Les réactions anaphylactiques sont plus rares chez les patients présentant des mutations de troncature de protéine ou des délétions partielles de gène. L'absence d'expression de la protéine, même partielle, prédisposerait à l'anaphylaxie (44).

C. Apparition d'inhibiteurs

La plupart des inhibiteurs sont transitoires et disparaissent dans les 6 mois suivant leur apparition. Cependant, 20 à 30 % des patients atteints d'hémophilie A et 3 % des patients atteints d'hémophilie B présentent des inhibiteurs persistants et cliniquement significatifs qui entraînent une morbidité sévère (42) (45).
Les anticorps inhibiteurs sont des allo-anticorps, le plus souvent des IgG4 qui neutralisent spécifiquement l'activité procoagulante du FVIII ou du FIX (45).

1. Hémophilie A

a. Mécanisme d’action

Les inhibiteurs anti-FVIII vont principalement empêcher les interactions du FVIII avec ses différents partenaires selon différents mécanismes (Figure 13) (46).

Les anticorps inhibiteurs ne reconnaissent pas d’épitopes spécifiques mais sont dirigés contre les domaines A2, A3 et C2 (14).
D’un point de vue fonctionnel, les anticorps dirigés contre le domaine C2 affectent la liaison du FVIII aux phospholipides par encombrement stériques mais aussi sa liaison au vWF. Ils interfèrent également avec le clivage du FVIII par la thrombine et le Fxa (45).
Les inhibiteurs anti-A2 et anti-A3 perturbent l'interaction du FVIIIa avec le FIXa en déstabilisant le FVIIIa au sein du complexe Xase (45). Les anticorps dirigés contre le domaine A3 ont également la capacité d’empêcher la fixation vWF et FVIII (14).

Une autre catégorie d’anticorps anti-FVIII, représentée par les anticorps catalytiques, possèdent une activité enzymatique et catalytique directe sur le FVII (46).

Il existe des anticorps anti-FVIII non inhibiteurs dirigés contre des épitopes non fonctionnels au niveau des domaines A1, C1 ou B. En formant des complexes immuns, ils sont phagocytés par le système réticulo-endothélial et augmentent la clairance de FVII (14).

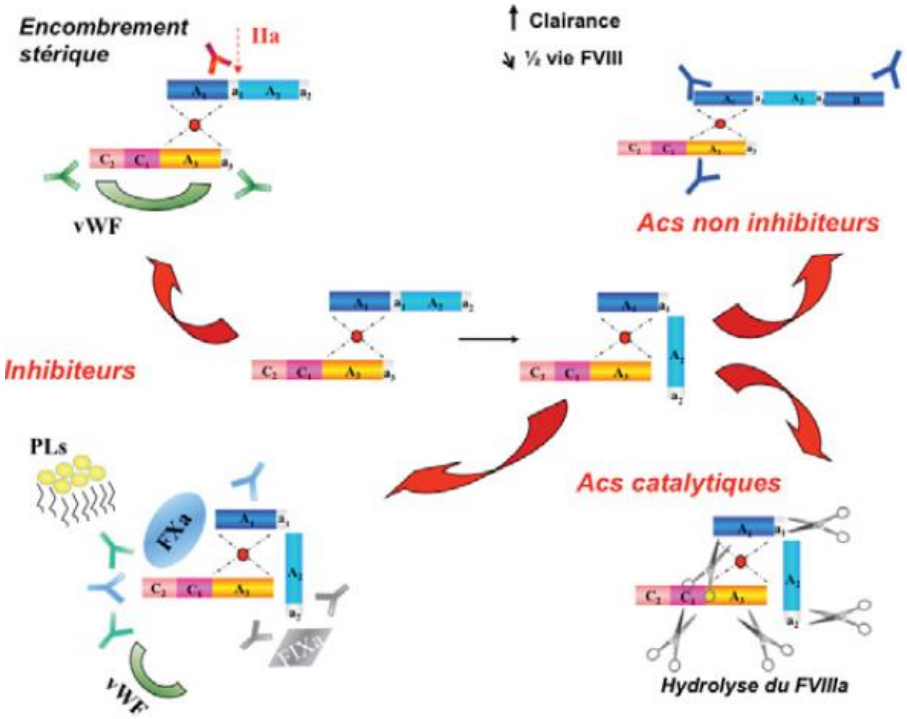

FIGURE 13 : MECANISME D'ACTION DES ANTICORPS ANTI FVIII (46)

b. Physiopathologie

Les principaux facteurs de risque liés aux inhibiteurs sont le génotype F8, les antécédents familiaux, l'origine ethnique et les périodes d'exposition intensive (45). La prévalence des anticorps inhibiteurs varie entre 4 et 20% selon les sources. Ceci s'explique par les différents types de sévérité de la maladie et à l'évolution de ces inhibiteurs. En effet, un degré sévère de la maladie entraine un risque de développer ces inhibiteurs quatre fois plus important que pour un type modéré. Par ailleurs 50% de ces inhibiteurs sont transitoires. Le risque d'apparition repose soit :

- Sur un risque individuel lié aux caractéristiques génétiques de l'hémophilie,
- Sur un risque lié aux thérapeutiques. (14)

i.Risque lié à la génétique

Le risque de développer des inhibiteurs est multiplié par deux lors qu'il existe des antécédents familiaux d'inhibiteurs. Ce risque est variable selon la nature de l'anomalie

génétique. Les délétions étendues et les mutations non-sens engendrent dans 40 à 60% l'apparition d'inhibiteurs contre 25 à 30% en cas d'inversion de l'intron 22 (14).

ii.Risque lié aux thérapeutiques

Le type et les modalités thérapeutiques associées engendrent des risques différents.

Des études rétrospectives ont montré qu'il existait une corrélation entre le développement des anticorps et l'âge d'instauration du traitement. Ce risque est d'autant plus important que le traitement était initié tôt. Cependant, ces résultats doivent être pondérés par le fait qu'un enfant a d'autant plus de risque d'avoir un traitement à un jeune âge que la maladie est de type sévère. Ces anomalies prédisposant au développement d'inhibiteur pourraient être plus liées à la mutation causale qu'à l'âge d'exposition.

La prophylaxie aurait un rôle protecteur en induisant une tolérance immune et empêchant ainsi le développement des inhibiteurs (14).

2. Hémophilie B

La faible prévalence des anticorps inhibiteurs anti-FIX s'explique par la moindre fréquence des mutations non-sens dans l'hémophilie B conduisant à une absence de traces de FIX circulants.

D'autre part, l'homologie structurale du FIX avec les facteurs vitamine K-dépendants et la large distribution extravasculaire du FIX pourraient être des facteurs de protection contre la réponse immune. L'origine ethnique ou le type de produit utilisé ne semblent pas impacter l'apparition des anti-IX chez l'hémophile B (14).

IV. Développement de la TG dans l'hémophilie

A. Place de la TG dans la prise en charge de l'hémophilie

Comme explicité dans les parties précédentes, le déficit en FVIII et FIX chez les patients hémophiles est dû à l'altération des gènes F8 et F9 respectivement. Les traitements actuellement disponibles permettent de prévenir et maîtriser le risque hémorragique ainsi que les complications associées mais ne sont en aucun cas des traitements curatifs (22).
La thérapie génique permet l'expression endogène et la production persistante des facteurs de coagulation FVIII ou FIX après avoir transféré au patient une copie du gène défectueux F8 ou F9 respectivement. Cette approche est donc curative et permettrait aux patients de s'affranchir de perfusions régulières en facteurs de coagulation (22).

L'utilisation de la thérapie génique pourrait ouvrir de nouvelles possibilités pour ces patients. Plusieurs essais cliniques évaluent les approches expérimentales de transfert de gènes médiées par les vecteurs dérivés des virus adéno-associés (AAV) pour le traitement de l'hémophilie A et B. L'application pratique de ces approches se différencie dans les sérotypes d'AAV, les modifications transgéniques, la fabrication, le dosage, l'administration et l'approche du suivi (47).

B. Vecteurs recombinants appliqués à la TG de l'hémophilie

Les facteurs de coagulation sont, chez les individus sains, produits par le foie. C'est pour cette raison que le gène thérapeutique, également appelé transgène, va être délivré par l'intermédiaire d'un transporteur aux cellules hépatiques. Le transgène est une copie fonctionnelle du gène muté qui correspond ainsi à la séquence d'ADN codant pour la protéine fonctionnelle du FVIII ou du FIX (22).

1. Les vecteurs en thérapie génique

La réussite de la thérapie génique dépend essentiellement de véhicules efficaces pour le transfert de gènes.

Les molécules d'ADN nues, appelées plasmides, sont très rapidement dégradées dans l'organisme et ne peuvent en aucun cas atteindre les cellules cibles. C'est pour cette raison que le transgène devra être enveloppé dans une capside, vecteur de transport ayant la capacité de délivrer le transgène au sein des cellules cibles (22).

Dans le cas de la TG de l'hémophilie, les hépatocytes pourront être ces cellules cibles et exprimer la protéine thérapeutique (47).

Pour rappel, un virus est composé par :

- Un acide nucléique sous forme de filaments stabilisé par des nucléoprotéines basiques. Ce génome viral peut être de l'ARN ou l'ADN et être monocaténaire (simple brin) comme bicaténaire (double brin)
- Une capside qui est une structure de protection protéique compacte pour protéger l'acide nucléique. L'ensemble acide nucléique et capside forme la nucléocapside.
- Une enveloppe pour certains d'entre eux ; ces virus sont appelés virus enveloppés. Elle se constitue de phospholipides et de glycoprotéines permettant de se lier aux récepteurs cellulaires de la cellule hôte afin d'introduire la nucléocapside. En raison de sa constitution, l'enveloppe rend le virus fragile.

  Les virus ne possédant pas d'enveloppe sont appelés virus nus.

Deux types de vecteur sont utilisés en thérapie génique : les vecteurs viraux et les vecteurs non viraux.

Les **vecteurs non viraux** peuvent être de l'ADN, un plasmide ou de l'ARN. Cependant, leur utilisation reste à l'heure actuelle très limitée car ils sont inefficaces pour assurer le transfert de gènes *in vivo* et maintenir une expression stable de la protéine transgénique.

Les **vecteurs viraux** sont quant à eux très utilisés. Ils exploitent les voies d'infection virale mais sont dépourvus de gènes viraux nécessaires à leur réplication dans les cellules cibles qui conduisent à la mort cellulaire.

Parmi ces vecteurs viraux, on distingue deux catégories : les vecteurs viraux intégrateurs et les vecteurs viraux non intégrateurs.
Les vecteurs viraux intégrateurs sont représentés par les rétrovirus et les lentivirus. Ils permettent l'intégration du transgène dans le chromosome hôte en assurant ainsi une propagation stable du transgène vers les cellules filles.
Les vecteurs non intégrateurs assurent la médiation de l'expression du transgène à partir du transgène conservé de manière épisomique qui reste à l'extérieur de l'ADN chromosomique de la cellule hôte. Il y a ainsi une diminution du risque d'oncogénèse mais ce type de vecteur est inadapté au transfert de gènes dans les cellules à division rapide. En effet, l'expression du transgène est perdue à chaque division cellulaire. De fait, l'expression de la protéine transgénique après le transfert du gène n'est que transitoire dans les cellules à multiplication rapide. L'utilisation de ces vecteurs reste cependant très utile pour les tissus ayant un statut post-mitotique : le foie, les neurones et le muscle (22).

Le tableau 12 récapitule les principaux types de vecteurs viraux, ainsi que leurs principales caractéristiques.

Vecteur	Virus enveloppé			Virus nu	
	Rétrovirus	**Lentivirus**	**HSV1**	**AAV**	**Adénovirus**
Matériel génétique	ARN	ARN	ADN double brin	ADN simple brin	ADN double brin
Capacité d'encapsidation	8kb	8kb	40kb* 150kb	<5kb	8kb* 30kb
Tropisme	Cellule en division	Vaste	Elevé pour les neurones	Vaste, à l'exception des cellules hématopoïétiques	Vaste
Potentiel inflammatoire	Faible	Faible	Elevé	Faible	Elevé
Forme génomique	Intégrée	Intégrée	Episomique	Episomique Intégrée	Episomique
Principales limitations	Ne transduit que les cellules en division ; l'intégration pourrait induire une oncogenèse dans certaines applications	l'intégration pourrait induire une oncogenèse dans certaines applications	Inflammatoire ; expression transgénique transitoire dans les cellules autres neurones	Faible capacité d'encapsidation	La capside médie une puissante réponse inflammatoire
Principaux avantages	Transfert de gène persistant dans les cellules en division	Transfert de gène persistant dans les cellules en division	Capacité d'encapsidation importante Expression neuronale	Pas d'inflammation Non pathogène	Transduction extrêmement efficace dans la plupart des tissus

TABLEAU 12: LES PRINCIPAUX TYPES DE VECTEURS VIRAUX (48)
** Réplication défectueuse*

Les deux principaux types de vecteurs actuellement étudiés dans le cadre des essais cliniques de thérapie génique sont les AAV et les lentivirus. Ils sont composés de séquences virales recombinantes non pathogènes et dépourvues de capacité de réplication : ce sont des vecteurs recombinants (48).

L'AAV sauvage est un virus à ADN simple brin. Il se compose de deux cadres de lecture ouverts, appelés rep et cap, entourées de deux séquences répétées terminales inversées. Le gène Rep code pour les protéines responsables de la réplication, et le gène cap code pour les protéines structurelles qui composent la capside virale (47) (Figure 14).

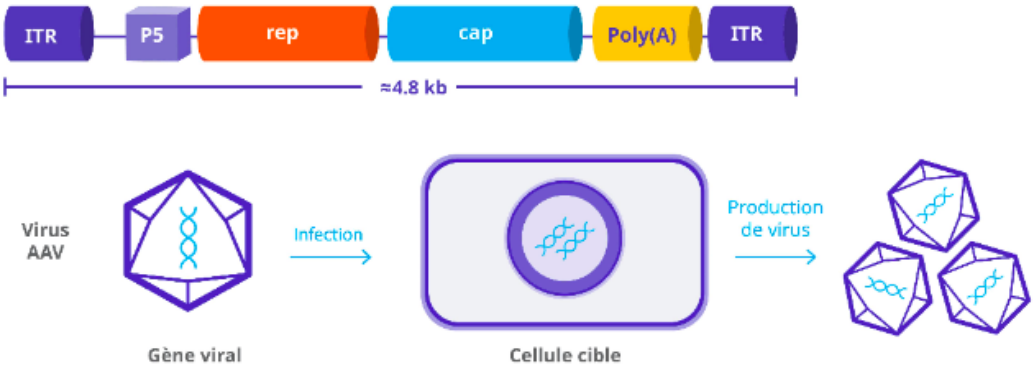

FIGURE 14: STRUCTURE DE L'AAV SAUVAGE (49)

À la différence de ce génome sauvage, l'AAV recombinant (rAAV) ne peut pas se répliquer dans la mesure où il est dépourvu des gènes rep et cap (Figure 15). Ils sont remplacés par une cassette d'expression du transgène simple brin qui comprend le gène thérapeutique d'intérêt et d'autres régulateurs transcriptionnels non codants :

- le promoteur, séquence promotrice qui facilite l'expression du transgène dans certains types de cellules
- un signal terminateur de transcription appelé queue de polyadenylation Poly(A).

La cassette d'expression est insérée entre les répétitions terminales inversées palindromiques (47).

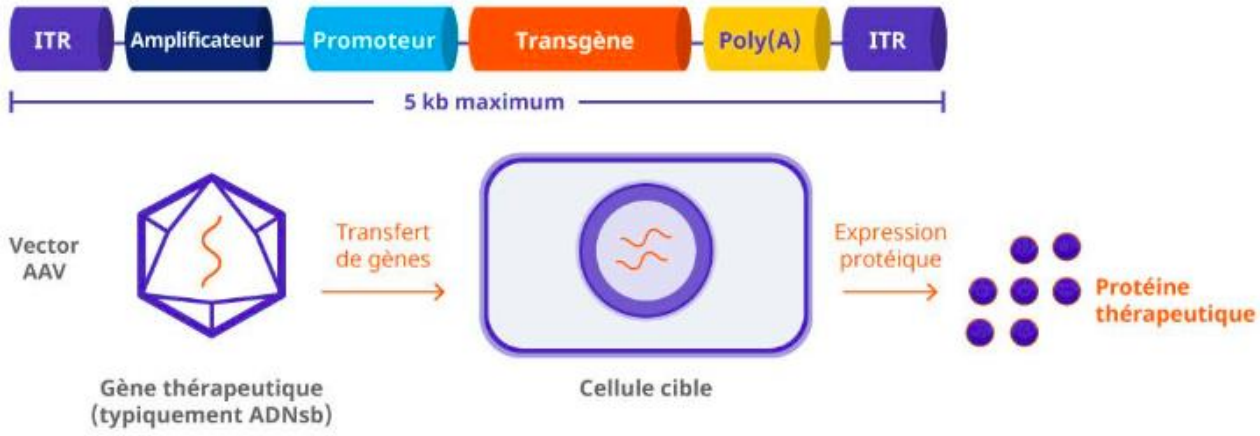

FIGURE 15: STRUCTURE DU RAAV (49)

Cette nanoparticule est exclusivement conçue pour traverser la membrane cellulaire et délivrer le transgène au noyau de la cellule cible. Toutes ces modifications permettent l'expression de la protéine thérapeutique sans engendrer de production de virus (50).

L'rAAV ne présente aucune pathogénicité humaine connu et est incapable de se répliquer en l'absence de virus auxiliaire. En revanche, il a une capacité à établir une expression de transgénique à long terme et de multiple sérotype permettant de cibler le foie. Chaque sérotype possède des protéines de capsules différentes et présente ainsi différents niveaux de tropisme pour les organes cibles (51) (52).

2. Le foie : organe cible de la thérapie génique

Le foie est l'organe principalement ciblé dans les thérapies géniques qui ont recourt à un transfert de gènes via les vecteurs AAV. Ses fonctions permettent d'optimiser considérablement la potentielle réussite de la thérapie génique dans l'hémophilie. Tout d'abord, le foie dispose d'un apport sanguin permettant une accumulation rapide de particules de vecteur après l'administration systémique de la thérapie génique. Il contient également de nombreuses cellules immunitaires favorisant les interactions avec les vecteurs (22).

Le système immunitaire a un impact sur la thérapie génique par le biais de réponse immunitaire humorale et cellulaire.
Une immunité naturelle à l'AAV, peut provoquer des réponses immunitaires humorales ou cellulaires et donc diminuer l'efficacité du transfert de gène par le vecteur AAV (52). Les patients hémophiles ont pu être exposés au cours de leur vie à des AAV sauvages entraînant ainsi la production d'anticorps dirigés contre les AAV, et donc par extension contre les vecteurs de transfert empêchant ainsi la transduction dans les cellules cibles (53).

Lors de réponse immunitaire cellulaire, les antigènes de la cellule transduite sont reconnus par les lymphocytes T circulants qui conduisent alors à leur élimination et

réduisent donc le nombre de cellules contenant le transgène. Ceci empêche et réduit l'expression génétique (54) (Figure 16).

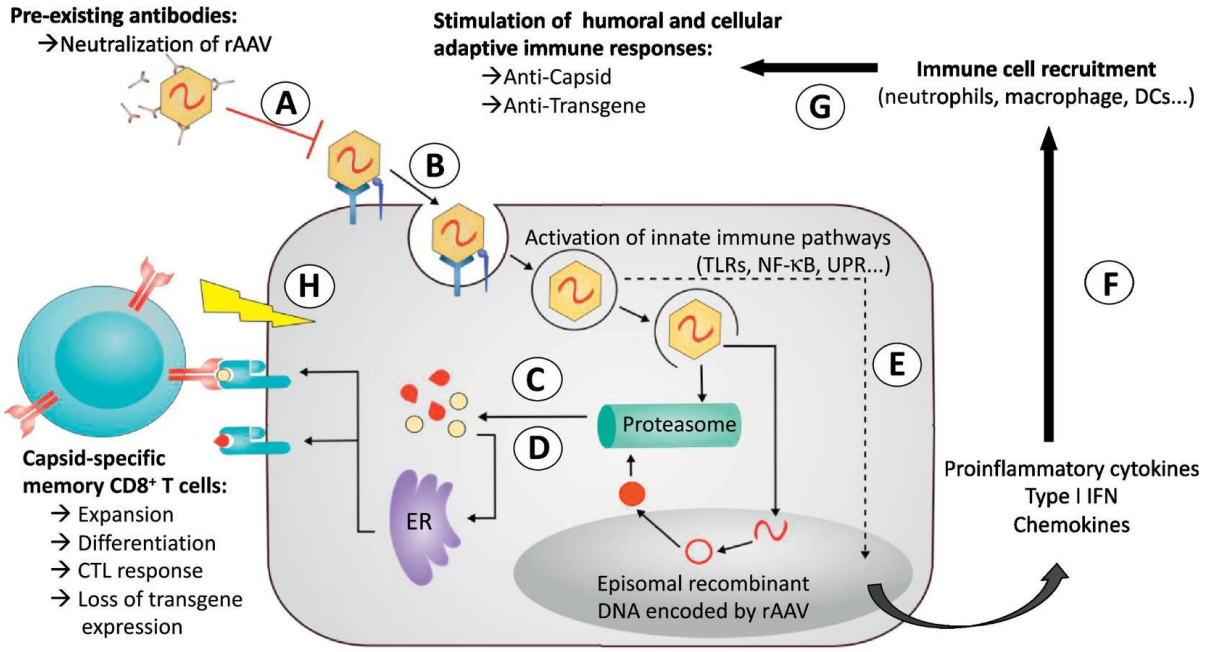

FIGURE 16: REPONSES IMMUNITAIRES LIMITANT LA TRANSDUCTION DU RAAV ET L'EXPRESSION DES TRANSGENES (55)

(A) Neutralisation du rAAV par des AC anti-capside empêchant la transduction cellulaire.
(B) Les rAAV qui échappent à la neutralisation des anticorps, interagissent avec les récepteurs sur la surface cellulaire pour initier leur absorption et leur trafic à travers le réseau endosomique. L'échappement endosomal du rAAV permet à l'ADN recombinant d'être délivré au noyau, où il persiste généralement de manière épisomique et à partir de laquelle des transgènes peuvent être exprimés pour donner des produits protéiques thérapeutiques.
(C) Dégradation des capsides par le protéasome
(D) Traitement dans le réticulum endoplasmique (ER) pour une présentation croisée par le CMH I.
(E) Au cours de la transduction, le rAAV peut également déclencher des réponses immunitaires innées à partir de récepteurs de type Toll à la surface cellulaire (TLR2), dans le l'endosome (TLR9) et les réponses au stress cellulaire (UPR).
(F) Les réponses immunitaires innées induites par le rAAV peuvent conduire à la production de cytokines pro-inflammatoires, les chimiokines et l'IFN de type I, qui recrutent des cellules immunitaires, telles que les neutrophiles, les macrophages et les cellules dendritiques (DCs).
(G) Ces réponses peuvent aboutir à la stimulation de réponses immunitaires adaptatives humorales et cellulaires contre les capsides de rAAV et les produits transgéniques codés.
(H) Cellules transduites ??? l'affichage d'antigènes rAAV restreints par le CMH I peut activer des lymphocytes T CD8⁺ anti-capside mémoire préexistants. Les lymphocytes T CD8⁺ activés peuvent se développer, se différencier et faciliter les réponses effectrices cytotoxiques, entraînant la perte de cellules cibles transduites et l'expression à partir des transgènes qu'elles contiennent.

Cependant le foie se compose principalement des types de cellules suivants : hépatocytes, macrophages résidents (cellules de Kupffer), cellules endothéliales spécialisées, cellules endothéliales sinusoïdales hépatiques et cellules étoilées

hépatiques (Figure 17). Chacune de ces cellules hépatiques a été associée à une contribution indépendante à la tolérance et agit très probablement de manière synergique pour biaiser les réponses immunitaires locales vers la tolérance.

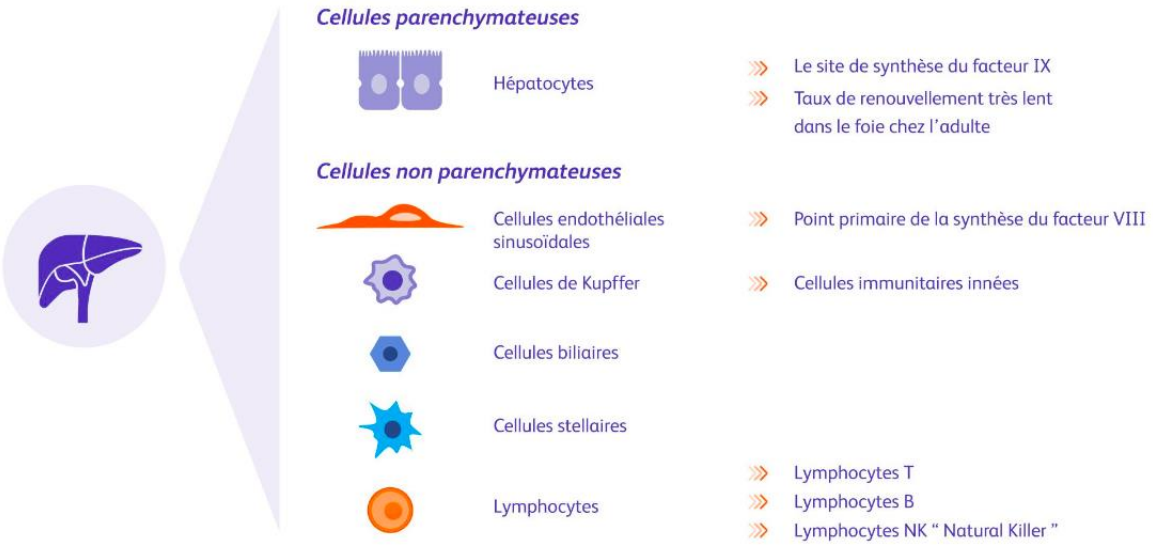

FIGURE 17: LES DIFFERENTES FONCTIONS DU FOIE (56)

Certains sérotypes d'AAV ont un fort tropisme pour les hépatocytes et une immunogénicité innée limitée. Lorsque les réponses inflammatoires initiales sont faibles, les signaux d'activation du système immunitaire peuvent être évités, augmentant ainsi la tolérance vis à vis du transgène. De même, une induction limitée de l'IFN I (IFNα/β) préserve l'expression du transgène et réduit les réponses antivirales. Un niveau minimal d'expression du transgène est requis pour l'induction de la tolérance (57).

Un des mécanismes de l'induction de la tolérance par transfert de gène hépatique est l'induction de $CD4^+$ $CD25^+$ $FoxP3^+$ Treg spécifiques au produit transgénique. Les Treg induits suppriment activement les réponses des anticorps et des lymphocytes T CD8+ contre le produit transgénique. L'induction de Treg est nécessaire pour l'induction et le maintien de la tolérance et est corrélée au niveau d'expression du transgène.

Le ligand du récepteur du facteur de nécrose tumorale induit par les glucocorticoïdes, a récemment été identifié comme un autre facteur nécessaire à l'induction efficace de

Treg après le transfert de gène hépatique d'AAV. Pour la suppression des réponses des cellules T CD8 +, l'expression hépatique de la cytokine suppressive IL-10, produite dans les cellules de Kupffer et dans les Treg, est nécessaire (57).
Malgré le fait que le foie possède une forte réponse immunitaire innée, son immunité adaptative est faible. Cela se traduit par une absence relative de réactivité immunitaire et une tolérance immunitaire hépatique (57).

3. Limites de la thérapie génique

a. Durée d'efficacité inconnue de la TG ciblant le foie

Les transgènes délivrés aux hépatocytes sont sous forme d'épisomes dans les noyaux des cellules cibles transduites.
Le foie est un tissu post-mitotique chez l'adulte permettant ainsi une longue durée de vie des hépatocytes. Chez l'enfant, la division cellulaire des hépatocytes est rapide et entraîne la dilution des transgènes en absence de réplication des épisomes (58).

b. Population étudiée restreinte

Actuellement, les populations étudiées dans les essais cliniques ne sont que des patients hémophiles adultes.
La population recrutée dans les essais cliniques exclue les patients dépendants de drogue, d'alcool, atteints de maladie hépatique ou d'infection chronique active. Le profil de tolérance chez ces patients est donc inconnu, tout comme l'effet de la consommation d'alcool sur la durée de l'expression du transgène.
D'autre part, des essais sur les effets à long terme sont en cours et sont nécessaires en raison du faible niveau d'intégration de l'AAV.

c. Données de sécurité et effets indésirables (EI)

Il est possible de regrouper les résultats de sécurité en trois domaines de santé. Ceux-ci sont recommandés pour la conception d'essais cliniques de thérapie génique:

- Les EI à court terme : transaminite hépatique, développement d'inhibiteurs des FVIII/FIX et réponse immunitaire à la thérapie génique.
- Les EI à long terme : durée de la réponse de neutralisation du vecteur, développement de troubles hépatiques, intégration du vecteur dans le génome de l'hôte
- Mortalité : cause du décès. A ce jour, aucun décès dû à la thérapie génique en hémophilie n'a été identifié.

i.EI à court terme

L'utilisation de vecteurs AAV peut entrainer une élévation des transaminases hépatiques réversible dans les semaines suivant le transfert de gène mais également une réponse immunitaire adaptative par la production d'anticorps spécifiques des capsides (59).

Il est en effet fréquent d'observer des augmentations de l'alanine aminotransférase hépatique et de modestes augmentations de l'aspartate aminotransférase. Aucune transaminite n'a été observée dans les études précliniques et chez l'homme. L'effet a été transitoire, asymptomatique et résolu sans traitement. L'augmentation des transaminases hépatiques précède ou coïncide avec une perte d'expression/d'efficacité du transgène, survenant généralement dans les 12 premières semaines suivant la perfusion du vecteur (47).

Cette élévation des enzymes hépatiques peut être expliquée par des interactions complexes AAV-hôte pouvant inclure :

- des réponses des lymphocytes T cytotoxiques (CTL) contre la capside de l'AAV, entraînant la destruction des hépatocytes transduits
- une réponse immunitaire innée, qui peut être déclenchée par des facteurs tels que la conformation de l'ADN, la dose de vecteur, la libération de cytokines et l'AAV (47).

La prise concomitante de médicaments ayant des effets hépatotoxiques possibles pourrait interagir avec le vecteur de thérapie génique entraînant une toxicité hépatique (47).

ii.EI à long terme

Des données sur l'innocuité à long terme concernant la thérapie génique médiée par les vecteurs AAV pour l'hémophilie existent, jusqu'à huit ans chez l'homme (hémophilie B) et 10 ans chez le chien (hémophilie A). Chez l'homme, outre l'élévation des enzymes hépatiques, une expression stable sans toxicité tardive a été observée jusqu'à huit ans chez les hémophiles B (60).

Le risque potentiel à long terme de mutagenèse insertionnelle et de carcinome hépatocellulaire chez l'homme semble être faible mais mérite une surveillance spécifique dans le suivi à long terme de la thérapie génique dirigée vers le foie (47).

Les approches de thérapie génique ciblent les cellules somatiques plutôt que germinales, afin qu'elles n'impactent pas la descendance des patients. Toutefois, une excrétion de vecteur dose-dépendante a pu être détectée dans certains fluides corporels, y compris la salive, le sang et le sperme jusqu'à 48 semaines après la perfusion de vecteur. Ceci pose un risque théorique de transmission horizontale à d'autres individus, ou à l'environnement, bien que cela n'ait jamais été observé. Ainsi, il est important d'avertir le patient sur la nécessité d'utiliser une contraception efficace afin d'éviter tout risque possible de transmission (47).

C. Cassette d'expression du vecteur recombinant

Les transgènes F8 et F9 sont délivrés aux hépatocytes par le vecteur recombinant. Les cellules transduites peuvent alors exprimer les protéines du facteur VIII et IX respectivement.

Le contrôle et l'optimisation de leur expression est permise grâce à la cassette d'expression du transgène rAAV (22) (61).

La cassette d'expression est composée d'un transgène, d'un promoteur, d'un amplificateur, de répétitions terminales inversées, et d'un terminateur de transcription.

1. Cassette d’expression de l’AAV recombinant

a. Le transgène

Le transgène se définit comme une séquence isolée d’acide nucléique, dans le cas échéant codant pour le gène d’intérêt thérapeutique, transféré dans le génome d’un organisme en vue d’obtenir un organisme génétiquement modifié capable de produire le gène défaillant.
Il s’agit du gène F8 pour les hémophiles A et du gène F9 pour les hémophiles B. Après transduction, les régions codantes sont transcrites pour produire une protéine fonctionnelle. Le cas échéant, il s’agit des facteurs de coagulation FVIII et FIX (22) (61).

b. Le promoteur

Le promoteur est une séquence d’ADN située sur la partie proximale de la cassette d’expression où les facteurs de transcription permettent d’initier la transcription du gène. Ils sont essentiels à l’expression du transgène et peuvent être ubiquitaires ou spécifiques à un tissu (62).

c. L’amplificateur

Un amplificateur est une séquence d’ADN régulatrice permettant d’augmenter la capacité transcriptionnelle du promoteur associé. Cette séquence comporte des sites de liaison pour les protéines régulatrices, qui une fois liées entraînent une modification de la chromatine permettant la liaison de l’ARN polymérase et des facteurs de transcription (63).

d. Les répétitions terminales inversées

Les répétitions terminales inversées sont des séquences de nucléotides de 145 paires de bases. Ce sont les seuls éléments génétiques conservés de l'AAV sauvage. Elles sont nécessaires à la production du vecteur et à l'expression du transgène (64).

e. Le terminateur de transcription

La séquence signal PolyA est un terminateur de transcription (Figure 18). Cette séquence est essentielle pour l'exportation nucléaire, la traduction et la stabilité de l'ARNm (65) (66).

FIGURE 18: STRUCTURE DE LA CASSETTE D'EXPRESSION DU RAAV (67)

2. Optimisation de la cassette

La taille de la cassette est limitée à la capacité d'emballage de l'AAV capside. L'ADN complémentaire F9 est plus facilement encapsidé dans un vecteur AAV par rapport au plus grand gène comme F8.

a. Transgène

La taille de la cassette d'expression du rAAV est généralement limitée à 5kb en raison de la capacité d'encapsidation du rAAV (48).
Le gène F8 a une taille d'environ 7kb ce qui est supérieur à la capacité d'encapsidation du rAAV. Les domaines A et C sont nécessaires à l'activité coagulante du facteur VIII. La délétion du domaine B n'altère pas la fonctionnalité de la protéine.
Ainsi, la réduction ciblée de la séquence codante par suppression du domaine B du gène F8 a permis l'encapsidation du transgène dans un vecteur AAV pour le traitement

de l'hémophilie A (47) (Figure 19). La délétion partielle de ce domaine conduit à une augmentation des niveaux d'ARNm et donc de l'expression de la protéine FVIII en comparaison au génotype sauvage. Cette approche permet de surmonter les contraintes liées à la taille de la cassette d'expression (68).

Le gène F9 peut être intégré dans la cassette sans aucune modification du fait de sa petite taille d'environ 1,6kb. Les modifications de ce gène ont essentiellement porté sur l'augmentation de l'expression génique des facteurs de coagulation IX.
La mutation F9-Padua, déjà connue chez certains individus, a été utilisée dans le développement de la thérapie génique de l'hémophilie B car elle engendre une augmentation de l'activité du FIX par rapport au génotype sauvage. Il s'agit d'une mutation ponctuelle reposant sur un seul acide aminé : R338L (68) (Figure 19).

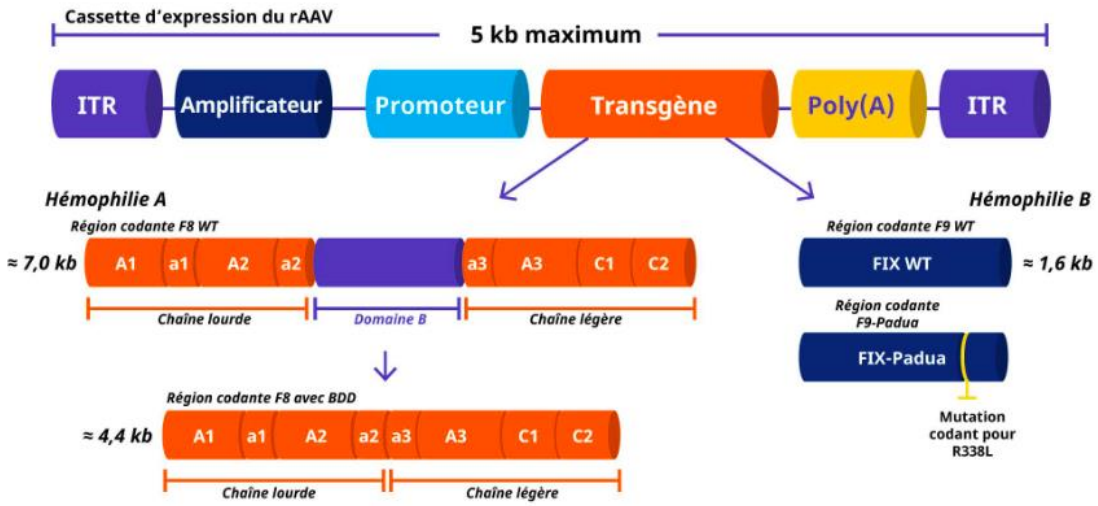

FIGURE 19 : OPTIMISATION DU TRANSGENE DANS LA THERAPIE GENIQUE POUR L'HEMOPHILIE (67)

b. Promoteur

La thérapie génique de l'hémophilie a pour objectif d'exprimer les transgènes dans les hépatocytes. L'expression des gènes peut être ciblée sur le foie grâce à l'utilisation de séquences promotrices provenant de protéines synthétisées par les hépatocytes. L'utilisation de ces promoteurs spécifiques des tissus ou des cellules permet un meilleur contrôle de l'expression du transgène (65).

D. Etat des lieux des essais en cours

De nombreux essais cliniques sont en cours avec des résultats prometteurs, suscitant de fait de nouveaux espoirs. Actuellement, 25 médicaments sont en cours d'essais dont 11 dans le traitement des patients atteints d'hémophilie A (Annexe 3) et 14 chez les hémophiles B (Annexe 2).

La grande majorité des essais en cours s'appuie sur des vecteurs de type AAV et non des lentivirus (Tableau 13).

Les différents essais de thérapie génique dans le traitement de l'hémophilie B ont permis d'améliorer le phénotype hémorragique des patients atteints de formes sévères. Ces patients présentent désormais un phénotype hémorragique modéré voire mineur (60). Le nombre de saignements a également été considérablement réduit (80% en moyenne) mais aussi la consommation de facteurs anti hémophiliques (87 % en moyenne) (69) (70).

Les résultats des essais en cours chez les hémophiles A sont plus variables, allant d'une amélioration du phénotype hémorragique à l'obtention de valeurs normales en FVIII circulant. Le taux de saignement annualisé a été significativement réduit (93 % en moyenne) tout comme l'utilisation de facteurs (96 % en moyenne) (71).

TABLEAU 13 : MEDICAMENTS EN COURS D'ESSAIS CLINIQUES

Médicament étudié	Laboratoire	Numéro NCT	Phase de l'étude	Vecteur	Type d'hémophilie traitée
PF-07055480 (SB-525) Giroctocogene fitelparovec	Pfizer	NCT04370054	III	AAV	Hémophilie A
CD34+PBSC	Medical College of Wisconsin	NCT03818763	I	LV	Hémophilie A
AAV2/8-HLP-FVIII-V3	University College, London	NCT03001830	I	AAV	Hémophilie A
YUVA-GT-F801	Shenzhen Geno-Immune Medical Institute	NCT03217032	I	LV	Hémophilie A
SPK-8011	Spark Therapeutics	NCT03003533	I et II	AAV	Hémophilie A
ASC618	ASC Therapeutics	NCT04676048	I et II	AAV	Hémophilie A
BAY 2599023 (DTX 201)	Bayer	NCT03588299	I et II	AAV	Hémophilie A
BMN 270 Valoctocogene roxaparvovec	BioMarin Pharmaceutical	NCT04323098	III	AAV	Hémophilie A
SPK-8016	Spark Therapeutics	NCT03734588	I et II	AAV	Hémophilie A
BAX 888	Shire (Baxalta)	NCT03370172	I et II	AAV	Hémophilie A
BBM 002	Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital	NCT05454774	I	AAV	Hémophilie A
AskBio009 (BAX 335)	Takeda	NCT01687608	I et II	AAV	Hémophilie B
PF-06838435 (SPK-9001) Fidanacogene elaparvovec	Pfizer	NCT03861273	III	AAV	Hémophilie B
YUVA-GT-F901	Shenzhen Geno-Immune Medical Institute	NCT03961243	I	LV	Hémophilie B
scAAV2/8-LP1-hFIXco	St. Jude Children's Research Hospital	NCT00979238	I	AAV	Hémophilie B
AAV5-hFIX	CSL Behring	NCT02396342	I et II	AAV	Hémophilie B
BBM-H901	East China University	NCT05203679	I et II	AAV	Hémophilie B
Adeno-Associated Viral with Human Factor IX	Avigen	NCT00076557	I et II	AAV	Hémophilie B
Fidanacogene elaparvovec	Ultragenyx Pharmaceutical Inc	NCT02618915	I et II	AAV	Hémophilie B
SHP648	Baxalta now part of Shire	NCT04394286	I et II	AAV	Hémophilie B
AAV8-hFIX19	Spark Therapeutics	NCT01620801	I	AAV	Hémophilie B
FLT180a	Freeline Therapeutics	NCT05164471	I et II	AAV	Hémophilie B
SB-FIX	Sangamo Therapeutics	NCT02695160	I	AAV	Hémophilie B
AMT-061	CSL Behring	NCT03569891	III	AAV	Hémophilie B
VGB-R04	Shanghai Vitalgen BioPharma Co., Ltd.	NCT05441553	I et II	AAV	Hémophilie B

PARTIE IV : UTILISATION DE LA TG EN HEMOPHILIE AU CHU DE TOULOUSE

Aucun patient hémophile suivi au CHU de Toulouse n'a, à ce jour, pu bénéficier d'un traitement par thérapie génique. L'objectif de ce travail a été de définir la file active des patients éligibles pour recevoir ce type de thérapie afin d'avoir une estimation du nombre de patients concernés et de réfléchir aux éléments nécessaires pour mettre en place ce type de thérapie au CHU.

Dans cet objectif, nous avons, dans un premier temps, détaillé le circuit pour la réalisation des TG en hémophilie à partir des contraintes en lien avec la préparation, l'administration et le suivi de ces thérapies. Dans un second temps, nous avons défini les critères d'inclusion et de non-inclusion pour ce type de thérapie à partir des essais cliniques sur les TG en hémophilie A et B, afin d'avoir une vision assez large des critères. Enfin, afin de prendre en compte l'acceptabilité de ce type de traitement par les patients, nous avons travaillé sur l'élaboration d'un questionnaire à destination des patients éligibles au traitement.

I. Matériel et méthodes

A. Identification des étapes critiques du circuit de la TG en hémophilie

A partir des différentes étapes nécessaires de la préparation à l'administration de la TG, ainsi que du suivi après administration, les éléments critiques du circuit ont été recensés et une réflexion a été menée pour envisager les organisations possibles au CHU en se basant sur les données disponibles dans le RCP du ROCTAVIAN®, les données précises n'étant pas disponibles dans les essais cliniques.

B. Définition de la file active

Afin d'élaborer une liste de critères d'inclusion et de non inclusion, une extraction des critères retenus dans les différents essais cliniques réalisés et en cours sur la thérapie génique en hémophilie A et B a été effectuée. Les essais cliniques concernés ont été identifiés à partir de Clinical Trials. Les mots clés utilisés pour le moteur de recherche ont été « gene therapy » et « hemophilia ». Les critères d'inclusion et non inclusion ont ensuite été répertoriés et leur justification a été rediscutée en groupe de travail multidisciplinaire. Ce groupe était constitué des médecins référents de l'hémophilie au CHU, du pharmacien référent de l'hémostase, du pharmacien en charge des MTI et du pharmacien rétrocession en lien avec les patients hémophiles.

Les critères retenus ont été appliqués à la cohorte de patients suivis au CHU de Toulouse. L'extraction de la liste des patients hémophiles pris en charge au CHU de Toulouse en 2020 et 2021 a été faite à partir de la base de données BaMaRa. Les données personnelles des patients ont été extraites à partir du dossier patient informatisé du CHU (Orbis®).

C. Elaboration du questionnaire

Une recherche bibliographique a permis de sélectionner des études similaires. En se basant notamment sur le questionnaire utilisé pour l'étude PAVING (72), le questionnaire a été retravaillé et complété par l'équipe pluridisciplinaire ayant contribué à ce travail. Une note d'information à destination des patients a également été préparée (Annexe 5).

II. Résultats

A. Identification des étapes critiques du circuit de la TG en hémophilie

En raison de leur spécificité, les TG en hémophile devront relever d'un circuit particulier. Toutes les étapes de ce circuit, de la commande à l'administration, devront être encadrées et leurs risques associés, maitrisés. La figure 20 reprend les étapes de ce circuit.

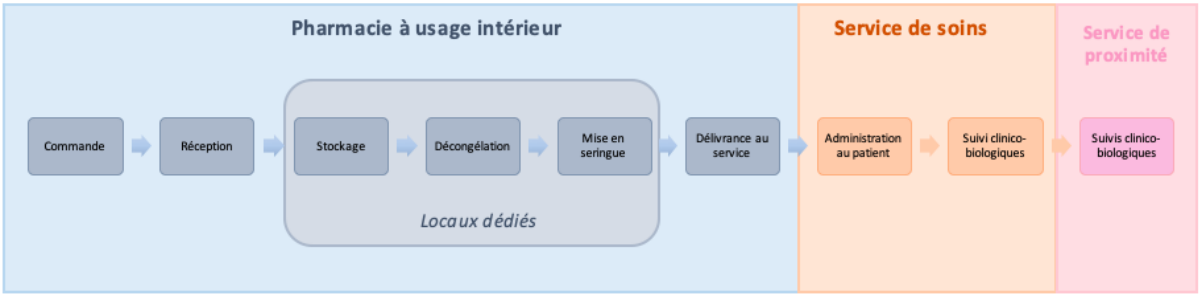

FIGURE 20: CIRCUIT DE LA THERAPIE GENIQUE EN HEMOPHILIE

Dans le cadre de la TG en hémophilie, nous nous sommes en particulier appuyés sur les données du RCP du ROCTAVIAN® pour décrire le circuit car nous n'avions pas eu accès à toutes ces données pour les essais cliniques de TG en hémophilie, sachant qu'en général la partie stockage/conservation/préparation est moins contraignante dans le cadre de l'AMM que dans les essais cliniques, les industriels ayant pu obtenir des données de stabilité/conservation supplémentaires.

1. Réception – Stockage – Préparation – Dispensation

Le produit est livré congelé dans de la carboglace. Une réception en main propre est préférable pour vérifier les conditions de conservation durant le transport avant signature du bon de réception.

Les flacons devront être stockés à **l'abri de la lumière** en positon verticale à une **température inférieure ou égale à -60°C**. Un congélateur à -80°C sera donc

nécessaire pour conserver ce type de produit. Il est préférable que le congélateur soit dédié aux MTI. A minima, la zone de stockage doit être bien identifiée. Un congélateur back-up à proximité sera également nécessaire.

La décongélation des flacons de ROCTAVIAN® nécessite environ 2 heures. La durée de stabilité est relativement longue, de **10 heures à 25 °C** après décongélation (73), Cette durée inclut le temps d'attente dans le flacon, le temps de mise en seringues et le temps d'administration.
Ils peuvent ensuite être conservés au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C) pendant 3 jours au maximum, en position verticale et à l'abri de la lumière (73). Le médicament ne doit jamais être recongelé.
Idéalement, le médicament doit **rester congelé jusqu'à ce que le patient soit prêt pour l'administration** afin de garantir que le traitement ne soit pas perdu. Il sera donc nécessaire d'assurer une bonne coordination entre le service clinique et la pharmacie avant de commencer la préparation.
Une fois décongelés, les produits de TG doivent être homogénéisés avant utilisation par retournement très lent. Les flacons seront ensuite prélevés et mis en seringue ou en poche selon les recommandations du fabricant.
Dans le cas du ROCTAVIAN®, chaque flacon contient 16×10^{13} génomes du vecteur dans 8 ml de solution ; sa concentration est donc de **2×10^{13} génomes du vecteur par ml**. La dose recommandée est de 6×10^{13} génomes du vecteur par kilogramme (vg/kg). Ainsi, le nombre de flacons à décongeler se calcule à partir du poids du patient. Pour un patient de 70 kg, 210 ml seront donc nécessaires soit 27 flacons.

2. Administration et traçabilité

Lors de la dispensation d'un MTI, une vigilance particulière doit être apportée au contrôle de l'identité du patient et à la conformité du produit manipulé ou délivré. (6) Afin d'améliorer la traçabilité des médicaments biologiques, le **nom** et le **numéro de lot** du produit administré devront être clairement enregistrés (73).

In vivo, la TG expose à une probabilité plus élevée de dissémination involontaire au travers des fluides biologiques car elle consiste à administrer le vecteur directement

chez le patient (74). L'administration et le maintien du patient sont effectués en chambres de confinement TL1 (C1) ou TL2 (C2). Ces chambres sont identifiées par une signalétique spécifique. Le confinement TL1 correspond à des chambres conventionnelles mais une attention particulière est portée sur l'élimination des déchets. (74).

Pour l'étape d'administration au patient, l'information et la formation des praticiens et des personnels soignants sont requises (74). L'équipe médicale devra utiliser des équipements individuels de protection tout au long de l'administration.

Les pharmaciens peuvent contribuer au bon usage des MTI en conseillant l'équipe médicale sur les problématiques liées à l'administration. Ils participent également au choix de dispositifs médicaux utilisés lors de l'administration afin que ces derniers soient compatibles avec le médicament (6).

Le traitement par TG consiste en **une seule perfusion intraveineuse**. La durée d'administration est très variable car elle dépend du volume perfusé, du débit et de la réponse du patient. Dans le cas du ROCTAVIAN®, la perfusion doit débuter à un débit initial de 1 Ml/min. Si la perfusion est bien tolérée, le débit peut être augmenté de 1 Ml/min toutes les 30 minutes, sans dépasser 4 Ml/min (73). Pour un patient de 70 kg, la perfusion durera environ 1h30-2h.

3. Gestion des déchets

Le médicament non utilisé et les déchets, solides ou liquides, ayant été en contact avec ce dernier doivent être éliminés conformément aux directives concernant les déchets pharmaceutiques décrites précédemment (73). (6)
Dans le cas du ROCTAVIAN®, aucune recommandation particulière n'est mentionnée dans le RCP.

4. Surveillance clinique

Pendant et après la perfusion, une **surveillance clinique** est nécessaire afin de détecter d'**éventuels effets indésirables**. Le patient est généralement autorisé à regagner son domicile le jour même lorsqu'il aura été décidé qu'il n'est plus nécessaire de le garder en observation.

Les semaines suivants la perfusion, une **surveillance biologique rapprochée**, notamment de la fonction hépatique et de l'activité du facteur VIII est réalisée.

Pour le ROCTAVIAN®, cette surveillance est hebdomadaire les 26 premières semaines et peut ensuite être espacée toutes les 2 à 4 semaines jusqu'à la cinquante deuxième semaine (73). La surveillance biologique pourra *a priori* être réalisée dans le laboratoire d'analyse à proximité du domicile du patient. Des consultations de suivi seront à prévoir.

B. Définition de la file active

1. Extraction des critères d'inclusion et de non inclusion

La recherche des essais cliniques sur le TG en hémophilie dans Clinical Trials (Annexe 4) a conduit à **61 études cliniques** dont **53 étaient des essais de thérapie génique pour traiter l'hémophilie A et l'hémophilie B spécifiquement.** Les 8 essais cliniques non retenus concernaient :

- D'autres types de traitement de l'hémophilie à savoir un traitement par thérapie cellulaire (n=4) ou par Alturen (n=1), traitement de la dystrophie musculaire de Duchenne
- La prise en charge de l'hémophilie A mineure (n=1)
- Les nouvelles prises en charge des patients atteints de troubles hématologiques congénitaux (n=1)
- La détermination du type HLA et le polymorphisme du gène FVII chez les patients hémophiles préalablement exposés à un analogue du FVIIa (n=1)

Tous les essais cliniques observationnels, correspondant au suivi à long terme des patients inclus pour la réalisation de leur thérapie génique dans un essai clinique préalable de phase I/II ou III, ont été exclus. De fait, seulement **41 essais cliniques ont été pris en compte** (Tableau 14).

TABLEAU 14 : ESSAIS CLINIQUE EN COURS SUR LA THERAPIE GENIQUE EN HEMOPHILIE A ET B

	Observationnelle	I ou II	III	Total
Hémophilie A	3	16	4	23
Hémophilie B	5	17	3	25
Hémophilie A et B	4		1	5

Les essais de thérapie génique en cours dans le domaine de l'hémophilie présentent de nombreux critères d'inclusion et d'exclusion, bien définis avec seulement de légères variations entre les protocoles, à l'exception de 3 essais cliniques chinois. Ces 3 essais très restrictifs sur la population cible ont donc été écartés pour l'élaboration des critiques.

A partir des 38 essais cliniques restants, 6 critères d'inclusion ont été retenus. Le tableau 15 recense ces critères ainsi que la proportion des essais dans lesquels ces critères sont utilisés.

TABLEAU 15 : CRITERES D'INCLUSION UTILISES DANS LES ESSAIS CLINIQUES EN COURS

Condition d'inclusion		Proportion
Sexe		
Sexe	Masculin	100% (n=38)
Age		
Age minimal	>18	94.7% (n=36)
Age maximal	Non renseigné	68.4% (n=26)
	<64	5.3% (n=2)
	<65	15.8% (n=6)
	<75	10.5% (n=4)
Sévérité de la maladie		
Gravité de la maladie (taux de facteur)	<1	28.9% (n=11)
	≤1	18.4% (n=7)
	≤2	34.2% (n=13)
	≤1 pour HA et ≤2 pour HB	2.6% (n=1)
Jour exposition à un traitement substitutif	50	7.89% (n=3)
	100	7.89% (n=3)
	150	44.7% (n=17)
Nombre d'évènements hémorragique	≥3	7.89% (n=3)
	≥4	23.7% (n=9)
	>10 sur une période de 12 mois	5.62% (n=2)
	≥12 sur une période de 12 mois	7.89% (n=3)

Concernant les critères d'exclusion, 18 ont pu être recensés, sachant que certains critères redondants ont été regroupés sous un intitulé plus large. Par exemple, ont été regroupés sous l'intitulés « Patients à haut risque cardiovasculaire » les critères de non-inclusion suivants : « diabète », « obésité », « sujet à haut risque cardio-vasculaire » et « pathologies cardiaques ». Le tableau 16 présente l'ensemble de ces critères et la proportion des essais qui reprennent ces critères.

TABLEAU 16 : CRITERES DE NON INCLUSION UTILISES DANS LES ESSAIS CLINIQUES EN COURS

Condition de non inclusion		Proportion
Atteintes hépatiques et substances hépatotoxiques		
Affections hépatiques	Oui	81.6% (n=31)
Hépatites B ou C actives ou en cours de traitement	Oui	89.5% (n=34)
VIH Non contrôlé	Oui	84.2% (n=32)
ASAT/ALAT	>1N	5.62% (n=2)
	>1,5N	2.63% (n=1)
	>2N	13.2% (n=5)
	>3N	2.63% (n=1)
	Non précisé	7.89% (n=3)
Bilirubine	>1,5N	15.8% (n=6)
	>2N	2.63% (n=1)
	>3N	5.62% (n=2)
	Non précisé	7.89% (n=3)
Dépendance à une substance hépatotoxique (alcool, drogue...)	Oui	21.1% (n=8)
Patients à haut risque cardiovasculaire		
Pathologies cardiovasculaires et sujets à haut risque d'évènements thrombo-emboliques	Oui	39.5% (n=15)
Antécédents d'inhibiteurs de facteurs de coagulation		
Présence d'inhibiteurs	Oui	81.6% (n=31)
Anticorps dirigés contre la capside du vecteur de l'AAV		
Présence d'anticorps anti capside	Oui	60.5% (n=24)
Comorbidités associées		
Comorbidités (affections majeures, tumeurs malignes)	Oui	52.6% (n=20)
Trouble de la coagulation	Oui	42.1 (n=16)
Thrombopénie	<100	15.8% (n=6)
	<50	7.89% (n=3)
	Non précisé	5.62% (n=2)
Hémoglobine	<9	2.63% (n=1)
	<11	10.5% (n=4)
	Non précisé	5.62% (n=2)
DFG	<60	2.63% (n=1)
Créatinine	Augmentée	28.9% (n=11)
Autres		
Réactions allergiques aux facteurs	Oui	31.6% (n=12)
Hypersensibilité ou contre-indication à un des médicaments utilisés par le protocole	Oui	26.3% (n=10)
Contraception les semaines suivant la perfusion	Oui	71.1% (n=27)

2. Définition et synthèse des critères retenus

Au vu des critères retenus dans les différents essais cliniques, certains critères méritent d'être explicités afin d'envisager de les garder dans le cadre de la définition de notre file active.

a. Sexe : masculin

Actuellement, aucun essai n'a été conduit chez la femme. Des études sont nécessaires afin de s'assurer de la sécurité et de l'efficacité dans cette population. Cependant, très peu de femmes sont atteintes de forme sévère de la maladie au vu de la transmission récessive liée à l'X de la maladie.
Au vu du risque théorique d'intégration du vecteur viral dans les cellules du fœtus par transmission verticale, des études embryofoetales et de fertilité dédiées sont nécessaires afin d'établir si l'utilisation chez les femmes en âge de procréer et pendant la grossesse pourrait être délétère pour le nouveau-né. De plus, aucune donnée n'est disponible pour recommander une durée spécifique de mesures contraceptives chez les femmes en âge de procréer.
De fait, le critère sexe a été gardé dans l'élaboration de notre file active de patient.

A noter que face à l'absence d'études embryofoetales, il convient d'informer les patients de sexe masculin qu'il est nécessaire qu'eux-mêmes et leurs partenaires de sexe féminin en âge de procréer aient recours à des mesures contraceptives. Les patients refusant d'utiliser une contraception mécanique les mois suivant l'administration du médicament ne pourront pas bénéficier de ce traitement.

b. Age : 18-65 ans

La grande majorité des études ont été faites chez des populations adultes. A ce jour, seulement deux essais sont ouverts chez les enfants de plus de 2 ans. La sécurité et l'efficacité chez les enfants et les adolescents de moins de 18 ans n'ont pas encore été établies.

De plus, la multiplication cellulaire hépatique est importante et rapide chez l'enfant. Il y a donc un risque de perte d'efficacité par une potentielle diminution de l'expression des copies du gène.
Les données disponibles chez les patients âgés de 65 ans et plus sont limitées. Cette tranche de population présente généralement des comorbidités ne permettant pas de recevoir une telle thérapie.
La file active ne contiendra donc que des patients âgés de 18 à 65 ans.

c. Sévérité de la maladie

Les essais sont limités aux patients présentant des taux de facteurs de coagulation inférieurs ou égaux à 2%.
D'autres critères d'inclusion illustrant la sévérité de la pathologie ont été utilisés dans les essais cliniques comme le nombre d'évènements hémorragiques ou encore le nombre de jours d'exposition. Nous avons considéré qu'au vu de la sévérité des profils de patients inclus dans les essais cliniques, ces deux dernières conditions étaient inévitablement remplies.
Le pool de patient retenu, intègre l'ensemble des patients atteints d'hémophilie sévère et également les patients à forme modérée mais ayant un taux de facteur de coagulation inférieur ou égal à 2%.

d. Antécédents d'inhibiteurs de facteurs de coagulation

Les patients qui développent ou ont développé des inhibiteurs du facteur VIII ou IX ont été exclus dans la grande majorité des études cliniques. Ces anticorps pourraient entrainer un échec de la thérapie génique.
A ce jour, ces patients ont été exclus de notre file active de patients.

e. Anticorps dirigés contre la capside du vecteur de l'AAV

Environ un à deux tiers de la population générale a des anticorps neutralisants préexistants contre certains sérotypes d'AAV qui se développent après une exposition

à un AAV sauvage. Ces anticorps neutralisants qui se forment en réponse à un sérotype peuvent induire une réponse à un autre sérotype d'AAV. Ce phénomène de réaction croisée est expliqué par le fait que la séquence d'acides aminés est hautement conservée entre les sérotypes d'AAV.
Même avec de faibles titres d'anticorps, la neutralisation de l'AAV bloque la transduction et l'administration de transgènes thérapeutiques. Ce critère de non inclusion a donc été retenu mais ne peut pas être vérifié *a priori*. Les patients de la file active finale seront dépistés avant l'administration de la thérapie génique pour vérifier qu'ils soient éligibles à recevoir un tel traitement.

f. Atteintes hépatiques et substances hépatotoxiques

Les données d'efficacité et de sécurité chez des patients souffrant de troubles hépatiques ou recevant un médicament potentiellement hépatotoxique sont limitées. L'efficacité de la thérapie génique repose sur l'expression hépatocellulaire du vecteur et pourrait être ainsi altérée par un nombre réduit de cellules hépatiques transductibles, du fait d'une cirrhose par exemple, ou de la perte de cellules hépatiques transductibles, du fait d'une hépatite active ou de l'exposition à des agents hépatotoxiques.
Ainsi, seront exclus du pool les patients :

- atteints d'une fibrose hépatique importante, d'une cirrhose ou d'un carcinome hépatocellulaire ou ayant des antécédents d'affection maligne hépatique
- présentant des infections hépatiques aiguës ou chroniques non contrôlées notamment hépatites C et B actives ou VIH non maîtrisé défini dans la plupart des essais comme un nombre de CD4 <200/mm3 ou une charge virale >20 copies/Ml.
- présentant des résultats de tests biologiques hépatiques anormaux (taux d'ALAT, d'ASAT, de GGT ou de bilirubine totale supérieurs à 1,5 fois la LSN lors d'au moins 2 mesures)ou n'ayant pas forcément de bilan récent. Les patients ayant des taux entre 1,5 et 3 fois la normale seront retenus dans un premier temps afin de vérifier ces taux.

- refusant de s’abstenir de consommer de l’alcool les mois suivant l’administration de ce médicament, puis d’en limiter leur consommation.

g. Patients à haut risque cardiovasculaire

Une augmentation de l’activité des facteurs de coagulation peut contribuer à un risque multifactoriel individuel d’évènements thrombotiques artériels et veineux pour le patient. On ne dispose d’aucune expérience chez des patients ayant des antécédents pertinents d’évènements thromboemboliques/thrombotiques artériels ou veineux ou des antécédents connus de thrombophilie.
Les patients à haut risque seront exclus de la file active.

h. Autres comorbidités

Les comorbidités hépatiques ne doivent pas être les seules prises en compte. En effet, toute maladie ou affection majeure concomitante cliniquement significative, y compris traitement par corticostéroïdes, peut compromettre la possibilité de recevoir un traitement par thérapie génique si le médecin juge qu’un tel traitement est inadapté au patient.

i. Autres

Une hypersensibilité à la substance active ou encore à l’un des excipients est une contre-indication à recevoir le traitement.

3. Application à la cohorte de patients suivis au CHU

a. Description de la cohorte de patients suivis au CHU

Aucun des patients suivis au CHU de Toulouse n’a été intégré dans des essais cliniques de TG en hémophilie mais s’ils répondent aux critères de sélection, ils pourront bientôt bénéficier de la thérapie génique une fois commercialisée.

Dans le cadre de ce travail, nous avons souhaité estimer le nombre de personnes atteintes d'hémophilie et suivies au CHU de Toulouse susceptibles de bénéficier de la thérapie génique à l'avenir.

D'après l'extraction, un total de 339 personnes atteintes d'hémophilie a été suivi au CRC de 2020 à 2021 dont 278 hémophiles A (82%) et 61 hémophiles B (18%).

Le tableau 17 représente la répartition des patients en fonction du type d'hémophilie et du sexe. Comparativement à la proportion au niveau national, la population féminine est moins importante au niveau du CHU. Ceci peut être expliqué par le fait que les patientes conductrices n'ont pas de forme sévère et donc n'ont pas eu besoin de consulter sur la période étudiée. La population masculine est plus importante au CHU de Toulouse ; cependant la non connaissance du sexe à hauteur de 6% au niveau national génère un biais. L'écart observé pourrait être plus faible.

TABLEAU 17 : REPARTITION DE LA COHORTE DE PATIENTS SELON SEXE (74)

Genre	**Hémophilie A**		**Hémophilie B**	
	CHU de Toulouse	France	CHU de Toulouse	France
Masculin	97.5% (n=271)	88%	98.4% (n=60)	87%
Féminin	2.5% (n=7)	3%	1.6% (n=1)	5%
Inconnu	0%	6%	0%	6%

Remarque : le total des pourcentages au niveau national n'est pas de 100% dans la mesure où les données n'ont pas été données de manières complètes.

Le tableau 18 montre la répartition des patients en fonction de l'âge. La moyenne d'âge du pool de patient est de 37 ans (Min : 1 an – Max : 91) et la médiane de 35 ans. Les proportions de chaque tranche d'âge sont proches des proportions au niveau national.

TABLEAU 18 : REPARTITION DE LA COHORTE DE PATIENTS SELON L'AGE (74)

Age (année)	Hémophilie A		Hémophilie B	
	CHU de Toulouse	France	CHU de Toulouse	France
0-4	5.8% (n= 16)	6%	5% (n= 3)	7%
5-13	15.1% (n= 42)	15%	18% (n= 11)	17%
14-18	6.5% (n= 18)	10%	8.2% (n= 5)	11%
19-44	38.5% (n= 107)	40%	31.1% (n= 19)	36%
45-64	17.6% (n= 49)	29%	13.1% (n= 8)	29%
>65	16.5% (n= 46)		24.6% (n= 15)	
Nombre total de patients	278	6987	61	1674

Les patients atteints de formes mineurs représentent 27.7% (n=77) des patients atteints d'hémophilie A et 31.1% (n=19) des hémophiles B.

La classe d'âge [18-64] est représentée par 44.3%(n=27) des patients atteints par l'hémophilie B et 56.5%(n=157) pour l'hémophilie A.

24.6% (n=15) des patients atteints d'hémophilie B ont plus de 65 ans contre seulement 16.5% (n=46) pour les hémophiles A.

Presque la moitié des patients hémophiles A présente une forme mineure d'hémophilie. Environ un tiers sont atteints de forme sévère et environ 20% de forme modérée. Ces observations sont similaires pour les hémophiles B (Tableau 19).

TABLEAU 19 : REPARTITION DE LA COHORTE DE PATIENTS SELON LA SEVERITE DE LA MALADIE ET L'AGE (74)

Sévérité de la maladie	Hémophilie A		Hémophilie B	
	Par âge	Toutes catégories confondues	Par âge	Toutes catégories confondues
Sévère	0-4 : 10	92 (33%)	0-4 : 1	22 (36%)
	5-13 : 9		5-13 : 7	
	14-17 : 5		14-17 : 2	
	18-44 : 38		18-44 : 9	
	45-64 : 24		45-64 : 2	
	> 65 : 6		> 65 :1	
Modérée	0-4 : 5	58 (20.8%)	0-4 : 1	11 (18%)
	5-13 : 7		5-13 : 3	
	14-17 : 1		14-17 : 2	
	18-44 : 24		18-44 : 4	
	45-64 : 7		45-64 : 0	
	> 65 : 13		> 65 : 1	
Mineure	0-4 : 1	128 (46%)	0-4 : 1	28 (46%)
	5-13 : 26		5-13 : 1	
	14-17 : 9		14-17 : 1	
	18-44 : 47		18-44 : 6	
	45-64 : 18		45-64 : 6	
	> 65 : 27		> 65 : 13	

b. Application des critères retenus à la cohorte

i. Hémophilie A

Étant donné que seuls les patients de sexe masculin âgés de 18 ans à 65 ans sont éligibles, nous avons d'abord exclu 7 femmes. De plus, 75 patients mineurs et 45 patients âgés de ≥ 65 ans ont également été exclus.

Sur le pool des 154 patients restants, 61 étaient atteints d'une forme mineure de la maladie et parmi les patients atteints d'une forme modérée, 19 avaient des taux de facteurs strictement supérieurs à 2%. L'ensemble de ces individus ont été exclus. Notre cohorte se réduit donc à 74 patients.

Neuf patients présentaient des atteintes hépatiques de type fibrose ou cirrhose et n'ont donc pas été retenus dans la file active. Aucun patient ne présentait une hépatite active ou un VIH non contrôlé à ce jour.

Parmi les 65 patients restants dans la potentielle file active, 7 présentaient des antécédents d'inhibiteur.

Dans la cadre de l'hémophilie A, après application des critères de l'essai, **58 patients ont été inclus dans la file active de patients potentiellement éligibles à la thérapie génique** (Figure 21).

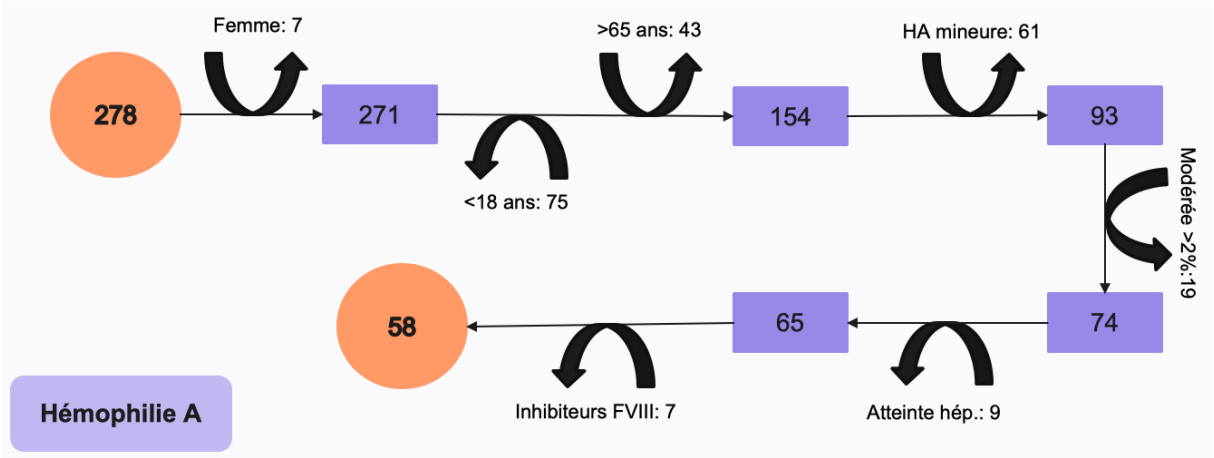

FIGURE 21 : FILE ACTIVE DES PATIENTS HEMOPHILES A AU CHU DE TOULOUSE

ii. Hémophilie B

Étant donné que seuls les patients de sexe masculin âgés de ≥18 ans sont éligibles aux essais de thérapie génique en cours, nous avons d'abord exclu une femme et 19 patients mineurs. Quatorze patients âgés de ≥ 65 ans ont également été exclus.

Sur ce pool de 27 patients restants, 13 étaient atteints d'une forme mineure de la maladie et parmi les patients atteints d'une forme modérée 3 avaient des taux de facteurs strictement supérieurs à 2%. L'ensemble de ces individus ont été exclus.

Deux patients avaient des atteintes hépatiques et ont ainsi été exclus. Aucun hémophile intégré dans la file active présentait une hépatite active ou non contrôlée.

Après application des critères sélectionnés, **9 patients atteints d'hémophilie B restent donc potentiellement éligibles à la TG** (Figure 22).

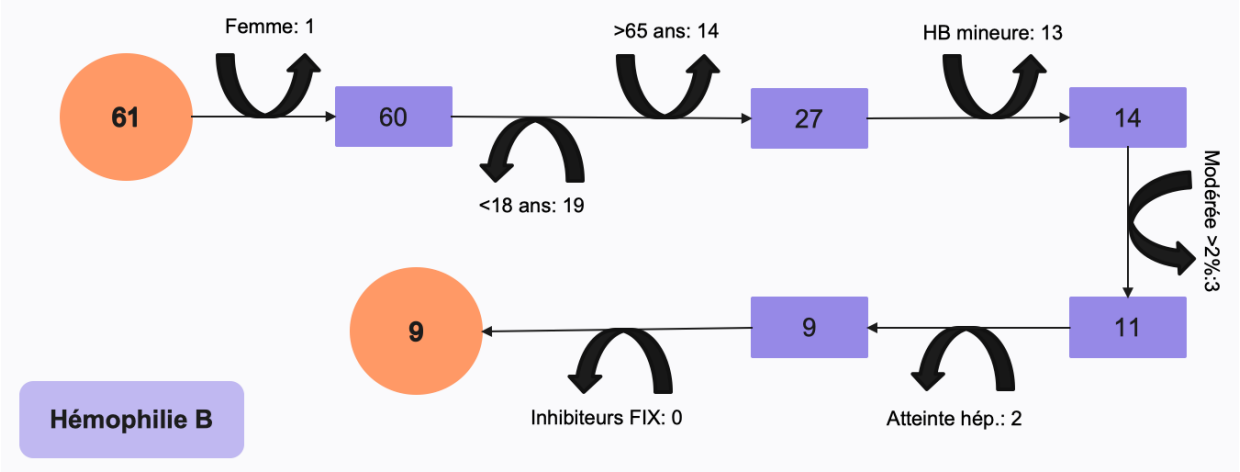

FIGURE 22 : FILE ACTIVE DES PATIENTS HEMOPHILES B AU CHU DE TOULOUSE

La détermination du nombre de patients susceptibles de bénéficier d'un traitement par TG uniquement à partir de l'application des critères d'exclusion présente de grandes limites notamment parce qu'il s'agit ici de traitements très innovants et avec un suivi contraignant. Un tel traitement n'est pas toujours accepté par les patients, même si le gain pour le patient peut être très important. Le manque de motivation pour le suivi post-traitement, la peur et le manque de confiance dans le concept de thérapie génique, les facteurs géographiques ou socio-économiques ou encore l'incapacité ou refus de se conformer aux exigences de ces traitements sont des variables qui rendent l'individu inéligible à recevoir une thérapie génique.

C'est pour cela que nous avons souhaité intégrer dans ce travail d'élaboration d'un questionnaire en vue d'évaluer la perception des patients éligibles à la TG.

C. Elaboration du questionnaire

1. Analyse bibliographique

Il est difficile d'estimer combien de patients accepteraient de recevoir une thérapie génique car les données de la littérature sont très variables selon les travaux.

L'étude menée par Evelien Krumb à Bruxelles, montre que seulement 8% de la file active ciblée pourrait bénéficier de la thérapie génique. Sur un pool initial de 87 patients hémophiles, 50 ont été retenus pour être informés et interrogés sur la possibilité d'une thérapie génique et parmi eux :

- 14 ont accepté de se soumettre au processus de sélection
- 29 ont refusé de participer à un essai de thérapie génique en raison d'un manque de motivation (n=12), de la peur concernant la thérapie génique (n=3), de l'absence de volonté à changer leur traitement habituel (n=16), de la religion (n=1). Certains patients ont combiné plusieurs de ces critères.
- 7 patients ont été jugés inaptes à participer à un essai en raison de difficultés cognitives (n=3), d'un manque de fiabilité (n=2), de difficultés socio-économiques (n=2), de distance géographique (n=1), et d'incertitude sur la volonté et la fiabilité du patient (n=1) (75).

L'étude PAVING (Patient preferences to Assess Value IN Gene therapy) a été menée en 2019 sur un petit échantillon de patients hémophiles belges (n = 20). Elle a permis d'étudier les compromis que ces patients pouvaient faire lorsqu'ils choisissent entre la thérapie prophylactique de remplacement des facteurs et la thérapie génique.

Dans cette étude, les résultats ont été plus positifs quant à l'adhésion des personnes atteintes d'hémophilie pour un traitement par thérapie génique. Lorsqu'ils ont été interrogés pour savoir s'ils étaient disposés à recevoir un traitement par thérapie génique :

- 40 % (n = 8) des participants étaient « très disposé »
- 35 % (n = 7) étaient « disposé »
- 10 % (n = 2) étaient « neutre »
- 15 % (n = 3) étaient « ne souhaitant pas ». (72)

Les patients souhaitant utiliser une thérapie génique étaient en moyenne plus âgés (54 ans) et avaient des lésions articulaires plus sévères que les participants qui voulaient s'abstenir (23,5 ans).

Les patients ont soulevé plusieurs avantages à utiliser la thérapie génique :

- Un taux de facteur stable entraînant moins de risques de saignements
- Le nombre de saignements
- L'absence d'injections (72).

Les raisons pour lesquelles un patient pouvait s'abstenir d'utiliser la thérapie génique incluent :

- La satisfaction à l'égard des thérapeutiques,
- L'incertitude quant à la sécurité à long terme de la thérapie génique,
- La perte de l'identité et des avantages de l'hémophilie (allocation d'invalidité et protection contre les maladies cardiovasculaires)
- Le suivi initial intense, la vieillesse et le potentiel coût élevé de la thérapie génique.
- L'inflammation hépatique transitoire n'a était préoccupante que pour deux patients ayant été infectés par le VHC (72).

La Société néerlandaise de l'hémophilie a mené une étude afin d'analyser les facteurs influençant les décisions d'un patient lorsqu'il a l'opportunité de changer de traitement. Les caractéristiques de la maladie et du traitement peuvent affecter ces décisions.

Les facteurs facilitants étaient une plus grande facilité d'utilisation des médicaments et une meilleure efficacité. Les obstacles étaient la peur de l'inconnu (court et long terme), le peu de données de sécurité et d'efficacité.
De nombreux participants pensaient que la thérapie génique était prometteuse, mais ils étaient également préoccupés par sa sécurité à long terme et les risques d'effets indésirables. (76)

2. Elaboration de la grille et du déroulé de l'étude

A partir des études bibliographiques et des interrogations soulevées dans ces études, le questionnaire a été établi (Annexe 6). Il se compose de 35 questions réparties dans 7 sections distinctes portant sur :

- Des informations générales concernant le patient : 5 questions
- Des informations sur l'hémophilie : 2 questions
- Des informations sur le traitement de l'hémophilie : 11 questions
- Des informations générales sur la thérapie génique dans l'hémophilie : 5 questions
- L'efficacité de la thérapie génique dans l'hémophilie : 2 questions
- Les effets secondaires de la thérapie génique dans l'hémophilie : 1 question
- Des informations pratiques sur le traitement de l'hémophilie par thérapie génique : 9 questions

Les critères d'inclusion et de non inclusion ont été repris dans ce questionnaire, même si normalement les patients auront déjà été pré-selectionnés comme pouvant bénéficier de la TG.

Les questions reprendront les aspects en lien avec les contraintes du traitement ou du suivi post-traitement. Des explications adaptées à chaque thématique précèderont les questions de la section concernée afin de permettre au patient de répondre à partir d'une information éclairée sur le traitement, même si tous les points ne sont pas encore connus sur le suivi et dépendront de ce qui sera demandé dans l'AMM des thérapies correspondantes.

<u>Informations générales</u>

Dans cette première partie, les critères d'inclusion tel que le sexe et l'âge sont vérifiés. La distance géographique et le temps disponible en fonction de son emploi peuvent être des obstacles à l'acceptation de recevoir un tel traitement et le suivi qu'il implique (75).

Informations sur l'hémophilie

Après un bref rappel sur la physiopathologie de l'hémophilie, le degré de sévérité de la maladie est recherché. En effet, à l'heure actuelle, les essais cliniques en cours n'incluent que les patients atteints d'hémophile sévère ou modérée mais avec un taux en facteur de coagulation inférieur ou égal à 2%.

Informations sur le traitement de l'hémophilie

Avant d'interroger le patient sur son traitement actuel et la perception de la prise en charge de sa maladie et de ses complications, les différentes modalités de traitement par des facteurs substitutifs seront présentées.

Tout d'abord, le questionnaire permet de vérifier que le patient n'a pas déjà reçu un traitement par thérapie génique. A ce jour, aucune étude permet de justifier une seconde administration. La présence d'inhibiteurs, actuelle ou par le passé, est recherchée car il s'agit d'un des critères de non inclusion retenu. Aucune donnée n'est actuellement disponible pour les patients ayant ces antécédents.

Le patient est ensuite interrogé sur l'efficacité de son traitement actuel et les complications qu'il présente : nombre de saignement, nombre d'articulations touchées et la satisfaction du traitement. Les données de littératures montrent que la satisfaction de son traitement actuel peut conduire le patient à refuser d'être traité par une thérapie innovante (75).

Informations générales sur la thérapie génique dans l'hémophilie

L'objectif des questions de cette section est d'évaluer les connaissances des patients sur la thérapie avant et après que cette stratégie thérapeutique leur soit explicitée.

Efficacité de la thérapie génique dans l'hémophilie et effets secondaires de la thérapie génique dans l'hémophilie

Ces deux sections permettent de présenter les résultats d'efficacité de la thérapie génique et de ses limites. Seront ensuite évalués à travers ces questionnaires quels sont les avantages et *a contrario* les craintes perçus par les patients.

Informations pratiques sur le traitement de l'hémophilie par thérapie génique

Le déroulé de l'administration et du suivi nécessaire est présenté au patient. Les données sont larges car nous n'avons actuellement pas accès aux protocoles des essais cliniques. Le suivi très régulier est lourd au quotidien et pourrait donc démotiver le patient à recevoir le traitement. Les questions de cette section cherchent à mettre en évidence quels efforts le patient est prêt à réaliser ou non.

Le questionnaire, accompagné d'une note d'information sur l'étude, sera proposé uniquement aux patients atteints d'hémophilie A ou B sévère et modérée avec un taux en facteur de coagulation inférieur ou égal à 2% participeront à l'étude. Avant soumission, les documents proposés aux patients seront soumis pour validation au comité d'éthique de l'établissement.

III. Discussion du travail

A. Circuit

La perfusion du médicament de TG sera obligatoirement réalisée dans un établissement médical. Nous ne savons pas à l'heure actuelle si tous les CRC-MCH pourront administrer ces traitements. Dans le cadre des TG utilisées dans d'autres indications, les fournisseurs ont sélectionné quelques centres injecteurs. Il pourrait même être possible que si plusieurs TG de l'hémophilie sont disponibles sur le marché, les centres soient sélectionnés pour être injecteurs de certaines TG de l'hémophilie et pas d'autres. Pour sûr, seuls les centres disposant de locaux adaptés à la préparation et autorisés pour les MTI pourront réaliser cette activité.

Nous avons réfléchi au circuit possible pour la réalisation de ces TG en hémophilie à partir des contraintes en lien avec la préparation, l'administration et le suivi de ces thérapies.

A ce jour, la PUI du CHU de Toulouse ne dispose pas de locaux adaptés et autorisés pour les activités relatives aux MTI et MTI-PP y compris expérimentaux

mentionnées aux 4° et 5° de l'article R.5126-9 du Code de la Santé Publique. Toutefois, un projet de création de locaux sur le site de Rangueil a été validé par la direction. Les locaux devraient être disponibles courant 2023. Une demande d'autorisation devra alors être déposée à l'ARS pour avoir le droit d'assurer cette activité. S'agissant de locaux dédiés aux MTI avec une salle de préparation dédiée aux TG, les contraintes en lien avec le stockage et la préparation présentées dans ce travail pour le ROCTAVIAN® devraient être satisfaites (congélateur -80°C, activités séparées, EPI…), même si une étude de risque spécifique à chaque TG devra être formalisée pour tenir compte de la spécificité de chaque TG (Figure 23).

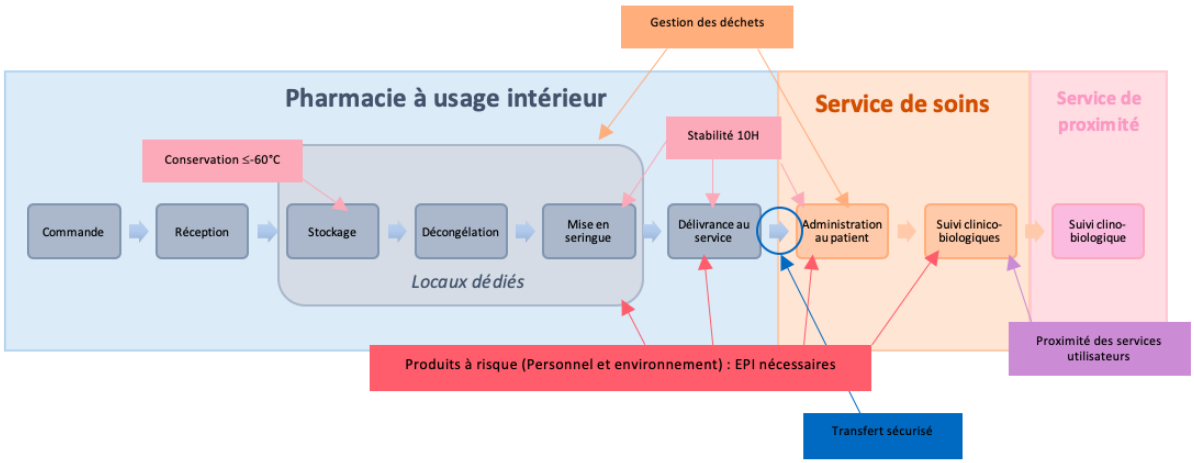

FIGURE 23: PRESENTATION DU CIRCUIT DE LA TG ET LES CONTRAINTES ASSOCIEES

Le CRC-MCH est sur le site de Purpan ; cependant les locaux de préparation de TG en cours de création sont sur le site de Rangueil. Il donc nécessaire d'organiser le circuit des MTI en tenant compte de cette contrainte.

Le temps de stabilité de 10 heures du ROCTAVIAN® permettrait d'envisager un transport inter-site et ainsi d'administrer le traitement aux patients sur le site de Purpan où se situe le centre de l'hémophilie et les médecins référents.

Toutefois, compte tenu du coût élevé des MTI, le transport est évité autant que possible afin de limiter le risque d'incident lors du transport. De plus, dans le cas du ROCTAVIAN®, le RCP mentionne seulement la possibilité d'un transport congelé. Idéalement un circuit de prise en charge des patients avec injection sur Rangueil serait donc à privilégier.

En ce qui concerne le suivi, une HDJ est envisageable étant donné que les réactions liées à la perfusion surviennent pendant la perfusion ou dans les 6 heures après la fin de celle-ci, soit le délai de surveillance clinique requis. De plus, ce type d'hospitalisation n'est pas contre-indiqué dans le RCP du ROCTAVIAN®. Le suivi pourrait être une contrainte si l'administration du traitement devait se faire sur le site de Rangueil. L'équipe médicale du CRC-MCH devrait se réorganiser pour assurer une permanence sur Rangueil lorsqu'un patient est injecté afin d'en assurer la surveillance clinique.

B. File active

Cette étude nous a permis de trouver que la population ciblée devrait représenter un total de 67 patients dont 58 atteints d'hémophilie A et 9 d'hémophilie B. Compte tenu du nombre de patients atteints d'hémophilie sévère dans la classe d'âge 14 à 17 ans, en moyenne 2 patients supplémentaires pourront être recrutés chaque année.

Nous avons essayé de s'appuyer sur les critères les plus pertinents à savoir l'âge, le sexe, le degré de sévérité mais également toutes les affections ou antécédents qui pouvaient compromettre l'efficacité d'un tel traitement. Toutefois, ce travail présente quelques limites.

La première limite est dans la constitution de notre file active. Les différents critères ont été extraits des données « patient » disponibles sur le DPI. Cependant, certaines données sont absentes, incomplètes ou ont pu évoluer.
Certains des critères d'inclusion n'ont pas pu être évalués comme la présence d'AAV ou le mode de contraception utilisé par ces patients car ce type de données ne figure pas dans le DPI n'étant habituellement pas recherché. Certains patients peuvent être suivis pour leurs affections hépatiques ou cardiaques dans d'autres centres que le CHU, et le cas échéant, feront à tort partie de la file active.
En plus de ne pas être exhaustives, les données présentent sur le DPI ne sont pas forcément récentes. Certains patients pourraient se voir exclus de la file active

notamment si leur HIV devenait non contrôlé ou si leurs paramètres biologiques devenaient supérieurs à la normale dans des limites non tolérées.

Une autre des limites est que, dès lors que ces traitements auront une AMM, les patients seront sélectionnés selon les critères définis par le laboratoire ; ils seront peut-être légèrement différents de ceux que nous avons retenus.

Le 24 juin 2022 l'EMA a recommandé l'octroi d'une autorisation de mise sur le marché conditionnelle dans l'Union européenne (UE) pour le ROCTAVIAN® (valoctocogène roxaparvovec) dans le traitement de l'hémophilie A sévère. Certains critères s'avèrent plus stricts que ceux qui étaient définis dans les essais cliniques.
Les essais cliniques autorisaient pour certains patients des taux de facteurs ≤2% alors que le RCP indique que seuls les patients ayant des taux strictement inférieurs à 1% pourraient recevoir ce traitement. Ceci réduit encore un peu plus le pool de patient ciblé.
Un second critère est également plus limitant pour l'adhésion au traitement. L'utilisation d'une contraception mécanique qui était demandée avec au moins 3 tests démontrant l'absence de vecteurs dans le sperme dans les essais cliniques a été augmenté à 12 mois dans le RCP du ROCTAVIAN®. La grande majorité des essais imposés l'utilisation de contraception jusqu'à négativation des tests, seulement deux essais cliniques imposaient une durée fixe de 52 semaines contre 2 à 12 semaines et 2 à 6 mois.

A côté des limites présentées qui ont peut-être conduit à une surestimation de la file active de patients susceptibles de bénéficier de TG, il est probable que la population ciblée par la thérapie génique tendra à s'élargir. Des études supplémentaires et des preuves post-autorisation seront nécessaires mais d'ici quelques années il est probable qu'une population de patients plus large, y compris les enfants/adolescents, les femmes, les patients atteints d'hémophilie légère ou les patients présentant des inhibiteurs de facteur, des anticorps neutralisants AAV préexistants et des comorbidités puissent être concernés par ces thérapies (47).

Actuellement seulement deux essais ont la particularité d'être ouverts dès l'âge de deux ans. Il s'agit d'essais de phase I ayant pour objectif d'évaluer l'innocuité et l'efficacité de la perfusion de cellules souches autologues chez les patients hémophiles A et B. Le vecteur utilisé pour transduire le gène fonctionnel est un lentivirus.
La durée d'expression du transgène est un vrai défi devant être relevé pour permettre l'expansion de la thérapie génique à la population pédiatrique. En effet, la prolifération importante des cellules hépatiques liée au développement de l'enfant peut diluer l'expression épisomique du facteur dérivé de l'AAV et ainsi entrainer une perte d'efficacité (47).
L'édition génique grâce à des « *zinc finger nucleases* » pourrait permettre de pallier à ce problème de durabilité d'expression du transgène (77) . Cette technique fait l'objet de recherche clinique chez le patients hémophiles B adulte (essai de phase I). Ces nucléases agissant comme des ciseaux moléculaires, insèrent une copie fonctionnelle du transgène dans les hépatocytes de l'hôte sous le contrôle du locus d'albumine endogène hautement exprimé. Ceci pourrait fournir une expression permanente et spécifique au foie de FIX pour la durée de vie d'un sujet hémophile B.
Cependant, cette technique présente quelques limites avec notamment un risque de mutagénèse en cas d'insertion du transgène en dehors de la zone cible. Elle ne permet pas non plus de s'affranchir de l'injection de fortes doses de vecteurs AAV recombinants ; certains contenant les nucléases et d'autres contenant le transgène (77).

Il est probable que le potentiel de la thérapie génique chez les patients ayant des antécédents d'inhibiteurs transitoires ou ayant développé une tolérance au facteur dans l'enfance soit évalué dans des essais cliniques futurs.
Actuellement une seule étude clinique est ouverte aux patients ayant des antécédents ou présentant des inhibiteurs. Il s'agit d'une étude de phase I faisant appel à une technique toute autre. Dans cette étude, un lentivirus est utilisé pour introduire un gène permettant de produire du FVIII dans les plaquettes issues des cellules souches.

C. Questionnaire

Nous avons établi un questionnaire afin de prendre en compte l'acceptabilité de ce type de traitement par les patients. Les données de littérature étant très variables, il nous a semblé intéressant d'interroger notre cohorte de patients.

Même si la TG peut entrainer une amélioration significative des patients, il reste encore beaucoup de crainte autour de la TG. Les vaccins à ARN développés pendant la COVID ont été la preuve des discussions et des peurs engendrées par ce type de traitement. Même si l'hémophilie reste une maladie chronique contraignante, les évolutions thérapeutiques des dernières années ont considérablement amélioré la prise en charge des patients. Il est difficile de savoir si les bénéfices de la TG par rapport aux traitements actuels pourront contrebalancer l'appréhension de certains patients à l'égard de la TG.

Outre l'appréhension de la TG, le suivi post-thérapeutique reste lourd. Nous pensons que les contrôles biologiques ne devront pas être fait au CRH et pourront être faits dans un établissement de santé proche du domicile du patient. Toutefois, cette contrainte pourrait freiner de nombreux patients.

Le questionnaire devrait nous permettre d'avoir un idée plus fiable du souhait des patients. Avant de pouvoir débuter l'enquête, le questionnaire préparé et les autres documents devront encore être soumis au comité d'éthique. Dans l'idéal, nous souhaiterions que les patients répondent au questionnaire en présence d'un professionnel de santé ou d'un doctorant en recherche clinique formé sur la thématique. Ceci permettrait de répondre aux patients sur les diverses interrogations que peut susciter ce questionnaire. De plus, les patients hémophiles favorables à être traités par thérapie génique, pourront recevoir des séances d'éducation thérapeutique plus complète avant administration afin qu'ils soient accompagnés au mieux dans leur démarche. Ceci pourrait faire l'objet d'un nouvel axe de travail.

CONCLUSION

Les MTI et plus particulièrement la thérapie génique apparaissent comme des traitements de rupture et porteur d'espoir de guérison dans le nombreuses pathologies chroniques. La thérapie génique dans le cadre de l'hémophile pourrait, en une seule injection, permettre d'améliorer nettement la qualité de vie des patients.

De nombreux essais de phase III sont en cours et présentent des résultats positifs. L'EMA a recommandé, le 24 juin 2022, l'octroi d'une autorisation de mise sur le marché conditionnelle dans l'Union européenne (UE) pour le ROCTAVIAN® (valoctocogène roxaparvovec) pour le traitement de l'hémophilie A sévère. De plus en plus, de traitements devraient être mis sur le marché dans les mois à venir.

Ce travail nous a permis de définir la population susceptible de pouvoir bénéficier de ces thérapies au vu des critères d'inclusion et d'exclusion retenus dans les essais cliniques. La population éligible au transfert de gène du FVIII ou FIX devrait s'élargir au fur et à mesure que des essais cliniques supplémentaires seront menés.
Des essais sont encore nécessaires pour démontrer l'efficacité et la sécurité à long terme de la thérapie génique afin de permettre le traitement d'une population plus large. Les femmes, les patients pédiatriques, ainsi que ceux présentant des inhibiteurs du FVIII/FIX ou des AC anti-AAV pourraient recevoir ce traitement.

Au vu du caractère innovant de ces thérapies et de la lourdeur du suivi, il nous a semblé nécessaire d'évaluer la perception et l'acceptabilité d'un tel traitement et des contraintes qu'il implique. Pour cela nous avons élaboré un questionnaire afin de savoir quels critères influenceront la décision d'accepter un tel traitement.

Au-delà des résultats d'innocuité et d'efficacité, il est important de tenir compte des résultats transformationnels pour les patients comme la santé mentale et l'impact de la douleur chronique pour la thérapie génique dans l'hémophilie.

L’utilisation d’un tel traitement requiert des locaux adaptés aux réglementations en vigueur. Un projet d’unité MTI est en cours au CHU de Toulouse qui devrait permettre d’être en capacité de préparer les MTI courant 2023 et ainsi de proposer ce type de prise en charge aux patients dès la disponibilité des TG en hémophilie.

BIBLIOGRAPHIE

1. **ANSM, Agence nationale de sécurité du médicaments et des produits de santé.** *Médicaments de thérapie innovante, Médicaments de thérapie innovante préparé ponctuellement et préparations : Synthèse du cadre réglementaire applicable pour la fabrication, le développement et la mise sur le marché de ces produits.* 2012.

2. **LEEM, Les entreprises du médicaments.** *Innovation et santé - La thérapie génique.* 2021.

3. **ANSM, Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.** BPP, *Bonnes Pratiques de Préparation.* 2022.

4. **ANSM, BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MEDICAMENTS.** *BPPH, Bonnes Pratiques de Pharmacie Hospitalière.* Juin 2001.

5. **SFPO, Société Française de Pharmacie Oncologique.** *Essais Cliniques en Cancérologie.* 2015.

6. **SFPO, Société Française de Pharmacie Oncologique.** *Recommandation sur le circuit hospitalier des Médicaments de Thérapies Innovantes.* 2015.

7. **INRS.** *Les risques biologiques liés aux techniques de génie génétique en laboratoire.* 2012.

8. **MHEMO, La Filière des maladies hémorragiques constitutionnelles.** *L'hémophilie.*

9. **INSERM, Institut national de la santé et de la recherche médicale.** *Hémophilie - Une maladie hémorragique héréditaire.*

10. **FMH, Fédération mondiale de l'hémophilie.** *Lignes directrices pour la prise en charge de l'hémophilie - 3ème édition.* 2020.

11. **Stonebraker J.S. et al.** *A study of variations in the reported haemophilia A prevalence around the world.* 2010.

12. **France Coag.** *Statistiques nationales - Données démographiques.*

13. **De Revel T.** *Physiologie de l'hémosatse.* 2004.

14. **Schved J-F et al.** *Hémophilie : physiopathologie et bases moléculaires.* 2008.

15. **Félétou M et al.** *The Endothelium, Part I: Multiple Functions of the Endothelial Cells -- Focus on Endothelium-Derived Vasoactive Mediators.* 2011.

16. **MHEMO, La Filière des maladies hémorragiques constitutionnelles.** *Physiologie de l'hémostase.*

17. **Lenoir S.** *Trafic neuronal de l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA).* 2018.

18. **Lebreton A.** *Les anticorps anti-FVIII et anti-FIX.* 2012.

19. **HAS, Haute autorité de santé.** *Protocole nationale de diagnostic et de soins (PNDS) - Hémophilie.* 2019.

20. **White GC 2nd et al.** *Definitions in hemophilia. Recommendation of the scientific subcommittee on factor VIII and factor IX of the scientific and standardization committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis.* 2001.

21. **Faculté Cerime.** *Hémophilie .*

22. **Lheriteau E. et al.** *Haemophilia Gene Therapy: Progress and challenges.* 2015.

23. **SFPC, Société Française de Pharmacie Clinique.** *PERMEDES: Modalités pratiques - Les médicaments dérivés du plasma et les recombinants associés.* 2020.

24. **ANSM, BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MEDICAMENTS.** *RCP - FEIBA 50 U/ml.* Mis à jour le : 19/01/2022.

25. **ANSM, BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MEDICAMENTS.** *RCP - NOVOSEVEN.* Date de l'autorisation : 25/04/2008.

26. **MHEMO, La Filière des maladies hémorragiques constitutionnelles.** *Les mécanismes d'action des médicaments.*

27. **ANSM, BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MEDICAMENTS.** *RCP - FEIBA.* Date de l'autorisation : 29/03/2000.

28. **Susen S et al.** *Management of bleeding and invasive procedures in haemophilia A patients with inhibitor treated with emicizumab (Hemlibra®): Proposals from the French network on inherited bleeding disorders (MHEMO), the French Reference Centre on Haemophilia, in collabo.* 2019.

29. **ANSM, BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MEDICAMENTS.** *RCP - MINIRIN 4 microgrammes/mL, solution injectable.* Mis à jour le : 07/08/2019.

30. **ANSM, BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MEDICAMENTS.** *RCP - OCTIM 150 microgrammes/dose, solution pour pulvérisation nasale.* Mis à jour le : 14/09/2017.

31. **Hvas AM et al.** *Tranexamic acid combined with recombinant factor VIII increases clot resistance to accelerated fibrinolysis in severe hemophilia A.* 2007.

32. **Coetzee MJ et al.** *The use of topical crushed tranexamic acid tablets to control bleeding after dental surgery and from skin ulcers in haemophilia.* s.l. : Haemophilia, 2007.

33. **ANSM, BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MEDICAMENTS.** *RCP- SPOTOF 1 g/10 ml, solution buvable.* Mis à jour le : 03/05/2022.

34. **ANSM, BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MEDICAMENTS.** *RCP- EXACYL 1 g/10 ml, solution buvable.* Mis à jour le : 23/09/2020.

35. **ANSM, BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MEDICAMENTS.** *RCP - SPOTOF 500 mg, comprimé pelliculé.* Mis à jour le : 03/05/2022.

36. **ANSM, BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MEDICAMENTS.** *RCP - EXACYL 500 mg, comprimé pelliculé.* Mis à jour le : 14/03/2022.

37. **ANSM, BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MEDICAMENTS.** *RCP - EXACYL 0,5 g/5 ml I.V., solution injectable.* Mis à jour le : 25/11/2021.

38. **Meunier S. et al.** *Use of clinical practice g UIdelines on long-term prophylaxis in severe hemophilia in France: a retrospective audit. .* 2013.

39. **Van Vulpen LFD et al.** *The current state of adverse event reporting in hemophilia.* 2017.

40. **CNHIM.** *Facteurs antihémophiliques : traitement substitutif de l'hémophilie A et B.* 2003.

41. **Jadhav M et al.** *Anaphylaxis in Patients with Hemophilia.* 2000.

42. **Levy-Mendelovich S et al.** *Allergy and inhibitors in hemophilia - a rare complication with potential novel solutions.* s.l. : Blood Cells, Molecules and Diseases, 2020.

43. **Thorland EC et al.** *Anaphylactic response to factor IX replacement therapy in haemophilia B patients: complete gene deletions confer the highest risk.* 1999.

44. **Goudemand J et al.** *Key insights to understand the immunogenicity of FVIII products.* 2016.

45. **Lebreteon A et al.** *Les anticorps anti-FVIII et anti-FIX.* 2012. pp. 55-62.

46. **Sidonio RF et al.** *Discussing investigational AAV gene therapy with hemophilia patients: A guide.* 2020.

47. **Thomas CE et al.** *Progress and problems with the use of viral vectors for gene therapy.* s.l. : Nat Rev Genet, 2003.

48. **PfizerPro.** *Les vecteurs en thérapie génique.* 2022.

49. **Naso MF et al.** *Adeno-Associated Virus (AAV) as a Vector for Gene Therapy.* 2017.

50. **Pfeifer A et al.** *Gene therapy: Promises and Problems.* 2001.

51. **Verdera HC et al.** *AAV Vector Immunogenicity in Humans: A Long Journey to Successful Gene Transfer.* 2020.

52. **Baruteau J et al.** *Gene therapy for monogenic liver diseases: clinical successes, current challenges and future prospects.* 2017.

53. **Pien GC et al.** *Capsid antigen presentation flags human hepatocytes for destruction after transduction by adeno-associated viral vectors.* 2009.

54. **Nidetz NF et al.** *Adeno-associated viral vector-mediated immune responses: Understanding barriers to gene delivery.* 2019.

55. **Pfizer Pro.** *Le foie, organe clé dans la thérapie génique en hémophilie.*

56. **Sack BK et al.** *Development of gene transfer for induction of antigen-specific tolerance.* 2014.

57. **Pipe SW.** *Delivering on the promise of gene therapy for haemophilia.* 2020.

58. **Mingozzi F et al.** *Immune responses to AAV vectors: overcoming barriers to successful gene therapy.* 2013.

59. **Nathwani AC et al.** *Adenovirus-associated virus vector-mediated gene transfer in hemophilia B.* 2011.

60. **Li C et al.** *Engineering adeno-associated virus vectors for gene therapy.* 2020.

61. **Ohmori T et al.** *Advances in gene therapy for hemophilia: basis, current status, and future perspectives.* 2020.

62. **Nature scientable.** *Dossier « Gene expression ».*

63. **Daya S et al.** *Gene Therapy Using Adeno-Associated Virus Vectors.* 2008.

64. **Powel SK et al.** *Viral Expression Cassette Elements to Enhance Transgene Target Specificity and Expression in Gene Therapy.* 2015.

65. **Tran DP et al.** *Mechanism of Poly(A) Signal Transduction to RNA Polymerase II In Vitro.* 2001.

66. **Pfizer Pro.** Expression du transgène. [En ligne] Aout 2022. https://www.pfizerpro.fr/cap-hemo/les-therapies-geniques/expression-du-transgene.

67. **Doshi BS et al.** *Gene therapy for hemophilia: what does the future hold?* 2018.

68. **George LA et al.** *Hemophilia B Gene Therapy with a High-Specific-Activity Factor IX Variant.* 2017.

69. **Nathwani AC et al. .** *Long-term safety and efficacy of factor IX gene therapy in hemophilia B.* 2014.

70. **Rangarajan S et al.** *AAV5–Factor VIII Gene Transfer in Severe Hemophilia A.* 2017.

71. **Van Overbeeke E et al.** *Patient perspectives regarding gene therapy in haemophilia: Interviews from the PAVING study.* 2020.

72. **ANSM, BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MEDICAMENTS.** *RCP - Roctavian.*

73. **FMH Fédération mondiale de l'hémophilie.** *Rapport du sondage mondial annuel.* 2020.

74. **Krumb E et al.** *Patient selection for hemophilia gene therapy: Real-life data.* 2020.

75. **Van Balen EC et al.** *Patient Perspectives on Novel Treatments in Haemophilia: A Qualitative Study.*

76. **Sharma R et al.** *In vivo genome editing of the albumin locus as a platform for protein replacement therapy.* 2005.

77. **HCB, Haut conseil des biotechnologies.** *Manuel du HCB pour l'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés.*

ANNEXE 1: LISTE DES MANIPULATIONS NON SUBSTANTIELLES[11]

ANNEXE I

Manipulations visées à l'article 2, paragraphe 1, point c), premier tiret

— découpage,

— broyage,

— façonnage,

— centrifugation,

— trempage dans des solutions antibiotiques ou antimicrobiennes,

— stérilisation,

— irradiation,

— séparation, concentration ou purification de cellules,

— filtration,

— lyophilisation,

— congélation,

— cryoconservation,

— vitrification.

[11] Annexe I du règlement 1394/2007/CE

ANNEXE 2: ESSAIS CLINIQUES DE TG EN COURS DANS L'HEMOPHILIE B

Nom de l'étude	Laboratoire	Numéro NCT	Phase de l'étude	Médicament étudié	Type de vecteur
Open-Label, Single Ascending Dose of Adeno-associated Virus Serotype 8 Factor IX Gene Therapy in Adults With Hemophilia B	Takeda	NCT01687608	I/II	AskBio009 (BAX 335)	AAV
A Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Factor IX Gene Therapy With PF-06838435 in Adult Males With Moderately Severe to Severe Hemophilia B	Pfizer	NCT03861273	III	PF-06838435 (SPK-9001) / Fidanacogene elaparvovec	AAV
A Gene Therapy Study for Hemophilia B	Pfizer	NCT02484092	II	PF-06838435 (SPK-9001) / Fidanacogene elaparvovec	AAV
Lentiviral FIX Gene Therapy	Shenzhen Geno-Immune Medical Institute	NCT03961243	I	YUVA-GT-F901	LV
Dose-Escalation Study Of A Self-Complementary Adeno-Associated Viral Vector For Gene Transfer In Hemophilia B	St. Jude Children's Research Hospital	NCT00979238	I	scAAV2/8-LP1-hFIXco	AAV
A Long-Term Follow-Up Study of Haemophilia B Patients Who Have Undergone Gene Therapy	Freeline Therapeutics	NCT03641703	I et II	FLT180a	AAV
Trial of AAV5-hFIX in Severe or Moderately Severe Hemophilia B	CSL Behring	NCT02396342	I et II	AAV5-hFIX	AAV
Evaluation of the Safety and Efficacy of Hemophilia B Gene Therapy Drug	East China University	NCT05203679	I et II	BBM-H901	AAV
A Factor IX Gene Therapy Study (FIX-GT)	University College, London	NCT03369444	I	FLT180a	AAV
Six Month Lead-in Study to Evaluate Prospective Efficacy and Safety Data of Current FIX Prophylaxis Replacement Therapy in Adult Hemophilia B Subjects (FIX:C≤2%) or *Current FVIII Prophylaxis Replacement Therapy in Adult Hemophilia A Subjects (FVIII:C≤1%)*	Pfizer	NCT03587116	III	PF-06838435 (SPK-9001) / Fidanacogene elaparvovec	AAV
Safety of a New Type of Treatment Called Gene Transfer for the Treatment of Severe Hemophilia B	Avigen	NCT00076557	I et II	Adeno-Associated Viral with Human Factor IX	AAV
Long-term Safety and Efficacy Study and Dose-Escalation Substudy of PF-06838435 in Individuals With Hemophilia B	Pfizer	NCT03307980	II	PF-06838435 (SPK-9001) / Fidanacogene elaparvovec	AAV
Safety and Dose Finding Study of DTX101 (AAVrh10FIX) in Adults With Moderate/Severe to Severe Hemophilia B	Ultragenyx Pharmaceutical Inc	NCT02618915	I et II	Fidanacogene elaparvovec	AAV
A Phase 1/2 Study of SHP648, an Adeno-Associated Viral Vector for Gene Transfer in Hemophilia B Subjects	Baxalta now part of Shire	NCT04394286	I et II	SHP648	AAV
Hemophilia B Gene Therapy With AAV8 Vector	Spark Therapeutics	NCT01620801	I	AAV8-hFIX19	AAV
Phase 1/2 Dose Confirmation Study of FLT180a in Hemophilia B	Freeline Therapeutics	NCT05164471	I et II	FLT180a	AAV
Ascending Dose Study of Genome Editing by Zinc Finger Nuclease Therapeutic SB-FIX in Subjects With Severe Hemophilia B	Sangamo Therapeutics	NCT02695160	I	SB-FIX	AAV
Safety and Tolerability of VGB-R04 in Patients With Haemophilia B	Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital	NCT05152732	I	VGB-R04	AAV
OHOPE-B: Trial of AMT-061 in Severe or Moderately Severe Hemophilia B Patients	CSL Behring	NCT03569891	III	AMT-061	AAV
Dose Confirmation Trial of AAV5-hFIXco-Padua	CSL Behring	NCT03489291	II	AMT-061	AAV
A Study to Evaluate the Safety and Efficacy of VGB-R04 in Adult Hemophilia B Patients	Shanghai Vitalgen BioPharma Co., Ltd.	NCT05441553	I et II	VGB-R04	AAV

ANNEXE 3: ESSAIS CLINIQUES DE TG EN COURS DANS L'HEMOPHILIE A

Nom de l'étude	Laboratoire	Numéro NCT	Phase de l'étude	Médicament étudié	Vecteur
Study to Evaluate the Efficacy and Safety of PF-07055480 (Giroctocogene Fitelparvovec) Gene Therapy in Moderately Severe to Severe Hemophilia A Adults	Pfizer	NCT04370054	III	PF-07055480 (SB-525) Giroctocogene fitelparovec	AAV
Gene Therapy Trial for Platelet Derived Factor VIII Production in Hemophilia A	Medical College of Wisconsin	NCT03818763	I	CD34+PBSC	LV
Gene Therapy for Haemophilia A.	University College, London	NCT03001830	I	AAV2/8-HLP-FVIII-V3	AAV
Gene Therapy Study in Severe Haemophilia A Patients (270-201)	BioMarin Pharmaceutical	NCT02576795	I et II	BMN 270 Valoctocogene roxaparvovec	AAV
Lentiviral FVIII Gene Therapy	Shenzhen Geno-Immune Medical Institute	NCT03217032	I	YUVA-GT-F801	LV
A Gene Transfer Study for Hemophilia A	Spark Therapeutics	NCT03003533	I et II	SPK-8011	AAV
A Study of Recombinant AAV2/6 Human Factor 8 Gene Therapy SB-525 (PF-07055480) in Subjects With Severe Hemophilia A	Pfizer	NCT03061201	II	PF-07055480 (SB-525) Giroctocogene fitelparovec	AAV
Gene Therapy Study in Severe Hemophilia A Patients With Antibodies Against AAV5	BioMarin Pharmaceutical	NCT03520712	I et II	BMN 270 Valoctocogene roxaparvovec	AAV
ASC618 Gene Therapy in Hemophilia A Patients	ASC Therapeutics	NCT04676048	I et II	ASC618	AAV
Six Month Lead-in Study to Evaluate Prospective Efficacy and Safety Data of Current FIX Prophylaxis Replacement Therapy in Adult Hemophilia B Subjects (FIX:C≤2%) or Current FVIII Prophylaxis Replacement Therapy in Adult Hemophilia A Subjects (FVIII:C≤1%)	Pfizer	NCT03587116	III		AAV
Study to Test the Safety and How Well Patients With Severe Hemophilia A Respond to Treatment With BAY 2599023 (DTX 201), a Drug Therapy That Delivers a Healthy Version of the Defective Factor VIII Gene Into the Nucleus of Liver Cells Using an Altered, Non-infectious Virus (AAV) as a "Shuttle".	Bayer	NCT03588299	I et II	BAY 2599023 (DTX 201)	AAV
Single-Arm Study To Evaluate The Efficacy and Safety of Valoctocogene Roxaparvovec in Hemophilia A Patients at a Dose of 4E13 vg/kg	BioMarin Pharmaceutical	NCT03392974	III	BMN 270 Valoctocogene roxaparvovec	AAV
Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Valoctocogene Roxaparvovec, With Prophylactic Steroids in Hemophilia A	BioMarin Pharmaceutical	NCT04323098	III	BMN 270 Valoctocogene roxaparvovec	AAV
Single-Arm Study To Evaluate The Efficacy and Safety of Valoctocogene Roxaparvovec in Hemophilia A Patients (BMN 270-301)	BioMarin Pharmaceutical	NCT03370913	III	BMN 270 Valoctocogene roxaparvovec	AAV
Safety, Tolerability, and Efficacy Study of Valoctocogene Roxaparvovec in Hemophilia A With Active or Prior Inhibitors	BioMarin Pharmaceutical	NCT04684940	I et II	BMN 270 Valoctocogene roxaparvovec	AAV
Dose-finding Study of SPK-8016 Gene Therapy in Patients With Hemophilia A to Support Evaluation in Individuals With FVIII Inhibitors	Spark Therapeutics	NCT03734588	I et II	SPK-8016	AAV
A Study of BAX 888 in Male Adults With Severe Hemophilia A	Shire (Baxalta)	NCT03370172	I et II	BAX 888	AAV
A Study of FVIII Gene Therapy for Hemophilia A	Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital	NCT05454774	I	BBM D02	AAV

ANNEXE 4: EXTRACTION DES ESSAIS CLINIQUES (CLINICAL TRIALS)

ClinicalTrials.gov Search Results 10/05/2022

	Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
1	An Exploration of the Impact of Gene Therapy on the Lives of People With Haemophilia and Their Families	Recruiting	No Results Available	• Hemophilia	• Other: Qualitative interview	• Oxford University Hospitals NHS Foundation Trust, Oxford, Oxfordshire, United Kingdom
2	The World Federation of Hemophilia Gene Therapy Registry	Not yet recruiting	No Results Available	• Hemophilia	• Other: Gene therapy	
3	Study to Evaluate the Efficacy and Safety of PF-07055480 / Giroctocogene Fitelparvovec Gene Therapy in Moderately Severe to Severe Hemophilia A Adults	Recruiting	No Results Available	• Hemophilia A	• Biological: PF-07055480 (giroctocogene fitelparovec): Recombinant AAV2/6 Human Factor VIII Gene Therapy	• NOW Physical Therapy, Mountain View, California, United States • Clinical and Translational Research Unit (CTRU), Palo Alto, California, United States • Lucile Packard Childrens Hospital, Palo Alto, California, United States • Imaging Clinic at Stanford Medicine Outpatient Center in Redwood City, Redwood City, California, United States • UCSF IDS Pharmacy, San Francisco, California, United States • University of California, San Francisco - Clinical Research Center, San Francisco, California, United States • University of California, San Francisco - Moffitt/Long Inpatient Hematology, San Francisco, California, United States • University of California, San Francisco - Outpatient Hematology Clinic, San Francisco, California, United States • Stanford Health Care, Stanford, California, United States • Washington Institute for Coagulation, Seattle, Washington, United States • and 26 more
4	Hematopoietic Stem Cell Transplantation Gene Therapy for Treatment of Severe Hemophilia A	Not yet recruiting	No Results Available	• Hemophilia A	• Drug: Gene therapy • Other: Biological	
5	Gene Therapy Trial for Platelet Derived Factor VIII Production in Hemophilia A	Recruiting	No Results Available	• Hemophilia A	• Biological: Auto CD34+PBSC, transduced with a lentiviral vector encoding the B domain deleted from of human coagulation factor VIII	• Froedtert Hospital and the Medical College of Wisconsin, Milwaukee, Wisconsin, United States
6	Hematopoietic Stem Cell Transplantation Gene Therapy for Treatment of Severe Hemophilia A	Recruiting	No Results Available	• Hemophilia A	• Drug: Gene therapy	• Christian Medical College Vellore, Vellore, Tamil Nadu, India
7	Needs Assessment of Knowledge, Beliefs, and Attitudes of Patients With Hemophilia B About Gene Therapy	Recruiting	No Results Available	• Gene Therapy • Hemophilia B	• Behavioral: Interview	• St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, Tennessee, United States

	Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
8	Open-Label Single Ascending Dose of Adeno-associated Virus Serotype 8 Factor IX Gene Therapy in Adults With Hemophilia B	Active, not recruiting	No Results Available	• Hemophilia B	• Biological: AskBio009	• Orthopaedic Hemophilia Treatment Center, Los Angeles, California, United States • Children's Hospital Los Angeles, Los Angeles, California, United States • University of California Davis Medical Center, Sacramento, California, United States • University of California at San Diego Medical Center, San Diego, California, United States • U of Colorado School of Medicine, Hemophilia & Thrombosis Treatment Center, Aurora, Colorado, United States • Emory University, Atlanta, Georgia, United States • Rush University Medical Center, Chicago, Illinois, United States • Children's Hospital of Boston, Boston, Massachusetts, United States • University of Minnesota, Masonic Clinical Research Unit, Clinical and Translational Science Institute, Minneapolis, Minnesota, United States • Mount Sinai Medical Center, New York, New York, United States • and 5 more
9	Gene Therapy for Haemophilia A.	Recruiting	No Results Available	• Hemophilia A	• Biological: AAV2/8-HLP-FVIII-V3	• University of Kentucky, Lexington, Kentucky, United States • St Jude's Children's Research Hospital, Memphis, Tennessee, United States • Royal Free Hospital, London, United Kingdom
10	A Study of FVIII Gene Therapy for Hemophilia A	Not yet recruiting	No Results Available	• Hemophilia A	• Genetic: Single dose intravenous injection of BBM 002	• Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Tianjin, Tianjin, China
11	A Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Factor IX Gene Therapy With PF-06838435 in Adult Males With Moderately Severe to Severe Hemophilia B	Active, not recruiting	No Results Available	• Hemophilia B	• Biological: PF-06838435/ fidanacogene elaparvovec	• University of California, San Francisco - Clinical Research Center, San Francisco, California, United States • University of California, San Francisco - Outpatient Hematology Clinic, San Francisco, California, United States • Hemophilia and Thrombosis Center at the University of Colorado Anschutz Medical Campus, Aurora, Colorado, United States • Indiana Hemophilia and Thrombosis Center, Inc, Indianapolis, Indiana, United States • St. Vincent Hospital & Health Care Center, Inc., Indianapolis, Indiana, United States • Madison Radiological Group, Madison, Mississippi, United States • Mississippi Center for Advanced Medicine, Madison, Mississippi, United States • Center for Human Phenomic Science CHPS, Philadelphia, Pennsylvania, United States • Center for Human Phenomic Science, Philadelphia, Pennsylvania, United States • Penn Blood Disorder Center, Philadelphia, Pennsylvania, United States • and 30 more
12	Gene Therapy for Chinese Hemophilia A	Recruiting	No Results Available	• Hemophilia A • Gene Therapy	• Genetic: Injection of GS001	• Chinese Academy of Medical Science and Blood Disease Hospital, Tianjin, Tianjin, China

	Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
13	Gene Therapy for Chinese Hemophilia B	Active, not recruiting	No Results Available	• Hemophilia B	• Genetic: Single dose intravenous injection of BBM-H901	• Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Tianjin, Tianjin, China
14	A Gene Therapy Study for Hemophilia B	Completed	Has Results	• Hemophilia B	• Biological: SPK-9001	• UC Davis Comprehensive Cancer Center, Sacramento, California, United States • UC Davis CTSC Clinical Research Center, Sacramento, California, United States • UC Davis Ellison Ambulatory Care Clinic, Sacramento, California, United States • UC Davis Investigational Pharmacy, Sacramento, California, United States • UC Davis Medical Center, Sacramento, California, United States • University of Mississippi Medical Center, Jackson, Mississippi, United States • Mississippi Center for Advanced Medicine, Madison, Mississippi, United States • Weill Cornell Medicine - New York Presbyterian Hospital, New York, New York, United States • The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Pennsylvania, United States • Royal Prince Alfred Hospital, Camperdown/Sydney, New South Wales, Australia
15	Gene Therapy Study in Severe Haemophilia A Patients (270-201)	Active, not recruiting	No Results Available	• Severe Haemophilia A	• Biological: valoctocogene roxaparvovec	• Basingstoke and North Hampshire Hospital, Basingstoke, United Kingdom • Queen Elizabeth Hospital Birmingham, Birmingham, United Kingdom • Addenbrooke's Hospital, Cambridge, United Kingdom • St. Thomas' Hospital, London, United Kingdom • The Royal London Hospital, London, United Kingdom • University Hospital Southampton NHS Foundation Trust, Southampton, United Kingdom
16	Liver Biopsy In Haemophilia Gene Therapy	Not yet recruiting	No Results Available	• Hemophilia B, Severe • Hemophilia A, Severe		
17	Lentiviral FVIII Gene Therapy	Unknown status	No Results Available	• Hemophilia A	• Biological: YUVA-GT-F801	• Shenzhen Geno-immune Medical Institute, Shenzhen, Guangdong, China
18	Lentiviral FIX Gene Therapy	Unknown status	No Results Available	• Hemophilia B	• Biological: YUVA-GT-F901	
19	LTFU for Gene Transfer Subjects With Hemophilia B	Completed	No Results Available	• Hemophilia B		• Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Pennsylvania, United States • Hemophilia Center of Western Pennsylvania, Pittsburgh, Pennsylvania, United States

	Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
20	Dose-Escalation Study Of A Self Complementary Adeno-Associated Viral Vector For Gene Transfer in Hemophilia B	Active, not recruiting	No Results Available	• Hemophilia B	• Genetic: Gene Transfer • Drug: scAAV2/8-LP1-hFIXco	• Stanford Medical School, Stanford, California, United States • University of Kentucky, Lexington, Kentucky, United States • Oregon Health and Science University, Portland, Oregon, United States • Hemophilia Center of Western Pennsylvania, Pittsburgh, Pennsylvania, United States • St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, Tennessee, United States • University of Texas Southwestern, Dallas, Texas, United States • Scott and White Memorial Hospital, Temple, Texas, United States • Katharine Dormandy Haemophilia Centre and Haemostasis Unit, University College of London, London, United Kingdom
21	A Gene Transfer Study for Hemophilia A	Recruiting	No Results Available	• Hemophilia A	• Genetic: SPK-8011	• University of California Davis - Hemostasis and Thrombosis Center, Sacramento, California, United States • University of Florida Health, Gainesville, Florida, United States • Louisiana Center for Adavanced Medicine, Slidell, Louisiana, United States • Boston Children's Hospital, Boston, Massachusetts, United States • Mississippi Center for Advanced Medicine, Madison, Mississippi, United States • Weill Cornell Medicine-Comprehensive Center for Hemophilia and Coagulation Disorders, New York, New York, United States • East Carolina University, Greenville, North Carolina, United States • Oregon Health & Science University, Portland, Oregon, United States • Pennsylvania State University Milton S. Hershey Medical Center, Hershey, Pennsylvania, United States • Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Pennsylvania, United States • and 9 more

	Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
22	Long-Term Safety and Efficacy of Spark-Sponsored Gene Therapies in Males With Hemophilia A	Enrolling by invitation	No Results Available	• Hemophilia A	• Genetic: SPK-8011	• Boston Children's Hospital, Boston, Massachusetts, United States • Mississippi Center for Advanced Medicine, Madison, Mississippi, United States • Truman Medical Centers, Kansas City, Missouri, United States • Oregon Health & Science University, Portland, Oregon, United States • Pennsylvania State University Milton S. Hershey Medical Center, Hershey, Pennsylvania, United States • The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Pennsylvania, United States • Thomas Jefferson University, Philadelphia, Pennsylvania, United States • Hemophilia Center of Western Pennsylvania, Pittsburgh, Pennsylvania, United States • Virginia Commonwealth University, Richmond, Virginia, United States • Royal Prince Alfred Hospital Department of Cell & Molecular Therapies, Sydney, New South Wales, Australia
23	A Long-Term Follow-Up Study of Haemophilia B Patients Who Have Undergone Gene Therapy	Active, not recruiting	No Results Available	• Hemophilia B	• Biological: FLT180a	• The Haemophilia and Thrombosis Centre, Canterbury, Kent, United Kingdom • Sheffield Teaching Hospital, Sheffield, South Yorkshire, United Kingdom • Royal Free London NHS Foundation Tust, London, United Kingdom • Newcastle Hemophilia Comprehensive Care Centre, Newcastle, United Kingdom • Oxford University Hospitals NHS Foundation Trust, Oxford, United Kingdom • Southampton Haemophilia Comprehensive Care Centre, Southampton, United Kingdom

	Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
24	A Study of Recombinant AAV2/6 Human Factor 8 Gene Therapy SB-525 (PF-07055480) in Subjects With Severe Hemophilia A	Active, not recruiting	No Results Available	• Hemophilia A	• Biological: SB-525 (PF-07055480)	• Arkansas Children's Hospital, Little Rock, Arkansas, United States • City of Hope Medical Center, Duarte, California, United States • Midtown Ambulatory Care Center, Sacramento, California, United States • UC Davis Ambulatory Care Clinic, Sacramento, California, United States • UC Davis Comprehensive Cancer Center, Sacramento, California, United States • UC Davis CTSC Clinical Research Center, Sacramento, California, United States • UC Davis Hemophilia Treatment Center, Sacramento, California, United States • UC Davis Investigational Drug Services Pharmacy, Sacramento, California, United States • UC Davis Medical Center, Sacramento, California, United States • University of California, San Francisco - Investigational Drug Service (IDS) Pharmacy, San Francisco, California, United States • and 10 more
25	Trial of AAV5-hFIX in Severe or Moderately Severe Hemophilia B	Completed	Has Results	• Hemophilia B	• Genetic: AAV5-hFIX	• uniQure Investigative Site, Copenhagen, Denmark • uniQure Investigative Site, Berlin, Germany • uniQure Investigative Site, Frankfurt, Germany • uniQure Investigative Site, Amsterdam, Netherlands • uniQure Investigative Site, Groningen, Netherlands • uniQure Investigative Site, Rotterdam, Netherlands • uniQure Investigative Site, Utrecht, Netherlands
26	Non-Interventional Study to Capture the Patient Experience on Gene Therapy for Hemophilia Within the AskBio009-101 Study Through Patient and Investigator Interviews	Completed	No Results Available	• Hemophilia B	• Other: Qualitative Interview - Participants/ Patients • Other: Qualitative Interview - Investigators and Study Coordinators	• QuintilesIMS, Cambridge, Massachusetts, United States
27	Evaluation of the Safety and Efficacy of Hemophilia B Gene Therapy Drug	Recruiting	No Results Available	• Hemophilia B	• Genetic: Single dose intravenous injection of BBM-H901	• Anhui Provincial Hospital, Hefei, Anhui, China • Peking Union Medical College Hospital, Beijing, Beijing, China • Nanfang Hospital Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, China • Henan Cancer Hospital, Zhengzhou, Henan, China • The Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi, China • Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin, Tianjin, China • The second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan, China

	Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
28	Gene Therapy Study in Severe Hemophilia A Patients With Antibodies Against AAV5	Recruiting	No Results Available	• Hemophilia A • Gene Therapy • Clotting Disorders • Blood Disorder	• Biological: Valoctocogene Roxaparvovec	• Charlotte Maxeke Johannesburg Academic Hospital, Hemophilia Comprehensive Care Center, Johannesburg, South Africa • Royal Free Hospital, London, United Kingdom • University Hospital Southampton NHS Foundation Trust, Southampton, United Kingdom
29	A Factor IX Gene Therapy Study (FIX-GT)	Terminated	No Results Available	• Hemophilia B	• Biological: FLT180a	• St Jude Children's Research Hospital, Memphis, Tennessee, United States • St James's Hospital, Dublin, Ireland • University of Milan, Milan, Italy • Basingstoke Haemostasis and Thrombosis Centre, Basingstoke, United Kingdom • East Kent Hospitals University, Canterbury, United Kingdom • Guy's and St Thomas's NHS Foundation Trust, London, United Kingdom • Royal Free Hospital, London, United Kingdom • Newcastle Hospitals NHS Trust, Newcastle Upon Tyne, United Kingdom • Oxford University Hospital, Oxford, United Kingdom • University of Sheffield, Sheffield, United Kingdom • University Hospital Southampton, Southampton, United Kingdom
30	ASC618 Gene Therapy in Hemophilia A Patients	Recruiting	No Results Available	• Hemophilia A	• Biological: ASC618	• Arkansas Children's Hospital, Little Rock, Arkansas, United States
31	A Study to Evaluate Prospective Efficacy and Safety Data of Current FIX Prophylaxis Replacement Therapy in Adult Hemophilia B Subjects (FIX:C#2%) or Current FVIII Prophylaxis Replacement Therapy in Adult Hemophilia A Subjects (FVIII:C#1%)	Recruiting	No Results Available	• Hemophilia B • Hemophilia A	• Drug: Standard of Care FIX Replacement therapy • Drug: Standard of Care FVIII Replacement therapy	• Clinical and Translational Research Unit (CTRU), Palo Alto, California, United States • Lucile Packard Childrens Hospital, Palo Alto, California, United States • University of California, San Francisco - Outpatient Hematology Clinic, San Francisco, California, United States • Stanford Health Care, Stanford, California, United States • Hemophilia and Thrombosis Center at the University of Colorado Anschutz Medical Campus, Aurora, Colorado, United States • Emory University Hospital Midtown, Atlanta, Georgia, United States • Emory University Hospital, Atlanta, Georgia, United States • Investigational Drug Service, Atlanta, Georgia, United States • Indiana Hemophilia & Thrombosis Center, Inc., Indianapolis, Indiana, United States • Mississippi Center for Advanced Medicine, Madison, Mississippi, United States • and 60 more
32	Safety of a New Type of Treatment Called Gene Transfer for the Treatment of Severe Hemophilia B	Terminated	No Results Available	• Hemophilia B	• Genetic: Adeno-Associated Viral with Human Factor IX	• Stanford University, Palo Alto, California, United States • The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Pennsylvania, United States • The Hemophilia Center of Western Pennsylvania, Pittsburgh, Pennsylvania, United States

	Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
33	Long-term Safety and Efficacy Study and Dose-Escalation Substudy of PF 06838435 in Individuals With Hemophilia B	Recruiting	No Results Available	• Hemophilia B	• Biological: PF-06838435 (formerly SPK-9001)	• UC Davis Comprehensive Cancer Center, Sacramento, California, United States • UC Davis Ellison Ambulatory Care Clinic, Sacramento, California, United States • UC Davis Medical Center department of Radiology, Sacramento, California, United States • UC Davis Medical Center, Sacramento, California, United States • UC Davis Midtown Cancer Center, Sacramento, California, United States • UC DavisHealth Main Hospital, Sacramento, California, United States • PPD Global Central Labs, LLC, Highland Heights, Kentucky, United States • Tulane University Hospitals and Clinics, New Orleans, Louisiana, United States • Louisiana Center for Advanced Medicine, Slidell, Louisiana, United States • Mississippi Center for Advanced Medicine, Madison, Mississippi, United States • and 8 more
34	Safety and Dose Finding Study of DTX101 (AAVrh10FIX) in Adults With Moderate/Severe to Severe Hemophilia B	Terminated	Has Results	• Hemophilia B	• Genetic: DTX101	• Arkansas Children's Hospital, Little Rock, Arkansas, United States • Orthopaedic Institute for Children, Los Angeles, California, United States • University of Florida, Gainesville, Florida, United States • Boston Children's Hospital, Boston, Massachusetts, United States • University of Michigan Hospital and Health Systems, Michigan Clinical Research Unit, Ann Arbor, Michigan, United States • Vanderbilt Hemostasis-Thrombosis Clinic, Nashville, Tennessee, United States • Specialized Hospital for Active Treatment for Hematological Disease, Sofia, Bulgaria • Basingstoke and North Hampshire Hospital, Haemophilia, Haemostasis and Thrombosis Centre, Basingstoke, Hampshire, United Kingdom • The Christie NHS Foundation Trust, Manchester, United Kingdom
35	Long-Term Safety, Tolerability, and Efficacy of DTX101 (AAVrh10FIX) in Adults With Moderate/Severe to Severe Hemophilia B	Completed	No Results Available	• Hemophilia B		• Arkansas Children's Hospital, Little Rock, Arkansas, United States • UF CRC - Clinical Research Center, Gainesville, Florida, United States • University of Michigan Hospital and Health Systems, Ann Arbor, Michigan, United States • Haemophilia, Haemostasis & Thrombosis Centre, Basingstoke, Hampshire, United Kingdom • Manchester Haemophilia Comprehensive Care Center, Manchester, United Kingdom

	Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
36	Study to Test the Safety and How Well Patients With Severe Hemophilia A Respond to Treatment With BAY 2599023 (DTX 201), a Drug Therapy That Delivers a Healthy Version of the Defective Factor VIII Gene Into the Nucleus of Liver Cells Using an Altered, Non-infectious Virus (AAV) as a "Shuttle".	Active, not recruiting	No Results Available	• Hemophilia A	• Drug: BAY2599023 (DTX201)	• Arkansas Children's Hospital, Little Rock, Arkansas, United States • C.S. Mott Children's Hospital, Ann Arbor, Michigan, United States • University of Wisconsin - Madison, Madison, Wisconsin, United States • SHATHD Spec. Hospi. for Active Treatm. of Haematol. Dis. EAD, Sofia, Bulgaria • Hopital Necker les enfants malades - Paris, Paris, France • Hôpital Pontchaillou, Rennes Cedex, France • Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg, Saarland, Germany • Vivantes Klinikum im Friedrichshain, Berlin, Germany • Academisch Medisch Centrum (AMC), Amsterdam, Netherlands • Universitair Medisch Centrum Groningen, Groningen, Netherlands • and 3 more
37	A Phase 1/2 Study of SHP648, an Adeno-Associated Viral Vector for Gene Transfer in Hemophilia B Subjects	Terminated	Has Results	• Hemophilia B	• Genetic: SHP648	• Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, El Palmar, Spain • Ege University Medical Faculty, Izmir, Turkey
38	Hemophilia B Gene Therapy With AAV8 Vector	Terminated	No Results Available	• Hemophilia B	• Biological: AAV8-hFIX19	• The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Pennsylvania, United States • University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania, United States • Royal Prince Alfred Hospital, Camperdown, New South Wales, Australia
39	Single-Arm Study To Evaluate The Efficacy and Safety of Valoctocogene Roxaparvovec in Hemophilia A Patients at a Dose of 4E13 vg/kg	Active, not recruiting	Has Results	• Hemophilia A	• Biological: Valoctocogene Roxaparvovec	• Hemophilia Center of Western Pennsylvania, Pittsburgh, Pennsylvania, United States
40	Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Valoctocogene Roxaparvovec, With Prophylactic Steroids in Hemophilia A	Active, not recruiting	No Results Available	• Hemophilia A	• Biological: valoctocogene roxaparvovec	• Washington University School of Medicine, Saint Louis, Missouri, United States • Nationwide Children's Hospital, Columbus, Ohio, United States • The Royal Adelaide Hospital, Adelaide, Australia • Royal Brisbane and Women's Hospital, Brisbane, Australia • Alfred Hospital, Melbourne, Australia • Fiona Stanley Hospital, Perth, Australia • Royal Prince Alfred Hospital, Sydney, Australia • Campinas University Clinical Hospital, Campinas, Brazil • Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil • Changhua Christian Medical Foundation Changhua Christian Hospital, Changhua, Taiwan • Taichung Veterans General Hospital, Taichung, Taiwan

	Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
41	Single-Arm Study To Evaluate The Efficacy and Safety of Valoctocogene Roxaparvovec in Hemophilia A Patients (BMN 270-301)	Active, not recruiting	No Results Available	• Hemophilia A	• Biological: valoctocogene roxaparvovec	• Los Angeles Orthopedic Hospital, Orthopedic Hemophilia Treatment Center, Los Angeles, California, United States • UC Davis Hemophilia Treatment Center, Sacramento, California, United States • University of California San Diego, Hematology and Oncology, Hemophilia &Thrombosis Treatment Center, San Diego, California, United States • UCSF Medical Center, San Francisco, California, United States • University of Colorado, Aurora, Colorado, United States • St. Joseph's Children's Hospital, Center for Bleeding and Clotting Disorders, Tampa, Florida, United States • Ann & Robert H. Lurie Children's Hospital of Chicago, Department of Hematology, Chicago, Illinois, United States • James Graham Brown Cancer Center, Louisville, Kentucky, United States • University of Michigan, Pediatric Hematology and Oncology, Ann Arbor, Michigan, United States • Wayne State University, Detroit Medical Center, Detroit, Michigan, United States • and 38 more
42	Safety, Tolerability, and Efficacy Study of Valoctocogene Roxaparvovec in Hemophilia A With Active or Prior Inhibitors	Recruiting	No Results Available	• Hemophilia A With Inhibitor • Hemophilia A With Anti Factor VIII	• Biological: Valoctocogene roxaparvovec	• Children's Hospital Los Angeles, Los Angeles, California, United States • UC Davis Hemophilia Treatment Center, Sacramento, California, United States • Queen Elizabeth Hospital, Birmingham, United Kingdom • Guy's and St Thomas' NHS Foundation Trust, London, United Kingdom • Royal Free Hospital, London, United Kingdom
43	Phase 1/2 Dose Confirmation Study of FLT180a in Hemophilia B	Active, not recruiting	No Results Available	• Hemophilia B	• Genetic: verbrinacogene setparvovec	• Children's Hospital of Los Angeles, Los Angeles, California, United States • University of South Florida, Tampa, Florida, United States • University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, United States • Glasgow Royal Infirmary, Glasgow, United Kingdom • Guys Hospital, London, United Kingdom • Royal Free London NHS Foundation Tust, London, United Kingdom • Royal Victoria Infirmary, Newcastle, United Kingdom
44	Lead-in Study of VGB-R04 Gene Therapy for Hemophilia B--An Observational Survey Analysis Study	Not yet recruiting	No Results Available	• Hemophilia B		

	Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
45	Dose-finding Study of SPK-8016 Gene Therapy in Patients With Hemophilia A to Support Evaluation in Individuals With FVIII Inhibitors	Recruiting	No Results Available	• Adeno-Associated Virus (AAV) • Blood Coagulation Disorder • Blood Coagulation Disorders, Inherited • Coagulation Protein Disorders • Factor VIII (FVIII) • Factor VIII (FVIII) Deficiency • Factor VIII (FVIII) Gene • Factor VIII (FVIII) Protein • Genetic Diseases, Inborn • Genetic Diseases, X-Linked • and 7 more	• Genetic: SPK-8016	• Orthopaedic Institute for Children, Los Angeles, California, United States • Children's Hospital Los Angeles, Los Angeles, California, United States • Illinois Bleeding and Clotting Disorders Institute, Peoria, Illinois, United States • University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, United States • Mississippi Center for Advanced Medicine, Madison, Mississippi, United States • Weill Cornell Medicine, New York, New York, United States • Nationwide Children's, Columbus, Ohio, United States • Oregon Health & Science University, Portland, Oregon, United States • Penn State Health, Hershey, Pennsylvania, United States • Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Pennsylvania, United States • and 4 more
46	The Efficacy and Safety of ZS802 in Chinese Hemophilia A Patients.	Not yet recruiting	No Results Available	• Hemophilia A	• Genetic: ZS802	• Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Tianjin, China
47	Ascending Dose Study of Genome Editing by Zinc Finger Nuclease Therapeutic SB-FIX in Subjects With Severe Hemophilia B	Terminated	No Results Available	• Hemophilia B	• Biological: SB-FIX	• Georgetown University Medical Center, Washington, District of Columbia, United States
48	Safety and Tolerability of VGB-R04 in Patients With Haemophilia B	Not yet recruiting	No Results Available	• Hemophilia B	• Genetic: VGB-R04	
49	AAV Gene Therapy Screening/Observational Protocol (ECLIPSE)	Recruiting	No Results Available	• Hemophilia B • Blood Coagulation Disorders, Inherited • Blood Coagulation Disorder • Haematologic Disease		• Phoenix Childrens Hospital, Phoenix, Arizona, United States • Children's Hospital of Los Angeles, Los Angeles, California, United States • University of California - Davis, Sacramento, California, United States • University of South Florida, Tampa, Florida, United States • Rush University Medical Center, Chicago, Illinois, United States • Indiana Hemophilia and Thrombosis Center, Indianapolis, Indiana, United States • University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, United States • University of Nebraska Medical Center, Omaha, Nebraska, United States • Hemophilia Center of Western New York, Buffalo, New York, United States • University of North Carolina (UNC), Chapel Hill, North Carolina, United States • and 46 more
50	Learning to Live With Non-severe Haemophilia	Not yet recruiting	No Results Available	• Hemophilia	• Behavioral: Questionnaire and interview	
51	A Study to Evaluate the Safety and Efficacy of VGB-R04 in Adult Hemophilia B Patients	Not yet recruiting	No Results Available	• Hemophilia B	• Genetic: VGB-R04	• Shanghai Vitalgen Biopharma Co.,Ltd., Shanghai, China

	Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
52	Safety & Efficacy of Encapsulated Allogeneic FVIII Cell Therapy in Haemophilia A	Suspended	No Results Available	• Hemophilia A	• Combination Product: SIG-001	• Clinical Study Site, Indianapolis, Indiana, United States • Clinical Study Site, Boston, Massachusetts, United States • Clinical Study Site, Seattle, Washington, United States • Clinical Study Site, London, United Kingdom • Clinical Study Site, Manchester, United Kingdom • Clinical Study Site, Southampton, United Kingdom
53	Lead-in Study to Collect Prospective Efficacy and Safety Data of Current FVIII Prophylaxis Replacement Therapy in Adult Hemophilia A Participants	Active, not recruiting	No Results Available	• Blood Coagulation Disorder • Blood Coagulation Disorders, Inherited • Coagulation Protein Disorders • Hemophilia A • Genetic Diseases, Inborn • Genetic Diseases, X-Linked • Hematologic Diseases • Hemorrhagic Disorders • Factor VIII Deficiency	• Drug: Standard of Care FVIII Replacement therapy	• University of California San Francisco, San Francisco, California, United States • University of Florida, Gainesville, Florida, United States • Emory University, Atlanta, Georgia, United States • Children's Hospital of Michigan, Detroit, Michigan, United States • Mississippi Center for Advanced Medicine, Madison, Mississippi, United States • Bloodworks Northwest, Seattle, Washington, United States • The Alfred Hospital, Melbourne, Victoria, Australia • Fiona Stanley Hospital, Murdoch, Western Australia, Australia • Providence Hematology/St. Paul's Hosptial, Vancouver, British Columbia, Canada • McMaster University / Royal Prince Alfred Hospital, Hamilton, Ontario, Canada • Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
54	HOPE-B: Trial of AMT-061 in Severe or Moderately Severe Hemophilia B Patients	Active, not recruiting	No Results Available	• Hemophilia B	• Genetic: AAV5-hFIXco-Padua	• Phoenix Children's Hospital, Phoenix, Arizona, United States • Arkansas Children's Hospital, Little Rock, Arkansas, United States • Los Angeles Orthopedic Hospital, Los Angeles, California, United States • Children's Hospital of Los Angeles, Los Angeles, California, United States • University of California, Davis, Sacramento, California, United States • University of California, San Diego, San Diego, California, United States • University of Colorado Denver, Aurora, Colorado, United States • Children's National Medical Center Hematology and Oncology, Washington, District of Columbia, United States • University of South Florida, Tampa, Florida, United States • University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, United States • and 25 more
55	Dose Confirmation Trial of AAV5-hFIXco-Padua	Active, not recruiting	Has Results	• Hemophilia B	• Genetic: AAV5-hFIXco-Padua (AMT-061)	• Los Angeles Orthopedic Hospital, Los Angeles, California, United States • University of California, Davis, Sacramento, California, United States • University of California, San Diego, San Diego, California, United States • University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, United States

	Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
56	Long Term Follow-up (LTFU) of Subjects Who Received SB-318, SB-913, or SB-FIX	Enrolling by invitation	No Results Available	• Hemophilia B • Mucopolysaccharidosis I • Mucopolysaccharidosis II	• Biological: SB-318 • Biological: SB-913 • Biological: SB-FIX	• UCSF Benioff Children's Hospital Oakland, Oakland, California, United States • Ann & Robert H. Lurie Children's Hospital of Chicago, Chicago, Illinois, United States • New York University Grossman School of Medicine, New York, New York, United States • University of North Carolina, Chapel Hill, North Carolina, United States • Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio, United States
57	A Study of BAX 888 in Male Adults With Severe Hemophilia A	Active, not recruiting	No Results Available	• Hemophilia A	• Drug: BAX 888	• Phoenix Childrens Hospital, Phoenix, Arizona, United States • Orthopaedic Hemophilia Treatment Center, Los Angeles, California, United States • University of Colorado Hemophilia & Thrombosis Center, Aurora, Colorado, United States • Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio, United States • Medical University of South Carolina (MUSC), Charleston, South Carolina, United States • Gulf States Hemophilia and Thrombophilia Center City, Houston, Texas, United States • AKH - Medizinische Universität Wien, Vienna, Austria • Hôpital de la Timone, Marseille Cedex 05, Bouches-du-Rhône, France • CHU de Nantes Site Hotel Dieu, Nantes Cedex 1, Loire Atlantique, France • Hopital Jeanne de Flandre - CHU Lille, Lille Cedex, Nord, France • and 6 more
58	Allogenic Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cell Therapy in Cases of Hemophilia	Unknown status	No Results Available	• Hemophilia	• Biological: Cellular therapy • Biological: cellular therapy	• Military Medical Academy, Cairo, Egypt
59	Study of Ataluren (PTC124) in Hemophilia A and B	Terminated	Has Results	• Hemophilia A • Hemophilia B	• Drug: Ataluren	• The Bleeding and Clotting Disorders Institute, Peoria, Illinois, United States • St. Vincent Indianapolis Hospital, Indianapolis, Indiana, United States • New England Hemophilia Center, Worcester, Massachusetts, United States • Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio, United States • Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Pennsylvania, United States • Vanderbilt Hemostatis and Thrombosis Clinic, Nashville, Tennessee, United States • Puget Sound Blood Center, Seattle, Washington, United States • St. Paul's Hospital, Vancouver, British Columbia, Canada • Hôpital Cardiologique, Lille Cedex, France • Hôpital Edouard Herriot, Lyon Cedex, France • and 3 more

	Title	Status	Study Results	Conditions	Interventions	Locations
60	ATHN Transcends: A Natural History Study of Non-Neoplastic Hematologic Disorders	Recruiting	No Results Available	• Hematologic Disorder • Bleeding Disorder • Connective Tissue Disorder • Hemophilia • Thrombosis • Von Willebrand Diseases • Thrombophilia • Rare Bleeding Disorder • Platelet Disorder		• Arizona Hemophilia and Thrombosis Treatment Center at Phoenix Children's Hospital, Phoenix, Arizona, United States • Indiana Hemophilia and Thrombosis Center, Indianapolis, Indiana, United States • Louisiana Center for Bleeding and Clotting Disorders, Tulane University, New Orleans, Louisiana, United States • Maine Hemophilia and Thrombosis Center, Scarborough, Maine, United States • Children's Mercy Hospital - Kansas City, Kansas City, Missouri, United States • The John Bouhasin Center for Children with Bleeding Disorders, Saint Louis, Missouri, United States • Hemostasis and Thrombosis Center of Nevada, Reno, Nevada, United States • American Thrombosis and Hemostasis Network, Rochester, New York, United States • Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Pennsylvania, United States • North Texas Hemophilia and Thrombosis Program - Pediatric Program / Center for Cancer & Blood Disorders, Dallas, Texas, United States
61	Pharmacogenetic Testing of Saliva Samples From Patients With Five or More Exposure Days to rFVIIa Analogue in the Adept™2 Trial	Completed	Has Results	• Congenital Bleeding Disorder • Haemophilia A With Inhibitors • Haemophilia B With Inhibitors	• Other: No treatment given	• Novo Nordisk Investigational Site, Tucson, Arizona, United States • Novo Nordisk Investigational Site, Tampa, Florida, United States • Novo Nordisk Investigational Site, Atlanta, Georgia, United States • Novo Nordisk Investigational Site, Iowa City, Iowa, United States • Novo Nordisk Investigational Site, Boston, Massachusetts, United States • Novo Nordisk Investigational Site, Athens, Greece • Novo Nordisk Investigational Site, Thessaloniki, Greece • Novo Nordisk Investigational Site, Kashihara-shi, Nara, Japan • Novo Nordisk Investigational Site, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan • Novo Nordisk Investigational Site, Suginami-ku, Tokyo, Japan • and 5 more

ANNEXE 5: LETTRE D'INFORMATION DESTINEE AUX PATIENTS

Cher Monsieur/Madame,

Vous avez été invité à participer à une étude sur l'opinion des patients sur l'utilisation de la thérapie génique dans l'hémophilie. Votre avis sur les traitements actuels et la thérapie génique vous sera demandé. Avant de confirmer votre participation à cette étude, nous vous demandons de lire attentivement cette fiche d'information.

Quel est le but de l'étude ?

Nous voulons enquêter sur l'opinion des patients hémophiles concernant l'utilisation de la thérapie génique et nous voulons comprendre quels sont les principaux éléments qui influenceraient leur choix entre une thérapie standard et une thérapie génique.

Qui mène l'étude ?

L'étude est menée par le CHU de Toulouse.

Cette étude est-elle scientifiquement et éthiquement justifiée ?

Le comité d'éthique a approuvé l'étude. Les comités d'éthique vérifient si les droits des participants sont respectés par les chercheurs lors d'une étude, si l'équilibre entre les risques et les avantages sont bénéfiques pour les participants et si l'étude est scientifiquement et éthiquement justifiée

Dois-je participer ?

Votre participation est entièrement volontaire. Vous pouvez refuser de participer. Si vous décidez de ne pas participer, cela n'affectera pas vos soins de santé actuels ou futurs. De plus, la participation à l'étude n'affectera pas vos soins de santé actuels ou futurs. Il n'y a aucun coût associé à la participation à cette enquête et vous ne recevrez aucune compensation pour y participer.

Qu'est-ce qu'on me demande ?

L'enquête prendra environ 30 minutes et peut être remplie en ligne. Des informations seront recueillies sur vos préférences de traitement personnelles, votre santé, votre âge, votre sexe et votre lieu de vie. Au cours de l'enquête, des informations vous seront présentées sur la maladie, thérapies et thérapie génique.

Comment mes données personnelles seront-elles gardées confidentielles ?

L'étude respectera les lois nationales et locales sur la protection des données. Vous participez de manière anonyme, ce qui signifie que les chercheurs ne pourront pas découvrir votre identité et celles des autres participants.
Aucun rapport de vos informations d'identification personnelle dans des rapports ou des publications ne peut avoir lieu. Vos données seront traitées dans conformément au

Règlement général européen sur la protection des données (RGPD) et à la législation française en vigueur.

Comment mes données seront-elles utilisées ?

Vos données seront utilisées pour en savoir plus sur la façon dont les patients perçoivent certains médicaments et comment ils font des choix entre des alternatives. Les résultats seront analysés par les professionnels de la santé. L'équipe a l'intention de publier les résultats dans des revues scientifiques et de les diffuser via des présentations lors de congrès ou de réunions.

Quels droits ai-je concernant mes données personnelles ?

Les données étant collectées de manière anonyme, vous ne pourrez pas consulter, corriger, mettre à jour, restreindre, vous opposer au traitement, supprimer ou recevoir une copie électronique des données personnelles que vous avez fourni.

Veuillez contacter la personne de contact mentionnée en haut de ce formulaire pour toute question concernant cette étude.

Merci pour votre intérêt et votre participation.

ANNEXE 6: QUESTIONNAIRE DESTINE AUX PATIENTS HEMOPHILES

Quelques informations sur la maladie, les options de traitement actuelles et l'utilisation de la thérapie génique dans l'hémophilie vont vous être présentées.
Après chaque section d'information, nous vous demanderons si l'information est compréhensible et si elle vous semble cohérente, ou si nous devons améliorer la formulation de l'information pour la rendre plus claire. Vous connaissez probablement déjà certains des aspects qui seront évoqués, mais nous aimerions tout de même recevoir vos commentaires sur ces sections d'information.
Des questions s'intercaleront entre chaque section d'information.

Pour commencer, nous aimerions recueillir des informations générales vous concernant.

Q1. : Quelle est votre date de naissance ?

_____

Q2. : Où vivez-vous ? (Code postal et ville)

_____

Q3. : Combien de temps mettez-vous pour effectuer le trajet entre votre domicile et le Centre Régional d'Hémophilie du CHU de Toulouse ?

_____

Q4. : Par quel moyen de transport vous déplacez-vous au Centre Régional d'Hémophilie du CHU de Toulouse ?

☐ Véhicule personnel
☐ Ambulance ou taxi
☐ Transport en commun
☐ A pied

Q5. Quelle est votre situation d'emploi actuelle ?

☐ Employé à temps plein
☐ Employé à temps partiel
☐ Sans emploi
☐ Retraité
☐ Étudiant
☐ Autre

Informations sur l'hémophilie

Les personnes atteintes d'hémophilie ont un défaut du gène codant pour un facteur de coagulation : gène du facteur de coagulation IX dans l'hémophilie B et gène du facteur de coagulation VIII dans l'hémophilie A. En raison de défaut, ils ne sont pas capables de produire le facteur de coagulation fonctionnel en quantités suffisantes.
En raison du déficit de facteurs de coagulation fonctionnels, les temps de saignement sont allongés en comparaison aux personnes possédant le gène fonctionnel. Des saignements peuvent survenir spontanément chez celles qui ne produisent presque aucun facteur de coagulation fonctionnel.

Cette information était-elle compréhensible pour vous et vous semble-t-elle bien définir ce qu'est l'hémophilie ? ☐ Oui ☐ Non

Nous allons vous demander quelques informations concernant votre pathologie.

Q6. : Quel type d'hémophilie avez-vous ?
☐ Hémophilie A
☐ Hémophilie B
☐ Je ne suis ni hémophile A ni hémophile B
☐ Je ne sais pas

Q7. : Avez-vous une hémophilie considérée de mineure, modérée ou majeure ?
☐ Mineure (taux de facteur compris entre > 5% et 40%)
☐ Modérée (taux de facteur compris entre 1% et 5%)
☐ Sévère (taux de facteur inférieur à 1%)

Informations sur le traitement de l'hémophilie

Le but du traitement de l'hémophilie est d'apporter à l'organisme le facteur de coagulation (manquant ou en quantité insuffisante) pour arrêter ou prévenir les saignements.
Les patients peuvent s'auto-administrer le facteur de coagulation lorsqu'un saignement survient ou lorsqu'ils savent qu'ils vont participer à une activité à risque de provoquer un saignement, c'est ce qu'on appelle un traitement « à la demande ».
De plus, les patients peuvent également se traiter de manière « prophylactique » par auto-administration pour maintenir le facteur de coagulation à la hauteur des normes. Pour les patients atteints d'hémophilie A, cela peut aller d'une administration toutes les deux semaines à deux à trois administrations par semaine et pour les patients atteints d'hémophilie B, une par semaine.
Cependant, le nombre d'injections nécessaires peut varier d'un individu à l'autre. Certains patients développent des anticorps neutralisants (inhibiteurs) contre le facteur administré, entraînant une inefficacité du traitement.

Cette information était-elle compréhensible pour vous et vous semble-t-elle bien définir le traitement de l'hémophilie ? ☐ Oui ☐ Non

Nous allons maintenant nous intéresser à votre traitement.

Q8. : Quel type de traitement recevez-vous actuellement ?

☐ Prophylaxie (traitement préventif)

Si oui, merci d'indiquer le médicament, dosage et le nombre d'injections par mois :

☐ Épisodique (ou à la demande) (traitements en cas de saignement)

Si oui, merci d'indiquer le médicament, dosage et si vous disposez de doses d'avance au domicile, de combien vous en disposez

☐ Traitement intensif en raison de la présence d'inhibiteurs

Si oui, merci d'indiquer le médicament, dosage et le nombre d'injections par mois

☐ Hemlibra ® (Emicizumab)

☐ Aucun traitement

☐ Autre : _____

Q9. : Avez-vous déjà présenté des inhibiteurs contre la thérapie de remplacement de facteur par le passé ? ☐ Oui ☐ Non

Q10. : Etes-vous satisfait du traitement qui vous est actuellement proposé ?

☐ Très satisfait

☐ Satisfait

☐ Neutre

☐ Insatisfait

☐ Très insatisfait

☐ Ne sais pas

Q11. : Quel serait pour vous le traitement idéal pour votre hémophilie ?

_____

_____

_____

_____

Q12. : À quelle fréquence avez-vous des saignements ?

☐ Plus d'une fois par semaine

Si oui, combien de saignements avez-vous en moyenne par semaine ? _____

☐ Plus d'une fois par mois mais moins qu'une fois par semaine

Si oui, combien de saignements avez-vous en moyenne par mois ? _____

☐ Moins d'une fois par mois

Si oui, combien de saignements avez-vous en moyenne par an ? _____

☐ Moins d'une fois par an :

Si oui, combien de saignements avez-vous rencontré sur les dix dernières années ? _____

Q13. : Selon votre ressenti, combien de vos articulations gardent une atteinte du fait d'hémarthroses ?

☐ Coude :
☐ Epaule :
☐ Poignets :
☐ Genou :
☐ Hanche :
☐ Cheville :
☐ Autre : _____

Q14. Le cas échéant, comment classez-vous la gravité globale de vos atteintes articulaires ?

☐ Aucune atteinte
☐ Mineure
☐ Modérée
☐ Sévère
☐ Je ne sais pas

Q15. Veuillez cocher la case qui décrit le mieux votre état de santé à ce jour concernant vos activités habituelles (par exemple : travail, études, travaux ménagers, activités familiales ou de loisirs)

☐ Je n'ai aucune limitation pour mes activités habituelles
☐ J'ai de légères difficultés à faire mes activités habituelles
☐ J'ai des difficultés modérées à faire mes activités habituelles
☐ J'ai de graves difficultés à faire mes activités habituelles
☐ Je ne peux pas faire mes activités habituelles

Q16. Veuillez cocher la case qui décrit le mieux votre état de santé aujourd'hui

☐ Je n'ai ni douleur ni inconfort
☐ J'ai une légère douleur ou un léger inconfort
☐ J'ai une douleur modérée ou un inconfort modéré
☐ J'ai des douleurs intenses ou des malaises intenses
☐ J'ai une douleur extrême ou un inconfort extrême

Q17. Etes-vous à l'aise avec votre gestion du stress et/ou de vos émotions (anxiété, humeur, épuisement psychologique) :

☐ Tout à fait
☐ Plutôt
☐ Peu
☐ Pas du tout
☐ Je ne sais pas

Q18. Nous aimerions connaître votre ressenti concernant votre état de santé : est-il bon ou mauvais sur une échelle de 0 à 100 :

_____

100 signifie la meilleure santé que vous puissiez imaginer.
0 signifie la pire santé que vous puissiez imaginer.

Informations générales sur la thérapie génique dans l'hémophilie

Nous allons maintenant vous poser quelques questions sur vos connaissances concernant la thérapie génique.

Q19. Comment évalueriez-vous vos connaissances sur la thérapie génique ?

☐ Très bonnes
☐ Bonnes
☐ Raisonnables
☐ Mauvaises
☐ Très mauvaises
☐ Je ne sais pas

Q20. Par quel canal d'information vous êtes-vous renseigné sur la thérapie génique ?

☐ Internet : si oui, quels sites ?
☐ Association de patients
☐ Télévision
☐ Journaux et articles scientifiques
☐ Equipe médicale
☐ Autre : _____
☐ Je ne me suis jamais renseigné sur la thérapie génique

Q21. Avez-vous déjà discuté d'un éventuel traitement par thérapie génique avec un médecin ? ☐ Oui ☐ Non

Si oui, est-ce le médecin ou vous qui avez initié le sujet de discussion ?

☐ Le médecin ☐ Moi

Q22. Avez-vous déjà discuté d'un éventuel traitement par thérapie génique avec un autre patient hémophile ?

☐ Oui ☐ Non

La thérapie génique consiste à apporter à l'organisme le gène fonctionnel afin de rétablir un fonctionnement optimal. L'objectif de la thérapie génique dans l'hémophilie est de délivrer le gène du facteur de coagulation fonctionnel à l'organisme. Ainsi, le facteur fonctionnel sera produit dans le corps et le patient n'aura plus besoin d'administrer de facteur supplémentaire par injection.
Avec la thérapie génique, la version fonctionnelle du gène du facteur de coagulation sera administrée directement au corps. Il sera inséré dans « un vecteur », qui va permettre de transporter le gène jusqu'à l'intérieur des cellules du foie, où le nouveau gène est ajouté **à côté** du matériel génétique déjà présent. **Cela ne modifiera pas votre propre matériel génétique**. De ce fait, et puisqu'il n'est pas présent dans les organes sexuels, ce nouveau gène ne peut pas être transmis à votre descendance. Pour l'hémophilie, un virus modifié est utilisé comme vecteur car il a une bonne capacité à atteindre les cellules hépatiques. Le virus est modifié de telle sorte qu'il est uniquement capable de délivrer les gènes aux cellules du foie, le virus lui-même n'est ni infectieux, ni fonctionnel : il ne reste que l'enveloppe du virus permettant de livrer le gène.

Cette information était-elle compréhensible pour vous et vous semble-t-elle bien définir le traitement par thérapie génique de l'hémophilie ? ☐ Oui ☐ Non

Q23. Comment évalueriez-vous à présent vos connaissances sur la thérapie génique ?

☐ Très bonnes
☐ Bonnes
☐ Raisonnables
☐ Mauvaises
☐ Très mauvaises
☐ Je ne sais pas

Efficacité de la thérapie génique dans l'hémophilie

Cette thérapie est avancée sur le plan du développement clinique, et une spécialité a obtenu une autorisation de mise sur le marché de la part de l'Agence Européenne du Médicament pour l'hémophilie A. Toutes les données que nous présentons en suivant proviennent d'essais cliniques avec des hémophiles sévères puisqu'actuellement, seuls les adultes atteints d'hémophilie sévère et sans inhibiteurs peuvent bénéficier d'une thérapie génique, du fait des effets rapportés principalement chez ces patients. Dans ces études, nous constatons qu'il existe une grande variabilité entre les résultats. Certains patients n'ont plus besoin d'injections de facteurs après l'administration de la thérapie génique et ne présentent plus ou presque plus de saignements. En revanche, d'autres patients ont encore besoin d'une administration supplémentaire de facteurs et ont quelques saignements par an.
A ce jour, aucun patient n'a développé d'inhibiteurs contre le facteur de coagulation produit par le foie après administration de thérapie génique. Le suivi des patients dans les essais cliniques est désormais de 2 ans en moyenne pour l'hémophilie A et de 8 ans pour l'hémophilie B, sans que l'on sache pendant combien de temps cette thérapie entraînera une production suffisante de facteur de coagulation par le foie. En d'autres termes, on ne sait pas si la thérapie

fournira un effet à vie, ou s'il sera limité dans le temps et à combien de temps. De plus, on s'attend à ce que la thérapie génique pour l'hémophilie s'accompagne d'un coût ponctuel élevé pour l'Assurance Maladie par rapport au coût étalé qui est actuellement payé pour les administrations de facteurs à vie.

Cette information était-elle compréhensible pour vous et vous semble-t-elle bien définir l'efficacité du traitement par thérapie génique de l'hémophilie ? ☐ Oui ☐ Non

Q24. Est-ce que la thérapie génique peut s'apparenter au traitement idéal de l'hémophilie en général selon votre avis ?

☐ Oui ☐ Non

Commentaires : _____

Q25. Est-ce que la thérapie génique peut s'apparenter au traitement idéal dans votre situation ?

☐ Oui ☐ Non

Commentaires : _____

<u>Effets secondaires et limites de la thérapie génique dans l'hémophilie</u>

Dans certains cas, une légère inflammation du foie est observée après un traitement par thérapie génique. Cette inflammation ne peut pas causer d'hépatite (hépatite B ou C…) et ne provoque pas de symptômes perceptibles. Cette légère inflammation sera traitée avec des corticoïdes pour éviter l'apparition de symptômes, pendant environ deux mois à posologie dégressive.

De plus, on estime que 30 à 50 % de la population possède déjà des anticorps contre les vecteurs utilisés. Cela signifie que ces personnes ne sont actuellement pas éligibles pour un traitement par thérapie génique car les anticorps reconnaitraient le vecteur qui serait ainsi détruit par leur corps.

Ils n'atteindront pas les cellules hépatiques et la thérapie génique ne sera pas efficace.

Lorsque des patients sans anticorps préexistants dirigés contre le vecteur participent à des essais cliniques, il a été déterminé qu'ils développent toujours des anticorps après l'administration de la thérapie génique, il s'agit d'une réaction normale de l'organisme. Ce développement d'anticorps ne provoque pas de symptômes perceptibles et n'entrave pas le fonctionnement de la thérapie génique administrée. Cela signifie qu'ils peuvent être traités avec succès une fois, mais que le traitement avec le même vecteur ne peut pas être répété. On ne sait pas s'il est possible de traiter à nouveau les patients avec un autre type de vecteur pour lequel le patient n'a pas encore développé d'anticorps, si la thérapie génique ne fonctionnerait pas assez longtemps.

Cette information était-elle compréhensible pour vous et vous semble-t-elle bien définir les effets secondaires et limites du traitement par thérapie génique de l'hémophilie ? ☐ Oui ☐ Non

Q26. Suite à la lecture de ces nouveaux éléments, est-ce que la thérapie génique peut s'apparenter au traitement idéal de l'hémophilie en général selon votre avis ?

☐ Oui ☐ Non

Commentaires : _____

Informations pratiques sur le traitement de l'hémophilie par thérapie génique et le suivi

La thérapie génique est administrée une fois par voie intraveineuse dans un hôpital. La perfusion peut durer de 30 minutes à plusieurs heures suivant la dose nécessaire et le médicament. Une fois que le vecteur a délivré le bon gène aux cellules hépatiques, elles commencent à produire le facteur de coagulation fonctionnel.

Après cette administration unique, le patient devra se rendre régulièrement à l'hôpital pour des contrôles pendant une période d'environ 6 mois afin de surveiller, entre autres, le taux de facteur. Après ces 6 mois, cela devient un contrôle mensuel puis trimestriel au bout d'un an.

Il est nécessaire de ne pas consommer de produits toxiques pour le foie (alcool par exemple) la première année de traitement. Il est également nécessaire d'utiliser une contraception mécanique les mois suivants l'administration de la thérapie génique.

Le traitement par thérapie génique aboutit à une concentration de facteurs à niveau constant. Ceci contrairement aux injections avec facteur de coagulation qui se traduisent par une forte concentration de facteurs directement après l'injection, mais une faible concentration avant l'injection suivante. Cela signifie que la thérapie génique fournira un niveau de facteur stable suffisamment élevé pour vous protéger.

Cette information était-elle compréhensible pour vous et vous semble-t-elle bien définir les modalités pratiques du traitement par thérapie génique de l'hémophilie ? ☐ Oui ☐ Non

Q27. : Classez par ordre d'importance les éléments qui pourraient vous inviter à vouloir bénéficier d'un traitement par thérapie génique ?

☐ Fréquence des injections diminuée (voir absence d'injection) par rapport à votre traitement habituel

☐ Les déplacements réguliers à la Pharmacie pour récupérer votre traitement habituel

☐ La nécessité de stockage (place, température) de votre traitement habituel

☐ La variabilité du taux de facteurs avec votre traitement habituel

☐ La diminution des saignements annuels après un traitement par thérapie génique

☐ La possibilité d'arrêter la prophylaxie après un traitement par thérapie génique

☐ Impact sur la vie quotidienne

☐ Impact pour participer à des activités physiques

☐ Diminution du recours aux opérations à moyen ou long terme

Q28. : Classez par ordre d'importance les éléments qui pourraient vous inviter à refuser un traitement par thérapie génique ?

☐ L'obligation d'aller au CHU pour se traiter

☐ La fréquence de la surveillance après un traitement par thérapie génique

☐ La possibilité que le foie développe une inflammation après un traitement par thérapie génique

☐ L'incertitude concernant les risques à long terme

☐ L'incertitude concernant l'efficacité à long terme

Q29. : Pour quelles raisons refuseriez-vous d'avoir recours à la thérapie génique ?

☐ Vous ne voulez pas changer de traitement car celui-ci vous convient

☐ Effets à long terme non connus

☐ Peur

☐ Manque de confiance dans les données présentées

☐ Risque encouru est trop important

☐ Autres : _____

Q30. A quelle fréquence seriez-vous prêt à réaliser des déplacements à l'hôpital ?

☐ Bi hebdomadaire

☐ Hebdomadaire

☐ Mensuelle

☐ Trimestrielle

☐ Tous les 6 mois

☐ Une fois par an

Q31. Pendant combien de temps pourriez-vous faire des déplacements réguliers à l'hôpital pour votre suivi selon la fréquence indiquée à la question précédente ?

☐ Jamais

☐ 1 mois

☐ 3 mois

☐ 6 mois

☐ 12 mois

☐ Plus de 12 mois

Q32. Seriez-vous prêt à accepter un contrôle biologique hebdomadaire pendant 6 mois puis mensuel jusqu'à la date anniversaire de la perfusion de thérapie génique ?

☐ Oui ☐ Non

Q33. Seriez-vous prêt à utiliser une contraception mécanique les mois suivants la perfusion ?

☐ Oui ☐ Non

Q34. Seriez-vous prêt à vous abstenir de consommer de l'alcool ou toute autre substance toxique pour le foie pendant les mois suivants la perfusion ?

☐ Oui ☐ Non

Q35. Suite à la lecture de ces nouveaux éléments, est-ce que la thérapie génique peut s'apparenter au traitement idéal de l'hémophilie en général selon votre avis ?

☐ Oui ☐ Non

Commentaires : _____

AUTEUR : Pauline PUYO

TITRE : THERAPIE GENIQUE EN HEMOPHILIE : IDENTIFICATION DE LA COHORTE DE PATIENTS ET DEFINITION DU CIRCUIT AU CHU DE TOULOUSE

DIRECTEUR DE THÈSE : Dr. Isabelle QUELVEN-BERTIN

LIEU ET DATE DE SOUTENANCE : Université Paul Sabatier Toulouse III, le 21 octobre 2022

RÉSUMÉ

La prise en charge des patients hémophiles a été considérablement améliorée ces dernières années grâce à l'évolution des traitements anti-hémophiliques. Cependant, s'agissant d'une maladie chronique, les traitements restent contraignants. Les résultats positifs des essais cliniques en cours de thérapie génique (TG) en hémophilie laissent entrevoir un nouvel espoir thérapeutique. Par ailleurs, l'EMA vient d'octroyer la première autorisation conditionnelle de mise sur le marché dans l'Union européenne pour le traitement de l'hémophilie A sévère. L'objectif de ce travail est d'anticiper l'organisation du circuit de TG en hémophilie au CHU de Toulouse et définir la cohorte de patients susceptibles d'en bénéficier. Par ailleurs, au vu du caractère innovant de ces thérapies et de la lourdeur du suivi thérapeutique qu'elles impliquent, la perception de la TG par les patients et l'acceptabilité des contraintes associées doivent être appréhendées ; un questionnaire a été élaboré à cet effet.

ABSTRACT

The management of patients with hemophilia has improved considerably in recent years thanks to the development of anti-hemophilic treatments. However, because this is a chronic disease, treatment remains stringent. Positive results of ongoing clinical trials suggest that gene therapy (GT) in hemophilia is a promising new treatment option. EMA has just granted the first conditional marketing authorization in the European Union for the treatment of severe hemophilia A. The objective of this work is to anticipate the organization of the GT circuit for patients with hemophilia in Toulouse University Hospital and to define the cohort of patients likely to benefit from it. In addition, given the innovative nature of these therapies and the strong therapeutic follow-up involved with, patient's perception of GT and acceptability of the associated constraints must be assessed. In order to do so, a questionnaire has been developed for this purpose.

DISCIPLINE administrative : Diplôme d'Études Spécialisées de Pharmacie Hospitalière

MOTS-CLES : Hémophilie, Thérapie génique, Circuit pharmaceutique, Pharmacie hospitalière

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Paul Sabatier Toulouse III

Faculté des Sciences Pharmaceutiques

35 Chemin des Maraîchers

31 062 Toulouse Cedex