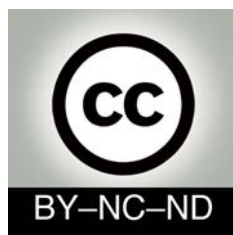




<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

**UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD -LYON 1
FACULTÉ DE PHARMACIE
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES**

2013

THÈSE n°3

THÈSE

Pour le DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 10 janvier 2013

Par

Mr TAILHEFER Hugo

Né le 12 octobre 1987

à Montpellier (34)

HÉMOPHILIE B : ACTUALITÉS ET PERSPECTIVES THÉRAPEUTIQUES

JURY

Madame VINCIGUERRA Christine, Professeur
Madame CHAMOUARD Valérie, Docteur en Pharmacie
Madame MEUNIER Sandrine, Docteur en Médecine
Monsieur NOUGIER Christophe, Docteur en Pharmacie
Monsieur GIROLLET Thibaut, Docteur en Pharmacie

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

- | | |
|---|------------------------|
| • Président de l'Université | M. François-Noël GILLY |
| • Vice-Président du Conseil d'Administration | M. Hamda BEN HADID |
| • Vice-Président du Conseil Scientifique | M. Germain GILLET |
| • Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire | M. Philippe LALLE |

Composantes de l'Université Claude Bernard Lyon 1

SANTE

- | | |
|---|--|
| • UFR de Médecine Lyon Est | Directeur : M. Jérôme ETIENNE |
| • UFR de Médecine Lyon Sud Charles Mérieux | Directeur : Mme Carole BURILLON |
| • Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques | Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA |
| • UFR d'Odontologie | Directeur : M. Denis BOURGEOIS |
| • Institut des Techniques de Réadaptation | Directeur : M. Yves MATILLON |
| • Département de formation et centre de recherche en Biologie Humaine | Directeur : M. Pierre FARGE |

SCIENCES ET TECHNOLOGIES

- | | |
|--|--|
| • Faculté des Sciences et Technologies | Directeur : M. Fabien DE MARCHI |
| • UFR de Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS) | Directeur : M. Claude COLLIGNON |
| • Ecole Polytechnique Universitaire de Lyon (ex ISTIL) | Directeur : M. Pascal FOURNIER |
| • I.U.T. LYON 1 | Directeur : M. Christophe VITON |
| • Institut des Sciences Financières et d'Assurance (ISFA) | Directrice : Mme Véronique MAUME-DESCHAMPS |
| • I.U.F.M. | Directeur : M. Alain MOUGNIOTTE |

Octobre 2012

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1
ISPB -Faculté de Pharmacie Lyon

Directrice : Madame la Professeure Christine VINCIGUERRA

Directeurs Adjoins : Madame Stéphanie BRIANCON
Monsieur Philippe LAWTON
Monsieur Pascal NEBOIS
Madame Stéphanie SENTIS
Monsieur Michel TOD

Directrice Administrative : Madame Patricia SILVEIRA

LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUE ET PHARMACIE GALENIQUE

- **CHIMIE ANALYTIQUE, GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**

Monsieur Jean-François SABOT (Pr)
Monsieur Alain BANNIER (MCU)
Monsieur Philippe BERNARD (MCU)
Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)
Monsieur Raphaël TERREUX (MCU – HDR)
Monsieur Pierre TOULHOAT (Pr - PAST)

- **PHARMACIE GALENIQUE -COSMETOLOGIE**

Madame Stéphanie BRIANCON (Pr)
Madame Françoise FALSON (Pr)
Monsieur Hatem FESSI (Pr)
Madame Joëlle BARDON (MCU - HDR)
Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (MCU - HDR)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Ghania HAMDI-DEGOBERT (MCU)
Monsieur Plamen KIRILOV (MCU)
Monsieur Fabrice PIROT (MCU - PH - HDR)
Monsieur Patrice SEBERT (MCU - HDR)

- **BIOPHYSIQUE**

Monsieur Richard COHEN (PU – PH)
Madame Laurence HEINRICH (MCU)
Monsieur David KRYZA (MCU – PH)
Madame Sophie LANCELOT (MCU - PH)
Monsieur Cyril PAILLER-MATTEI (MCU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE

- **DROIT DE LA SANTE**

Monsieur François LOCHER (PU – PH)
Madame Valérie SIRANYAN (MCU)

- **ECONOMIE DE LA SANTE**
Madame Nora FERDJAOUI MOUMJID (MCU)
Monsieur Hans-Martin SPÄTH (MCU)
Madame Carole SIANI (MCU – HDR)
- **INFORMATION ET DOCUMENTATION**
Monsieur Pascal BADOR (MCU - HDR)
- **HYGIENE, NUTRITION, HYDROLOGIE ET ENVIRONNEMENT**
Madame Joëlle GOUDABLE (PU – PH)
- **DISPOSITIFS MEDICAUX**
Monsieur Gilles AULAGNER (PU – PH)
Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)
- **QUALITOLOGIE – MANAGEMENT DE LA QUALITE**
Madame Alexandra CLAYER-MONTEMBAULT (MCU)
Monsieur François COMET (MCU)
Monsieur Vincent GROS (MCU PAST)
Madame Pascale PREYNAT (MCU PAST)
- **MATHEMATIQUES – STATISTIQUES**
Madame Claire BARDEL-DANJEAN (MCU)
Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)
Madame Marie-Paule PAULTRE (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT

- **CHIMIE ORGANIQUE**
Monsieur Pascal NEBOIS (Pr)
Madame Nadia WALCHSHOFER (Pr)
Monsieur Zouhair BOUAZIZ (MCU - HDR)
Madame Christelle MARMINON (MCU)
Madame Sylvie RADIX (MCU -HDR)
Monsieur Luc ROCHEBLAVE (MCU - HDR)
- **CHIMIE THERAPEUTIQUE**
Monsieur Roland BARRET (Pr)
Monsieur Marc LEBORGNE (Pr)
Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU - HDR)
Monsieur Thierry LOMBERGET (MCU - HDR)
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)
- **BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE**
Madame Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA (Pr)
Madame Anne-Emmanuelle DE BETTIGNIES (MCU)
Madame Isabelle KERZAON (MCU)
Monsieur Serge MICHALET (MCU)

- **PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT**

Madame Roselyne BOULIEU (PU – PH)
Madame Magali BOLON-LARGER (MCU - PH)
Madame Céline PRUNET-SPANO (MCU)
Madame Catherine RIOUFOL (MCU - PH)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

- **TOXICOLOGIE**

Monsieur Jérôme GUITTON (PU – PH)
Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)
Madame Léa PAYEN (MCU -HDR)
Monsieur Sylvain GOUTELLE (AHU)

- **PHYSIOLOGIE**

Monsieur Christian BARRES (Pr)
Monsieur Daniel BENZONI (Pr)
Madame Kiao Ling LIU (MCU)
Monsieur Ming LO (MCU - HDR)

- **PHARMACOLOGIE**

Monsieur Bernard RENAUD (Pr)
Monsieur Michel TOD (PU – PH)
Monsieur Luc ZIMMER (PU – PH)
Madame Bernadette ASTIER (MCU - HDR)
Monsieur Roger BESANCON (MCU)
Madame Evelyne CHANUT (MCU)
Monsieur Nicola KUCZEWSKI (MCU)
Madame Dominique MARCEL-CHATELAIN (MCU - HDR)
Monsieur Olivier CATALA (Pr PAST)
Monsieur Pascal THOLLOT (MCU PAST)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A

- **IMMUNOLOGIE**

Monsieur Jacques BIENVENU (PU – PH)
Madame Cécile BALTER-VEYSSEYRE (MCU - HDR)

- **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**

Madame Christine TROUILLOT-VINCIGUERRA (PU - PH)
Madame Brigitte DURAND (MCU - PH)
Monsieur Olivier ROUALDES (AHU)

- **MICROBIOLOGIE ET MYCOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE AUX BIOTECHNOLOGIE INDUSTRIELLES**

Monsieur Patrick BOIRON (Pr)
Madame Ghislaine DESCOURS (AHU)
Monsieur Jean FRENEY (PU – PH)
Madame Florence MORFIN (PU – PH)

Monsieur Didier BLAHA (MCU)
Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU)
Madame Emilie FROBERT (MCU - PH)
Madame Véronica RODRIGUEZ-NAVA (MCU)

- **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**
Madame Anne-Françoise PETAVY (Pr)
Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)
Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU - HDR)
Monsieur Philippe LAWTON (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B

- **BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULAIRE - BIOTECHNOLOGIE**
Madame Pascale COHEN (Pr)
Monsieur Alain PUISIEUX (PU - PH)
Monsieur Karim CHIKH (MCU - PH)
Madame Carole FERRARO-PEYRET (MCU - PH)
Madame Caroline MOYRET-LALLE (MCU – HDR)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Stéphanie SENTIS (MCU)
Monsieur Olivier MEURETTE (MCU)
Monsieur Benoit DUMONT (AHU)
- **BIOLOGIE CELLULAIRE**
Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU - HDR)
- **INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON**
Monsieur Philippe LAWTON (MCU - HDR)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Monsieur Patrice SEBERT (MCU – HDR)
Madame Valérie VOIRON (MCU - PAST)
- **Assistants hospitalo-universitaires sur plusieurs départements pédagogiques**
Madame Emilie BLOND
Madame Christelle MOUCHOUX
Madame Florence RANCHON
- **Attachés Temporaires d’Enseignement et de Recherche (ATER)**
Monsieur Eyad AL MOUAZEN 85^{ème} section
Monsieur Boyan GRIGOROV 87^{ème} section
Madame Faiza LAREDJ 85^{ème} section
Monsieur Waël ZEINYEH 86^{ème} section

Pr : Professeur

PU-PH : Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

MCU : Maître de Conférences des Universités

MCU-PH : Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier

HDR : Habilitation à Diriger des Recherches

AHU : Assistant Hospitalier Universitaire

PAST : Personnel Associé Temps Partiel

REMERCIEMENTS

A MON JURY

Madame Christine Vinciguerra,

Merci de m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse et d'en présider le jury.
Merci de votre passion, de votre engagement, de votre disponibilité malgré vos responsabilités, de votre bonne humeur communicative et de tout le temps passé dans la direction de cette thèse.
Merci d'avoir été une enseignante remarquable mais aussi une directrice de thèse exceptionnelle.
Merci de mettre toutes vos qualités au service de l'université, de l'ISPB et de ses étudiants.

Madame Valérie Chamouard,

Vous me faites l'honneur de votre présence au sein de ce jury.
Merci pour vos conseils avisés et toujours positifs lors de nos rencontres.
Merci de m'avoir fait partager votre expérience dans les traitements de l'hémophilie.
Soyez assurée de ma sincère reconnaissance.

Madame Sandrine Meunier,

Vous me faites l'honneur de votre présence au sein de ce jury.
Merci de m'avoir permis d'assister à certaines de vos consultations au CRTH.
Merci de vos conseils, de votre bonne humeur, de votre disponibilité et de votre modestie.
Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect.

Monsieur Christophe Nougier,

Vous me faites l'honneur de votre présence au sein de ce jury.
Merci de votre accueil et de votre encadrement bienveillant lors de mon stage dans le service d'hémostase.
Merci de votre sincérité, de votre confiance, de votre amitié et de tout ce que vous m'avez enseigné.
Vous savez toute ma reconnaissance.

Monsieur Thibaut Girollet,

Vous me faites l'honneur de votre présence au sein de ce jury,
Merci pour vos conseils dans le cadre de cette thèse.
Merci de cette amitié sincère empreinte de respect, de franchise et de valeurs partagées qui nous a menés aux quatre coins de la France pour représenter les étudiants lyonnais.

Mes remerciements vont également à ...

Mesdames Angèle Garcia et Marie Gineste,

Merci de vos conseils avisés.

Merci pour toute l'expérience du vécu de la maladie et du traitement que vous m'avez enseignée.
Merci de m'avoir permis d'assister au traitement et à l'apprentissage de l'auto-traitement chez les patients.

Madame Anne Lienhart et Monsieur Claude Négrier

Merci de m'avoir permis d'assister à certaines de vos consultations au CRTH.

Merci d'avoir bien voulu partager avec moi votre expérience de soignants.

**L'équipe du Centre de Documentation et d'Information Pharmaceutique de la pharmacie centrale,
et l'équipe du service d'hémostase et du CRTH de l'Hôpital Édouard Herriot, et leurs internes**

Monique, Anne, Xavier, Stephan, Camille, Zeynep, Sylvie, Frédéric, Mathilde, Lucia, Yesim, Yoann,
Brigitte, Hélène, Christine, Anne-Sylvie, Cathy, Muriel, Ghislain, Domitille, Clément

Merci pour votre bonne humeur, votre bienveillance et votre passion.

Ça a été un plaisir de travailler à vos côtés.

A MA FAMILLE

A mes parents,

Merci de votre éducation, de votre confiance, de vos conseils et de votre amour.
Merci de m'avoir permis d'étudier et de faire mes choix de vie sans contraintes,
Merci d'être les parents exceptionnels que vous êtes.
Merci d'avoir pris le temps de relire cette thèse.

A ma petite sœur,

Je t'aime et je te protégerais toujours comme « ma princesse », dans la cour d'école et dans la vie.
J'espère que tu prendras confiance en toi. Tout le chemin déjà parcouru, tous tes engagements et ton travail ne méritent que respect, admiration et succès.

A mes grands frères,

Merci à vous deux pour m'avoir enseigné la vie à votre façon, pour tous les bons moments passés, pour votre bienveillance et pour la fraternité qui nous unit et nous rapprochera encore je l'espère dans l'avenir.
Je vous souhaite tous les bonheurs que vous méritez dans votre vie, personnelle et professionnelle.

A mes grand-mères,

qui nous ont quittés durant la rédaction de cette thèse

Merci de votre amour, de votre bienveillance et de votre sagesse,
merci pour les valeurs de vie que vous m'avez enseignées et qui me guident à chaque pas.
J'espère que vous auriez été fiers de ce travail et de mon parcours de vie.
Je ne vous oublie pas.

A mes grands-pères,

Merci pour tous vos conseils et le partage de vos expériences de vie toujours très enrichissant.

A ma famille et à celle de ma marraine,

Merci pour tous ces moments inoubliables passés ensemble lors des fêtes ou des vacances.
Pour tout cet amour réciproque qui nous unit et ces anecdotes mémorables qui font la vie d'une famille.

Et enfin un MERCI particulier à Clémentine,

pour tout l'amour que tu me donnes chaque jour,
pour la femme admirable que tu es, pour ta sincérité et ton attention constante aux gens que tu aimes,
pour toutes ces raisons qui me rendent heureux et incroyablement fier d'être à tes côtés
et de t'aimer chaque jour.

A MES AMIS

Merci à ma bande de potes du lycée et d'avant, pour votre amitié sincère qui nous a permis de rester liés malgré la distance et de toujours nous retrouver avec un plaisir intact et non-dissimulé :
Lolo, Ali, Fab, Élo, Jérèm, Lilice (ma fille), Gauthier, Rémi.

Merci au bureau de l'AAEPL 2009-2010, Lance-bûche, Thibox, Rém's, Krott, Looping, Delpiche.
Merci pour cette expérience inoubliable à vos côtés, tous ses moments passés entre Barbeuk's, les évènements, les AG, la fatigue, la joie, les PV, le sapin, les communards, l'Amicale quoi.
« Proposition Réunion de Burô » autour d'un barbeuk' en été, tous les ans, je vote pour.

Un merci appuyé à Catherine Girardi qui nous a accompagnés dans cette aventure.
Une pensée toute particulière pour les bureaux de Clément, de Brice et de Jo,
qui ont pris le relai depuis, et de bien belle manière, merci de votre engagement pour les adhérents.

Merci à tous les amis, parce que ces belles années d'étude l'ont été grâce à vous , p'tit Lolo, Bishop, Olivia, Fabrice, Marmotte (marraine de coeur), Djé Saby, Raf, Lulu, JC, Tom, Maxime Beltier, Habire, Clément, Sandra, Stéph', Poire, Mél', Alex, Adeline, Yohan, Yana, Thibaut, Alexis, Alice, Maxence, Flover, Hugo, les footeux du lundi, les amis de Bacchus, mes collègues du CEVU, les montréalais : Charles, Félix, Chaïma, Saïd, Daniel, Marie-Claire, Redouane, Doudou, David. Merci pour tout, vos conseils, votre aide, votre amitié, les soirées, les skis, les Espagnes, les galas, le concours, les révisions et même les projets d'équipes mémorables.
Mon amitié pour vous va bien au-delà des études.

A MON UNIVERSITÉ, A MON INSTITUT ET A MON ÉCOLE

Merci pour le savoir qui m'a été enseigné.

Merci à mon université d'avoir été, tout au long de mes études lyonnaises, ouverte et à l'écoute des étudiants.
Merci aux personnels de l'université pour votre amitié et votre confiance :
Joce', Nadira, Patricia, Jean, Dédé, Laurent Gallois, Alain Bizeul, Lionel Collet, François Locher.

Merci au CDIP et au Service Commun de Documentation de l'université
qui m'ont permis d'accéder à la plupart des références bibliographiques de cette thèse

AUX SOIGNANTS ET AUX CHERCHEURS

Merci pour tout le travail réalisé sur lequel cette thèse s'appuie.
Puisse-t-elle être un hommage à tous ceux qui ont consacré leur vie à améliorer celles des autres.

PLAN GÉNÉRAL

INTRODUCTION

CHAPITRE I : L'HÉMOPHILIE B

- I. Physiopathologie
- II. Épidémiologie
- III. Diagnostic
- IV. Manifestations cliniques
- V. Vie au quotidien

CHAPITRE II : RAPPELS SUR LES THÉRAPIES EXISTANTES ET DISCUSSION

- I. Historique des thérapies
- II. Thérapies actuelles
- III. Discussion et comparaison des différentes thérapies
- IV. Principaux obstacles dans la mise en place des thérapies actuelles

CHAPITRE III : PERSPECTIVES DANS LE TRAITEMENT DE L'HÉMOPHILIE B

- I. Allonger la demi-vie plasmatique du facteur IX injecté
- II. Augmenter l'activité pro-coagulante du traitement
- III. Réduire les coûts des traitements
- IV. Réduire ou éviter l'immunogénicité associée aux traitements
- V. Thérapie génique
- VI. Discussion

CONCLUSIONS

BIBLIOGRAPHIE

PLAN DÉTAILLÉ

INTRODUCTION	p.12
CHAPITRE I : L'HÉMOPHILIE B	p.14
I. Physiopathologie	p.15
1. Le facteur IX	p.15
2. Génétique de l'hémophilie B	p.22
II. Épidémiologie	p.24
III. Diagnostic	p.25
1. Enjeux du diagnostic	p.25
2. Diagnostic positif	p.25
3. Diagnostic clinique	p.25
4. Diagnostic biologique	p.26
5. Diagnostic différentiel	p.28
6. Diagnostic génotypique	p.29
7. Diagnostic prénatal	p.30
8. Enjeux de l'annonce	p.31
IV. Manifestations cliniques	p.32
1. Hémarthroses	p.32
2. Hématomes musculaires	p.33
3. Hémorragies externes	p.36
4. Autres hémorragies à fort risque potentiel	p.36
V. Vie au quotidien	p.37
1. Un réseau autour des malades	p.37
2. Comprendre sa pathologie et son traitement	p.40
3. Être compris par les autres	p.42
4. La vie en pratique	p.43
5. Analyse selon le principe de DALY	p.44

CHAPITRE II : RAPPELS SUR LES THÉRAPIES EXISTANTES ET DISCUSSION	p.47
I. Historique des thérapies	p.48
II. Thérapies actuelles	p.54
1. Les concentrés de FIX	p.55
1. Fabrications	p.55
2. Tests de sécurité virale et tests pharmacocinétiques	p.62
3. Autorisation de mise sur le marché et prix de vente	p.66
4. Sécurisation des médicaments dérivés du sang et pharmacovigilance	p.67
2. Schémas thérapeutiques	p.70
1. Établissement de la dose à injecter	p.70
2. Traitement à la demande	p.71
3. Thérapie préventive : les prophylaxies	p.74
III. Discussion et comparaison des différentes thérapies	p.78
1. Facteur IX dérivé du plasma et Facteur IX recombinant	p.78
2. Traitement à la demande et Prophylaxies de long terme	p.86
3. Injections discontinues et Perfusion continue en chirurgie	p.101
4. Niveau de preuve dans la littérature portant sur l'hémophilie B	p.107
IV. Principaux obstacles dans la mise en place des thérapies actuelles	p.111
1. Disparités mondiales dans le diagnostic de la maladie et l'accès aux thérapies	p.111
2. Défaut d'adhérence aux thérapies	p.120
3. Allo-anticorps inhibiteurs	p.124
 CHAPITRE III : PERSPECTIVES DANS LE TRAITEMENT DE L'HÉMOPHILIE B	 p.128
I. Allonger la demi-vie plasmatique du facteur IX injecté	p.129
1. Conjugaison à des polymères hydrophiles	p.129
2. Protéines fusion	p.134
3. Synthèse sur l'allongement de la demi-vie du FIX	p.139
II. Augmenter l'activité pro-coagulante du traitement	p.141
1. Facteur IX à activité pro-coagulante augmentée	p.141
2. Agents ciblant les inhibiteurs de la coagulation	p.144
III. Réduire les coûts des traitements	p.145
1. Amélioration des procédés de fabrication	p.145
2. Biosimilaires	p.146
IV. Réduire ou éviter l'immunogénicité associée aux traitements	p.148
1. Réduire l'immunogénicité du facteur IX recombinant	p.148
2. Éviter l'immunogénicité à l'aide de nouveaux « by-passants »	p.149
V. Thérapie génique	p.150
VI. Discussion	p.156
 CONCLUSIONS	 p.157
 BIBLIOGRAPHIE	 p.160

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Schémas simplifiés - cascades d'activation des facteurs de coagulation chez une personne non hémophile et chez une personne hémophile B sévère.....	16
Figure 2. Du gène au facteur IX activé.....	18
Figure 3. Structure secondaire du prépro-facteur IX	19
Figure 4. Représentation schématique de l'activation de la protéine mature du facteur IX sérique....	20
Figure 5. Transmissions possibles de l'hémophilie	23
Figure 6. Répartition des degrés de sévérité en fonction de l'hémophilie dans le RFC	24
Figure 7. Hémarthroses du genou.....	33
Figure 8. Hématome de la main faisant suite à une ponction veineuse et hématome consécutif à un traumatisme frontal.....	34
Figure 9. Hématome des muscles de la cuisse droite, vue clinique	34
Figure 10. Hématome du muscle psoas-iliaque droit et hématome du muscle psoas-iliaque gauche vu en tomодensitométrie.....	34
Figure 11. Hématome des muscles ischiojambiers droit, infiltration interfasciculaire de l'épanchement sanglant.....	35
Figure 12. Schéma de l'histoire des thérapies de l'hémophilie B et des faits marquants associées à la pathologie.....	51
Figure 13. Schéma général simplifié du fractionnement des protéines plasmatiques	56
Figure 14. Tailles relatives de virus et de protéines.....	58
Figure 15. Principales étapes de production des concentrés en facteur IX plasmatique	59
Figure 16. Principales étapes de production du concentré de facteur IX d'origine recombinante	61
Figure 17. Recommandations européennes actuelles en matière de recherche clinique sur les concentrés en facteur IX plasmatiques ou recombinants	66
Figure 18. Sécurisation des médicaments dérivés du sang humain chez LFB	68
Figure 19. Présentation schématique des principaux avantages des concentrés de FIX issus du plasma (pdFIX) et des concentrés de FIX d'origine recombinante (rFIX)	84
Figure 20. Distributions de la consommation annuelle totale de FAH chez des patients hémophiles B sévères ($\leq 1\%$) suédois et norvégiens nées entre 1954 et 1985, traités à la demande ou par PLT, données réunies de 1989 à 1999.	88
Figure 21. Présentation schématique des principaux avantages du traitement à la demande et de la prophylaxie de long terme	89
Figure 22. Graphique de Kaplan-Meier du développement de l'arthropathie, représenté par un score orthopédique articulaire non nul, chez des patients entamant un traitement prophylactique avant l'âge de 3 ans, entre 3 et 5 ans ou de 6 à 9 ans.	90
Figure 23. Diagramme de dispersion indiquant la corrélation entre le nombre moyen d'hémarthroses par an pour chaque patient sous traitement prophylactique à une injection ou plusieurs injections par semaine	91

Figure 24. Distribution cumulative de l'âge à la première hémarthrose chez 71 patients hémophiles sévères ($\leq 1\%$) nés entre 1965 et 1985.....	92
Figure 25. Présentation schématique des principaux avantages de la prophylaxie secondaire continue et de la prophylaxie primaire.....	93
Figure 26. Modalités actuelles et comparaisons de différentes stratégies de traitement prophylactique nationales.....	94
Figure 27. Traitement à la demande et traitement prophylactique des hémophiles B sévères aux États-Unis en fonction de leur tranche d'âge	98
Figure 28. Clairance du FIX chez cinq patients hémophiles B modérés ou mineurs sous perfusion continue en FAH	103
Figure 29. Présentation schématique des atouts et des risques associés à l'utilisation de la perfusion continue dans le cadre d'une chirurgie.	104
Figure 30. Hiérarchie de la preuve : confiance portée à une étude pour orienter les choix cliniques selon ses caractéristiques	107
Figure 31. Population en millions d'habitants, nombre de patients hémophiles B théorique et nombre de patients rapporté dans les 20 pays les plus peuplés de l'enquête mondiale de la WFH de 2010	111
Figure 32. Diagramme en boîte représentant la distribution de la prévalence de l'hémophilie B pour 100 000 personnes dans 105 pays classés selon la classification de la banque mondiale et du RNB par habitant.....	113
Figure 33. Diagramme en boîte représentant la distribution de la consommation de FIX par habitant dans 90 pays classés selon la classification de la banque mondiale et du RNB par habitant.....	115
Figure 34. Consommation moyenne de FIX par habitant (<i>per capita</i>) et par patient dans 52 pays classés selon la classification de la banque mondiale et du RNB par habitant.....	116
Figure 35. Répartition des patients hémophiles en fonction de leur tranche d'âge dans 71 pays classés selon la classification de la banque mondiale et du RNB par habitant.....	118
Figure 36. Taux d'adhérence et incidence des épisodes hémorragiques de patients hémophiles sévères de 71 CTH américains en fonction de leur tranche d'âge	121
Figure 37. Proportion de 108 patients hémophiles sévères et modérés se percevant comme ayant les mêmes opportunités qu'un patient non hémophile sur différents sujets	122
Figure 38. Principe de la réponse immunitaire humorale possible suite à l'injection d'un FIX exogène.....	124
Figure 39. Structure schématique d'une protéine mono-PEGylée	130
Figure 40. Conception schématique de l'essai NCT00956345	131
Figure 41. Profils des activités plasmatiques moyennes en FIX estimées chez 15 patients hémophiles B adultes modérés et sévères ($\leq 2\%$) en réponse à différents traitements, pour une dose injectée de 50 U.kg ⁻¹ selon une hypothèse de linéarité des activités plasmatiques en fonction de la dose injectée	132
Figure 42. Schéma représentant le mécanisme hypothétique de recyclage pH-dépendant de l'albumine plasmatique par liaison au FcRn	134

Figure 43. Profils d'activité plasmatiques hypothétiques de 1 000 patients hémophiles B sévères ou modérés ($\leq 2\%$) adultes obtenus par simulation de Monte Carlo sur la base des paramètres PK et des variances obtenus lors d'essais de phase I/IIa sur 11 patients, dans le cadre d'une prophylaxie visant une activité plasmatique supérieure ou égale à 1% selon différentes modalités de dose et de fréquence d'injection de rFIXFc	136
Figure 44. Représentation schématique du rIX-FP	137
Figure 45. Profils des activités plasmatiques moyennes en FIX estimées chez 13 patients hémophiles B modérés et sévères ($\leq 2\%$) entre 12 et 65 ans en réponse à différents traitements, pour une dose injectée de 50 U.kg^{-1}	138
Figure 46. Représentations schématiques des domaines du FIX sauvage et du FIX _{VIIIEGF1}	141
Figure 47. Structure du complexe tenase entre le FVIIIa et le FIXa-Triple	143
Figure 48. Thérapie génique somatique <i>in vivo</i> et <i>ex vivo</i>	150
Figure 49. Présentation des sérotypes AAV les plus couramment utilisés pour le transfert de gène chez l'animal et de leurs tropismes préférentiels respectifs	151
Figure 50. Profils d'activité biologique plasmatique du FIX, de concentration d'ALAT et réponse immunitaire au cours des premières semaines de traitement de TGS <i>in vivo</i> réalisée par injection veineuse périphérique d'une dose de $2.10^{12} \text{ vg.kg}^{-1}$ d'un vecteur AAV8 amélioré chez deux patients hémophiles B sévères adultes : sujet 5 et sujet 6	154
Figure 51. Profil d'activité biologique plasmatique théorique en FIX au cours d'un traitement par FIX à demi-vie prolongée	156

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Positions et tailles des exons et introns du gène du facteur IX	17
Tableau II. Degrés de sévérité d'hémophilie B en fonction de l'activité coagulante du FIX	21
Tableau III. Estimation des DALY liées à l'hémophilie aux États-Unis en 2007	45
Tableau IV. Comparaison de l'efficacité de différents procédés d'inactivation ou d'élimination sur les principaux virus ou ATNC.....	58
Tableau V. Activité spécifiques, demi-vie d'élimination et taux de récupération des concentrés de facteur IX commercialisés en France selon leurs monographies.....	64
Tableau VI. Comparaison des taux de récupération et des coefficients <i>f</i> des concentrés de facteur IX commercialisés en France selon leurs monographies.....	70
Tableau VII. Activité par flacon des concentrés de FIX commercialisés en France associées à leur volume de reconstitution et d'injection.....	71
Tableau VIII. Doses recommandées pour le traitement à la demande de l'hémophilie B selon différentes recommandations nationales	72
Tableau IX. Niveaux de facteur IX et recommandations pour le traitement à la demande de l'hémophilie à l'échelle mondiale selon l'OMS, l'ISTH et la WFH pour tous les pays, et selon la WFH en fonction des restrictions sur l'accès aux concentrés de facteurs.	73
Tableau X. Doses recommandées pour le traitement péri-opératoire de l'hémophilie B selon différentes recommandations nationales	77
Tableau XI. Niveaux de facteur IX et traitements péri-opératoires recommandés à l'échelle mondiale selon l'OMS, l'ISTH et la WFH pour tous les pays, et selon la WFH en fonction des restrictions sur l'accès aux concentrés de facteurs.	77
Tableau XII. Données pharmacocinétiques (écart-type) issues d'études sur les concentrés de FIX plasmatiques et recombinants.....	80
Tableau XIII. Répartition des études publiées dans la base de données Pubmed™ selon leurs caractéristiques pour le traitement de l'hémophilie, de l'AVC et de la maladie d'Alzheimer	108
Tableau XIV. Activités spécifiques de différents FIX.....	137
Tableau XV. Tableau récapitulatif des principaux FIX à demi-vie prolongée en développement.....	139
Tableau XVI. Activités spécifiques moyennes (\pm écart-type) de différents FIX mutés ou sauvage (Wild Type) par dosage coagulométrique	143

LISTE DES ABRÉVIATIONS

(par ordre alphabétique)

aa : acide aminé

AAV : Adeno-Associated Virus : virus associés aux adénovirus

aBLA : abbreviated Biologic License Application

Ac : Anticorps

ACC : Anticoagulants circulants

ADNc : Acide DésoxyriboNucléique complémentaire

AFH : Association Française des Hémophiles

AFS : Agence Française du Sang

AFSSaPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé

Ag : Antigène

AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien

ALAT ou **ALT** : Alanine AminoTransférase

ALD : Affection Longue Durée

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

APC : Activated Protein C : protéine C activée

aPTT : activated Partial Thromboplastin Time

ARNm : Acide RiboNucléique messenger

ARS : Agence Régionale de Santé

AS : Activité Spécifique

ATNC : Agents Transmissibles Non Conventionnels ou prions

ATU : Autorisation Temporaire d'Utilisation

AUC : Area Under the Curve : aire sous la courbe

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

AVK : Anti-Vitamine K

BAP : By-passing Agents Prophylaxis : prophylaxie par agents « by-passants »

BCS : Banque de Cellules Souches

BCT : Banque de Cellules de Travail

β-hCG : β-human Chorionic Gonadotropin : sous-unité β de l'hormone gonadotrophine chorionique humaine

BI : *Bolus* Injection

BLA : Biologic License Application

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication

BPWG : Blood Product Working Group : groupe de travail sur les produits sanguins

CCP : Concentré de Complexe Prothrombique

CCPa : Concentré de Complexe Prothrombique activé

CEPS : Comité Économique des Produits de Santé

CHEF-1 : Chinese Hamster Elongation Factor 1

CHO : Chinese Hamster Ovary cells : cellules d'ovaire de hamster chinois

CI : Continuous Infusion
CIVD : Coagulation Intra-Vasculaire Disséminée
Cl : Clairance
CMH : Complexe Majeur d'histocompatibilité
COMETH : Coordination Médicale pour l'Étude et le Traitement de l'Hémophilie
CPA : Cellules Présentatrices d'Antigène
CRTH : Centre Régional de Traitement de l'Hémophilie
CTH : Centre de Traitement de l'Hémophilie
CTP : Peptide C-Terminal
CUA : Cost Utility Analysis : analyse coût-efficacité
CVAD : Central Venous Access Device : dispositif d'accès veineux central ou chambre implantable
DALY : Disability-Adjusted Life Years
DEAE : Diéthylaminoéthyl
DHPC : Déficit Héritaire en Protéine de Coagulation
DICS : Déficit Immunitaire Combiné Sévère
DPN : Diagnostic Prénatal
DSP : Downstream Processing
EAHAD : European Association for Haemophilia and Allied Disorders
EFS : Établissement Français du Sang
EGF : Epidermal Growth Factor : Facteur de croissance épidermique
EHTSB : European Haemophilia Therapy Standardization Board
ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay : dosage d'immunoabsorption par enzyme liée
EMA : European Medicines Agency
EMA : European Medicine Evaluation Agency : agence européenne d'évaluation du médicament
EPO : Érythropoïétine
ESCHQoL : European Study of Clinical, Health economic and Quality of Life outcomes
ESST : Encéphalopathie Subaiguë Spongiforme Transmissible
ETP : Éducation Thérapeutique du Patient
FAH : Facteur anti-hémophilique
Fc : Fragment constant d'une immunoglobuline
FcRn : Récepteur néonatal du fragment Fc
FDA : Food and Drug Administration
FIX : Facteur de coagulation IX
FIXa : Facteur IX activé
FIX-WT : FIX Wild Type : FIX sauvage
FT : Facteur tissulaire
FVIII : Facteur de coagulation VIII
GAP : Global Alliance for Progress
Gla : acide gamma-carboxyglutamique
Glu : acide glutamique
HAS : Haute Autorité de Santé
HBV : Hepatitis B Virus : Virus de l'Hépatite B
HCV : Hepatitis C Virus : Virus de l'Hépatite C
hGH : human Growth Hormon : hormone de croissance humaine

HIV : Human Immunodeficiency Virus : Virus de l'Immunodéficience Humaine
HTC : Hemophilia Treatment Center : centre de traitement de l'hémophilie
HTLV : Human T-cell Leukemia/Lymphoma Virus
ICER : Incremental Cost Effectiveness Ratio
IMG : Interruption Médicale de Grossesse
INR : International Normalized Ratio : ratio international normalisé
INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
InVS : Institut de Veille Sanitaire
IR : Indice de Rosner
ISTH : International Society of Thrombosis and Haemostasis
ITI : Induction de Tolérance Immune
IVR : *In Vivo* Recovery : taux de récupération
KHPM : Kininogène de Haut Poids Moléculaire
LFB : Laboratoire français du Fractionnement et des Biotechnologies
MASAC : Medical And Scientific Advisory Council
MDS : Médicaments Dérivés du Sang
MPT : Modifications Post-Traductionnelles
MRT : Mean Residence Time : temps de résidence de moyen
NANA : N-acetylneuraminic acid : acide N-acétylneuraminique
NaSCN : Thiocyanate de sodium
NASP : Non-Anticoagulant Sulfated Poysaccharides : polysaccharides sulfatés non-anticoagulant
NFS : Numération Formule Sanguine
NHF : National Hemophilia Foundation
nt : nucléotide
OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Économique
OMS ou **WHO** : Organisation Mondiale de la Santé ou World Health Organisation
PACE : Paired basic Amino acid Cleaving Enzyme
PAI : Projet d'Accueil Individualisé
PD : Pharmacodynamique
pdFIX : plasma-derived FIX : FIX d'origine plasmatique
PedNet : réseau pédiatrique européen pour la prise en charge de l'hémophilie
PEG : PolyÉthylene Glycol
PIH : Prescription Initiale Hospitalière
PK : PharmacoKinetic : pharmacocinétique
Pk : Prékallitréine
PLT : Prophylaxie de Long Terme
PP : Primary Prophylaxis : prophylaxie primaire
PPSB : Proconvertine, Prothrombine, Stuart, anti-hémophilique B : facteurs VII, II, X, IX
PSA : polysialic acid : acide polysialique
PTP : Previously Treated Patient : patient préalablement traité
PTT : Protocole Thérapeutique Temporaire
PUI : Pharmacie à Usage Intérieur
PUP : Previously Untreated Patient : patient naïf
QALY : Quality-Adjusted Life Years

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit
RCT : Randomized Controlled Trials : essais randomisés contrôlés
REG : Réticulum Endoplasmique Granuleux (ou **RER** : RE Rugueux)
RFC : Réseau FranceCoag
rFIX : FIX recombinant
RNB : Revenu National Brut
S/D : Inactivation virale par incubation dans un Solvant et un Détergent
SA : Semaine d'Aménorrhée
SCBT : Sequential Combined Bypassing Therapies : traitement combiné séquentiel d'agents « by-passants »
SF-36 : Medical outcomes trust Short Form 36
SNC : Système Nerveux Central
SNH : Suivi National Thérapeutique des Hémophiles
SP : Secondary Prophylaxis : prophylaxie secondaire
SPR : Résonance Plasmonique de Surface
t_{1/2} : Temps de demi-vie
TCA : Temps de Céphaline avec Activateur
TCID : Tissue Culture Infective Dose : dose infectieuse d'une culture cellulaire
TCR : T-cell receptor
TDM : Therapeutic Drug Monitoring
TFPI : Tissue Factor Pathway Inhibitor : inhibiteur de la voie du facteur tissulaire
TGE : Thérapie Génique Embryonnaire
TGS : Thérapie Génique Somatique
T_H : Lymphocyte T helper
TNBP : Tri-n-butyl-phosphate
TNF α : Tumour Necrosis Factor α
TP : Taux de complexe Prothrombique
TQ : Temps de Quick
UB : Unité Bethesda (ou **BU** : Bethesda Unit)
UI : Unité Internationale (ou **IU** : International Unit)
UKHCDO : United Kingdom Haemophilia Center Doctor's Organisation
Vd : Volume de distribution
v-MCJ : variant de la Maladie de Creutzfeldt Jakob
WFH : World Federation of Hemophilia (ou **FMH** : Fédération Mondiale de l'Hémophilie)
YLD : Years of life resulting from disability
YLL : Years of life resulting from mortality

INTRODUCTION

L'hémophilie B est une maladie hémorragique constitutionnelle et chronique qui affecte toutes les populations de la planète avec une prévalence d'environ 1 pour 50 000 personnes (40). Il s'agit d'une pathologie récessive liée à l'X qui touche presque exclusivement les hommes. Chez ces patients hémophiles B, le syndrome hémorragique est secondaire à un défaut qualitatif ou quantitatif en facteur de coagulation IX (FIX), aussi appelé facteur anti-hémophilique B (FAH B). Le FIX participant à une étape essentielle de l'hémostase, son absence ou son mauvais fonctionnement est à l'origine de la formation d'un caillot de mauvaise qualité et du développement d'un phénotype hémorragique en absence de traitement adéquat. Toutes les localisations du syndrome hémorragique sont possibles mais les plus fréquemment observées sont situés aux niveaux articulaires et musculaires.

Différents degrés de sévérité de l'hémophilie ont été établis : mineure, modérée, sévère, sur la base du taux d'activité biologique plasmatique de FAH. Généralement, ce taux de FAH circulant est corrélé aux manifestations cliniques observées. Chez les hémophiles B présentant un phénotype hémorragique sévère en absence de traitement, la pathologie est à l'origine d'hémarthroses récidivantes et douloureuses qui peuvent aboutir à une destruction irréversible de l'articulation avec rétractions tendineuses et amyotrophie des muscles adjacents. Ce syndrome, évoqué sous le nom d'arthropathie hémophilique, est source d'un handicap majeur et d'une diminution de l'espérance et de la qualité de vie pour les patients hémophiles B. En pratique, compte-tenu des complications hémorragiques éventuelles associées à la maladie, de leurs possibles répercussions en termes de handicap et de difficultés d'insertion sociale, l'hémophilie nécessite une prise en charge pluridisciplinaire.

Bien qu'à l'heure actuelle l'hémophilie soit une maladie dont on ne guérit pas, les évolutions des connaissances en hématologie, des techniques de purification, de la génétique et du génie biopharmaceutique ont permis une évolution spectaculaire des traitements de cette maladie millénaire au cours des cinquante dernières années. Désormais, le traitement de référence est un traitement substitutif en concentrés de FIX exogène de haute pureté d'origine plasmatique ou recombinante. Il permet de traiter et de prévenir l'apparition des épisodes hémorragiques et ainsi empêcher l'évolution vers l'arthropathie. Si des questions persistent quant au schéma thérapeutique idéal à adopter à partir de ces concentrés de FIX, l'espérance de vie de certains patients hémophiles B traités par prophylaxie est aujourd'hui très proche de celle d'une personne non atteinte. Mais de grandes difficultés sont encore à surmonter afin que ce constat puisse être une réalité pour tous les patients hémophiles : les grandes disparités mondiales dans le diagnostic de la pathologie et l'accès aux thérapies, le défaut d'adhérence au traitement, et le développement d'anticorps dirigés contre le FIX exogène. Pour toutes ces raisons, l'hémophilie B mobilise plus que jamais l'industrie pharmaceutique, les chercheurs, les soignants et les patients du monde entier et de nombreuses thérapies nouvelles sont actuellement à des stades avancés de leur développement. La thérapie génique, qu'on a longtemps cru être à portée de main depuis la fin des années 80, a montré en 2012 des résultats plus encourageants que jamais et les espoirs de la communauté hémophile mondiale sont de nouveau permis à ce sujet.

Face à une multitude de schémas thérapeutiques innovants et de thérapies en développement, il était important aujourd'hui de faire le point sur l'hémophilie B, ce que l'on sait de la pathologie, des traitements actuels et à venir. C'est dans cette optique que ce travail s'inscrit. Il permettra dans un premier temps d'évoquer l'hémophilie B et le vécu du patient au quotidien. Par la suite, un deuxième chapitre sera consacré aux thérapies actuelles, synthétisant les principaux débats sur les modalités d'un schéma thérapeutique idéal et présentant les principaux obstacles à sa mise en place à l'échelle mondiale. Enfin, les perspectives de traitement de l'hémophilie B, leurs principes, leur stade d'avancement dans les essais cliniques, feront l'objet d'un troisième et dernier chapitre.

CHAPITRE I : L'HÉMOPHILIE B

I. PHYSIOPATHOLOGIE

L'hémophilie est une maladie hémorragique héréditaire, récessive, liée à l'X (8). À l'origine de l'hémophilie, des mutations vont aboutir à une diminution dans la production de facteur de coagulation fonctionnel. Parmi ces déficits en facteur, on distingue des déficits quantitatifs (défauts de production) et des déficits qualitatifs (défauts de fonctionnalité). Deux types d'hémophilie existent selon le facteur de coagulation déficitaire : hémophilie A si le déficit est lié au facteur de coagulation VIII (FVIII), et hémophilie B si le déficit est lié au FIX (1).

I.1. Le facteur IX

II.1.1. Le rôle du facteur IX dans l'hémostase

L'hémostase constitue l'ensemble des phénomènes observés après une lésion vasculaire pour arrêter le saignement. Elle se décompose en trois étapes (83) :

- L'**hémostase primaire** qui conduit à l'obturation de la brèche vasculaire par un thrombus plaquettaire blanc aussi appelé clou plaquettaire.
- La **coagulation** qui permet la consolidation du thrombus plaquettaire par un réseau de fibrine insoluble et la formation d'un thrombus rouge.
- La **fibrinolyse** qui permet l'élimination du caillot de fibrine et donc du thrombus.

Nous nous intéresserons plus particulièrement à la coagulation car c'est au cours de cette étape qu'intervient le FIX.

Le facteur IX de coagulation, au même titre que les autres facteurs de la coagulation, est une protéine synthétisée dans le foie qui est ensuite sécrétée dans la circulation sanguine, lieu de son action. Le facteur IX est un des facteurs de coagulation dits vitamine K-dépendants parmi lesquels figurent également le FII, le FVII et le FX. Ces facteurs nécessiteront une préalable gamma-carboxylation hépatique par la vitamine K avant de pouvoir être des facteurs activables comme les autres. Ceci se révélera d'une importance particulière au moment du diagnostic.

L'initiation de la coagulation se réalise sous la forme d'une cascade d'activation de facteurs de coagulation aboutissant à la production d'une enzyme : la thrombine (facteur IIa) qui va transformer le fibrinogène (facteur I) en fibrine (facteur Ia). Deux voies permettent d'entamer la coagulation proprement dite : extrinsèque et intrinsèque (83).

- La **voie extrinsèque** est la voie la plus importante pour l'initiation de la coagulation. Elle est activée par la libération de facteur tissulaire (FT) et de Ca^{2+} lors d'une lésion vasculaire. Au terme de l'initiation, on aura une génération de thrombine, mais en quantité insuffisante et cela aboutira à la formation d'un caillot de fibrine de mauvaise qualité, sensible à la fibrinolyse. Pour réaliser une coagulation efficace, il y a donc nécessité d'une amplification de la génération de thrombine : celle-ci est le fait de la voie intrinsèque principalement.
- La **voie intrinsèque** peut être activée d'abord par contact avec le sous-endothélium chargé négativement. Puis elle peut être activée, à partir du FXI, par rétrocontrôle positif de la thrombine produite. C'est ce rétrocontrôle qui permet une **amplification** de la génération de thrombine (voir figure 1) à l'origine de la **formation de caillot de fibrine** de bonne qualité.

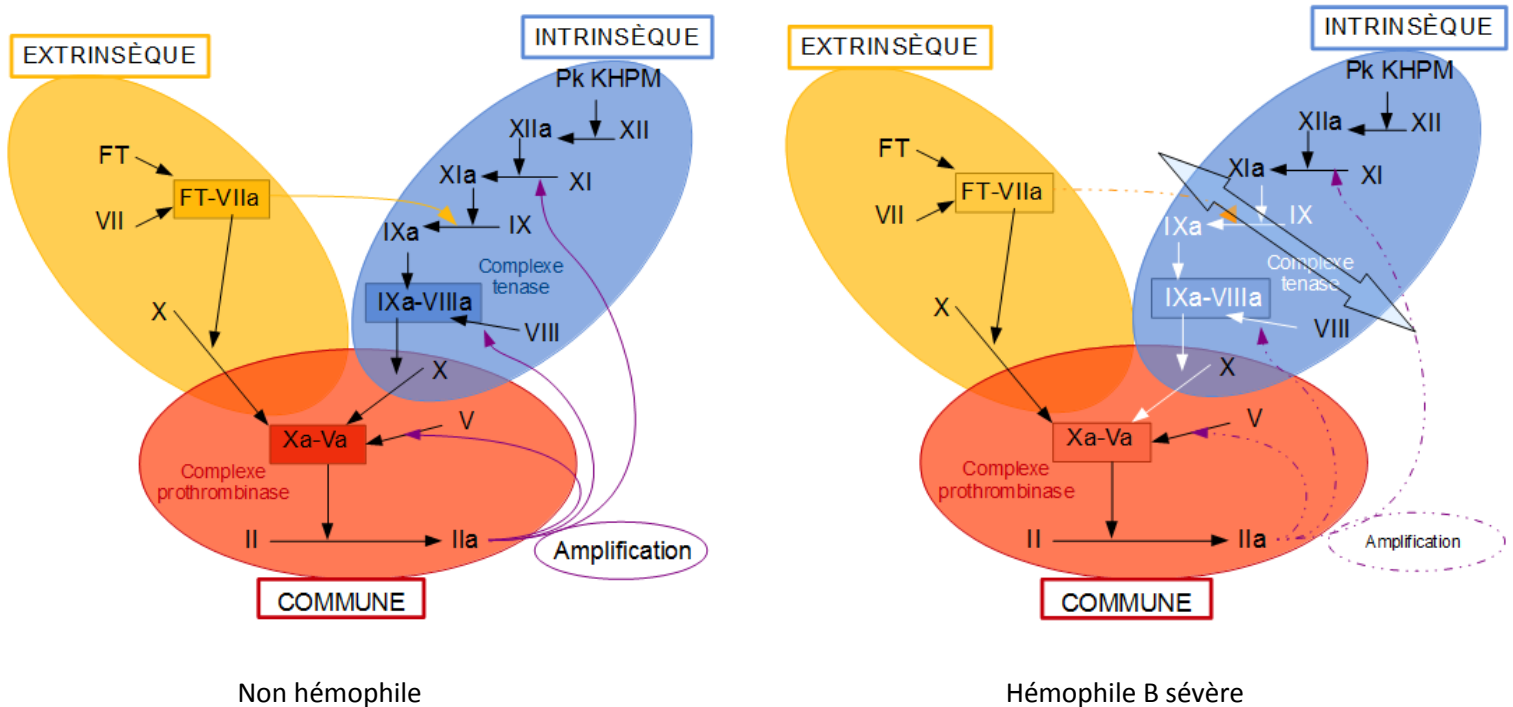


Figure 1. Schémas simplifiés - cascades d'activation des facteurs de coagulation chez une personne non hémophile (à gauche) et chez une personne hémophile B sévère (à droite)
Pk : Prékallïcérine; KHPM : Kininogène de Haut Poids Moléculaire

L'absence ou le mauvais fonctionnement du FIX entrainera la formation d'un caillot de mauvaise qualité chez les hémophiles, à l'origine des saignements primaires ou de leurs reprises éventuelles. En effet, chez un hémophile, l'activation de la voie extrinsèque pourra se faire sans problème particulier mais c'est au niveau de l'amplification et donc de la solidité du caillot qu'on constatera les anomalies à l'origine de la pathologie hémorragique (83) (voir figure 1).

II.1.2. Du gène *F9* à la protéine du facteur IX

a. Le gène *F9*

Le gène responsable de la synthèse du FIX, appelé gène *F9*, a été cloné pour la première fois en 1982. Il se situe sur le bras long du chromosome X dans la région Xq27 et se compose d'environ 34 000 paires de bases (8). Il se compose de huit exons entrecoupés de sept introns (voir tableau I) et près de 95% de la longueur du gène est non codante. Le gène code un prépro-facteur IX qui sera par la suite clivé.

Tableau I. Positions et tailles des exons et introns du gène du facteur IX (54)

Exon	Intron	Positions des nucléotides*	Longueur (nt)	Acides aminés**
I		1 - 117	117	-46 à -17
	A	118 - 6 325	6206	
II		6 326 - 6 489	164	-17 à 37
	B	6 490 - 6 677	188	
III		6 678 - 6 702	25	38 - 47
	C	6 703 - 10 391	3689	
IV		10 392 - 10 505	114	47 - 85
	D	10 506 - 17 668	7163	
V		17 669 - 17 797	129	85 - 128
	E	17 798 - 20 362	2565	
VI		20 363 - 20 565	203	128 - 195
	F	20 566 - 30 038	9473	
VII		30 039 - 30 153	115	196 - 234
	G	30 154 - 30 821	668	
VIII		30 822 - 32 757	1935	234 - 415

*Sont comptabilisés, aux extrémités du gène, 30 nucléotides (nt) en 5' et 1390 nucléotides en 3' qui ne sont pas traduits.

** Ils représentent les acides aminés issus de la traduction des exons; Les valeurs négatives correspondent à la préproséquence.

b. Du gène à la protéine

Le facteur IX est une glycoprotéine monocaténaire de 55 kDa (34,36) qui circule dans le sang sous forme de zymogène, c'est-à-dire sous forme de proenzyme inactive, avec une concentration d'environ 5mg/L. Mais le produit initial de la traduction est plus long de 46 acides aminés (aa). Cette séquence, qui disparaît lors de la maturation hépatique de la protéine, est aussi appelée « prepro-leader » et contient deux éléments :

- Un **peptide signal** (aa -46 à -19) éliminé lors du transport de la protéine à travers le réticulum endoplasmique granuleux (REG). Il est codé par l'exon 1 et se situe à l'extrémité N-terminale de la protéine (36).
- Un **propeptide** (aa -18 à -1) utilisé comme site de reconnaissance par une carboxylase vitamine K-dépendante pour agir sur la protéine. Il est ensuite éliminé par une peptidase (voir figure 2).

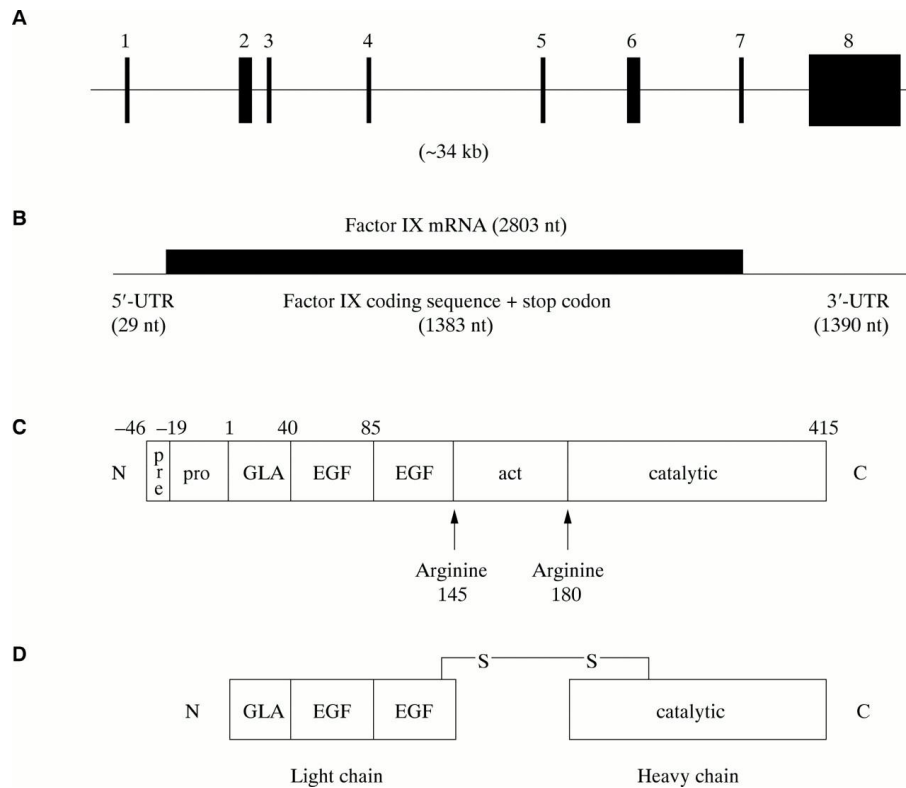


Figure 2. Du gène au facteur IX activé (59)

- (A) Schéma de l'organisation génomique du facteur IX humain et de ses huit exons
 (B) ARNm issu de la transcription du gène du facteur IX et emplacement du cadre de lecture
 (C) Protéine du facteur IX traduite avec la pré-pro-séquence et le peptide mature de 415 aa
 (D) Facteur IX activé

pre : prépeptide; pro : propeptide; GLA : acide γ -carboxyglutamique; EGF : epidermal growth factor; act : peptide d'activation

c. La protéine

La structure du FIX humain a été établie à partir de l'ADN complémentaire (ADNc) cloné. L'ADNc est obtenu à partir de l'ARN messager et représente la partie codante du gène. Le facteur IX se présente sous la forme d'une chaîne polypeptidique de 415 acides aminés (aa) divisée en :

- une chaîne légère (aa 1 à 145)
- un peptide d'activation (aa 146 à 180)
- une chaîne lourde (aa 181 à 415)

D'autre part, on retrouve dans la structure du facteur IX, quatre domaines (voir figure 3) qui sont présents chez tous les facteurs de coagulation vitamine-K dépendant (II, VII, IX, X) ainsi que chez des inhibiteurs de la coagulation tels que les protéines C et S (56,57) :

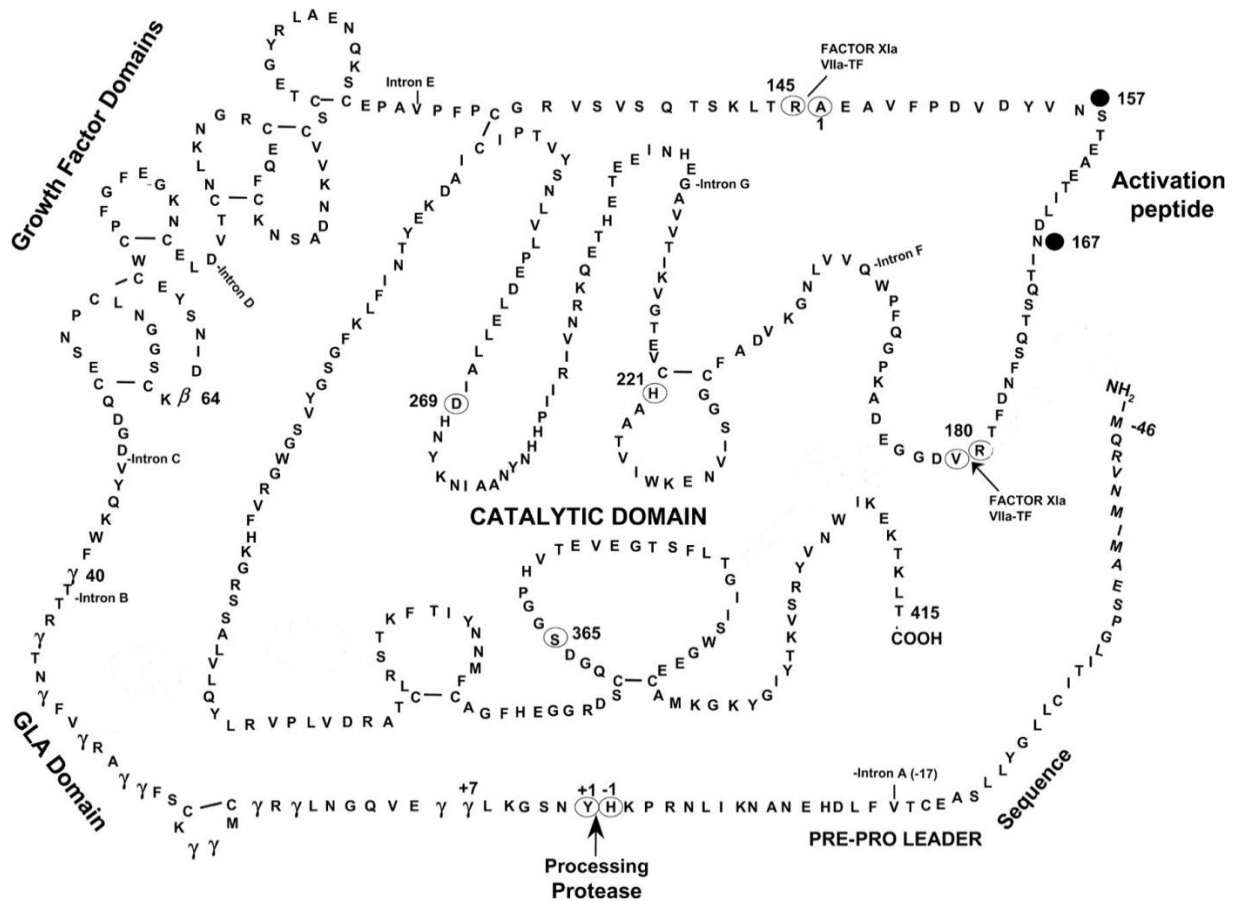


Figure 3. Structure secondaire du prépro-facteur IX

Les acides aminés sont représentés par leur abréviation en une lettre. γ représente un acide gamma-carboxyglutamique et β représente un acide béta-hydroxyaspartique. Les N-glycosylations sur le peptide d'activation sont indiqués par un ● (55)

- Au sein de la chaîne légère (aa 1 à 145) :
 - **Domaine GLA**

Ce nom est issu de la présence de douze résidus d'acide gamma-carboxyglutamiques (Gla). Initialement, il s'agit de douze acides glutamiques (Glu) qui subissent une gamma-carboxylation au niveau des hépatocytes par une carboxylase vitamine-K dépendante présente à la surface des microsomes hépatiques. La présence de résidus Gla est essentielle car ils permettent la fixation de la protéine aux phospholipides plaquettaires chargés négativement par l'intermédiaire d'ion calcium Ca^{2+} (36, 61). Le domaine GLA est issu de la traduction des exons 2 et 3.

D'autres modifications post-traductionnelles (MPT) que les gamma-carboxylations sont observées sur le facteur IX en circulation et participent, à des degrés divers, à l'activité biologique de la protéine (29, 60): β -hydroxylation de l'acide aspartique (D) en 64, O-glycosylation sur les résidus 53, 61, 159, 169 et 172, N-glycosylation des asparagines (N) en 157 et 167, sulfatation de la tyrosine (Y) en 155 et phosphorylation de la sérine (S) en 158 notamment.

- **Domaines EGF-like**

Il s'agit de deux domaines en tandem qui présentent des similitudes avec la structure d'un facteur de croissance épidermique ou EGF (epidermal growth factor). Ce domaine contient 12 des 22 résidus cystéines de l'ensemble du facteur IX d'où la présence de nombreux ponts disulfure. En position 64, on peut noter la présence d'un acide β -hydroxyaspartique qui, comme les résidus Gla, semble présenter une affinité pour les ions calcium. On observe la présence d'un pont disulfure entre la chaîne légère et la chaîne lourde au niveau des résidus cystéines 132 et 289 (57). Les exons 4 et 5 codent pour les deux domaines EGF-like (36).

- **Domaine du peptide d'activation** (aa 146 à 180)

Lors de l'activation du FIX en FIXa, ce peptide de 35 aa est clivé au niveau des arginines (R) 145 et 180. En présence de Ca^{2+} , deux voies sont possibles *in vivo* pour ce clivage : la voie extrinsèque grâce à l'activité catalytique du FVIIa ou la voie intrinsèque grâce à celle du facteur XIa. Le double clivage est réalisé en deux étapes (voir figure 4). Le premier clivage, au niveau de l'arginine 145, aboutit à un facteur IX α inactif. Le deuxième clivage, au niveau de l'arginine 180, aboutit à la formation d'un facteur IX $\alpha\beta$ biologiquement actif, constitué d'une chaîne lourde et d'une chaîne légère reliées par un pont disulfure : aa 132- aa 289. Le domaine du peptide d'activation est codé par l'exon 6 (36).

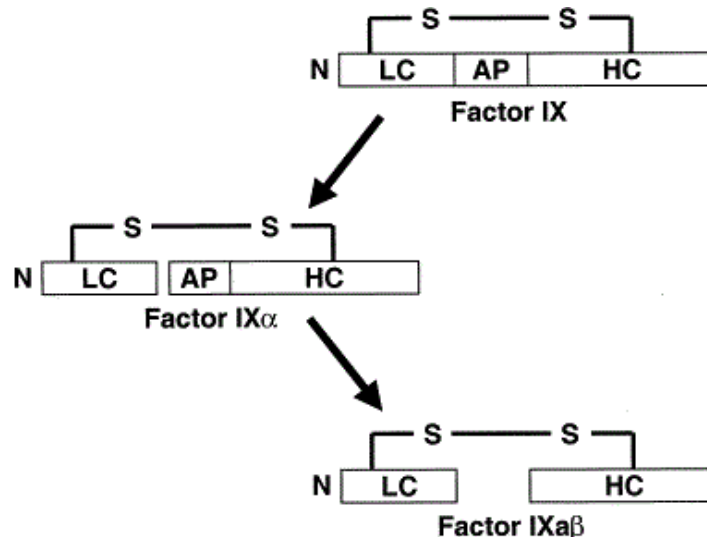


Figure 4. Représentation schématique de l'activation de la protéine mature du facteur IX sérique (58)
 LC : light chain, chaîne légère; HC : heavy chain, chaîne lourde; AP : activation peptide

- Au sein de la chaîne lourde (aa 181 à 415) :
 - **Domaine catalytique** : sérine protéase

Comme son nom l'indique, il est responsable de l'activité catalytique enzymatique du facteur IXa notamment à l'aide d'une triade catalytique d'acides aminés (54) : histidine (H) 221, acide aspartique (D) 269 et sérine (S) 365. La position des sérines et du pont disulfure sur le site actif apparente le facteur IX

aux sérine-protéases et particulièrement au groupe des trypsin-like. La valine (V) 181 libérée lors du deuxième clivage peut interagir avec l'acide aspartique (D) 364 et augmenter l'activité catalytique du facteur par modification conformationnelle du site actif (36). Le FIXa associé aux phospholipides membranaires, au facteur VIIIa et aux ions calcium formera ensuite le complexe « tenase » capable d'activer le facteur X en facteur Xa (voir figure 1). Le domaine catalytique est codé par les exons 7 et 8.

II.1.3. Activité biologique plasmatique du FIX

Différents degrés de sévérité d'hémophilie B existent en fonction de l'activité coagulante du facteur IX. Ces degrés sont associés à des manifestations hémorragiques particulières dans leur ampleur, leur fréquence et leur localisation.(voir tableau II)

Tableau II. Degrés de sévérité d'hémophilie B en fonction de l'activité coagulante du facteur IX (82,83)

	Classification	Activité coagulante FIX:C (%)	Manifestations hémorragiques
Hémophile B	Sévère	<1 %	Hémorragies fréquentes, parfois spontanées, à localisations principalement articulaires et musculaires
	Modérée	1 % - 5 %	Hémorragies occasionnelles, notamment lors de traumatismes ou d'interventions chirurgicales
	Mineure	>5 % - <40 %	Hémorragies lors de traumatismes importants ou d'interventions chirurgicales

Cette classification permet généralement de prédire le risque hémorragique chez le patient. Cependant parfois le taux plasmatique mesuré n'est pas corrélé au phénotype clinique et c'est là la limite de ce classement sur un critère biologique. La sévérité et la fréquence des épisodes hémorragiques peuvent être différentes y compris chez des patients avec le même taux plasmatique de FIX (192). À titre d'exemple, 15% des hémophiles sévères anglais, A et B confondus, n'ont pas un phénotype hémorragique sévère et n'ont pas nécessité de traitement procoagulant durant toute une année de suivi (108). Le cas inverse d'un hémophile modéré ayant un phénotype hémorragique sévère est également possible (107). On retrouvera la plupart du temps dans une même famille le même type d'hémophilie (soit B, soit A) et le même degré de sévérité. Ceci est généralement lié à la transmission d'une même mutation entre plusieurs individus d'une même famille (1).

Malgré les limites du classement sur la base de l'activité coagulante, les conséquences les plus graves de la pathologie sont généralement observées chez les patients présentant une hémophilie sévère. Ainsi, l'ensemble des complications issues de la maladie et la relative lourdeur de la prise en charge thérapeutique amènent à considérer différemment en pratique les hémophilies mineures et modérées de l'hémophilie sévère.

I.2. Génétique de l'hémophilie B

○ Mutations du F9

Depuis le clonage du gène *F9* en 1982, son étude chez différents patients a permis d'identifier de nombreuses anomalies génétiques différentes à l'origine de l'hémophilie. Parmi elles, on distingue des anomalies dites majeures (grandes délétions, mutations conduisant à un codon stop : non-sens) à l'origine d'une absence de transcription et donc d'une absence de synthèse du FIX. D'autres mutations peuvent aboutir à l'expression d'un FIX non fonctionnel (mutations ponctuelles faux-sens, petites insertions ou délétions à l'origine d'anomalies d'épissage) (2). Au total, plus de 3400 patients hémophiles B et leurs mutations du gène *F9* sont répertoriés dans des bases de données internationales (109). Ces mutations ont été décrites dans toutes les régions du gène. Les mutations sur les exons 1 et 6 sont moins fréquentes du fait de la moindre importance des acides aminés pour lesquels ils codent, à savoir le peptide signal et le peptide d'activation (84,109). Les mutations sur les exons 4 et 8 codant respectivement pour le domaine EGF-like et le domaine catalytique sont au contraire plus fréquentes parmi les mutations décrites chez les hémophiles B.

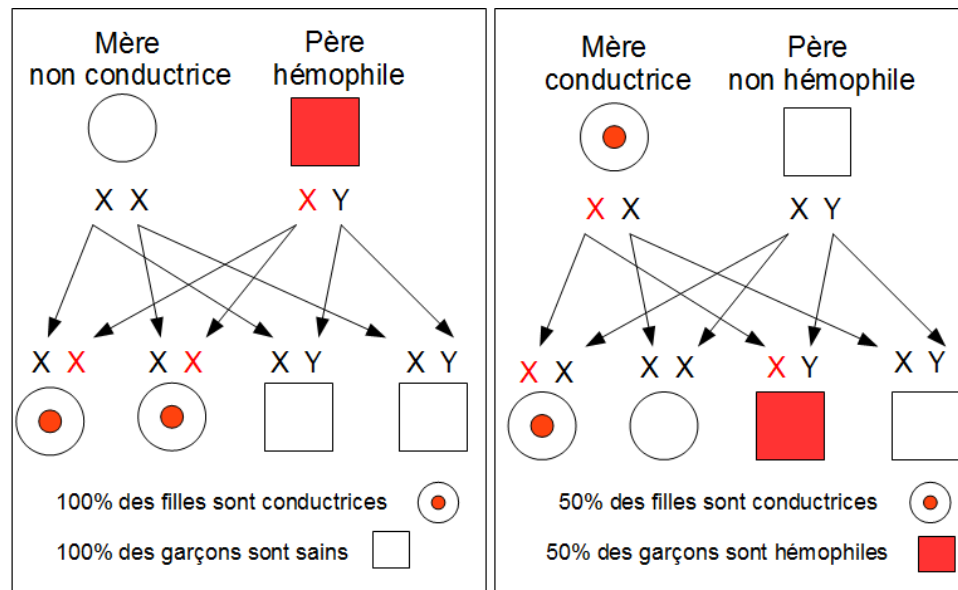
Parmi les mutations répertoriées, 1094 sont liées à un évènement moléculaire unique dont 814 (74%) sont des mutations ponctuelles (109). Un grand nombre de ces mutations ponctuelles implique des doublets CG, chez les hémophiles mineurs particulièrement. Ceci semble être explicable en partie par des effets fondateurs (84), autrement dit des mutations ancestrales communes à plusieurs patients. Des mutations ont été détectées sur 9 des 12 résidus gamma-carboxyglutamiques et sur chacune des 22 cystéines de la protéine circulante, confirmant ainsi le rôle fonctionnel essentiel de ces résidus et des ponts disulfures (84). Les responsables de la base de données ont reconnu l'existence de possibles biais qui ne peuvent être complètement évités dans le recueil de données. C'est notamment le cas de la surreprésentation des hémophiles B sévères du fait d'une proportion de patients diagnostiqués plus élevés et de la sous-représentation des double mutations car tous les laboratoires ne réalisent pas forcément le séquençage complet du gène une fois une mutation décelée (84).

Dans une analyse plus récente des mutations ponctuelles du *F9* chez 1 127 patients hémophiles B, la substitution la plus souvent rapportée est celle d'une guanine en adénine (28%) et plus généralement celle d'une base guanine dans la première ou la deuxième position du codon (46%) (299). Plusieurs substitutions ponctuelles sont retrouvées sur les mêmes 18 codons sur le gène *F9*, suggérant l'existence de codons plus propices aux substitutions (299). Par l'étude de l'énergie libre de Gibbs de l'ARNm sur la base de sa structure secondaire, l'analyse suggère que les mutations à l'origine d'hémophilies B sévères déstabilisent l'ARNm de façon plus importante. Un changement de structure, de stabilité et du taux de traduction de l'ARNm pourrait donc influencer sur le degré de sévérité de l'hémophilie au même titre que le changement de propriétés physico-chimiques des acides aminés substitués (299). Le génotypage associé à l'inventaire des anomalies préalablement décelées et de leurs conséquences pathologiques permet d'évaluer bien souvent les risques encourus pour un nouveau cas d'hémophilie sévère (2).

○ Transmission du gène muté et hémophilie de novo

Le chromosome X est un gonosome : chromosome sexuel, qui présente la particularité de n'être présent sous forme de paire (comme les autosomes) uniquement chez la femme. L'homme, quant à lui, possède un chromosome X et un chromosome Y. C'est là une distinction très importante car, dans le

cas de la mutation d'un gène sur le chromosome X, l'activité normale du gène sur l'autre chromosome X viendra masquer le défaut de coagulation chez la femme, faisant d'elle une conductrice de la pathologie mais non hémophile (7). A l'opposé, l'absence de second chromosome X chez l'homme empêchera une possible atténuation des effets de la mutation et le rendra sujet aux différentes manifestations cliniques de l'hémophilie, faisant de lui un hémophile d'un point de vue génétique et clinique. Aussi on peut dire que la maladie ne se révèle sauf exception que chez les hommes. La transmission liée à l'X est caractéristique : un père hémophile n'aura que des filles conductrices et des fils exempts de la maladie; une mère conductrice aura 50% de risque d'avoir un enfant portant son chromosome X muté donc hémophile si c'est un garçon et conducteur si c'est une fille (6,7).(voir figure 5)



On notera que la naissance d'un garçon hémophile n'est possible que lorsque ce dernier a une mère conductrice puisque son père lui aura forcément donné le chromosome Y.

Lorsque plusieurs signes semblent être en faveur d'un diagnostic d'hémophilie, on va souvent rechercher, au sein de la famille, d'autres porteurs d'une même mutation, d'une part pour conforter le diagnostic et d'autre part, pour dépister éventuellement d'autres hémophiles ou conductrices qui ne se savaient pas l'être et les informer des possibles risques de transmission.

Il est important de noter que quand un nouveau cas d'hémophilie, en apparence isolé, est diagnostiqué, l'absence d'antécédent connu par la famille n'est pas une situation rare. Ces cas isolés, qualifiés de sporadiques, sont majoritaires selon les données épidémiologiques récentes (35% dans la cohorte française et 58% dans le registre national suédois) (2). Parmi eux, on distinguera les formes dites « hémophilie *de novo* » qui sont issues d'une mutation dans un gamète grand-parental et qui représentent environ 30% des nouveaux cas d'hémophilie sévère (6). Les autres formes sporadiques sont attribuées à une transmission d'une mutation sur plusieurs générations de femmes conductrices sans le savoir et ce, jusqu'à que l'anomalie soit transmise à un garçon. Ces autres formes sporadiques peuvent également être attribuées plus simplement, à une histoire familiale oubliée (6).

II. ÉPIDÉMIOLOGIE

L'hémophilie est une maladie rare dont la prévalence est comparable dans toutes les populations du monde. On estime que la prévalence mondiale de la maladie est de l'ordre de 1 pour 10000 personnes avec un ratio entre les hémophilies A et B qui est de 4 hémophiles A pour 1 hémophile B (40).

○ Données Réseau FranceCoag (RFC)

Le réseau FranceCoag est un dispositif basé notamment sur un suivi national de cohortes des patients hémophiles français qui a, entre autres, pour but de connaître de façon exhaustive la répartition géographique, les caractéristiques et l'évolution de ces mêmes patients. Il sera présenté plus amplement par la suite (cf Chap.I.v.1, p.39). D'après le RFC, à la fin 2010, la majorité des patients atteints d'hémophilie vivant en France métropolitaine étaient suivis et les inclusions des formes sévères d'hémophilie étaient proches de l'exhaustivité (19). Les données épidémiologiques obtenues (18,19) sont les suivantes sur la population française suivie:

- On dénombre 4727 hémophiles A et 1024 hémophiles B.
- 38 garçons atteints d'hémophilie sévère naissent chaque année en France en moyenne.
- 30% des patients hémophiles ont moins de 18 ans et l'âge médian est d'environ 28 ans pour les deux hémophilies quel que soit le degré de sévérité.
- Les hémophiles ont été répartis en fonction du degré de sévérité dans la cohorte. (voir figure 6)

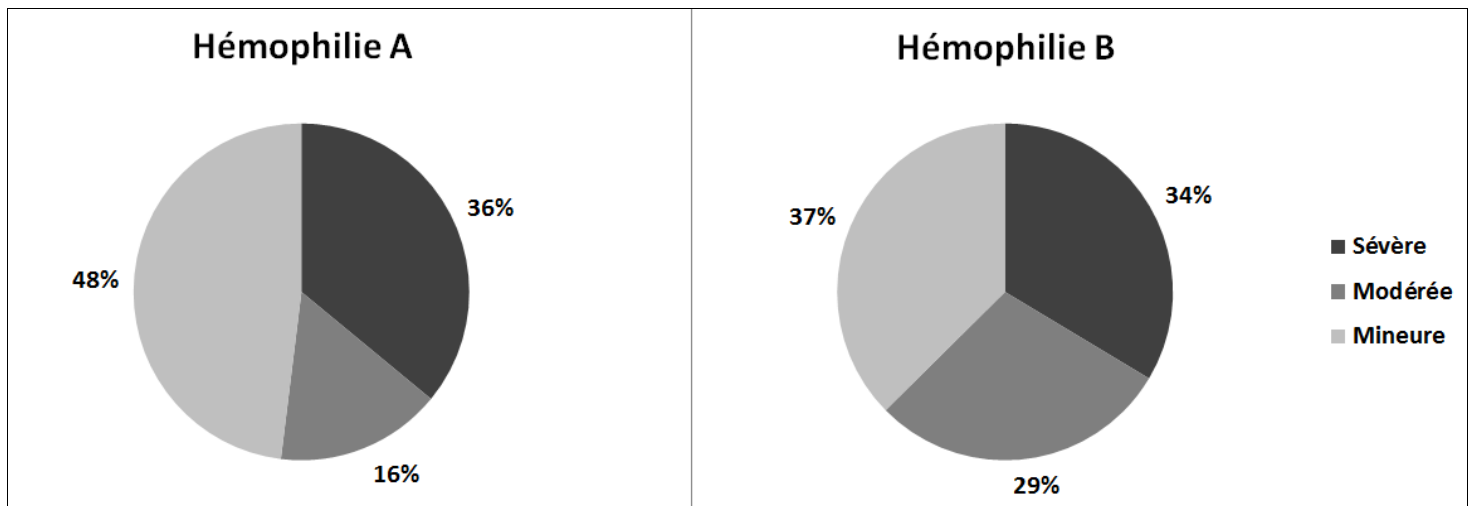


Figure 6. Répartition des degrés de sévérité en fonction de l'hémophilie dans la cohorte FranceCoag (18)

III. DIAGNOSTIC

III.1. Enjeux du diagnostic

Le diagnostic est une étape essentielle dans la prise en charge de la maladie. On considère que le diagnostic précoce de l'hémophilie de l'enfant conditionne l'efficacité de la prise en charge ainsi que son suivi futur. C'est le point de départ d'un projet thérapeutique commun au patient, sa famille, une équipe pluridisciplinaire spécialisée de professionnels de santé. C'est également indirectement le début d'un projet de vie à long terme (2). Il importe donc que ce diagnostic soit aussi précoce que possible mais il importe au moins autant que ce diagnostic soit juste et précis. Ainsi tous les tests diagnostiques, s'ils semblent indiquer la présence d'un déficit ou d'une mutation associée à l'hémophilie, devront être réalisés de nouveau avec un résultat semblable pour pouvoir affirmer la pathologie. Les enjeux du diagnostic pour le patient se concentrent autour de la mise en place d'un projet thérapeutique qui sera adapté à son phénotype d'expression. Ce projet contient bien sûr des protocoles d'urgences, les perspectives de prophylaxie et surtout les programmes d'éducation pour l'enfant et pour sa famille qui lui permettront d'accéder progressivement à une relative autonomie dans la prise en charge de sa maladie s'il le souhaite (3). Par ailleurs, l'identification d'une mutation responsable du déficit en facteur permettra d'envisager la probabilité d'apparition d'inhibiteurs et d'organiser le traitement et surtout le suivi en fonction de cela. Enfin le diagnostic est indispensable aux médecins et aux chercheurs car il permet, évidemment à la condition d'un consentement préalable des patients, l'inclusion des hémophiles au sein des registres, des cohortes; Ainsi on améliore la connaissance de la maladie et le traitement de l'ensemble des patients, notamment au travers des essais thérapeutiques qui leur sont proposés (2).

III.2. Diagnostic positif

La découverte d'une hémophilie sévère a lieu dans la grande majorité des cas très tôt dans la vie : une étude rapporte une valeur d'âge médian de diagnostic de 5,8 mois pour une cohorte française de patients nés dans la période 1980-1995 (6). Les circonstances de diagnostic étaient les suivantes : syndrome hémorragique (67,8% des cas), dépistage orienté par l'existence d'une histoire familiale (27,5% des cas) et bilan d'hémostase fortuit, par exemple préopératoire (4,8% des cas) (2). La proportion des découvertes fortuites, si elle peut paraître faible, est cependant non négligeable. C'est pourquoi une attention particulière est portée aux bilans de coagulation préopératoires de tout patient. On observe que, dans les formes à antécédent familial, le diagnostic est plus précoce atteignant 0,4 mois en médiane lorsqu'il y a présence d'un frère hémophile (6).

III.3. Diagnostic clinique

Le diagnostic néonatal de l'hémophilie B sévère est relativement fréquent (environ 20% des cas) (2) et il survient à l'occasion de manifestations hémorragiques de type céphalhématomes, hématomes diffus ou hémorragie cérébro-méningée (plus rare), souvent provoquées par un traumatisme identifiable lié

aux conditions obstétricales (ventouses, forceps) ou par un geste chirurgical ou invasif (test de Guthrie, ponction veineuse, circoncision). Par ailleurs, toujours dans le cadre des hémophilies B sévères, une découverte après l'âge de deux ans est très rare car l'apprentissage de la marche occasionne une symptomatologie marquée caractéristique en termes de diagnostic (2). Les principales manifestations cliniques de la pathologie seront présentées plus en détail par la suite (cf Chap.I.IV, p.32).

III.4. Diagnostic biologique

Lorsqu'un patient présente un tableau clinique de trouble de la coagulation, c'est-à-dire des troubles hémorragiques fréquents, ou avant toute opération, on réalise en première intention certaines analyses : une Numération Formule Sanguine (NFS) et un bilan de coagulation standard.

Dans le cadre de l'hémostase, la NFS va apporter l'information de la numération plaquettaire du patient. Le bilan de coagulation, lui, comporte deux tests globaux : Temps de Quick (TQ) et Temps de Céphaline avec Activateur (TCA), aussi appelé Activated Partial Thromboplastin Time (APTT). Il s'agit là du bilan de coagulation standard réalisé en première intention. Devant un allongement isolé du TCA ou de fortes suspicions cliniques, on complétera ces tests par des dosages coagulométriques spécifiques des différents facteurs du TCA (notamment FVIII, FIX et FXI) (83). Pour expliciter brièvement l'intérêt et le fonctionnement de chaque test :

- **Tests globaux (83)**

On les réalise en première intention face à des signes cliniques associés à une coagulopathie ou en routine lors d'un bilan d'hémostase pré-opératoire.

- TCA et TQ ont en commun leur principe : mesurer le temps de formation d'un caillot *in vitro* par détection optique ou mécanique sur un plasma de patient préalablement citraté déplaquetté et recalcifié.
- Le **TQ** explore la voie extrinsèque de coagulation et la voie commune : facteurs VII, X, V, II, I (voir figure 1). La formation du caillot se produit après ajout de thromboplastine (FT, phospholipides, Ca^{2+} , polybrène ou sulfate de protamine). C'est le test de choix pour la surveillance des traitements anti-vitamine K (AVK) car trois des facteurs explorés (II, VII, X) sont vitamine K-dépendants. La valeur normale du TQ se situe entre 11 et 14 secondes.

On a pour habitude, en France, d'utiliser en laboratoire une expression du TQ issue d'une relation linéaire : le Taux de complexe Prothrombinique (TP) en %, qui sera d'autant plus élevé que le TQ sera faible. Cette droite de conversion qui relie TQ au TP est appelée droite de Thivolle : elle est construite par chaque laboratoire avec ses réactifs. La valeur normale du TP est entre 70% et 100%.

Le suivi des traitements AVK se fait par un ratio appelé INR (International Normalized Ratio) qui tient compte du TQ du patient, d'un TQ témoin et de la sensibilité de la thromboplastine utilisée. L'INR a permis de réduire les variations inter-laboratoires.

- Le **TCA** explore la voie intrinsèque de coagulation et la voie commune : kininogène de haut poids moléculaire (KHPM), prékallicréine (Pk), facteurs XII, XI, IX, VIII, X, V, II, I (voir figure 1). La formation du caillot se produit après ajout de céphaline, d'un activateur

de la voie intrinsèque (silice, kaolin ou acide ellagique) et de calcium. C'est le test de choix pour la surveillance des traitements à l'héparine non fractionnée. Les résultats de ce test varient en fonction de l'âge du patient, selon le type de céphaline utilisée et selon le type de détection utilisée (optique ou mécanique). La valeur normale du TCA est de 30 secondes environ. Il peut également être exprimé sous forme de ratio : $TCA_{patient} / TCA_{témoin}$ dont la valeur normale est comprise entre 0,8 et 1,2.

- **Tests spécifiques (83)**

On les réalise en deuxième intention si les tests globaux sont perturbés ou en cas de forte suspicion clinique.

- Le **dosage coagulométrique** d'un facteur différentiel : le dosage du facteur IX pour l'hémophilie B, se fait par dilution du plasma du patient dans un plasma déficient en FIX. Ainsi le TCA du mélange sera un indicateur de l'activité du facteur recherché dans le sang du patient. C'est le test utilisé par la majorité des laboratoires français pour le dosage du facteur IX (10). Ce dosage est aussi appelé « one-stage APTT-based factor assay » ou plus simplement « one-stage clotting assay ».
- Le **dosage chromogénique** est moins répandu. Le principe de la méthode est d'ajouter au plasma du patient des substrats nécessaires à l'activation du FX, à l'exception du FIX qui doit provenir du patient s'il en a. Après incubation, on mesurera par densité optique, à l'aide d'un substrat chromogène, la quantité de FX activé produit et donc indirectement la quantité de FIX présent dans le plasma du patient.
- Le **dosage des Ag du FIX** est également possible, bien que plus rare. Il est réalisé par méthode ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) ou par radio-immunologie (62). À partir de la quantité d'Ag, ce dosage permet d'établir si le déficit en FIX est imputable à un déficit de fonctionnalité de la protéine présente ou bien plutôt à une absence de la protéine en question.

- **Résultats biologiques d'un hémophile B**

Chez un hémophile B, on va typiquement observer un TCA allongé isolément. Il est deux à trois fois plus allongé en cas d'hémophilie sévère (selon la céphaline utilisée) (2), et il sera plus faiblement allongé en cas d'hémophilie modérée ou mineure. Un second prélèvement de contrôle sera toujours nécessaire pour confirmer un allongement isolé du TCA. En effet, cela permet de pallier l'éventuelle non-conformité des conditions pré-analytiques : échantillon trop peu rempli, modalités de prélèvement non respectées, durée d'acheminement trop longue par exemple.

Si l'allongement isolé du TCA est confirmé, on fera donc un dosage coagulométrique du FIX, dont l'activité sera abaissée chez l'hémophile B (entre moins de 1% et 40%). Plusieurs éléments peuvent interférer avec ce dosage coagulométrique spécifique, notamment un traitement à l'héparine en cours chez le patient ou encore la présence d'anticoagulants de type lupiques. En réponse, on s'assurera de l'absence de traitement à l'héparine chez le patient soit par dosage de l'héparinémie, soit par comparaison de tests sensible et insensible à l'héparine tels le temps de thrombine et le temps de reptilase (83). Et pour différencier la présence d'anticoagulants circulants (ACC) du déficit en facteur IX, on réalisera une « épreuve de correction » aussi appelée « TCA mélange » à l'aide d'un pool de

plasmas témoins sains. Le principe est de comparer le TCA du mélange patient/témoin au TCA du témoin et à celui du patient. Pour simplifier cette comparaison, on utilisera l'indice de Rosner (IR) qui s'exprime ainsi :

$$IR(\%) = \frac{(TCA_{mélange} - TCA_{témoin})}{TCA_{patient}} * 100$$

Si le TCA du mélange est plus proche de celui du témoin sain ($IR < 12\%$), il y a donc eu correction du TCA. On peut conclure à l'absence d'ACC chez le patient. À l'opposé, sans correction à l'issue de ce test ($IR > 15\%$) : on pourra supposer la présence d'ACC chez notre patient. Afin de préciser le diagnostic le cas échéant, il faudra déterminer le type d'anticoagulants concernés : de type lupiques non spécifiques (que l'on retrouve dans le Syndrome des AntiPhosphoLipides : SAPL) ou de type spécifiques d'un facteur (9,10).

Il est important de noter que le dosage chromogénique, contrairement au dosage coagulométrique, permet de s'affranchir des interférences que peuvent être l'héparine et les ACC de type lupiques. Ce dosage présente l'inconvénient d'avoir un prix bien plus élevé que celui du dosage coagulométrique, c'est pourquoi il n'est pas privilégié en pratique.

Pour les patients présentant des antécédents familiaux d'hémophilie B, d'emblée, on va réaliser le dosage coagulométrique du facteur IX (10).

III.5. Diagnostic différentiel

L'hémophilie B peut être confondue avec d'autres troubles de l'hémostase qui aboutissent également à une défaillance hémostatique significative. En effet, d'autres raisons peuvent expliquer un allongement du TCA accompagné d'un taux bas en facteur IX en réponse aux tests évoqués précédemment : c'est notamment le cas de la carence en vitamine K et de l'hémophilie B dite « acquise »

- Carence en vitamine K

Du fait d'une carence en vitamine K et du retard de maturation hépatique physiologique chez le nouveau-né, la synthèse hépatique du facteur IX et des autres facteurs vitamine K-dépendants est déficitaire. Ceci implique des résultats difficilement interprétables, du moins à interpréter avec prudence selon les normes liées à l'âge (2).

Quel que soit l'âge, une étiologie pour le déficit en vitamine K peut être tout simplement un déficit d'apport ou un traitement AVK. Il conviendra alors d'interroger le patient ou le médecin et, si un doute subsiste, de doser les autres facteurs vitamine K-dépendants : II, VII, X ainsi que les protéines C et S dont les taux devraient être anormalement bas en présence d'un traitement AVK ou d'une carence d'apport en vitamine K. Le diagnostic différentiel peut être établi plus simplement par mesure du temps de Quick qui sera anormalement élevé dans le cas d'une carence en vitamine K du fait du déficit en facteur de coagulation de la voie intrinsèque également (83).

- Hémophilie B « acquise »

Une autre pathologie à évoquer lors du diagnostic différentiel de l'hémophilie B est l'hémophilie B dite « acquise » liée à la présence d'anticorps anti-FIX chez des sujets non hémophiles. Cette pathologie est très rare et est typiquement retrouvée chez le sujet âgé, les patients déjà atteints d'une pathologie auto-immune ou chez la femme post-partum (62,113,114). Cette pathologie, caractérisée par des hématomes importants, engage le pronostic vital et doit être prise en charge rapidement. On réalisera, dans cette situation, un test de mélange (2) et surtout un dépistage et un titrage des anticorps.

III.6. Diagnostic génotypique

Si les diagnostics cliniques et biologiques présentent un intérêt certain pour le patient et l'équipe soignante, ils ne définissent pas pour autant l'origine même de la pathologie. Le diagnostic génotypique vient non seulement confirmer et poser définitivement le diagnostic d'hémophilie mais ce n'est pas là son seul intérêt. Il permet également bien souvent d'éclairer le soignant, le patient et sa famille sur la question épineuse de la transmission de la maladie : transmission par le passé et hypothétiquement dans l'avenir (1).

- Transmission et conductrices

Pour ce qui est des questions de transmission, on peut comprendre que le génotypage ne présente pas un grand intérêt pour l'hémophile lui-même : il se sait être atteint, il sait que ses filles seront conductrices et ses garçons exempts de la mutation. Mais pour sa famille proche au contraire, cela peut se révéler être très informatif. On recommande ainsi une étude génétique familiale, qui nécessitera bien sûr le consentement éclairé des membres de la famille, afin d'établir la transmission de la mutation dans la famille si ce n'est pas une mutation *de novo*.

Dans les faits, on va surtout rechercher les femmes conductrices de la famille, qui parfois ignorent leur potentiel de transmission de l'hémophilie. Cette omission bien souvent n'est pas volontaire mais peut être simplement le fruit d'une histoire familiale oubliée du fait de plusieurs générations successives de femmes conductrices asymptomatiques ou d'une absence de communication de l'information (2,7). Ainsi le diagnostic génotypique vient donner une information que ni la clinique, ni les dosages biologiques n'avaient su mettre en évidence; En effet, on sait que, chez la femme, plusieurs facteurs peuvent contribuer à masquer les effets de la mutation sur un des deux chromosomes X. Un de ces facteurs est la lyonisation. Cette dernière est l'expression dominante d'un des deux chromosomes X choisi de façon aléatoire dans chaque cellule et qui contribue à un degré d'expression phénotypique de la mutation variable selon les individus (7). Ceci explique que parfois des conductrices à risque hémorragique élevé aient un taux bas en facteur anti-hémophilique : FIX (inférieur à 40%), y compris parmi les filles ou les sœurs de conductrices asymptomatiques avec des taux de facteurs tout à fait physiologiques. Par ailleurs, les conductrices à taux en FIX normaux sont difficilement diagnosticables en dehors d'une étude familiale. Malgré un possible « trait hémophilique » chez certaines conductrices, on s'accorde à dire que seul le diagnostic moléculaire permettra de délivrer un diagnostic et un conseil génétique de certitude. Pour des raisons d'ordre psychologique, et parce qu'il faut que la personne soit dans les meilleures conditions pour comprendre et surtout intégrer une telle information et ses

conséquences, la loi impose que les examens génétiques ne puissent être réalisés qu'après la majorité. Bien sûr le consentement éclairé est indispensable (2,7).

- Le patient, sa mutation et le meilleur traitement possible

Les techniques directes de diagnostic génétique (DHPLC, séquençage par électrophorèse sur capillaire) permettent d'identifier précisément la mutation responsable de l'hémophilie sévère pour la plupart des patients et des familles. On estime qu'une mutation est décelée dans 96% des cas d'hémophilies A et B sévères et dans 80% des cas d'hémophilies A et B modérées ou mineures (9). Les mutations au sein des introns ainsi que dans les régions externes au gène *F9* en question sont les moins étudiées donc renseignées. Elles n'en demeurent pas moins des régions à fort potentiel de recherche : pour identifier de nouveaux mécanismes mutationnels (9). Dans les cas où aucune anomalie génétique n'a été décelée, on réalise généralement des études indirectes par l'étude de marqueurs polymorphes liés au gène d'intérêt. Mais cette étude n'est pas applicable dans le cas des mutations *de novo*, des mosaïques (germinales ou somatiques) ainsi que des familles non-informatives (9). Néanmoins les cas où aucune mutation n'est détectée sont de plus en plus rares et il est possible que, dans un avenir proche qui verra apparaître des moyens encore plus performants d'analyse du génome, la totalité des mutations en cause puisse être identifiée.

Lorsque la mutation est connue, bien répertoriée aux niveaux des banques de données et rapportée aux données du phénotype, le génotypage permet chez l'enfant hémophile d'évaluer le risque de développement d'anticorps inhibiteur spécifiques (2). Le corps médical peut alors décider en connaissance de cause des modifications à apporter dans la prise en charge, s'il les estime nécessaires. L'analyse du gène va également permettre, plus rarement, le diagnostic précoce de l'hémophilie B Leiden caractérisée par une normalisation progressive du taux de FIX à l'adolescence consécutive à une dérégulation du promoteur du gène sous l'influence de la sécrétion d'androgènes (2,9,11,294).

III.7. Diagnostic prénatal

En dépit des progrès déjà effectués quant à l'espérance de vie et à la qualité de vie des patients hémophiles, on acceptera de réaliser un diagnostic prénatal (DPN) après consultation pluridisciplinaire de conseil génétique, uniquement chez les femmes conductrices d'une hémophilie sévère biologique ou clinique. En pratique, on va recommander le génotypage le plus précocement possible pour chaque famille de manière à envisager d'autant plus précocement le DPN et l'interruption de grossesse en cas d'atteinte fœtale si la famille en décide ainsi (2). Les interruptions de grossesse peuvent être de plusieurs types mais la plus probable dans le cas d'un fœtus hémophile est l'interruption médicale de grossesse (IMG). L'IMG consiste en une interruption de la grossesse lorsqu'il existe une forte probabilité que l'enfant à naître soit atteint d'une affection d'une particulière gravité reconnue comme incurable au moment du diagnostic. Elle peut être réalisée à toute époque de la grossesse. On remarquera, dans la définition de l'IMG, la distinction à faire entre une affection « non curable », telle que l'hémophilie, et une affection « non traitable » (9).

À partir du moment où les conditions nécessaires à la réalisation d'un tel diagnostic sont réunies, la procédure à suivre est composée de deux étapes : détermination du sexe fœtal dans un premier temps, puis, si le sexe est masculin, détection de l'hémophilie. La détermination du sexe est réalisée à la

dixième semaine d'aménorrhée (huitième semaine de vie fœtale) (98), par prélèvement sanguin. En effet, si l'enfant est de sexe masculin, on trouvera des traces d'ADN fœtal libre circulant de son chromosome Y dans le sang de la mère. Si l'enfant est un garçon, afin de déterminer s'il est porteur du gène délétère ou non, on va réaliser comme prélèvement de choix :

- soit une amniocentèse à partir de la 17^{ème} semaine d'aménorrhée (SA).
- soit une biopsie de villosités choriales (ou biopsie du trophoblaste) entre la 11^{ème} et la 14^{ème} SA.

S'il est porteur, on proposera aux parents, entre autres possibilités, celle de réaliser une IMG (9). Pour des couples qui veulent savoir si l'enfant est hémophile sans pour autant envisager l'IMG, on aura aussi la possibilité de réaliser l'amniocentèse à partir de la 17^{ème} SA. On travaillera soit directement sur quelques cellules dans le liquide amniotique, soit sur une culture d'amniocytes.(7,11)

Une autorisation de l'Agence Régionale de Santé (ARS) qui valide la structure, ainsi qu'un agrément des praticiens par l'Agence de Biomédecine sont indispensables à un laboratoire qui souhaite réaliser des DPN. En 2007, 46 DPN ont été réalisés dans le cadre d'éventuelles hémophilies en France. Parmi eux, on a dénombré 26 cas d'hémophilie qui ont abouti 16 fois au choix de l'IMG par les parents (9).

III.8. Enjeux de l'annonce

L'annonce du diagnostic est du ressort d'une équipe de professionnels de santé spécialisés : médecin, infirmière, psychologue (6). C'est un moment où il faut savoir prendre le temps d'expliquer et être à l'écoute du patient et de sa famille, de ses questionnements, de ses craintes. De ce fait, et quels que soient l'âge et les circonstances, un soin particulier doit être porté quant aux conditions de l'annonce à la famille. Face à une maladie génétique chronique possiblement grave, les premiers entretiens, les premières paroles peuvent marquer définitivement la famille dans sa perception de la maladie et ce, particulièrement en cas d'erreur, de mauvaise communication (2). Les cas d'hémophilie sporadique doivent donc tout particulièrement être suivis. Mais pour autant les cas où des antécédents familiaux sont connus doivent être suivis également afin de saisir l'histoire de la famille vis-à-vis de l'hémophilie : un lien toujours singulier, empli d'affect, qui guide bien souvent le choix effectué à l'issue d'un diagnostic prénatal positif. Il est donc important d'insister sur les perspectives thérapeutiques, sur l'espérance de vie et la qualité de vie actuelle des patients atteints pour dédramatiser le contenu d'une telle annonce. Parmi les enjeux de l'annonce, il y a la perception de la maladie par la famille; perception qui guidera la participation active à l'éducation thérapeutique, l'ouverture vers l'équipe soignante et vers les nouvelles thérapies, et indirectement l'observance du traitement. L'objectif est de voir grandir un enfant qui se sente en bonne santé, un enfant conscient de sa différence donc prudent, mais aussi conscient de sa capacité à vivre comme les autres donc ouvert et bien intégré socialement. Le tout étant de rompre avec la formation d'une famille « centrée » sur l'hémophilie par une accumulation de craintes et de précautions parfois excessives et inutilement contraignantes (2,6).

IV. MANIFESTATIONS CLINIQUES

Le tableau clinique est le motif qui pousse bien souvent les familles, les enfants ou les adultes à consulter dans les cas d'hémophilie sporadiques. Dans le cas de l'hémophilie sévère, la pathologie va se manifester très tôt, au plus tard lorsque l'enfant commence à se déplacer à quatre pattes. Des ecchymoses, aussi appelées communément « bleus », apparaîtront bien souvent au niveau des genoux notamment. On considère ces ecchymoses comme sans gravité particulière pour l'enfant mais elles se démarquent généralement par leur fréquence, leur étendue, leur répétition et il convient donc, lorsque l'enfant est scolarisé, de signaler cette situation au médecin scolaire. La gravité des hémorragies dépend beaucoup de leur localisation, en plus de l'importance du déficit en facteur. Les hémorragies extériorisées, comme les ecchymoses ou l'épistaxis, sont généralement d'une moindre gravité. Toutes les localisations du syndrome hémorragique sont possibles mais les plus fréquentes sont situées au niveau de l'appareil musculo-squelettique, dans les articulations : les hémarthroses (65 à 85 % des phénomènes hémorragiques) ou dans les muscles : les hématomes musculaires (10 à 30 %) (14). Mal soignées, ces hémorragies peuvent être à l'origine non seulement de douleur mais également de séquelles invalidantes.

IV.1. Hémarthroses

Les atteintes articulaires constituent à la fois la caractéristique clinique de l'hémophilie et l'élément clé du pronostic fonctionnel (294). L'apparition d'hémarthroses récidivantes et douloureuses en dehors d'un traitement prophylactique efficace est retrouvée en cas d'hémophilie sévère ou parfois modérée. Toutes les articulations peuvent être touchées, y compris les plus petites, mais les articulations les plus souvent atteintes sont les genoux, les coudes et les chevilles. Seuls 30% des hémarthroses sont secondaires à un traumatisme identifié chez les hémophiles sévères (14). En cas d'hémarthrose aiguë, le patient ressent d'abord une sensation de gêne et de limitation modérée du mouvement puis l'articulation devient chaude et douloureuse. On constatera également un gonflement caractéristique au niveau de la capsule articulaire et parfois au-delà, accompagné d'une impotence fonctionnelle partielle voire totale de l'articulation (6). Le diagnostic est évident (voir figure 7). Il pourra être confirmé si besoin par une échographie montrant un liquide intra-articulaire hétérogène, preuve de la présence de sang.



Figure 7. Hémarthroses du genou (15)

En absence de traitement substitutif, l'hémarthrose va persister plusieurs jours voire plusieurs semaines et va finir par se résorber en provoquant malgré tout une inflammation de la synoviale, une altération cartilagineuse et une atrophie musculaire consécutive à l'immobilisation. La répétition des hémarthroses sur une même articulation, fréquente dans l'hémophilie sévère, entraîne très tôt des lésions irréversibles de la synoviale et du cartilage qui, à terme, aggravées par les contraintes mécaniques, conduisent à une destruction de l'articulation avec rétractions tendineuses et amyotrophie des muscles adjacents : syndrome plus connu sous le nom d'arthropathie hémophilique. Les conséquences de ces hémarthroses répétées sont donc source d'un handicap majeur lié à la disparition progressive des surfaces articulaires et à l'inégalité de longueur des membres inférieurs; On reconnaît ainsi certains patients hémophiles sévères adultes, lorsqu'ils arrivent en consultation, à leur démarche.

IV.2. Hématomes musculaires

Moins fréquents que les hémarthroses, les hématomes musculaires sont post-traumatiques dans 50% des cas (13). Ils font presque toujours courir un risque fonctionnel, et parfois un risque vital. La gravité de l'hématome peut venir de sa taille ou de sa localisation (294). Les localisations les plus fréquentes sont le muscle psoas-iliaque, les muscles des bras, de l'avant-bras, du mollet et de la cuisse. Suivant leurs localisations, on distingue les hématomes **superficiels** : sous-cutanés et extra-musculaires et les hématomes **profonds** : musculaires ou viscéraux (voir figures 8,9 et 10). Et suivant le risque encouru, on distingue les hématomes **faisant courir un risque vital** (anémie aigüe chez le petit enfant, spoliation sanguine, compressions des voies respiratoires ou des voies vasculaires à destinée céphalique) et les hématomes **à haut risque fonctionnel** (rétraction musculotendineuse, compression vasculaire ou nerveuse, paralysie) dans les muscles à petite gaine serrée. La symptomatologie générale est caractérisée successivement par une sensation d'inconfort qui peut être à distance du muscle concerné, des douleurs de plus en plus violentes, une attitude anormale du membre (flessum, trouble de la marche ou attitude scoliotique) et une ecchymose souvent d'apparition tardive.



Figure 8. Hématome de la main faisant suite à une ponction veineuse (à gauche) et hématome consécutif à un traumatisme frontal (à droite)(15)



Figure 9. Hématome des muscles de la cuisse droite, vue clinique (1)

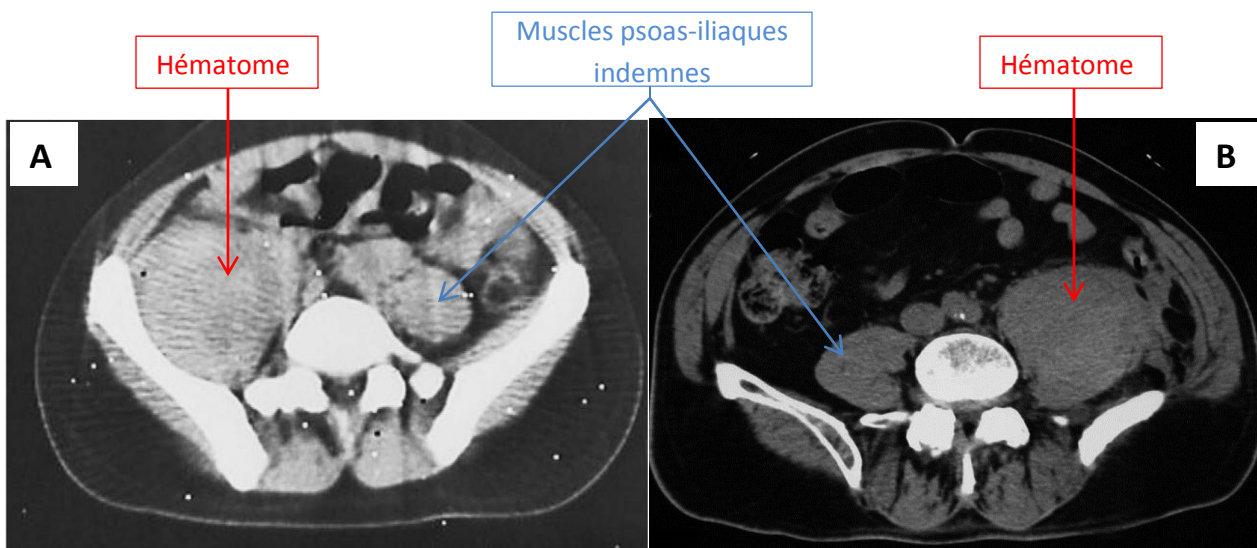


Figure 10. Hématome du muscle psoas-iliaque droit (A) et hématome du muscle psoas-iliaque gauche (B) vu en tomodensitométrie (13, 14)

L'hématome du muscle psoas-iliaque survient souvent spontanément. Il fait à la fois courir un risque fonctionnel et un risque vital. Le muscle psoas-iliaque est un muscle profond qui s'insère sur la colonne vertébrale et le fémur. Il est mobilisé notamment dans les mouvements du tronc associés à des mouvements de flexion des jambes (exemple : tir de football) ou pour s'opposer à la traction du dos vers l'arrière (exemple : port d'un sac à dos). Dans le muscle psoas comme dans les muscles à loge musculaire large, le saignement se produit dans un espace extensible qui peut tolérer de fortes augmentations de volume avant de donner des signes cliniques. Cela contribue à un retard de diagnostic fréquent des hématomes du psoas (294). En absence de traitement approprié, les complications possibles sont notamment la paralysie crurale ou obturatrice, la récurrence de l'hématome, ainsi qu'un fessum résiduel à l'origine d'une obliquité pelvienne, une attitude scoliotique et une hyperlordose, génératrices de récurrences (13). À cela s'ajoute le risque vital lié à la spoliation sanguine avec un risque aiguë de déglobulisation et d'anémie sévère.

Le sang extravasé au cours d'un hématome musculaire peut se collecter entre les faisceaux musculaires (voir figure 11). Il disparaît progressivement du fait de la chasse musculaire et de la phagocytose par les leucocytes. Il est ensuite remplacé par du tissu fibreux (13). Un hématome mal résorbé ou traité de façon inadéquate peut s'enkyster et évoluer vers une pseudotumeur hémophilique avec formation d'une coque fibreuse adhérente au tissu adjacent. Cette pseudotumeur est plus fréquemment située dans la région pelvienne le long des crêtes iliaques ou dans les os longs (294). Elle peut parfois évoluer pour son propre compte du fait de la répétition des saignements voire du saignement en continu à l'intérieur de la pseudotumeur (1,294).



Figure 11. Hématome des muscles ischiojambiers droit (IRM en séquence T2), infiltration interfasciculaire de l'épanchement sanglant (13)

IV.3. Hémorragies exteriorisées des cavités naturelles

Les hémorragies visibles sont les plus spectaculaires mais les moins graves (3). Ces hémorragies naissent principalement au niveau de la sphère ORL, du tube digestif et de l'appareil urinaire.

- Les hémorragies intra-buccales sont souvent post-traumatiques (plaie du frein de la langue, extraction dentaire, gingivorragie).
- Une épistaxis intarissable est possible (5)
- Les hémorragies digestives traduisent des lésions sous-jacentes (ulcère gastrique, polype intestinal) et qui se révèlent par une hématurie, suivie de méléna ou par une rectorragie.
- Les hématuries sont généralement spontanées et sont traitées par un repos strict au lit, associé à une hyperhydratation. Elles ne justifient pas un recours systématique à la perfusion de facteur de coagulation. Leur récurrence doit faire rechercher une lésion de l'appareil urinaire (13).

IV.4. Autres hémorragies à fort risque potentiel

D'autres saignements peuvent entraîner un risque vital, comme les hémorragies intracrâniennes ou les hémorragies internes dans l'abdomen ou le thorax. Des maux de tête persistants, des vomissements répétés, une raideur du cou, une vision double, une perte d'équilibre à la marche sont des symptômes d'une hémorragie cérébrale (7). Les hémorragies internes abdominales vont se manifester principalement par des douleurs au niveau du ventre ou du dos et peuvent occasionner des anémies sévères (3).

V. VIE AU QUOTIDIEN

L'hémophilie sévère, et même modérée ou mineure n'a rien d'une maladie anodine. Si les hémophiles sévères sont sans doute ceux qui, dans leur quotidien devront prendre le plus de précautions, la maladie influe d'une manière ou d'une autre sur la vie d'un hémophile quel que soit son degré de sévérité. Comprendre sa maladie et son expression, pouvoir l'expliquer aux autres sereinement, pouvoir être identifié très vite comme étant hémophile avec le degré de sévérité associé en cas d'urgence, apprivoiser aussi son traitement et les contraintes associées à celui-ci, prendre sa place au sein d'un réseau de professionnels de santé, de familles et de malades réunis autour de cette pathologie : tels sont les défis associés à l'hémophile au quotidien. Il sera question ici principalement du quotidien d'un hémophile en France.

V.1. Un réseau autour des malades

a. AFH et WFH : les associations

Lorsque les parents découvrent l'hémophilie de leur fils, ils s'intéressent bien sûr à sa pathologie et aux traitements possibles. Pour cela, ils se tournent vers l'équipe soignante et souvent aussi vers les associations de patients, peut-être les plus à même de cerner et d'expliquer le vécu de la maladie au quotidien. Ces associations vont promouvoir la cause des patients, en agissant auprès des industriels, des professionnels de santé, des pouvoirs publics et sanitaires afin que, à l'échelle nationale et mondiale, les traitements soient présents et accessibles partout. Par ailleurs, ils agissent auprès de ces mêmes partenaires pour que la recherche continue afin d'améliorer l'efficacité et la sécurité des traitements.

Très tôt, dans les années 50, s'est créée une Association Française des Hémophiles : AFH regroupant les patients français et leurs familles. Les objectifs de cette association, reconnue d'utilité publique en 1968, sont d'informer et de défendre les droits des malades atteints d'hémophilie et de maladie de Willebrand. L'AFH est agréée pour représenter les usagers du système de santé depuis 2006 devant les autorités de santé françaises et les pouvoirs publics. Pour cela, l'association est représentée par 23 comités régionaux et plusieurs commissions de travail nationales. L'association milite principalement pour une amélioration des traitements et de la prise en charge des patients. Elle est très vigilante quant à la sécurité des traitements et participe à la mise en place de programmes d'éducation thérapeutique des patients. Elle est logiquement membre, entre autres, du comité de pilotage des produits antihémophiliques de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM), du réseau FranceCoag de l'Institut National de Veille Sanitaire (présenté par la suite) et administrateur de l'Établissement français du sang (EFS)(24). Concrètement l'association :

- Diffuse des brochures d'informations à destinations des patients et de leur famille et publie une revue trimestrielle « Hémophilie et maladie de Willebrand »
- Organise des journées d'information, des stages de formation (dont la formation au traitement à domicile)

- Organise un congrès annuel réunissant les différents acteurs de la maladie
- Réalise des enquêtes auprès des patients et de leurs proches
- Édite et diffuse gratuitement aux centres de traitements de l'hémophilie et aux patients :
 - des « carnets de santé des personnes atteintes d'hémophilie et de troubles de la coagulation »
 - des « cartes de soins et d'urgence »
- Assure une permanence téléphonique à l'attention des patients et des familles.

L'AFH est co-fondatrice et membre de la Fédération Mondiale de l'Hémophilie ou World Federation of Hemophilia (WFH). Cette organisation internationale sans but lucratif, créée en 1963 regroupe des organisations de 118 pays et bénéficie de la reconnaissance officielle de l'OMS. Elle travaille avec les professionnels de santé, les personnes atteintes d'hémophilie, les gouvernements, les organismes de réglementation, l'industrie et les fondations afin d'améliorer les soins hémophiliques partout dans le monde (25). Elle contribue donc à :

- Gérer des projets de développement ayant pour objet de permettre à tous les hémophiles d'atteindre l'âge adulte
- Former des personnels soignants dans leurs pays et à l'étranger
- Réaliser un suivi des risques sur les stocks de produits traitant les troubles de la coagulation à l'échelle mondiale
- Produire des publications internationales à l'intention des professionnels de santé, des organisations de patients, des personnes atteintes d'hémophilie et de leurs proches
- Organiser une conférence internationale consacrée à l'hémophilie et aux troubles de la coagulation, tous les deux ans.

b. CRTH et CTH : des équipes soignantes pluridisciplinaires

Compte-tenu des complications hémorragiques éventuelles associées à la maladie avec leurs possibles répercussions en termes de handicap et de difficultés d'insertion sociale, et de l'angoisse associée au mode de transmission, l'hémophilie nécessite une prise en charge pluridisciplinaire. Ainsi autour des patients doivent être réunis médecins spécialistes de l'hémophilie, infirmières (puéricultrices), pharmaciens, kinésithérapeutes, psychologues, secrétaires afin d'optimiser la prise en charge du patient tout au long de sa vie : de l'annonce du diagnostic au conseil génétique éventuel en passant par l'éducation thérapeutique du patient ou le suivi des complications hémorragiques (1). L'organisation des soins aux hémophiles en France s'est inscrite dans cette logique formellement par la circulaire du 9 octobre 1989, remplacée par celle de la DGS/DH/DSS n°97-142 du 24 février 1997. Ces circulaires sont issues des réflexions consécutives à l'affaire du sang contaminé, des contaminations virales et de la perte de confiance qui s'en est suivie. Ces textes ont permis la mise en place de centres de traitement de l'hémophilie (CTH) au nombre de 40 aujourd'hui en France métropolitaine, dont 26 sont centres régionaux de traitement de l'hémophilie (CRTH) (16). Chaque CRTH a pour mission la constitution d'un réseau pluridisciplinaire pour la prise en charge des patients hémophiles ainsi que la coordination de ce même réseau régional et national dans l'intérêt du patient. Le CRTH de Lyon, par exemple, fonctionne autour de cinq pôles d'activité : les consultations, les soins ambulatoires, les urgences, les hospitalisations et l'activité de recherche clinique (20). Cette activité de recherche clinique rendant possible la mise en place de protocoles thérapeutiques temporaires (PTT) et, depuis 2002, de protocoles de thérapie génique, est d'autant plus intéressante et crédible que les CRTH coordonnent les

soins de l'ensemble des hémophiles de leur région. Leurs activités de recherche clinique peuvent donc toucher hypothétiquement un grand nombre de patients hémophiles. Les trois impératifs dans l'organisation des soins sont (6) :

- Traiter tout épisode hémorragique en le contrôlant précocement ou en prévenant son apparition et ses conséquences.
- Traiter les complications de la maladie et du traitement s'il y a lieu.
- Prendre en charge le patient hémophile et sa famille tout au long de sa vie en leur assurant une éducation thérapeutique.

Depuis 2006, la prise en charge des patients hémophiles a été intégrée au « plan national des maladies rares 2005-2008 » introduisant dans l'organisation des soins la labellisation de plusieurs CTRH comme centres nationaux de référence puis, depuis 2008, de centres de compétence (80). Les centres de références ont pour mission de faciliter le diagnostic, établir et diffuser des protocoles de prise en charge globale, coordonner la recherche, participer à la veille épidémiologique, participer à la formation des professionnels de santé, coordonner le réseau de professionnels de santé et être un interlocuteur des associations de malades. Les centres de compétences participent à l'ensemble des missions des centres de référence et permettent de compléter le maillage territorial.(80)

c. Réseau France Coag : un suivi prospectif de cohorte

À partir de 1994 et consécutivement à l'affaire du sang contaminé, le ministère de la santé a décidé d'évaluer la sécurité des différents facteurs VIII et IX disponibles sur le marché par le biais d'un Suivi National thérapeutique des Hémophiles (SNH). Ce suivi, coordonné par l'Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale (INSERM), reposait sur le recueil de données auprès des hémophiles dans les CTH. Les données recueillies consistaient en des informations cliniques et biologiques du patient ainsi qu'un échantillon de sang prélevé lors de chaque visite. Depuis 2003 (6), le dispositif de pharmacovigilance de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSaPS, devenue ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament, en 2012) géré par l'institut de veille sanitaire (InVS), a pris le relais du SNH. Des cliniciens, des représentants des CTH, des centres de référence, de l'INSERM et de l'AFH ont alors élaboré un projet de suivi des patients atteints par des troubles de la coagulation sous la forme d'un réseau : le « Réseau FranceCoag. » (RFC). Le RFC dont l'AFH est membre, est donc un dispositif national de suivi de cohorte de patients porteurs d'hémophilie, des formes les plus graves de maladie de Willebrand ou d'un autre Déficit Hériditaire en Protéine Coagulante (DHPC) pris en charges dans les CTH. Ce projet a pour objectifs (17):

- le recensement et la description de la population française atteinte de DHPC
- la mise en place d'un outil de veille sanitaire en cas de suspicion de transmission d'un nouvel agent par les traitements (maintien de la constitution d'une bibliothèque d'échantillons sanguins)
- la réalisation d'études, à partir de cohortes constituées spécifiquement, portant sur :
 - les facteurs d'apparition d'inhibiteurs
 - les pratiques prophylactiques

L'existence d'un tel réseau et son efficacité sont basées sur une adhésion forte des patients et des CTH. Fin 2010, 36 CTH participaient au RFC, 7001 patients étaient inclus et les données de plus de 30 000 visites avaient été enregistrées (19). C'est cette adhésion des différents acteurs de la prise en charge des

hémophiles en France qui permet la publication de données précises et exhaustives par la voie du réseau FranceCoag. La mise à disposition d'outils d'évaluation harmonisés au niveau international rendra également possible des suivi de cohortes internationales.(6)

V.2. Comprendre sa pathologie et son traitement

Dès l'annonce du diagnostic, l'équipe soignante tente d'éclairer la famille sur l'hémophilie. L'information au patient et à sa famille dans le cadre de cette maladie revêt un caractère essentiel pour plusieurs raisons dont notamment la transmission, les symptômes possibles, les traitements et la chronicité. En effet le mode de transmission, bien qu'il puisse être une source d'inquiétude et même parfois de culpabilité de la part de la mère, fait partie des informations essentielles à un patient hémophile et à ses proches. L'étude familiale à la recherche de conductrice permettra surtout à la famille d'envisager les grossesses à venir de façon éclairée. Bien souvent l'expérience familiale et personnelle de la maladie sera très liée à la compréhension de la maladie. L'équipe soignante a un rôle essentiel à jouer car meilleure sera la formation et la compréhension de la maladie et du traitement, plus les réactions familiales et personnelles seront adaptées face à la maladie, moins l'expérience de cette maladie chronique laissera de séquelles à la fois physiques, psychiques et sociales.

Dès 1972, un programme de traitement à domicile ayant pour objectif une connaissance médicale, une maîtrise technique et une maîtrise émotionnelle de la maladie voit le jour dans quelques centres de traitement de l'hémophilie en France. Il s'étendra progressivement à l'ensemble des CRTH. Au terme d'une réflexion nationale, des programmes de formations à l'éducation à la santé en hémophilie pour les professionnels de santé sont mis en place en 1996. Par la suite, la circulaire DGS/DH/DSS n°97-142 de 1997, relative à l'organisation des soins aux hémophiles et aux autres troubles de la coagulation indique, parmi les missions des CRTH, l'éducation sanitaire des malades et de leurs familles, l'enseignement et le suivi de l'auto-traitement à domicile (21). Cet ensemble d'informations et de formations à destination des patients et de leurs proches s'intègre dans le cadre de l'ETP, pour Éducation Thérapeutique du Patient. L'ETP, désormais reconnue et recommandée par les autorités de santé (26,27), constitue un critère d'accréditation pour les hôpitaux accueillant les patients atteints de maladie chronique, au même titre que certaines techniques sont nécessaires pour l'accréditation de certains laboratoires. L'OMS définit l'ETP en 1998 comme ayant « pour but d'aider les patients à acquérir ou maintenir les compétences dont ils ont besoin pour gérer au mieux leur vie avec une maladie chronique...[et] de les aider (ainsi que leur famille) à comprendre leur maladie et leur traitement, collaborer ensemble et assumer leurs responsabilités dans leur propre prise en charge dans les but de les aider à maintenir et améliorer leur qualité de vie ». Pour les patients hémophiles en France, des groupes de travail de la COordination Médicale pour l'Étude et le Traitement de l'Hémophilie (COMETH) ont défini un cadre à la réalisation de l'auto-traitement à domicile, et un contrat d'éducation à proposer au patient ou à sa famille au démarrage de l'ETP. Des variantes sont observables selon les CTH mais les infirmières du CRTH sont les plus impliquées dans l'ETP, après les patients eux-mêmes bien sûr dont le consentement et la motivation sont indispensables. Les autres soignants sont en général étroitement liés au déroulement et à la progression de l'ETP. Les principaux objectifs d'éducation à la santé pour les patients atteints d'hémophilie sont assez proches quel que soit le centre de traitement car les mêmes difficultés sont rencontrées. Ces objectifs sont établis individuellement pour chaque patient en fonction de son âge, de sa capacité à entendre et à apprendre

certaines informations, de sa personnalité, de l'expérience qu'il a de sa maladie, de son projet de vie. Les projets d'ETP démarrent dès l'enfance du patient hémophile par la formation des parents principalement dans les premières années puis ils s'adaptent au cours du temps aux changements de représentations et d'attitudes du patient qui devient adolescent puis adulte. Ceci explique la nécessaire attention qui doit être portée à la relation soignant-soigné tout au long de cette évolution. Les objectifs généraux à l'attention des parents dans un premier temps, puis de l'enfant, l'adolescent et l'adulte hémophile sont (21):

- Permettre d'évoquer son expérience de la maladie, ses besoins et ses attentes pour encourager à communiquer avec l'équipe soignante sans appréhension et pour que le projet d'ETP soit adapté le plus possible.
- Informer sur :
 - la nature de la maladie, la détection des manifestations cliniques et leur variabilité au cours du temps, les mécanismes de la maladie
 - le fonctionnement global de la personne et de son corps
 - la nature des possibilités thérapeutiques et de leur réalisation
 - le fonctionnement, les missions et les objectifs de l'équipe soignanteet s'assurer de la bonne compréhension et mémorisation de ces informations par des moyens adaptés selon l'âge et la personnalité.
- Donner la possibilité et les moyens d'évoquer la maladie devant d'autres personnes et d'en assumer les éventuelles conséquences et le regard des autres.
- Développer une position critique chez le patient, en lui donnant la capacité de comprendre ce qu'il peut attendre des traitements et en l'aidant à analyser son vécu au quotidien et les propositions de l'équipe soignante. L'aider à développer une position critique vis-à-vis de son environnement familial et privé, de ce qui est dit sur l'hémophilie, permettra au patient de se réapproprier sa maladie.
- Permettre d'intégrer l'hémophilie dans la vie quotidienne et faire accepter la nature de la maladie, sa chronicité.
- Apprendre à gérer la maladie : gérer son traitement prophylactique s'il y a lieu, repérer les situations d'urgence ou à risque et traiter les épisodes aigus.
- Aborder la transmission : d'abord avec la famille, puis avec l'enfant en fonction de son âge.

L'ETP vient lutter contre les principales difficultés qu'on peut rencontrer dans la prise en charge d'un hémophile en France : la mauvaise évaluation du risque au quotidien (prise de risques excessifs, prise de précautions excessives), la mauvaise observance des traitements substitutifs prophylactiques lourds (2 à 3 injections par semaine), la perte d'implication dans le projet thérapeutique face à une maladie incurable et ses complications, le sentiment de dépendance aux personnels soignants. Ainsi donner aux patients et à leurs proches une autonomie raisonnée quant à leur maladie et leurs traitements, ce n'est pas leur donner trop de responsabilités. C'est leur donner un pouvoir de contrôler partiellement non seulement la gestion de leur maladie mais aussi leur santé plus globalement en les redéfinissant comme co-auteurs et co-acteurs de leur prise en charge (21).

Bien sûr, l'ETP et sa valorisation par les autorités de santé est une chance dont tous les hémophiles ne disposent pas à l'échelle mondiale. Bien que l'hémophilie appartienne aux trente affections longues durées (ALD30) donnant lieu à un remboursement total par la caisse de sécurité sociale des frais

médicaux imputables à la maladie en France, une sensibilisation aux coûts des traitements est effectuée dans le cadre de l'ETP (7). Dans de nombreux pays en développement, la question du diagnostic d'abord, puis de l'accessibilité et de la sécurité sont des écueils qui s'ajoutent à la méconnaissance de la maladie par les patients. Cela empêche une prise en charge optimale du patient.

V.3. Être compris par les autres

Plusieurs outils ont été mis en place afin que l'hémophilie et le traitement soit présentés clairement dans des situations particulières telles qu'une urgence, une consultation, la scolarisation. L'essentiel pour expliquer sa maladie à d'autres personnes est de l'avoir bien compris soi-même. Ces outils viennent en complément de la parole du patient bien sûr, lorsque cela est possible.

- Carte de soins et d'informations pour les personnes souffrant d'hémophilie

Les patients reçoivent de l'équipe soignante du CTH une carte d'information et de soins, également appelée « carte personnelle de l'hémophile » (6). Cette carte comporte deux volets dans un étui plastique où le patient peut insérer la dernière ordonnance, le compte-rendu médical, la carte vitale.

- Le volet soins, destiné aux professionnels de santé, est rempli par le médecin spécialiste assurant le suivi du patient. Il fournit les coordonnées des personnes à prévenir immédiatement en cas d'urgence : CTH, médecin, famille. Il présente les principales recommandations de prise en charge en urgence et indique aussi des sites et des numéros de téléphone utiles. Le médecin spécialiste peut indiquer également des informations personnelles sur le patient, utiles si ce dernier n'est pas en mesure de les fournir : sévérité de l'hémophilie, existence d'inhibiteur, traitement en cours, précautions.
- Le volet informations et conseils, destiné au patient et à sa famille, contient des informations pratiques sur la maladie et sa prise en charge : définition, causes, signes, conseils de prise en charge en cas d'urgence ou au quotidien, sites internet d'information et association nationale de patient.

La délivrance de la carte par le médecin spécialiste s'accompagne d'explications sur le contenu, les buts et les modalités d'utilisation de la carte respectant notamment le principe de secret médical et de confidentialité (22). Cette carte, présentée aux professionnels de santé lors des consultations urgentes ou non, permet une meilleure coordination des soins

- Carnet de santé des personnes atteintes d'hémophilie et de troubles de la coagulation

Ce carnet de santé spécifique conçu par l'AFH, est un élément indispensable de suivi du traitement du patient mais également de pharmacovigilance. En effet, on y garde la trace des dates, heures et motifs des injections ainsi que de l'étiquette des médicaments utilisés. L'étiquetage spécifique reprenant toutes les informations du médicament permet de réaliser le suivi de traçabilité des médicaments anti-hémophiliques (6).

- **Projet d'accueil individualisé**

Afin de faciliter l'intégration en collectivité (crèche, scolarité, colonies) souvent les établissements d'accueil sont informés et accueillent l'enfant avec les dispositifs nécessaires intégrés dans un Projet d'Accueil Individualisé (PAI). Ce projet sera en général le cadre de l'ensemble des précautions à envisager et sera établi en coordination avec le médecin scolaire, le médecin spécialiste, les parents et le directeur. Il est important que l'enseignant soit informé et comprenne les conséquences de la maladie sur ses apprentissages; cela n'implique pas nécessairement l'exposé du diagnostic en tant que tel qui reste à la seule discrétion des parents et de l'enfant.

V.4. La vie en pratique

Au-delà des contraintes associées aux traitements qui seront évoquées par la suite, la pathologie se définit aussi par des contraintes au quotidien que le patient doit assumer.

- **À l'école**

Les enfants hémophiles sévères peuvent être scolarisés normalement et ont les mêmes capacités d'apprentissage que les autres. À la demande de l'école, les parents établissent souvent un PAI avec l'établissement scolaire et ce, quel que soit le degré de sévérité de la pathologie, afin que l'équipe éducative connaisse la conduite à tenir en cas de problème. L'important est que l'enfant profite des moments importants de la vie à l'école avec les autres. En cas d'absences préjudiciables du fait d'accidents hémorragiques répétés, deux centres médico-scolaires spécialisés existent en France en Bretagne et dans les Pyrénées-Orientales pour accueillir l'enfant (6).

- **En sport**

La pratique d'une activité sportive régulière est non seulement possible mais aussi souhaitable car elle participe à l'entretien de la souplesse, au maintien du capital musculaire et donc indirectement du capital articulaire du patient. Elle favorise la récupération fonctionnelle après des épisodes hémorragiques et permet donc de rompre le cercle vicieux : hémarthrose, immobilisation, atrophie musculaire, nouveaux accidents hémorragiques, etc... De plus, pratiquer une activité sportive permet également d'entretenir l'intégration sociale, l'estime de soi et la vision positive de son corps tout en en connaissant mieux les limites. Les activités sans risque de choc sont encouragées : natation, gymnastique, marche, vélo, tir à l'arc, tennis de table. Par opposition, celles à fort risque hémorragique et notamment au niveau du crâne sont généralement contre-indiquées : arts martiaux, boxe, rugby, roller, ski alpin, parachutisme. On observe à ce sujet quelques particularités régionales. Pour autant, s'il peut arriver qu'un patient dans le sud-ouest soit autorisé à pratiquer le rugby, en Savoie le ski alpin ou en Languedoc-Roussillon la plongée, il ne s'agit pas là de généralités et les règles en la matière, comme pour l'ETP, doivent être élaborées avec le médecin spécialiste et savoir s'adapter au patient dans la mesure du raisonnable.

- En voyage

En France, il est recommandé aux hémophiles et à leur famille de signaler à leur CRTH le lieu et la durée de leurs vacances afin que celui-ci entre en contact avec le CRTH ou le CTH le plus proche afin de les prévenir de leur séjour et de leurs antécédents médicaux essentiels. Pour les voyages à l'étranger, des centres à l'étranger sont indiquées par la WFH et l'AFH. Il est conseillé aux hémophiles d'amener avec eux leur traitement pour toute la durée de leur séjour. Pour une durée de séjour à l'étranger supérieure à un mois, il est nécessaire de prévenir le CRTH au moins deux mois auparavant afin d'obtenir l'accord de la sécurité sociale pour une délivrance de plus d'un mois de traitement. Les conditions de conservations des médicaments doivent également être envisagées. Dans ces déplacements, il est essentiel d'avoir sur soi des documents tels que sa carte d'hémophilie, son carnet de santé, ses ordonnances et si nécessaire des certificats permettant le transport des produits pour la douane.

- Emploi

L'AFH souhaite faciliter l'insertion dans la vie active des patients hémophiles car beaucoup d'employeurs sont inquiets à l'idée de travailler avec un hémophile. Bien souvent d'ailleurs, les patients taisent leur maladie sur leur lieu de travail (11). Plus généralement, il n'existe pas de contre-indication dans le travail : le travail sur machine est possible avec des aménagements (3)

- Santé (hors traitement)

En cas de douleur, il faut éviter les analgésiques contenant des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) tels que l'aspirine par exemple, qui ont un effet antiagrégant du fait de l'inhibition de la synthèse de thromboxane A_2 par les plaquettes. L'injection intramusculaire est interdite. Les vaccinations habituelles doivent avoir lieu par voie sous-cutanée à l'aide d'aiguilles très fines sur la face externe du bras et sont suivis d'un pansement compressif que le patient doit garder 1h au minimum. Tout geste invasif (soins dentaires, opérations) doit avoir fait l'objet d'une consultation médicale préalable quel que soit le degré de sévérité de l'hémophilie pour prescrire un protocole de soin adapté (3).

V.5. Analyse selon le principe de DALY

Une étude américaine de 2010 (8), basée sur des données épidémiologiques de 2007 aux États-Unis étudie l'impact de l'hémophilie selon le sexe et le degré de sévérité de la maladie, sur la vie des malades (voir tableau III). L'étude de l'impact de l'hémophilie en fonction du sexe est possible aux États-Unis car on y utilise le terme d' « hémophiles femme » pour désigner les « conductrices à taux bas ». L'indicateur utilisé, recommandé par l'OMS, est la mesure des DALY : Disability-Adjusted Life Years. Le principe de cet indicateur consiste à estimer que la mesure la plus appropriée des effets d'une maladie chronique serait la somme des années perdues en raison d'une diminution de l'espérance de vie (years of life lost resulting from mortality : YLL) et des années perdues liées à la maladie tout au

long de la vie (years of life lost resulting from disability : YLD). Cet indicateur accepté internationalement rend possible des comparaisons à l'échelle mondiale des impacts d'une maladie dans différents pays.

Les estimations des DALYs ont été faites sur la population hémophile des États-Unis, pour chaque sexe séparément car les résultats sont logiquement très différents pour les deux sexes. Parmi les hommes hémophiles, 51% étaient atteints d'hémophilie sévère tandis que les femmes souffraient pour la grande majorité d'entre elles (83%) d'hémophilie mineure. Comme évoqué précédemment, cela s'explique par le caractère récessif lié à l'X de la maladie. Les YLDs rendent compte du fait que l'hémophilie, comme toute maladie chronique, n'affecte pas juste la santé physique mais aussi la qualité de vie dans son ensemble et la santé psychique et sociale des patients. Pour mesurer la perception des patients de leur qualité de vie, l'European Quality of Life Questionnaire (EuroQol) a été choisi. Ce dernier tient compte de cinq paramètres : la mobilité, l'auto-traitement, les activités quotidiennes, la douleur, l'anxiété. Les résultats obtenus sont les suivants (8) :

- L'impact de l'hémophilie sur la population hémophile américaine en 2007 représente 110 095 DALYs. Plus clairement, ce chiffre représente le nombre d'années en « bonne » santé absentes du fait de l'hémophilie au moment de l'étude sur l'ensemble des États-Unis. Une amélioration idéale dans la prise en charge globale de l'hémophilie permettrait de regagner toutes ces années et pourrait potentiellement résulter en un gain d'une année de vie en bonne santé par tranche de 2700 Américains.
- La part la plus importante (88%) des DALYs est due aux YLDs. Ceci s'explique notamment par le fait que les thérapies basées sur l'apport du FAH manquant aient considérablement réduit la mortalité prématurée parmi les patients hémophiles aux États-Unis.
- De larges différences apparaissent en fonction du sexe, les femmes contribuant à moins de 3% de l'ensemble des DALYs de la population hémophile américaine. Cet écart est largement expliqué par la plus grande prévalence d'hémophilie masculine, et particulièrement de l'hémophilie masculine sévère.
- En distinguant le genre et la sévérité de l'hémophilie, la catégorie d'hémophiles qui contribue le plus au DALYs (51% du total) est celle des hommes atteints d'hémophilie sévère.

Tableau III. Estimation des DALY liées à l'hémophilie aux États-Unis en 2007 (8)

	Males	Females	Total
YLLs	12,990	428	13,418
YLDs			
Severe	55,796	321	56,117
Moderate	21,494	223	21,717
Mild	17,066	1777	18,843
Total YLDs	94,356	2321	96,677
Total DALYs	107,346	2749	110,095

DALYs, disability-adjusted life years; YLDs, years of life lost resulting from morbidity; YLLs, years of life lost resulting from mortality

Dans la discussion de ces résultats plusieurs remarques s'imposent :

- Le nombre de DALYs est relativement faible en regard de l'ensemble des maladies chroniques parmi lesquelles on peut évoquer la sclérose en plaque dont l'OMS a estimé en 2004 le nombre de DALYs à 320 000 à l'échelle d'une même population. Ceci s'explique notamment par le fait que la sclérose en plaque soit une maladie plus fréquente que ne l'est l'hémophilie, sans prédilection de genre, et d'autre part, par l'efficacité des traitements substitutifs en FAH mises en place.
- L'étude a, entre autres, pour défaut le fait de n'avoir pas séparé les patients selon leur hémophilie (A ou B). Mais les manifestations cliniques de l'une et l'autre hémophilie sont assez proches et une étude de 2007 avait démontré l'existence de scores quasi-identiques en terme de qualité de vie entre des patients atteints d'hémophilie A et B avec le même indicateur. D'autres DALYs sont à calculer : selon la séropositivité ou non, selon l'historique orthopédique du patient, selon sa décennie de naissance. L'ensemble de ces distinctions qui n'ont pas été faites conduit logiquement à utiliser le nombre global de DALYs principalement comme un indicateur qui facilite la communication et la comparaison à l'échelle internationale.
- Par ailleurs, l'absence de données statistiques directes quant à la prévalence et à la mortalité liée à la maladie chez la femme ont conduit à des estimations indirectes. Les chercheurs ont utilisé un ratio femme/homme issu des cas traités dans les centres de traitements de l'hémophilie américains (HTCs) pour la prévalence, et un taux de mortalité supposé identique à celui des hommes pour la mortalité. Les données des HTCs couvrent 67% des patients hémophiles américains : cela valide le ratio utilisé. Il existe un possible sous-diagnostic des troubles de l'hémostase chez la femme. Néanmoins ce sous-diagnostic des femmes a été négligé du fait de leur faible contribution à l'ensemble des DALYs. Par ailleurs, le trouble de l'hémostase le plus fréquent chez la femme est la maladie de Willebrand et non l'hémophilie (19).
- On peut reprocher à cette étude d'utiliser au moment de sa parution (2010) des données très anciennes : datant de 1994 pour la prévalence et de 2000 pour la mortalité. La faible proportion des YLLs dans le total des DALYs a justifié le choix de ne pas tenir compte du surplus de mortalité en 2000 par rapport à 2010, principalement en raison de l'épidémie d'HIV.

Cette étude permet d'établir clairement, en termes d'hémophilie, quelles doivent être les priorités dans la mesure où on ne guérit pas de l'hémophilie à l'heure actuelle. Si l'espérance de vie d'un hémophile a chuté de 68 ans dans les années 80 à 35 ans dans les années 90 principalement en raison de l'émergence du SIDA et de l'affaire du sang contaminé, elle n'en est pas moins revenue depuis à un niveau très proche de la population générale (8). Pour autant on ne peut pas dire que les hémophiles vivent comme n'importe qui et l'amélioration de leur qualité de vie globale demeure une nécessité.

Face à cette préoccupation, des traitements substitutifs ont été mis en place et améliorés au cours des années pour en arriver aux thérapies actuelles, avec leurs qualités et les problématiques qui leur sont associées. C'est de ces mêmes thérapies pour les patients hémophiles B dont il sera question dans la deuxième partie de cette thèse. Si ces médicaments permettent aujourd'hui en France aux hémophiles d'avoir une espérance de vie proche de celle de la population générale (3), l'amélioration de la qualité de vie par l'amélioration des traitements substitutifs reste une priorité des chercheurs et de l'industrie pharmaceutique. La troisième partie de ce travail sera donc consacrée aux perspectives envisageables dans le traitement de l'hémophilie B.

CHAPITRE II : RAPPELS SUR LES THÉRAPIES EXISTANTES ET DISCUSSION

I. HISTORIQUE DES THÉRAPIES

Évoluant au gré des découvertes scientifiques et médicales (voir figure 12), l'histoire des thérapies de l'hémophilie B est l'histoire d'une amélioration fulgurante dans la qualité de la prise en charge des patients au cours des cinquante dernières années. Mais elle est aussi l'histoire d'un drame : celui du sang contaminé et des milliers de patients atteints par le VIH et l'hépatite C au cours des années 80 et 90 (30). C'est toute cette histoire qui permet de mieux comprendre l'apparition des thérapies actuellement utilisées, leurs caractéristiques et les critères qui ont conduit à l'affirmation de leur bénéfice thérapeutique.

I.1. Le temps des questions

Si les premières évocations de la pathologie remontent à l'antiquité (46), il a néanmoins fallu bien des siècles pour comprendre en partie l'hémophilie, le défaut de coagulation, et envisager des traitements adaptés. Après avoir longtemps pensé que les hémophiles disposaient de vaisseaux sanguins simplement trop fragiles (43), la responsabilité du système de coagulation est établie à la fin du XIX^{ème} siècle par le Dr Hayem (46). Cependant, dès 1840, la première transfusion directe de sang total était effectuée avec succès chez un enfant présentant une pathologie hémorragique majeure, probablement de type hémophilique afin d'en contrôler les saignements (voir figure 12). En dépit de cela, la transfusion de sang total se révèle incapable de contenir une hémorragie interne grave et l'espérance de vie d'un hémophile sévère au début du XX^{ème} siècle ne dépasse pas 11 ans dans les pays les plus développés (38).

I.2. L'hémophilie B: un déficit en facteur IX de la coagulation : si l'hémostase m'était contée

Dans les années 1920-1930, les recherches sur l'étiologie de cette maladie se sont orientées vers une anomalie plaquettaire. En 1925, après le sang total, on découvre que le plasma normal transfusé raccourcit le temps de coagulation des hémophiles (46). Malgré cela, jusque dans les années 40, le traitement principal des accidents hémorragiques reste basé sur des injections intraveineuses de sang total (de 100 mL à 300 mL). Le premier tournant majeur dans l'évolution du traitement des hémophiles viendra de découvertes fondamentales dans le domaine de l'hématologie et de la biologie. En 1937, deux médecins parviennent à corriger le défaut de coagulation par une substance dérivée du plasma sanguin qu'ils appellent alors « globuline antihémophile » (43). À partir de 1944, certaines fractions du plasma riches en facteurs de coagulation pourront ainsi être extraites à l'aide d'une méthode de fractionnement mise au point par un biochimiste américain : Edwin Cohn, à partir de différentes concentrations d'éthanol. Le plasma humain contient donc des facteurs qui permettent la normalisation de la coagulation sanguine des patients hémophiles et qu'on est alors en mesure de séparer. Dès lors les transfusions de plasma frais ou frais congelé seront préférentiellement utilisées (46). En 1947, un médecin argentin, le Dr Pavlovsky, observe *in vitro* que le sang d'un patient hémophile corrige le défaut de coagulation d'un autre patient hémophile. Il découvre sans le savoir que deux types

d'hémophilies existent. Il faudra attendre 1952 pour que les chercheurs affirment l'existence des hémophilies A et B associées respectivement à un déficit en facteur VIII et à un déficit en facteur IX. L'hémophilie B est parfois appelé maladie de Christmas et le facteur IX, facteur Christmas du nom du premier patient, Stephen Christmas chez qui a été diagnostiqué le déficit en facteur IX en 1952. Les facteurs de coagulation seront identifiés et nommés dans les années 60 et l'interaction des facteurs pour réaliser la coagulation proprement dite prend le nom de cascade de coagulation en 1964 (43). Cette même année, une nouvelle méthode de fractionnement est décrite par le Dr Pool : la cryoprécipitation. Cette technique est fondée sur la congélation à -70°C du plasma puis sur sa décongélation entre 2°C et 4°C qui donne lieu à une précipitation. Ainsi on peut isoler un cryoprécipité contenant notamment le FVIII, le facteur de Willebrand et le fibrinogène et un cryosurnageant dans lequel se trouve, entre autres protéines, le FIX (42). Durant les années 50 et 60, les hémophiles B sont traités au moyen de sang entier ou de plasma frais (43) (voir figure 12). Comme évoqué précédemment, ces produits ne renferment pas assez de facteurs et on injecte, pour augmenter le niveau en facteur IX, des volumes très importants de plasma occasionnant une surcharge du réseau vasculaire. La plupart des hémophiles sévères et certains modérés décèdent durant l'enfance ou au début de l'âge adulte et l'espérance de vie est de 25 ans environ entre 1921 et 1960 (46). Les causes les plus fréquentes de décès sont les hémorragies des organes vitaux, notamment cérébrales et les hémorragies post-traumatiques ou post-opératoires. Les survivants ne sont en général pas épargnés par le handicap et les douleurs associées à l'arthropathie hémophilique.

I.3. De la révolution thérapeutique au clonage du gène : à la recherche de la facilité d'utilisation et de l'efficacité thérapeutique

Les premiers concentrés en FIX de pureté intermédiaire issus de pools de plasma sont introduits au début des années 70 avec les concentrés de complexe prothrombique (CCP) également appelé PPSB pour Proconvertine, Prothrombine, Stuart et anti-hémophile B, soient les autres noms des facteurs vitamine K-dépendants : VII, II, X et IX. Ces concentrés sont fabriqués par fractionnement de Cohn ou par adsorption au Ca^{2+} (30,47). Le contenu en facteur VII est très variable selon le concentré. On peut y trouver également des traces de facteur VIII, de facteurs activés VIIa et IXa ainsi que des protéines anticoagulantes vitamine-K dépendantes : protéines C et S. Ces concentrés de pureté intermédiaire sont très efficaces mais leur utilisation peut donner lieu à des complications thrombotiques : thromboembolie veineuse, coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) ou encore infarctus du myocarde (30). Ces complications sont particulièrement observées lors de l'administration de fortes doses de CCP. Le risque d'accident thrombotique est plus élevé encore chez les patients souffrant d'insuffisance hépatique sévère en raison de la défaillance de leur clairance hépatique. La thrombogénicité des CCP est encore très étudiée de nos jours et, si le FIX est hors de cause, les chercheurs attribuent ce défaut à l'excès de prothrombine (30) ou à la présence des facteurs activés (130), particulièrement le FIXa (32,48,49,50). Les fabricants, afin de réduire cette thrombogénicité, ajoutèrent de l'héparine, de l'antithrombine et de la protéine C dans les CCP. Mais l'inconvénient majeur des CCP, dont personne n'avait conscience à l'époque, réside dans leur fabrication et l'absence d'étape d'inactivation virale sur un produit issu du plasma de plusieurs milliers de donneurs (30). Dans la foulée des CCP, les Concentrés de Complexes Prothrombiques activés (CCPa) sont également mis au point peu de temps après. Ils constitueront le premier traitement dit « by-passant » des déficits en facteur de coagulation et particulièrement de l'hémophilie A. En effet ils permettent chez un hémophile

A de contourner le schéma thérapeutique en rétablissant une coagulation suffisamment efficace sans apport du facteur déficitaire. Le CCPa présente les mêmes défauts que le CCP tant au niveau de la sécurité virale que des accidents thrombotiques (28). Néanmoins ces traitements ont une forte efficacité hémostatique.

Puis des concentrés plasmatiques de facteur IX font leur apparition quelques années après (50). Dans leur fabrication des étapes de purification ont été ajoutées qui permettent l'élimination des facteurs activés et la réduction de la thrombogénicité du produit (32). La séparation du facteur IX des autres protéines plasmatiques est rendue possible grâce la chromatographie échangeuse d'ions. Ces concentrés ont une forte activité associée à un faible volume. C'est une révolution dans le traitement de l'hémophilie B car ces concentrés sont lyophilisés sous forme de poudre. Ils peuvent être gardés au domicile du patient et utilisés en cas de besoin. La qualité de vie des patients malades s'en trouve considérablement augmentée : possibilité d'être moins dépendant des soins hospitaliers avec l'administration à domicile, possibilité de réaliser certaines interventions chirurgicales. L'espérance de vie des patients hémophiles monte en flèche pour atteindre 60 ans sur la période 1960-1980 (46). Mais ces concentrés ne disposent que d'une très faible sécurité virale. Le problème est que les facteurs de coagulation ont une activité biologique très sensible à la dégradation (enzymes protéolytiques, chaleur) et qu'ils peuvent également être activés au cours de la fabrication, occasionnant une thrombogénicité. Donc il faut trouver des techniques qui permettent la préservation de l'intégrité du FIX et de son activité biologique tout en réalisant l'inactivation virale avec le moins d'impact possible sur le rendement (41). Parallèlement à cela, en 1982, le gène du facteur IX humain est cloné. Cette révolution génétique va être la base de tous les nouveaux traitements de l'hémophilie B à partir de la fin des années 90.

Mais avant cela, à partir de 1985, les premiers concentrés de facteur IX chauffés au cours de leur fabrication apparaissent. On envisage d'utiliser même des étapes d'inactivation virale supplémentaires telles que l'incubation des produits en présence de solvant et de détergent qui permet d'inactiver les virus à enveloppe lipidique tels que le VIH, le VHB et le VHC. Mais lorsque des concentrés de facteur IX plasmatique avec inactivation virale à la chaleur humide et par traitement par solvant-détergent (S/D) sont commercialisés en 1987 en France (43) et malgré la mise en place d'un dépistage systématique de VIH chez les donneurs dès 1985 (45,48), il est déjà trop tard. (voir figure 12)

I.4. Du sang contaminé à la naissance des thérapies actuellement utilisées : la sécurité virale comme nouvelle condition *sine qua non*

Les produits sanguins issus de pools de plasma de plusieurs milliers de donneurs délivrés à la fin des années 70 et au début des années 80 renfermaient des virus tels que l'hépatite C et le VIH. L'affaire du sang contaminé est mondiale. On estime qu'un hémophile américain sur deux a ainsi été contaminé par le VIH et huit sur dix par le VHC (30). En France les premiers dépistages chez les donneurs de sang en 1985 ont révélé des taux de séropositivité d'environ 6,4 pour 10000 donneurs (48), ce qui *de facto* annonce la contamination de la plupart des produits sanguins, généralement conçus à partir du plasma de 2000 donneurs ou plus (30). Plus d'un tiers des hémophiles français ont été contaminés par le VIH (45). Le scandale viendra aussi du fait que certains responsables des soins des hémophiles dans le monde décident malgré tout de délivrer des stocks de produits non traités à la chaleur dont ils disposaient, parfois en les réservant aux patients déjà connus comme étant séropositifs.

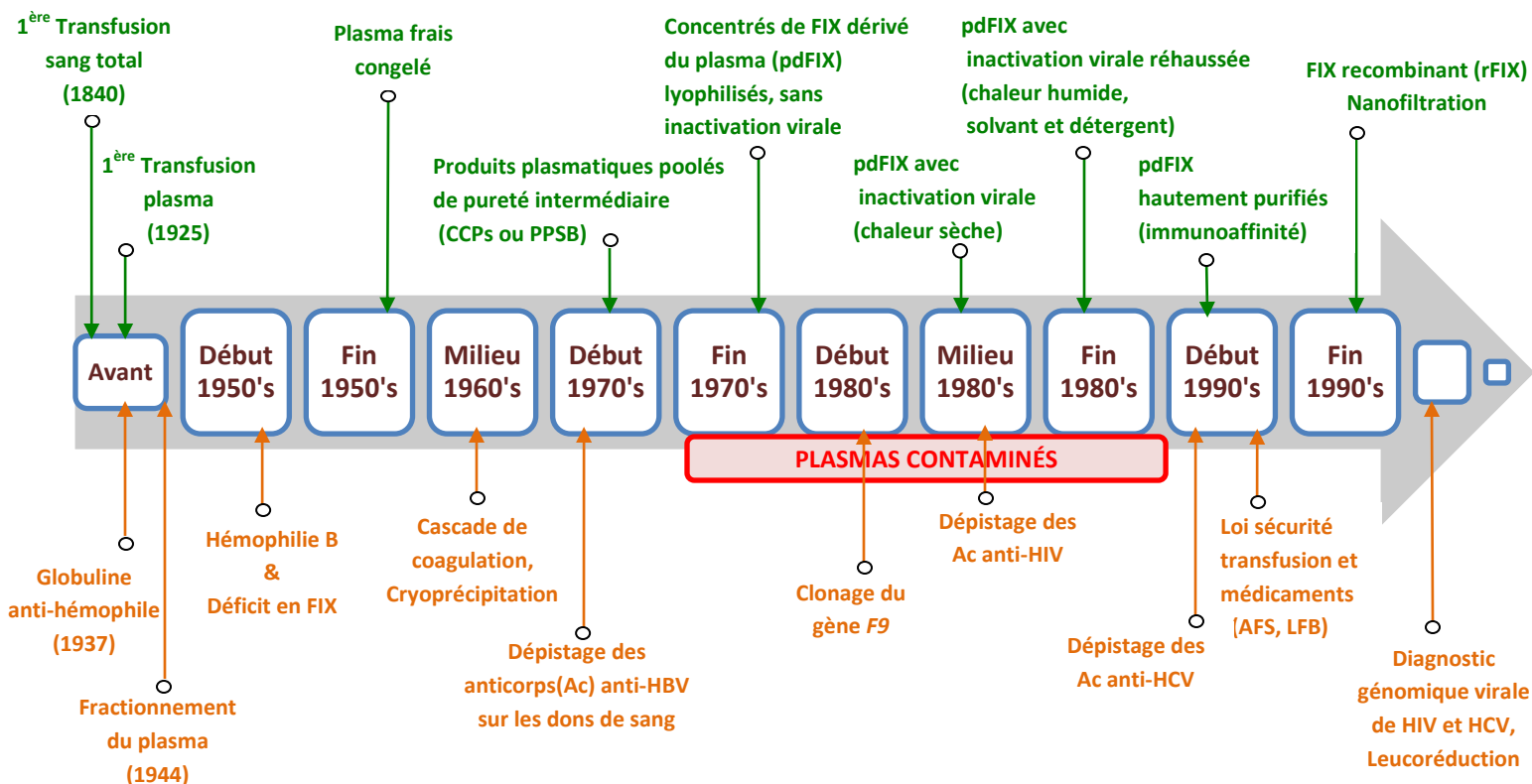


Figure 12. Schéma de l'histoire des thérapies de l'hémophilie B et des faits marquants associées à la pathologie.

CPP : concentré de complexe prothrombique; PPSB : proconvertine, prothrombine, Stuart, anti-hémophilique B;
 pdFIX : concentré de facteur IX dérivé du plasma; rFIX : concentré de facteur IX d'origine recombinante;
 HBV : virus de l'hépatite B; HIV : virus de l'immunodéficience humaine; HCV : virus de l'hépatite C
 AFS : agence française du sang; LFB : laboratoire français du fractionnement et des biotechnologies

À la fin des années 80, les hémophiles sont touchés concrètement par les infections et l'espérance de vie moyenne à un an chute à 49 ans puis à 35 ans au début des années 90 (8). Par ailleurs le lien de confiance qui les lie au monde soignant est fortement altéré. Suite à cet évènement dramatique, les années 90 sont des années de reconquête avec d'énormes progrès dans les techniques de sécurisation et de purification des produits dérivés du sang, dans l'organisation et dans le fonctionnement de la collecte du sang et le fractionnement du plasma en France, ainsi que dans la génétique et les biotechnologies.

Dès 1991 sont commercialisés les premiers concentrés de facteurs IX hautement purifiés par chromatographie d'immunoaffinité à l'aide d'anticorps monoclonaux (voir figure 12). La chromatographie est alors utilisée à la fois pour éliminer le solvant et le détergent et pour purifier le produit (41). La réduction de l'activité virale est obtenue au cours de la fabrication par **élimination** virale : séparation des particules virales dans une fraction non utilisée pour le produit fini. C'est le cas au cours de procédés tels que la précipitation sélective, la chromatographie ou encore la nanofiltration (52). Et, outre l'élimination, la réduction de l'activité virale est aussi obtenue par **inactivation** physique (chaleur, filtration) ou chimique (S/D, thiocyanate de sodium). Les concentrés hautement purifiés n'ont ni la thrombogénicité des CCP, ni la dangerosité virale de leurs prédécesseurs et sont aussi efficaces.

La sécurité virale est augmentée par l'ajout d'une étape de nanofiltration qui procure une plus grande sécurité contre les virus non-enveloppés tels que le HAV, les parvovirus et d'autres agents infectieux dont celui de l'encéphalopathie spongiforme (28).

Les concentrés hautement purifiés sont issus à l'heure actuelle d'une double inactivation virale conformément à la réglementation européenne (141) : solvant-détergent et nanofiltration ou solvant-détergent et pasteurisation ou encore thiocyanate de sodium et ultrafiltration (46). Néanmoins certains chercheurs rappellent que cette sécurité n'est pas totale et qu'il est possible que des pathogènes sans enveloppes lipidiques comme le parvovirus B19 survivent au procédé, tout comme le prion, bien qu'aucun cas n'ait été reporté à ce jour (30).

En France, les tests de dépistage sur les donneurs sont améliorés : en 1985 les anticorps (Ac) anti-VIH, en 1990 les Ac anti-HCV, en 1991 les Ac anti-HTLV (Human T-cell Leukemia/lymphoma Virus) sont dépistés sur les dons (45). Par ailleurs une démarche d'assurance qualité est entamée dès 1991 pour une meilleure maîtrise des processus analytiques avec une automation et une informatisation des processus permettant la traçabilité. La loi française du 4 janvier 1993, relative à la sécurité en matière de transfusion sanguine et de médicament est votée. Elle implique, entre autres :

- une réévaluation de l'ensemble des autorisations de mise sur le marché (AMM) préalablement établies pour les médicaments dérivés du sang dans l'année sur des bases plus contraignantes (51) : dons bénévoles, volontaires, anonymes sous la responsabilité d'un médecin et soumis aux analyses biologiques et tests de dépistages obligatoires prévus par décret (42,74). Des dérogations sont possibles en fonction du besoin sanitaire et du service médical rendu.
- le passage de 150 centres de transfusion sanguine indépendants à 44 établissements de transfusion supervisés par un organisme d'état : l'agence française du sang, AFS (51, 45). La mission de l'AFS, qui deviendra en 2000 l'EFS, est d'élaborer la politique transfusionnelle de la France et d'en surveiller la bonne application.
- la création du laboratoire français du fractionnement et des biotechnologies (LFB) qui deviendra le seul laboratoire autorisé à réaliser le fractionnement du sang collecté dans les établissements de transfusion sanguine français.

Une autre loi, faisant suite à l'affaire du sang contaminé, s'appliquera à de nombreux autres domaines : celle du « principe de précaution » votée le 2 février 1995 selon laquelle « l'absence de certitude, compte tenu des connaissances scientifiques et techniques du moment ne doit pas retarder l'adoption de mesures effectives et proportionnées visant à prévenir un risque de dommages graves et irréversibles »(45). Les contre-indications au don à l'égard du risque possible de transmission de l'encéphalopathie subaiguë spongiforme transmissible (ESST) relève du principe de précaution. Et concernant le risque de transmission d'une ESST en particulier, le variant de la maladie de Creutzfeldt Jakob (v -M CJ), des mesures préventives sur recommandations de l'AFSSaPS ont été prises au début des années 2000. Parmi celles-ci figure la mesure qui rend obligatoire la leucoréduction de l'ensemble des plasmas, déjà appliquée aux produits cellulaires depuis 1998 (45). La leucoréduction ou déleucocytation consiste à soustraire d'un produit sanguin labile, comme le plasma, la majeure partie des leucocytes (62). L'intérêt potentiel de la leucoréduction a été établi à partir du constat qu'environ 90% des cas d'infection sanguine dans les modèles expérimentaux d'ESST animales sont associés aux leucocytes.

Les évolutions technologiques ont permis une amélioration de la concentration en facteur, de la purification ainsi que de la sécurité virale des produits dérivés du sang pour obtenir des concentrés hautement purifiés. Mais le génie génétique et le génie biopharmaceutique vont rendre possible l'apparition d'une nouvelle classe de concentré en facteur IX dès 1997: les facteurs recombinants (rFIX). En effet, le clonage du gène du facteur IX en 1982 a ouvert la voie à l'utilisation de l'ADNc du gène du facteur IX. Cet ADNc est introduit dans des cellules d'ovaires de hamster chinois ou CHO qui vont le transcrire et le traduire afin de produire du facteur IX (46). Ce facteur IX recombinant subit ensuite des étapes de purifications chromatographiques puis de stabilisation mais toujours en l'absence de protéines animales ou humaines (voir figure 12) (49,130). Jusqu'alors les nouvelles thérapies consistaient en des concentrées de facteurs IX plasmatiques plus sûrs que les précédents. La commercialisation des médicaments recombinants offre une alternative aux traitements dérivés du plasma (pdFIX) puisque leur fabrication par génie génétique n'utilise pas le plasma comme matière première. Ces traitements ne présentent donc pas de risque de transmission de virus humains par le plasma en théorie. Le rFIX est dans sa structure et dans sa fonction identique au pdFIX mais certaines modifications post-traductionnelles (MPT) les différencient. Ces deux traitements, pdFIX hautement purifié et rFIX, sont actuellement les principaux utilisés en France dans le traitement des patients atteints d'hémophilie B. Leur comparaison sera discutée plus amplement par la suite mais leur apparition a permis à l'espérance de vie des patients hémophiles B français d'être très proche de celle de la population générale : soit 70 ans environ à la fin des années 90 (38). Cette espérance de vie est valable pour la France et les pays les plus favorisés. Certains pays utilisent encore les PPSB en première intention pour des raisons économiques ou d'infrastructures industrielles (46). On estime que 25% des hémophiles dans le monde bénéficient des traitements et d'une prise en charge adaptée (43). Pour les 75% restant, les situations sont très variables mais elles sont souvent associées à des souffrances, de l'arthropathie hémophilique et une mort précoce. La question de l'accessibilité et des coûts sera également plus approfondie par la suite. (cf Chap.I.IV.1, p.111)

II. THÉRAPIES ACTUELLES

Le traitement actuel habituel d'un patient hémophile en France, en cas de saignement, consiste en (3) :

- un traitement symptomatique : glace, compression, immobilisation, antalgiques, désinfection.
- un traitement substitutif par injection de facteur de coagulation dans un délai très rapide.
- une rééducation si nécessaire, par la suite.

Le traitement symptomatique est souvent cité en anglais sous l'acronyme PRICE pour Protection, Rest, Ice, Compression et Elevation soit protection (attèle), repos, glace, compression et élévation du membre. En présence d'une hémarthrose récente et d'un traitement substitutif adapté, une ponction d'hémarthrose peut aussi être réalisée sur une articulation volumineuse et hyperalgique.

Les traitements substitutifs en facteurs anti-hémophiliques peuvent également être préventifs :

- de façon systématique afin d'atténuer le risque hémorragique chez les hémophiles sévères.
- de façon ponctuelle lors d'interventions à risque hémorragique : chirurgies, soins dentaires.

Dans les deux cas, le traitement substitutif est le traitement médicamenteux de choix. Le traitement symptomatique tel que décrit ci-dessus ainsi que la kinésithérapie ne seront pas évoqués en détail dans cette thèse.

Par ailleurs ce chapitre et le suivant évoquent des pratiques thérapeutiques dans des pays comme la France sans restriction sur les ressources en traitement substitutif. Cette situation est malheureusement largement minoritaire dans le monde.

Actuellement en France, quatre concentrés de facteur IX sont commercialisés dont trois sont des concentrés de facteur IX plasmatiques et le dernier est un concentré de facteur IX d'origine recombinante :

- **Betafact**[®] (plasmatique)
- **Octafix**[®] (plasmatique)
- **Mononine**[®] (plasmatique)
- **Benefix**[®] (recombinant)

Ces thérapies peuvent être présentées par leurs monographies respectives présentées dans la littérature (70,71,72,73). Mais au-delà de ces données essentielles, la production et l'utilisation de ses concentrés fait nécessairement appel à un procédé de fabrication précis, des tests pharmacocinétiques et de sécurité virale ainsi qu'un encadrement législatif et réglementaire qui seront évoqués ici. La sécurisation du circuit de ces médicaments sera ensuite évoquée dans son ensemble.

II.1. Les concentrés de facteur IX

II.1.1. Fabrications

a. Concentrés de facteur IX d'origine plasmatique

Pour les concentrés d'origine plasmatique, tout commence par le don de sang total ou de plasma directement par aphérèse (plasmaphérèse). Après prélèvement, centrifugation pour le sang total et déleucocytation, le plasma est très rapidement congelé à -30°C (62). À partir de là, on distingue, dans la production de médicaments dérivés du sang, trois types d'étapes qui rendent possible l'obtention de concentrés plasmatiques de haute pureté avec une innocuité virale maximale :

- Le fractionnement du plasma
- La purification du produit souhaité
- L'élimination et l'inactivation virale du contenu

Le fractionnement consiste en une précipitation des différentes protéines du plasma. Il est effectué à l'échelle industrielle sur des volumes de plasma allant de 2 000 à 5 000 litres par lot (soit 8 000 à 10 000 dons) (42). Le fractionnement est en réalité une étape de purification avec les objectifs qui lui sont associés : isoler le produit d'intérêt au mieux sans le dénaturer et en évitant les pertes. L'arbre de fractionnement du plasma fait en général appel à une étape de cryoprécipitation combinée à un fractionnement par l'alcool : c'est le cas notamment pour obtenir de l'albumine, des immunoglobines, de l' α 1-antitrypsine (42). Pour les concentrés en facteur IX, le fractionnement débute par une cryoprécipitation. Cette méthode de fractionnement a un faible rendement de purification (42) et doit être complétée par des chromatographies réalisées sur le cryosurnageant qui permettront d'obtenir le facteur IX séparément (voir figure 13).

La purification des surnageants en vue de l'obtention de concentrés de facteur IX est réalisée d'abord par une extraction en phase solide puis par différentes chromatographies successives puis éventuellement par une ultrafiltration. L'extraction en phase solide permet de séparer par adsorption le FIX de l'albumine et des immunoglobulines G restantes ainsi que d'une partie du FVII à l'aide d'une résine échangeuse d'anion faiblement chargée (67). On utilise pour cela une résine de dextran sur laquelle est fixé, comme ligand, du diéthylaminoéthyl ou DEAE chargé positivement.

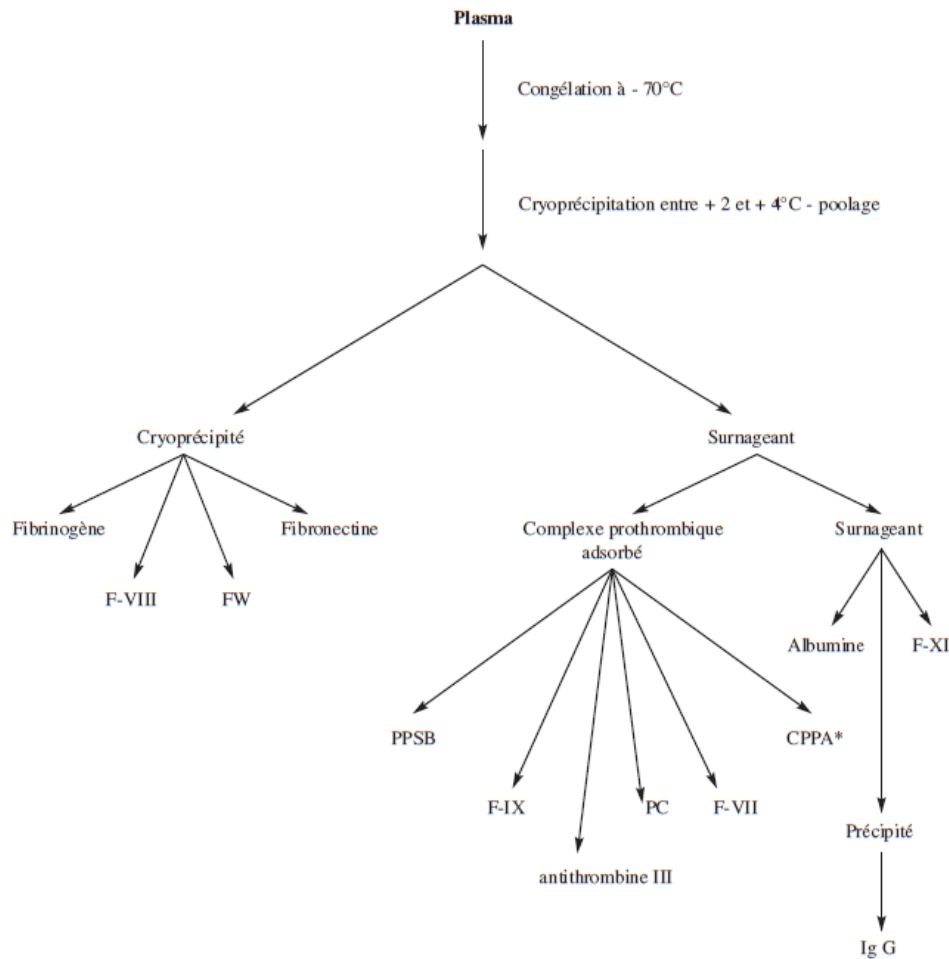


Figure 13. Schéma général simplifié du fractionnement des protéines plasmatiques (42)

Cette étape peut également être nommée chromatographie DEAE (66), DEAE-adsorption (62) ou encore chromatographie échangeuse d'ions à faible échange (66). On obtient ainsi le complexe prothrombique adsorbé (voir figure 13). Les principales chromatographies utilisées par la suite pour séparer sélectivement les protéines se différencient par leur support et leur solvant d'éluion (62). La chromatographie échangeuse d'ions et la chromatographie d'affinité sont principalement utilisées (42).

- ✓ La chromatographie échangeuse d'ions repose sur l'affinité électrostatique de la protéine d'intérêt à des groupements chargés de la résine. Après lavage, on augmentera progressivement la force ionique ou le pH du tampon d'éluion de manière à diminuer la charge de la protéine et favoriser son éluion sélective. Cette chromatographie contribue à l'élimination des substances thrombogènes (42), du FVII résiduel et du FII partiellement (67).
- ✓ La chromatographie d'affinité, aussi dit d'adsorption, utilise l'interaction spécifique et réversible de la protéine d'intérêt avec des molécules immobilisées sur le support de façon covalente. Ces molécules immobilisées qui servent d'appâts peuvent être, dans la purification du facteur IX, de l'héparine ou bien des anticorps monoclonaux. Dans ce dernier cas, il s'agit d'une chromatographie d'immuno-affinité. Il existe un risque potentiel d'immunisation du patient contre les anticorps du support si une petite quantité d'anticorps monoclonaux

initialement immobilisés se retrouvait dans le produit final. Aussi, afin d'éviter des possibles réactions allergiques lors d'injections répétées, on utilisera en aval également une chromatographie échangeuse d'ions afin de favoriser l'élimination des anticorps (62).

L'ultrafiltration est une méthode de filtration au cours de laquelle le liquide traverse une membrane semi-perméable à l'aide d'un gradient de pression transmembranaire. Elle permet l'élimination des composés de faible poids moléculaire tels que les sels ou les alcools et participent donc à la concentration du produit en continu.

Le fractionnement et la purification participent à l'élimination virale et peuvent contribuer partiellement à l'inactivation virale par l'usage de certains tampons notamment. Néanmoins ces techniques doivent être accompagnées de techniques spécifiques d'inactivation ou d'élimination virale (62).

Comme évoqué précédemment, l'activité virale est réduite par des méthodes physiques et chimiques.

- ✓ Les techniques utilisant la chaleur sèche ou humide sont très peu utilisées en raison de leur faible rendement en protéine active.
- ✓ La technique S/D est une méthode de référence. Les préparations de facteurs sont incubées en présence d'un solvant organique, le tri-n-butyl-phosphate (TNBP) et d'un détergent, le tween 80 ou le triton X100. Le traitement de six heures entre 24°C et 37°C permet de détruire les virus à enveloppe lipidique (VIH, VHB, VHC) en attaquant la membrane lipidique externe. On élimine ensuite le S/D par chromatographie d'affinité, précipitation ou ultrafiltration. Cette méthode n'inactive pas les virus non enveloppés aussi appelés nus (VHA, parvovirus B19)(62).
- ✓ L'inactivation virale par utilisation combinée de thiocyanate de sodium (NaSCN) et de l'ultrafiltration est une méthode qui peut également être utilisée (42).
- ✓ La nanofiltration ou filtration virale consiste en une élimination des virus en fonction de leur taille. Le filtre retient les virus plus grands que les nanopores. En utilisant des filtres avec des diamètres de pores de 35nm ou de 15nm, on peut éliminer des virus de petites tailles, des virus nus très résistants (voir figure 14). La nanofiltration 15 nm devrait permettre notamment l'élimination des protéines prions, aussi appelées agents transmissibles non conventionnels (ATNC), dont la taille se situe entre 15 et 40 nm. Ces agents pathogènes qui correspondraient à des protéines sans acides nucléiques s'accumulent sous une forme pathogène au niveau du système nerveux central (SNC) des sujets atteints d'ESST (62). Mais l'efficacité de la nanofiltration vis-à-vis du prion n'est pas certaine encore aujourd'hui (62) et, à l'échelle mondiale on s'accorde à dire qu'aucune méthode actuelle ne peut inactiver les prions et que les techniques de filtration utilisées n'éliminent pas le risque de transmission (102). Un des avantages de la nanofiltration est de permettre l'élimination des virus enveloppés ou non sans dégrader le facteur de coagulation ni affecter la qualité du produit final.

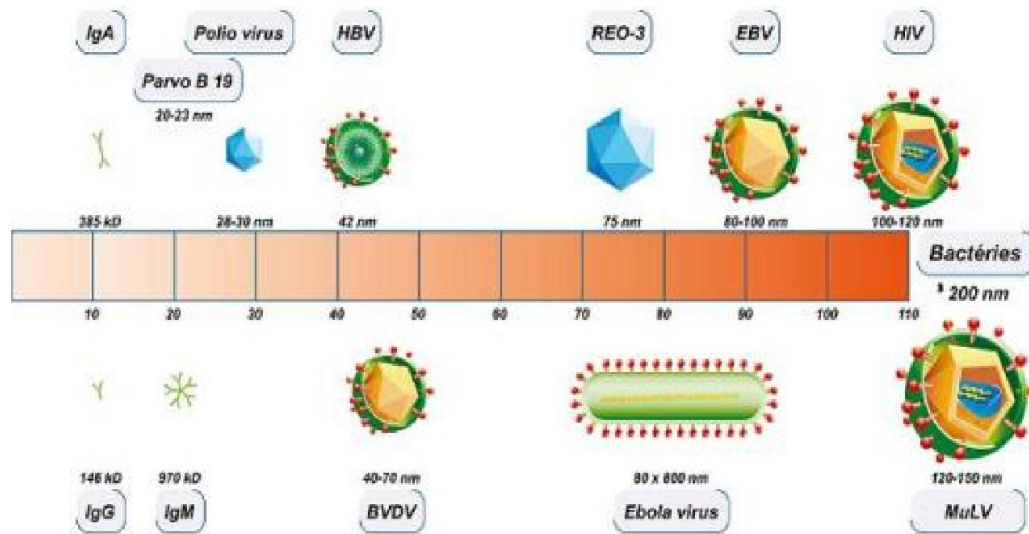


Figure 14. Tailles relatives de virus et de protéines (81)

Ig : immunoglobuline; BVDV : Bovine Viral Diarrhea Virus : virus de la diarrhée virale bovine;
 REO : reovirus; EBV : virus d'Epstein-Barr; MuLV : Murine Leukemia Virus : virus de la leucémie murine

À l'échelle européenne, les recommandations de l'European Medicines Agency (EMA, anciennement EMEA) relatives aux procédés de fabrications des produits dérivés du plasma demandent la présence d'au moins deux étapes efficaces d'élimination/inactivation virale complémentaires par leur mode d'action dont une serait efficace contre les virus non-enveloppés (141). Lorsque l'on compare les différents procédés d'élimination ou d'inactivation virale (voir tableau IV), on ne peut établir par avance le niveau de réduction d'activité virale en solution. En effet, on constate une efficacité différente en fonction du type de virus mais aussi de paramètres liés au mode opératoire (42). C'est pourquoi, en absence de standards, les évaluations de l'efficacité des procédés d'inactivation virale se font produit par produit.

Tableau IV. Comparaison de l'efficacité de différents procédés d'inactivation ou d'élimination sur les principaux virus ou ATNC (76,112)

NR : non renseigné. Le laboratoire CSL Behring™ n'a indiqué aucune étude relatant l'efficacité de son procédé d'inactivation et n'a pas souhaité communiquer d'informations à ce sujet.

Virus	Procédés d'élimination			Procédés d'inactivation	
	Chromatographie	Nano-filtration	Ultra-filtration	Solvant/ Détergent	Thiocyanate de sodium
Enveloppés (VIH-1, VHB, VHC)	+	++	+	++	NR
Nus (VHA, parvovirus B19)	+	++*	+	-	NR
Autres agents (agents de la MCJ)	-	+	+	-	NR
*15 nm					

Les principaux concentrés de facteur IX humain commercialisés en France sont Betafact® (LFB), Octafix® (Octapharma) et Mononine® (CSL Behring) (70,71,72).

- Betafact® (LFB) est issu de dons français non rémunérés. C'est un produit nanofiltré à 15 nm après avoir subi plusieurs chromatographies échangeuse d'ions notamment et un traitement par solvant/détergent (62).(voir figure 15)
- Octafix® (Octapharma) est fabriqué à partir de dons non rémunérés (78). Ce concentré de facteur est nanofiltré. Il est également traité par solvant/détergent et est purifié par plusieurs étapes de chromatographie et d'ultrafiltration (77,106).(voir figure 15)
- Mononine® (CSL Behring) est issu de dons européens rémunérés. C'est un concentré de facteur immunopurifié à l'aide d'anticorps monoclonaux de souris. Des traces d'anticorps murins pourront être retrouvées dans le produit final. La diminution de la charge virale passe par l'utilisation de thiocyanate de sodium (NaSCN) et de la nanofiltration (77).(voir figure 15)

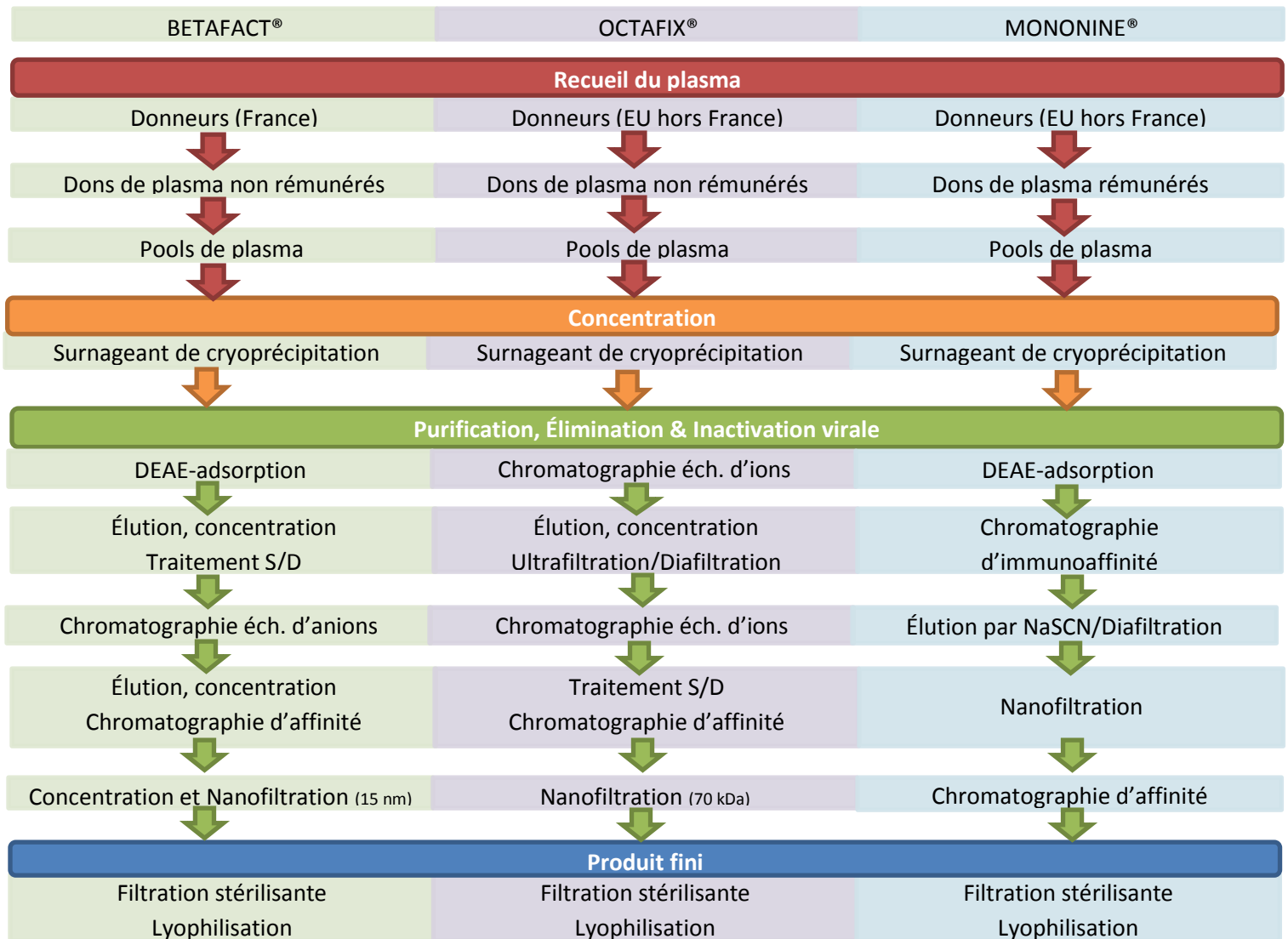


Figure 15. Principales étapes de production des concentrés en facteur IX plasmatique (62,67,77,106)
d'après la documentation que les laboratoires fabricants ont accepté de fournir

b. Concentré de facteur IX recombinant

Le Benefix[®] est le seul concentré de facteur IX d'origine recombinante actuellement commercialisé en France. La production d'une protéine recombinante consiste à utiliser des cellules en culture comme usines de production d'une protéine d'intérêt. Pour cela, l'ADNc du gène de la protéine humaine est introduit dans un vecteur d'ADN ou plasmide. C'est ensuite que vient l'étape de transfection du vecteur d'expression contenant le gène dans une cellule hôte, généralement animale. Dans le cas du Benefix[®], les cellules hôtes sont des CHO et on réalise une co-transfection : celle de l'ADNc du *F9* et de l'ADNc d'une protéase conçue pour cliver le propeptide de la protéine traduite (65). Cette protéase, aussi appelée PACE pour « paired basic amino acid cleaving enzyme », permet une amélioration du rendement des cellules en facteur IX activable. À partir de ces cellules transfectées, on va réaliser une banque de cellules souches (BCS) qui permettront l'obtention de cellules souches identiques pour chaque lot de produit. Elles vont être stockées puis congelées en petites quantités. À partir de là, on utilise une banque de cellules de travail (BCT) pour ensemercer chaque lot de production (62). La fermentation a ensuite lieu en bioréacteur soit dans un mode de fonctionnement en continu soit dans un mode cuvée (lot par lot). Dans la fabrication de certains produits recombinants, le milieu de fermentation peut contenir des protéines d'origine humaine ou animale telle que l'albumine mais la tendance actuelle est vers la suppression de ces protéines par sécurité virale. Le Benefix[®] n'utilise aucune protéine d'origine humaine ou animale lors de sa préparation et de sa formulation (63). La culture a lieu en suspension dans des bioréacteurs de tailles variables, agités, avec de nombreux paramètres contrôlés (115) tels que :

- température
- oxygène dissous
- pH
- pression
- mousse
- vitesse et puissance d'alimentation
- composition des gaz de sortie
- poids du bioréacteur

Le fluide recueilli contenant entre autres la protéine d'intérêt est purifié par la suite (62). L'avantage de la production de facteur recombinant est la grande sécurité virale théorique. Mais, comme pour tout produit biologique, le risque zéro n'existe pas (42) et les étapes d'inactivation ou d'élimination virale demeurent indispensables. Le Benefix[®] est purifié par plusieurs étapes de chromatographie : échangeuse d'ions ou affinité et une nanofiltration. (voir figure 16).

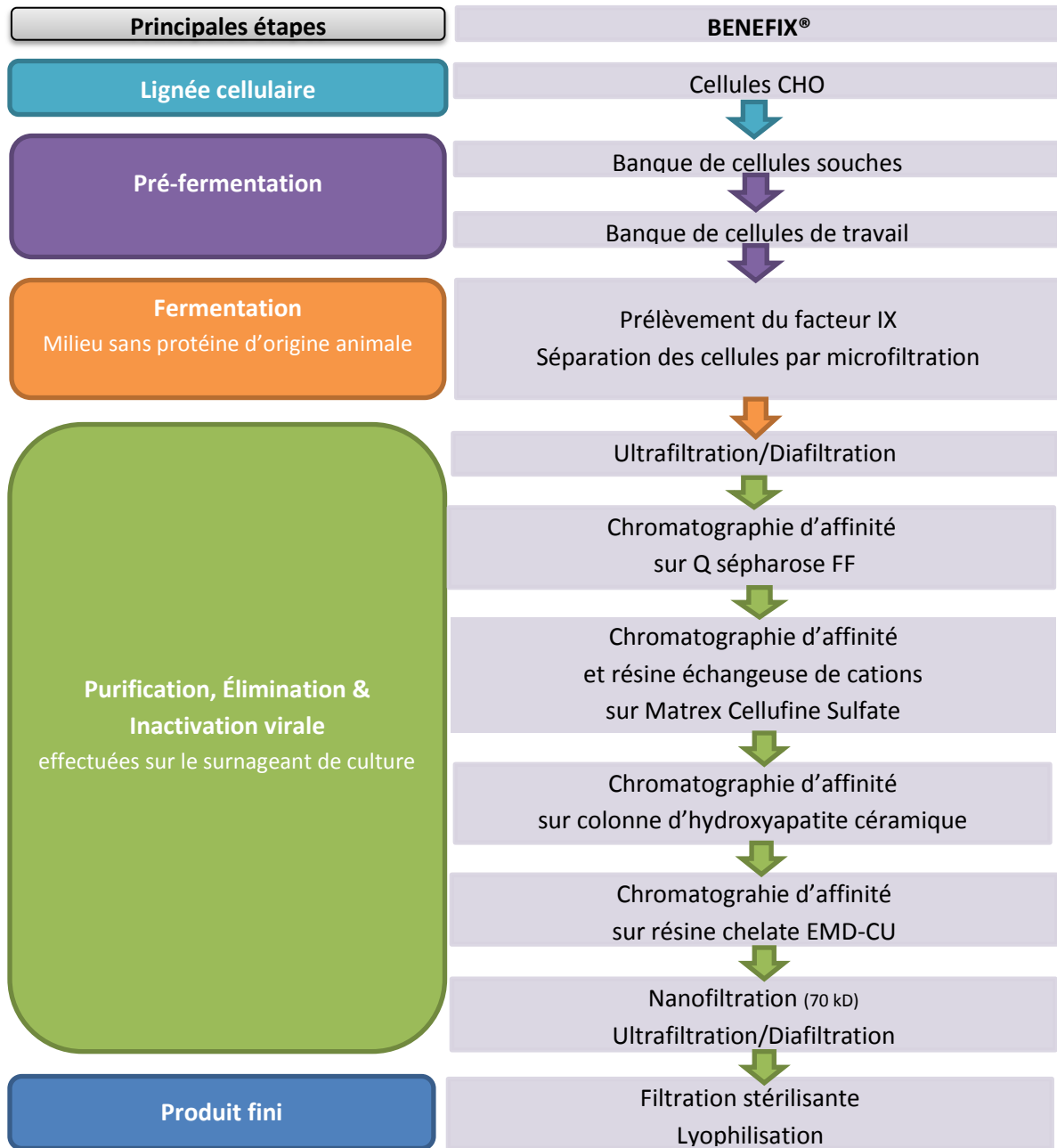


Figure 16. Principales étapes de production du concentré de facteur IX d'origine recombinante (62,63,77)

II.1.2. Tests de sécurité virale et tests pharmacocinétiques

Tout au long de la production, au niveau industriel, et bien après sur le produit fini et injecté au patient, au niveau de la recherche clinique et du traitement au quotidien, des tests sont réalisés. Ils ont pour but d'évaluer l'efficacité du concentré en facteur IX, mais aussi sa pureté ou sa sécurité virale. Ces tests peuvent avoir différents objectifs selon les circonstances dans lesquels ils sont réalisés : assurer la qualité du médicament produit, permettre la comparaison entre concentrés de facteur IX, ou mieux adapter le traitement de chaque patient.

a. Tests de sécurité virale

La validation des procédés d'élimination virale est établie *in vitro* par la mesure de la réduction de l'infectiosité de virus (36). La recommandation européenne qui encadre l'inactivation virale de tous les produits biologiques est présentée dans la norme européenne 268/95 (85) du groupe de travail sur les produits sanguins (BPWG) de l'EMA relative à la validation virale, l'efficacité des méthodes de réduction de la charge virale (62). Cette note explique que l'efficacité des procédés d'élimination et d'inactivation virale est définie par le facteur de réduction virale obtenu, exprimé en logarithme décimal (42). En pratique, on surcharge initialement le produit en un virus pertinent ou un virus modèle puis on mesure, après traitement, le titre viral résiduel. Le choix approprié des virus étudiés permettra de prévoir l'efficacité du procédé pour l'ensemble des virus potentiellement transmis dans le plasma (42). Le titre viral est estimé par des cultures cellulaires et s'exprime en log TCID₅₀/mL pour « tissue culture infective dose ». TCID₅₀/mL représente la dilution pour laquelle 50% d'une culture définie serait infectée par 1mL d'échantillon dilué (66). Les titrages peuvent également être réalisés par radio-immunologie. La méthode est considérée comme efficace lorsque le facteur de réduction de la charge virale est supérieur ou égal à 4 log dans le cadre d'un choix de virus et d'un schéma d'étude de validation pertinents (85). Les résultats des tests de sécurité virale des différents concentrés en facteur IX commercialisés actuellement en France ne seront pas présentés en détail ici. Ils sont difficilement interprétables du fait de la variabilité dans le choix des virus modèle étudiés et dans le choix de considérer ou non les étapes de purification dans le calcul de la réduction de la charge virale (62).

En ce qui concerne les ATNC et notamment le v-MCJ, les mêmes tests sont réalisés (69). Suite à la mort d'un hémophile britannique de 74 ans contaminé par des prions en février 2009 et bien que le décès ne soit aucunement lié à la maladie, les autorités britanniques ont estimé probable la transmission de l'agent responsable du v-MCJ par les facteurs de coagulation plasmatiques (24). Mais, en discordance avec leurs voisins britanniques, un rapport d'expert pluridisciplinaire français signale en octobre 2009 que le risque de transmission secondaire du v-MCJ par les MDS fabriqués en France reste théorique et très bas (24,69). La Food and Drug Administration (FDA) : plus haute autorité sanitaire américaine, quant à elle, a jugé un tel risque comme extrêmement bas en novembre 2006 (87).

b. Tests pharmacocinétiques (PK)

Les méthodes de dosage les plus utilisées au cours de ces études sont les même que celles utilisées en routine clinique à savoir la méthode coagulométrique principalement (62).

➤ Paramètres généraux

- **UI** : l'activité du facteur IX dans un plasma peut être exprimée soit en pourcentage de la normale, soit en unités internationales (UI) d'un standard international établi par l'OMS pour le facteur IX plasmatique (42). Une UI de facteur IX représente l'activité du facteur IX contenu dans 1mL de plasma humain normal (33) mesurée par dosage coagulométrique (70-73).
- **AS** : l'activité spécifique du facteur dans un concentré représente la concentration de facteur IX sur la concentration protéique totale dans le concentré en UI de facteur IX par mg de protéines totales. Ce paramètre, généralement présenté dans le résumé des caractéristiques du produit ou RCP, est un indicateur de la pureté protéique du concentré (62).

➤ Paramètres pharmacocinétiques

Deux paramètres pharmacocinétiques principaux peuvent contribuer à la mise en place ou la modification du traitement substitutif dans la fréquence et les doses injectées : il s'agit du temps de demi-vie terminale : $t_{1/2}$ et du taux de récupération : IVR (62).

- **$t_{1/2}$** : la demi-vie d'un facteur, sur une période donnée, est le temps au bout duquel le facteur présente une activité biologique réduite de moitié par rapport au début de la période de mesure. Le FIX injecté sous forme de *bolus* est caractérisé par un modèle pharmacocinétique bicompartimental (116,117,175) avec une décroissance d'activité de type biphasique exponentielle. Ainsi on peut distinguer une phase initiale α de décroissance très rapide liée à la distribution rapide et à l'élimination du médicament dans l'organisme puis une phase terminale β de décroissance moins rapide liée seulement à l'élimination du médicament par l'organisme jusqu'à atteinte du taux basal chez le patient traité. La demi-vie d'élimination est donc déterminée sur la phase terminale β par l'équation (34):

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

où k : valeur absolue de la pente du logarithme de la concentration plasmatique en facteur IX sur la phase terminale, en h^{-1} . La demi-vie du médicament chez un patient hémophile va conditionner le délai entre deux injections (62).

- **IVR** : le taux de récupération, aussi appelé *In Vivo Recovery*, correspond au taux de remise en circulation du produit après son injection (36). Plus concrètement, il est calculé à partir du rapport entre la variation maximale de concentration plasmatique en facteur IX et la dose administrée rapportée au poids du patient ou à son volume plasmatique (35) :

$$IVR = \frac{[FIX]_{max} - [FIX]_{basal}}{[FIX]_{adm}/poids} \quad \text{ou} \quad IVR = \frac{[FIX]_{max} - [FIX]_{basal}}{[FIX]_{adm}/vol.plasma}$$

L'IVR peut donc être exprimé en $\text{UI.dL}^{-1}/\text{UI.kg}^{-1}$ ou en pourcentage (soit $\text{UI.dL}^{-1}/\text{UI.dL}^{-1}$) selon que le poids corporel ou le volume plasmatique est choisi dans l'équation (34). L'IVR en pourcentage est définie comme l'IVR classique (122).

- D'autres paramètres pharmacocinétiques sont également étudiés (35). Parmi eux, on peut citer :
 - le temps pour atteindre la concentration maximale en facteur IX ou pic plasmatique
 - l'aire sous la courbe ou Area Under the Curve (AUC) qui représente l'exposition totale au facteur IX substitutif sur une période donnée
 - le temps de résidence moyen (62) ou Mean Residence Time (MRT) qui exprime la durée moyenne de l'ensemble des phases pharmacocinétiques
 - le volume de distribution (Vd) qui représente le rapport de la dose administrée à la concentration plasmatique
 - la clairance (Cl) qui évalue l'élimination du médicament par l'organisme

Sur la base des données fournies par les industriels (62,70-73), la pharmacocinétique des différents concentrés de facteur IX commercialisés ne sont pas totalement identiques. En effet, on observe une demi-vie moyenne qui varie de 14,9 heures pour le Mononine® à 40,0 heures pour l'Octafix®. Selon le concentré, on mesure une IVR moyenne allant de 0,75 $\text{U.dL}^{-1}/\text{UI.kg}^{-1}$ pour le Benefix® à 1,71 $\text{UI.dL}^{-1}/\text{UI.kg}^{-1}$ pour le Mononine® (voir tableau V).

Tableau V. Activités spécifiques, demi-vies d'élimination et taux de récupération des concentrés de facteur IX commercialisés en France selon leurs monographies (70-73)

	BETAFACT®	OCTAFIX®	MONONINE®	BENEFIX®
AS (UI.mg^{-1})	110	100	≥ 190	≥ 200
t_{1/2} (h)	33 ± 4	40,0 ± 7,3	14,9	19,3 ± 5,0
IVR ($\text{UI.dL}^{-1}/\text{UI.kg}^{-1}$)	1,08 ± 0,21	1,3 ± 0,5	1,71	0,75 ± 0,23

En pratique, on observe des différences significatives pour un même paramètre pharmacocinétique en fonction de la méthode de dosage utilisée (29) ou du contexte clinique: apparition d'inhibiteur, accident hémorragique ou situation post-chirurgicale par exemple (62). Dans ces dernières situations, le schéma thérapeutique et les doses administrées seront adaptées individuellement conformément aux recommandations et aux pratiques évoquées par la suite. (cf Chap.II.11.2, p.71)

La variabilité interindividuelle oblige à réaliser l'étude pharmacocinétique du médicament chez le patient dans le cadre d'une étude complète de l'efficacité du concentré pour la personne hémophile en question. Néanmoins le principal critère de l'efficacité demeure les manifestations cliniques éventuelles : hémorragie, hémarthroses, l'évaluation subjective de la douleur et les paramètres anatomiques comme la mobilité articulaire (42,62)

c. Autres tests

Dans la pratique, la fabrication donne lieu à de nombreux autres tests notamment sur des aspects galéniques très précis conformément aux Bonnes Pratiques de Fabrications (BPF) (33) sur des produits lyophilisés appelés à être reconstitués extemporanément puis injectés directement en intraveineuse. Par ailleurs les différents tests évaluent également les effets indésirables, l'immunogénicité et la thrombogénicité chez différents patients et dans différents schémas thérapeutiques (62).

d. Recommandations européennes

Depuis février 2012, les recommandations européennes (111) en matière de recherche clinique sur les concentrés de FAH sont :

- Une évaluation pharmacocinétique commune, que le facteur soit d'origine plasmatique ou recombinante
- L'établissement de la sécurité virale conformément aux recommandations biologiques de l'EMA pour les produits dérivés du plasma (EMA/CHMP/BWP/706271/2010) ou d'origine recombinante (CPMP/ICH/295/95) et non pas par les essais cliniques (111).
- L'évaluation spécifique de l'utilisation du concentré dans le cadre de la perfusion continue si la validation de cet usage est demandé par le laboratoire, et de la chirurgie.
- Une étude de tolérance immunologique sur 50 jours d'exposition (ED) chez 20 patients hémophiles B préalablement traités (PTP : Previously Treated Patients) par un autre concentré de facteurs IX. Le nombre de patients choisi tient compte de la faible incidence de l'hémophilie B (111).
- Un essai clinique sur des PTPs enfants (< 12 ans), démarré uniquement si la sécurité du concentré a été établie lors de l'essai chez les PTPs \geq 12 ans.
- Une étude sur des patients naïfs (PUP : Previously Untreated Patient), jamais encore traités avec des concentrés de coagulation, réalisée uniquement pour les FAH recombinants nouveaux ou modifiés ainsi que pour certains FAH plasmatiques modifiés. Par facteurs « modifiés », on entend des facteurs dont le procédé de fabrication est modifié notamment afin d'en améliorer la sécurité virale. Le démarrage de l'essai clinique chez les PUPs est conditionné par l'obtention des résultats des essais sur les enfants (111).
- Une étude post-marketing concentrée sur l'efficacité clinique, la sécurité et l'immunogénicité (voir figure 17). Cette étude est notamment justifiée par la faible disponibilité de patients hémophiles B, à l'origine de données pré-AMM jugées insuffisantes pour établir totalement les différents aspects des concentrés en FIX. Les données cliniques additionnelles ainsi obtenues permettront de s'assurer de la similitude des données obtenues par les études cliniques antérieures et des données obtenues en routine (111). Les PTPs peuvent être inclus dans l'étude post-marketing sans distinction en fonction de l'âge tout en gardant une distribution équilibrée des différentes catégories d'âge.
- D'une façon générale, les FAH modifiés doivent démontrer leur bioéquivalence à l'égard du concentré non-modifié (111). L'étendue des données cliniques à établir dans ce but est jugé au cas par cas en fonction l'impact attendu des modifications effectuées dans le procédé sur la sécurité et l'efficacité du FAH. Les données à établir peuvent aller des résultats d'un « simple » essai comparatif pharmacocinétique à l'ensemble des données cliniques qui sont demandées pour un FAH nouveau.

Efficacité	<ul style="list-style-type: none"> • Étude pharmacocinétique • Efficacité clinique <ul style="list-style-type: none"> - Traitement à la demande - Prophylaxie long-terme - Chirurgie - Perfusion continue
Sécurité	<ul style="list-style-type: none"> • Effets indésirables • Sécurité virale* • Immunogénicité • Thrombogénicité
Sujets	<ul style="list-style-type: none"> • PTPs \geq 12 ans • Enfants (PTPs < 12 ans) • Patients naïfs (PUPs)
Étude post-marketing	<ul style="list-style-type: none"> • Efficacité clinique • Sécurité • Immunogénicité

*Évaluée en dehors des essais cliniques

Figure 17. Recommandations européennes actuelles en matière de recherche clinique sur les concentrés en facteur IX plasmatiques ou recombinants (111).

II.1.3. AMM et prix de vente

a. AMM

Différentes procédures d'enregistrement sont possibles pour les concentrés de facteur IX : des procédures nationales et des procédures européennes (86).

Parmi les procédures européennes, on distingue :

- La procédure centralisée : l'AMM est décidée par la commission européenne pour l'ensemble des États de l'Union Européenne (UE), après avis de l'EMA.
- La procédure par reconnaissance mutuelle : elle permet à une AMM nationale d'être étendue à d'autres pays de l'UE.
- La procédure décentralisée : elle permet à un médicament ne possédant pas encore d'AMM en Europe de l'obtenir dans certains États de l'UE.

La procédure centralisée est obligatoire pour tous les médicaments issus des biotechnologies (86) comme c'est le cas du Benefix[®].

Parmi les différentes situations au niveau français pour les concentrés en facteur IX plasmatiques, on distingue (86) :

- L'AMM régulière : elle est délivrée par l'ANSM pour cinq ans en France.
- L'AMM dérogatoire : elle est délivrée par l'ANSM pour deux ans seulement et elle permet la commercialisation de MDS issus de dons rémunérés en cas de besoin sanitaire et d'amélioration du service médical rendu. C'est le cas du Mononine[®].
- La dispensation sans AMM : un concentré de facteur IX peut être utilisé sans AMM sur le marché français s'il rentre dans le cadre d'une Autorisation Temporaire d'Utilisation (ATU) dite « nominative » pour un patient ou « de cohorte » pour un groupe de patients.
- La dispensation hors-AMM : les concentrés en facteur IX peuvent être dispensés en dehors des indications présentées dans leur dossier d'AMM sous réserve de justifications scientifiques.

b. Prix

Lorsque le médicament a obtenu l'AMM, son dossier est soumis pour avis à la commission de transparence de la Haute Autorité de Santé (HAS) qui détermine si le médicament sera remboursable ou non et qui définit sa place thérapeutique. Ensuite, au terme d'une concertation avec le laboratoire, le Comité Économique des Produits de Santé (CEPS) établit le prix du médicament (86). Pour les concentrés en facteur IX d'origine plasmatique ou recombinante, le prix a été fixé à 72 centimes d'euros hors taxes l'UI, soit 360 euros hors taxes l'injection de 5mL de concentré contenant 500 UI (70,71,72,73).

II.1.4. Sécurisation des médicaments dérivés du sang et pharmacovigilance

a. Sécurité virale du donneur au patient

La sécurité virale des produits dérivés du sang commercialisés repose sur trois critères (85) :

- La qualité de la matière première initiale
- Les étapes d'inactivation ou d'élimination virale au cours de la fabrication, dûment validées
- Les contrôles de la qualité du produit en cours de production et du produit fini

La sélection des donneurs, la déleucocytation ainsi que le contrôle unitaire des dons ont été évoqués précédemment. Les dons de plasma acceptés vont entrer dans une phase d'observation aussi dite « de quarantaine » qui a pour objectif de préserver la possibilité d'éliminer une poche de plasma si nécessaire, suite à de nouvelles informations sur les tests de dépistage ou sur la santé d'un donneur. Dans la plupart des laboratoires, cette phase de stockage bloquant est de 60 jours. Pour le LFB, elle est de 90 jours (36). Par la suite, au niveau industriel, les plasmas subissent de nouveau des contrôles de qualité et de sécurité en étant assemblés sous forme de mini-pools. Avant que ne débute le fractionnement, le premier mélange homogène de plasma formant un lot de fractionnement est également soumis à des tests virologiques (62). Puis des étapes de fabrication permettant la diminution

de la charge virale, comme celles évoquées précédemment, ont lieu. Avant commercialisation des produits, de nouveaux tests de contrôle de qualité sont effectués ainsi que l'évaluation du respect des BPF. (voir figure 18)

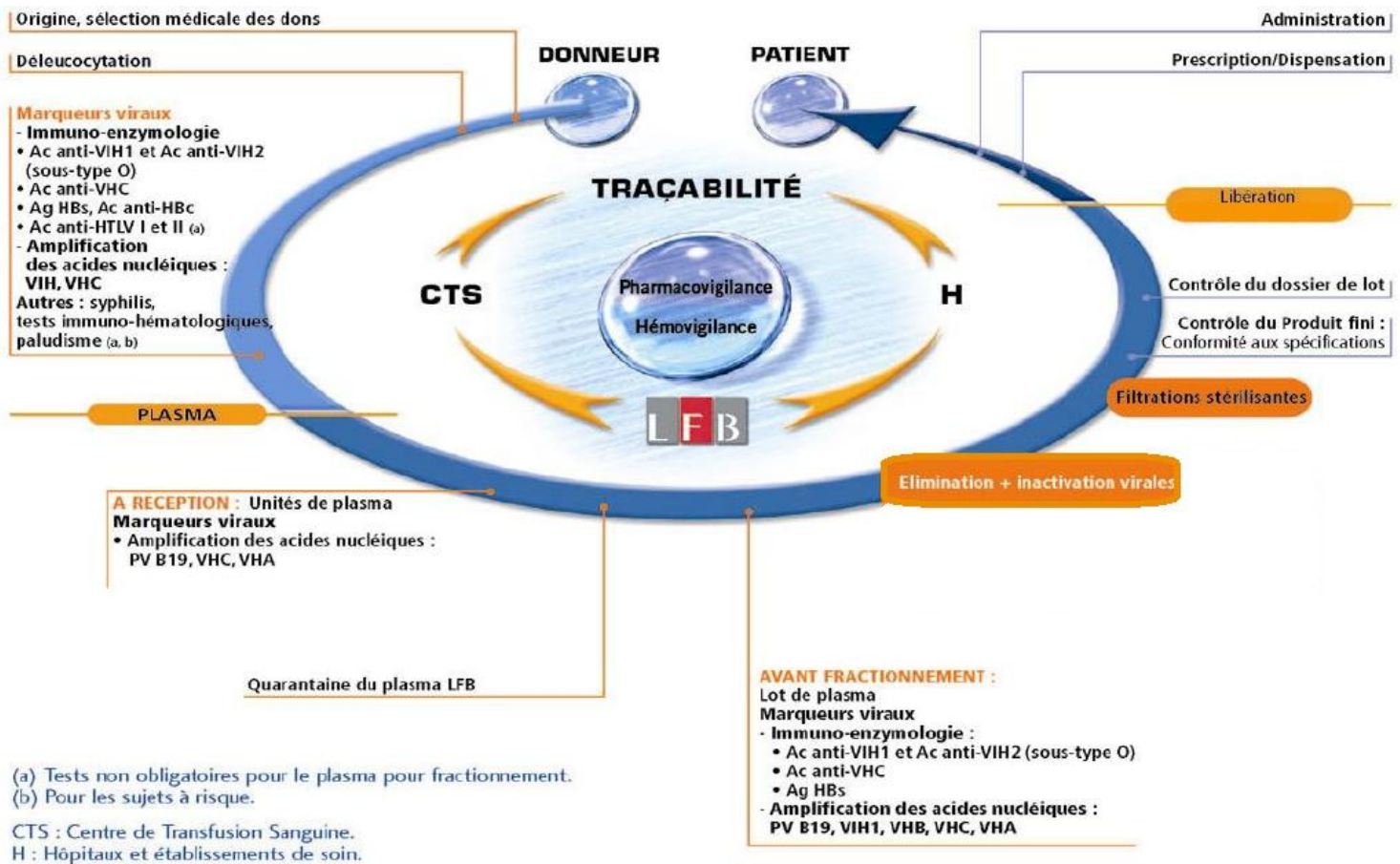


Figure 18. Sécurisation des médicaments dérivés du sang humain chez LFB (79)

b. La traçabilité

La loi du 4 janvier 1993 (n°93-5) relative à la sécurité en matière de transfusion sanguine et de médicament définit deux types de produits sanguins : les produits sanguins labiles sous la responsabilité de l'AFS, et les produits sanguins stables ou Médicaments Dérivés du Sang (MDS) sous la dépendance de l'agence du médicament. On classe les MDS en cinq catégories : albumine, immunoglobuline, facteurs de coagulation, antiprotéases, colle de fibrine (42). Cette même loi soumet les MDS au régime des médicaments comme leur nom l'indique. Ils suivent donc les dispositions législatives et réglementaires associées au médicament en ce qui concerne l'autorisation de mise sur le marché, la fabrication, l'étiquetage, la prescription et la dispensation. Outre la création de l'AFS et du

LFB, la loi n°93-5 a prévu la mise en place de règles particulières à la pharmacovigilance s'exerçant sur les MDS (42). Cette pharmacovigilance comporte un suivi de « traçabilité » effectué par le correspondant de pharmacovigilance au sein des établissements de santé. Le correspondant doit déclarer tout effet indésirable lié à l'administration de MDS. La traçabilité des MDS, définie dans le décret du 6 mai 1995, est un processus engagé de la fabrication jusqu'à l'administration du médicament. Ce processus permet une triple identification (74):

- Celle des dons qui ont été utilisés pour la fabrication d'un lot donné
- Celle des lots de MDS administrés à un patient (traçabilité ascendante)
- Celle des patients auxquels un lot donné de MDS a été administré (traçabilité descendante)

Ce même décret décrit les modalités de suivi des MDS. Le conditionnement des concentrés en facteur IX doit comporter trois étiquettes détachables indiquant la dénomination du médicament, le nom de l'entreprise ou de l'organisme qui l'exploite et le numéro de lot. Toutes ces informations sont également présentées sur chaque étiquette par un code barre. Une des étiquettes se situe sur le conditionnement extérieur dit secondaire tandis que les deux autres sont accolées sur le contenant aussi appelé conditionnement primaire (74). Au cours de la dispensation, la personne de l'équipe soignante qui administre le médicament utilise une des deux étiquettes du conditionnement primaire qu'elle appose sur un bordereau sur lequel des informations sur le patient et la dose injectée ont déjà été écrites (42). La deuxième étiquette doit être collée sur l'ordonnance et servir de trace d'administration dans le dossier médical. C'est généralement l'infirmière qui administre le traitement et qui en assure la traçabilité dans le cadre d'une hospitalisation, de la mise en place du traitement ou d'une consultation au CRTH. La traçabilité du traitement au domicile du patient est rendu possible par le carnet de santé des personnes atteintes d'hémophilie et de troubles de la coagulation, notamment la partie intitulée « suivi et traitement ». Le patient doit y inscrire l'injection, sa date, son heure, son motif, son emplacement et il doit accoler la troisième étiquette correspondant au flacon utilisé dans la ligne correspondant à l'injection (107). Le carnet garde également la trace des injections effectuées à l'hôpital. Le cadre législatif et réglementaire distingue en théorie des FAH issus du fractionnement plasmatique des FAH obtenus par génie génétique qui ne sont pas à proprement parler des MDS. Bien que non soumis réglementairement à l'obligation de traçabilité, les FAH recombinants sont en pratique bien souvent tracés dans les établissements de santé (62) dans le cadre de la pharmacovigilance (voir figure 18). Le décret du 6 mai 1995, par son article R. 5144-34 (74) oblige à la conservation des registres et enregistrements relatifs à la dispensation des MDS ainsi que les dossiers médicaux pendant une durée de quarante ans. La traçabilité rend donc possible l'établissement du lien donneur-receveur pendant quarante années.

c. Prescription et dispensation

Tous les FAH appartiennent à la liste I et ont une dispensation strictement hospitalière (62). Elle est réservée aux Pharmacies à Usage Intérieur (PUI) des établissements de santé ou aux établissements de transfusion sanguine pour les malades qui y sont traités. Ces médicaments appartiennent à la liste des médicaments rétrocédables, c'est-à-dire qu'ils peuvent être vendus aux patients ambulatoires par les PUI des établissements de santé. Dans l'intervalle de six mois, la prescription peut être renouvelée à l'identique par un médecin généraliste ou spécialiste. Étant donnée la dispensation strictement

hospitalière et non officinale à ce jour, la rétrocession est organisée localement à partir d'un établissement de santé proche du lieu d'habitation du patient afin de permettre le recours ambulatoire aux concentrés. Conformément à la circulaire DGS/DHOS/AFSSaPS n°258-03 du 28 mai 2003 (110), les concentrés de FIX d'origine recombinante ou plasmatique sont soumis à une Prescription Initiale Hospitalière (PIH) de six mois (70-73) (voir figure 18). La prescription initiale ne peut être réalisée que par un professionnel médical exerçant dans les mêmes établissements que les PUI évoquées en début de paragraphe.

L'histoire de l'approvisionnement en facteur de coagulation a connu des périodes de pénurie à l'échelle mondiale. Ce fut le cas en 2001 pour le FVIII (107) suite à des recommandations correctives de la FDA vis-à-vis d'un des principaux sites mondiaux de production de FVIII recombinant aux USA. La production de facteurs d'origine plasmatique étant par définition non extensible à souhait puisque dépendante de la matière première : le plasma, la tension sur les approvisionnements n'a pu être compensée à l'échelle mondiale. Lors de cette pénurie, les autorités françaises ont réagi en fixant exceptionnellement et transitoirement la PIH à un mois et la délivrance à 15 jours, en recommandant de différer les chirurgies programmées et l'usage des facteurs plasmatiques sous réserve de certaines conditions d'usage préalable et de tolérance immunologique (107).

II.2. Principaux schémas thérapeutiques

II.2.1. Établissement de la dose à injecter

La dose administrée est fonction de l'augmentation souhaitée du taux plasmatique de facteur IX, déterminée sur la base de recommandations (cf Chap.II. II.2, p.72), et également du poids du patient hémophile B. La dose est déterminée initialement à l'aide de la formule suivante (70-73) :

$$\text{Nombre d'UI à administrer} = \text{Augmentation souhaitée en FIX (\%)} \times \text{Poids corporel (kg)} \times f$$

- où • f : coefficient propre à chaque médicament, établi à partir de données pharmacocinétiques et notamment du taux de récupération évoqué précédemment.
- *Augmentation souhaitée en FIX* : écart entre le taux souhaité et le taux basal du patient

Une valeur de f est proposée par le laboratoire qui le commercialise dans les RCP (70-73) (voir tableau VI). Classiquement, d'après des valeurs moyennes, l'injection d'une dose de 1UI.kg^{-1} élève de 1UI.dL^{-1} le taux plasmatique de FIX du patient (62). Dans la pratique, la dose administrée sera évaluée en fonction du taux de récupération du patient et de l'efficacité clinique également (49,70-73).

Tableau VI. Comparaison des taux de récupération et des coefficients f des concentrés de facteur IX commercialisés en France selon leurs monographies (70-73)

	BETAFACT®	OCTAFIX®	MONONINE®	BENEFIX®
IVR ($\text{UI.dL}^{-1}/\text{UI.kg}^{-1}$)	$1,08 \pm 0,21$	$1,3 \pm 0,5$	1,71	$0,75 \pm 0,23$
f (UI.kg^{-1})	0,93	0,8	1,0	1,3

Le coefficient f , directement proportionnel à la dose administrée, est logiquement d'autant plus élevé que le taux de récupération est bas. Ainsi, par exemple, pour obtenir une augmentation de 50% chez un adulte hémophile B sévère de 75kg lors d'une hémorragie intramusculaire constituée (70,49), la dose de Betafact® à administrer sera en théorie de : $50 \times 75 \times 0,93 = 3\,500$ UI. Une telle dose représente un coût d'environ 2 500 € HT.

La vitesse d'injection est définie dans les monographies comme lente et toujours inférieure à 4mL/min (70-73). Dans les faits, elle est d'environ 2mL/min (6), soit environ 5 minutes pour un flacon de 10mL. Dans le cas des 3500 UI de Betafact® précédent, 35mL de concentrés reconstitués seront nécessaires (voir tableau VII) donc environ 17 minutes d'injection.

Tableau VII. Activité par flacon des concentrés de FIX commercialisés en France associées à leur volume de reconstitution et d'injection (70-73,96)

Activité par flacon	Volume de reconstitution par flacon			
	BETAFACT®	OCTAFIX®	MONONINE®	BENEFIX®
250 UI	5mL	-	2,5mL	5mL
500 UI	5mL	5mL	5mL	5mL
1 000 UI	10mL	10mL	10mL	5mL
2 000 UI	-	-	-	5mL
3 000 UI	-	-	-	5mL

II.2.2. Traitement à la demande

Le traitement dit « à la demande », aussi appelé traitement des hémorragies constituées (36), est le traitement substitutif pratiqué ponctuellement à chaque épisode hémorragique. C'est le schéma thérapeutique de choix pour les patients hémophiles B modérés et mineurs à faible tendance hémorragique (89,102). Lors de la survenue d'un accident hémorragique, le FAH doit être administré le plus précocement possible par rapport au début du saignement, dès la première sensation de gêne ou de douleur (62). Pour les patients hémophiles potentiellement sujets à des hémarthroses, des efforts d'éducation thérapeutique sont faits dès l'enfance pour que le patient identifie rapidement la sensation de chaleur et de picotements qui peut précéder le volumineux épanchement si aucun FAH n'est injecté (2). L'ETP, par l'apprentissage de l'auto-traitement aux parents puis à l'enfant, facilite le traitement à domicile et donc la prise en charge rapide des saignements ne nécessitant pas une hospitalisation. Cette injection précoce à domicile permet de minimiser la quantité de facteur substitutif requise, de diminuer l'incidence des complications associées à l'hémorragie, d'améliorer la qualité de vie et de diminuer les coûts associés à la prise en charge de la maladie (88). Les injections peuvent être ensuite renouvelées selon l'importance, l'évolution et le risque de récurrence associé à l'hémorragie (1). La fréquence et la dose des injections nécessaires au traitement de l'hémorragie sont établies sur différents critères parmi lesquels figurent :

- La localisation de l'hémorragie
- Le degré de sévérité de l'hémorragie (précoce, avancée)
- La sévérité du déficit initial en facteur de coagulation
- Le concentré de facteur utilisé (cf IVR et coefficient f)
- Le poids du patient
- La disponibilité des concentrés en facteur (selon les pays)

Les recommandations internationales (99,102) et nationales dans différents pays (70,88,101,104) indiquent généralement un taux plasmatique de FIX à atteindre, en pourcentage, en fonction de la localisation et de la sévérité de l'hémorragie. Ainsi ces recommandations font abstraction de la sévérité du déficit initial, de la nature du concentré de facteur IX utilisé et du poids du patient pour se concentrer sur le niveau optimal de facteur à atteindre dans le traitement d'un épisode hémorragique. Les recommandations étudiées, à l'exception de celles de la WFH, sont basées sur un accès aux concentrés de facteurs sans aucune restriction. Dans la plupart des recommandations nationales (françaises, canadienne, britanniques, italiennes, suisses, sud-africaines) (49,70,88,97,101,104) sont distinguées trois types d'hémorragies :

- ❖ **Hémorragies mineures** : lors d'une blessure superficielle, d'une épistaxis, d'une hémarthrose précoce ou d'une hémorragie débutante au niveau musculaire ou de la cavité buccale
- ❖ **Hémorragies sévères** : lors d'une hémarthrose étendue ou d'une hémorragie musculaire étendue dans une localisation à risque : avant-bras, mollet, hanche (sauf muscle ilio-psoas).
- ❖ **Hémorragies représentant un risque vital** : au niveau du muscle ilio-psoas, au niveau cérébral, gastro-intestinal, intra-abdominal ou respiratoire

Les recommandations en niveau de facteur à atteindre sont de 20 à 40% pour les hémorragies mineures (49,64,70,88,97,101). Les hémorragies sévères sont des situations cliniques dans lesquels un taux plasmatique de FIX de 30 à 60% est recommandé (49,70,97,104). Le niveau souhaitable en facteur suite à la détection d'une hémorragie représentant un risque vital est de 60 à 100% (49,70,97,101,104). La fréquence des injections et la durée de traitement sont également recommandées et sont fonction de la clinique et de la disparition du risque hémorragique. Le renouvellement des injections est conseillé de façon journalière si nécessaire sauf dans les cas d'hémorragies représentant un risque vital où les injections peuvent être répétées toutes les 8 à 24h. (voir tableau VIII)

Tableau VIII. Doses recommandées pour le traitement à la demande de l'hémophilie B selon différentes recommandations nationales (49,64,70,88,97,101,104)

Type d'hémorragie	Concentration plasmatique en FIX à atteindre (%)	Fréquence d'injection	Durée de traitement
Hémorragies mineures	20 à 40	24h	1 jour minimum
Hémorragies sévères	30 à 60	24h	3 à 4 jours minimum
Hémorragies à risque vital	60 à 100	8h à 24h	Jusqu'à disparition du risque hémorragique

Les recommandations internationales (99,102) distinguent les hémorragies plutôt en fonction de leurs localisations. Les principales valeurs proposées dans un rapport commun de l'OMS, de l'ISTH (International Society of Thrombosis and Haemostasis) et de la WFH (99) sont présentées comme ne résultant pas d'essais randomisés et étant susceptibles de varier à travers le monde. Un essai randomisé est un essai comparatif au cours duquel l'attribution d'une des thérapies comparées au patient est déterminée aléatoirement. En la matière, l'absence de consensus à l'échelle mondiale est notamment

issue de situations très différentes selon les pays. La WFH a donc publié de nouveau en 2012 des recommandations de traitement à la demande (102) qui tiennent compte de la facilité ou de la difficulté d'accès à des thérapies selon les pays (voir tableau IX). Ainsi pour les pays sans restriction on peut observer des taux de FIX désirés assez proches de ceux établis dans le tableau VIII qui représente surtout des pays développés. Pour les pays avec restriction, les seuils en FIX sont tous abaissés significativement et les durées de traitement raccourcies pour s'adapter au mieux à la réalité de la situation. On peut observer que les données établies dans le rapport commun de l'OMS (99) semblent être adaptées à une situation intermédiaire entre les pays avec restriction sur l'accès aux thérapies et les pays sans restriction. La problématique de l'accès aux thérapies substitutives sera évoquée par la suite (cf Chap.II.iv.1, p.111)

Tableau IX. Niveaux de facteur IX et recommandations pour le traitement à la demande de l'hémophilie à l'échelle mondiale selon l'OMS, l'ISTH et la WFH (99) pour tous les pays, et selon la WFH (102) en fonction des restrictions sur l'accès aux concentrés de facteurs.

Localisation des hémorragies	Recommandations dans les pays SANS restriction		Recommandations internationales		Recommandations dans les pays AVEC restriction	
	Niveau de FIX désiré (%)	Durée de traitement (j)	Niveau de FIX désiré (%)	Durée de traitement (j)	Niveau de FIX désiré (%)	Durée de traitement (j)
Articulations	40-60	1-2	30-50	1-2	10-20	1-2
Muscles superficiels	40-60	2-3	30-50	1-2	10-20	2-3
Muscles profonds	60-80	J1-J2	50-100	7-10	15-30	J1-J2
	30-60	J3-J5			10-20	J3-J5
SNC, tête	60-80	J1-J7	60-100	7-10	50-80	J1-J3
	30	J8-J21			30-50	J4-J7
		20-40			J8-J14	10-20
Gorge, cou	60-80	J1-J7	-	-	30-50	J1-J3
	30	J8-J14			10-20	J4-J7
Gastro-intestinal	60-80	J1-J6	40-60	7-10	30-50	J1-J3
	30	J7-J14			10-20	J4-J7
Rénal	40	3-5	-	-	15-30	3-5
Coupure profonde	40	5-7	-	-	15-30	5-7

Les recommandations données dans les tableaux VIII et IX sont données à titre indicatif. Les seuils de FIX proposés ne sont pas issus d'étude scientifiques au sens propre mais plutôt d'un consensus d'opinion des professionnels de l'hémophilie, fruit de leurs expériences cliniques (103). Ils doivent bien sûr être adaptés à chaque cas individuel. L'incertitude persistante sur le niveau précis de facteur IX nécessaire selon les situations, notamment pour prévenir l'hémarthrose (99), est aussi révélatrice d'une variabilité interindividuelle dans ses seuils (108). Du fait de la nécessaire rapidité dans la prise en charge des accidents hémorragiques pour en éviter les séquelles les plus graves, ces recommandations ont pour avantage de fournir au patient la possibilité d'une prise en charge rapide et surtout adéquate d'un épisode hémorragique hors contexte hospitalier (62).

Le traitement « à la demande » est également pratiqué par les hémophiles au cours d'un traitement prophylactique de long terme en cas d'accident hémorragique intercurrent (99). Il peut être nommé traitement d'urgence dans ce cas-là afin de le distinguer du traitement « à la demande » en absence de prophylaxie.

Le principal défaut du traitement à la demande est d'être un traitement *a posteriori* qui a pour but de limiter les conséquences des saignements mais pas d'en empêcher l'apparition. L'évaluation du statut orthopédique de patients suivant ce schéma thérapeutique par des études prospectives et rétrospectives a montré une insuffisance à prévenir totalement l'évolution vers l'arthropathie hémophilique en France (105) et dans le monde (148,152,165,296).

II.2.3. Thérapie préventive : les prophylaxies

a. Prophylaxies primaire et secondaires

La prophylaxie est un schéma thérapeutique consistant à injecter des FAH dans un but préventif de l'apparition de manifestations hémorragiques (62). Au-delà de cet aspect commun à l'ensemble des traitements prophylactiques de l'hémophilie B, il n'existe pas de définition « universelle » du schéma prophylactique. On constate une grande variété de définitions de prophylaxies à l'échelle internationale (100,102,142) et nationale (101,166) qui diffèrent notamment sur leur contexte d'instauration chez les patients (156). Des efforts doivent être réalisés par la communauté scientifique internationale pour harmoniser ces définitions dans l'intérêt d'une possible comparaison des études (185) (cf Chap.II.III.4, p.107). Le réseau pédiatrique européen pour la prise en charge de l'hémophilie : PedNet, regroupant des pédiatres des CTH de 16 pays européens, a établi un glossaire (142). On y distingue :

- **Prophylaxie primaire (PP)** : prophylaxie initiée au plus tard après la première hémarthrose et dans tous les cas avant l'âge de 2 ans (6,142). La prophylaxie primaire est une prophylaxie de long terme, continue : durant au moins 46 semaines par an (156). Elle a été conçue dans l'objectif de reproduire chez l'hémophile sévère la situation clinique de la plupart des hémophiles modérées, à savoir de rares hémarthroses spontanées (2,6), en maintenant un taux plasmatique résiduel en FIX non nul supérieur à 1% (6,14,102). Cela permet chez le patient hémophile le maintien de son capital articulaire et du bon fonctionnement musculo-squelettique global (102). De nombreuses questions demeurent quant aux modalités thérapeutiques idéales pour la prophylaxie primaire (62) : dose, taux de facteur résiduel visé, âge auquel débiter, âge auquel arrêter la prophylaxie primaire notamment (cf Chap.II.III.2, p.86). Les posologies recommandées (70,99,101,102) à l'échelle internationale vont de 15 à 40 UI.kg⁻¹, deux fois par semaine, préférentiellement le matin pour couvrir la période d'activité diurne (102).
- **Prophylaxie secondaire (SP) de long terme** : désigne une prophylaxie continue qui diffère de la prophylaxie primaire par une instauration plus tardive en regard de l'âge : après 2 ans (142) ou en regard de la clinique : après des épisodes hémorragiques voire même des complications articulaires avérées (62). Elle a pour objectif d'éviter la récurrence des épisodes hémorragiques tandis que la prophylaxie primaire tente d'en prévenir l'apparition (30). La prophylaxie secondaire peut être pratiquée en présence d'une articulation qui a fait l'objet de plusieurs saignements dans un espace de temps restreint : une articulation cible pour laquelle on souhaite enrayer l'évolution

vers l'arthropathie (100,142).

- **Prophylaxie secondaire de court terme** : aussi qualifiée de prophylaxie secondaire intermittente (142,143) contrairement aux prophylaxies primaire et secondaire de long terme qui sont continues. C'est la prophylaxie pratiquée sur une courte période en péri-opératoire notamment, lors d'une activité physique intense ou traumatisante planifiée (102), lors de saignements fréquents (142).

b. Modèles de stratégies prophylactiques à l'échelle mondiale

Le traitement à la demande lors d'accidents hémorragiques a longtemps été le seul envisagé dans le traitement de l'hémophilie en dépit du fait que ce modèle présente de nombreuses insuffisances (105). C'est à partir de 1958 (144) en Suède à Malmö qu'une substitution systématique avec injections à intervalle régulier a été pratiquée pour prévenir les hémarthroses dès l'enfance (2,146). L'objectif de cette prophylaxie était d'induire chez les hémophiles sévères un phénotype hémorragique modéré dans lequel les arthropathies sont rares en maintenant par des injections des FAH un taux plasmatique résiduel supérieur à 1% (144). La pratique prophylactique s'est étendue depuis dans le monde sous différentes formes et la prophylaxie de long terme selon l'école suédoise n'est pas la seule prophylaxie actuellement pratiquée en 2012. Bien qu'il y ait presque autant de stratégies prophylactiques que de pays pratiquant la prophylaxie, on distingue au moins quatre modèles auxquels les études internationales font référence et qui ont inspiré à eux quatre la plupart des prophylaxies des pays développés (voir figure 26) :

- ✓ **La prophylaxie suédoise** s'est intensifiée depuis sa création et, dans sa forme actuelle, est une prophylaxie à dose élevée : 25 à 40 UI.kg⁻¹, deux fois par semaine, qui traditionnellement a pour objectif de maintenir une activité biologique du FIX supérieure ou égale à 1% (172). L'instauration du traitement est réalisée à un âge très précoce : avant deux ans : PP, généralement avant la première hémarthrose (147). L'évolution des modalités prophylactiques en cours de traitement en fonction de la réponse clinique observée a été intégrée progressivement. Les critères cliniques dominent aujourd'hui sur l'activité biologique du facteur pour orienter la prophylaxie (172). La prophylaxie est en général administrée toute la vie (165).

Les patients hémophiles sévères suédois nés avant 1980 commençaient habituellement leur traitement prophylactique entre 2 et 4 ans (146-147) avec des doses de FAH moins élevées qu'elles ne le sont actuellement : ceci correspondrait aujourd'hui à une prophylaxie secondaire (SP) de long terme de dose intermédiaire. Ce traitement s'est donc beaucoup intensifié au cours des années du fait des différents résultats obtenus chez les patients mais aussi et surtout du fait des innovations thérapeutiques qui ont rendu l'intensification possible (146,147). Parmi ces innovations, l'apparition des concentrés de pdFIX (145) puis des rFIX plus tardivement ainsi que la commercialisation de chambres implantables, aussi appelées dispositifs d'accès veineux central (CVAD) permettant la perfusion répétée des plus jeunes patients ont rendu possible une PP intensive et précoce.

- ✓ **Le régime prophylactique néerlandais**, introduit à la fin des années 60, débute généralement moins précocement que le régime suédois (90) : après une ou deux hémarthroses (147,149) ou quand plus de deux autres saignements par mois requièrent un traitement substitutif (149). Il a pour objectif de prévenir les hémarthroses et les hémorragies spontanées. Il est caractérisé par l'injection d'une dose intermédiaire, deux fois par semaine, qui en fait un régime moins coûteux que ne l'est la prophylaxie suédoise (90,172). L'ajustement de la prophylaxie ne tient pas compte du taux d'activité biologique plasmatique du FIX (147) mais se fait principalement en fonction de la réponse clinique du patient (172).
- ✓ **Le régime canadien**, parfois qualifié de régime adapté ou sur mesure (« tailored ») utilise le principe de l'intensification progressive graduelle. Il débute avant 3 ans avec une injection hebdomadaire du facteur déficient à 50 UI.kg⁻¹ et raccourcit l'intervalle entre les injections si nécessaire sur la base de la réponse clinique observée, par palier (172).
- ✓ **La prophylaxie basée sur la pharmacocinétique** du patient a pour principe d'injecter exactement la dose nécessaire du fait des paramètres pharmacocinétiques individuels afin de maintenir une activité biologique plasmatique supérieure ou égale à 1% jusqu'à l'injection suivante. Le choix du dosage est généralement assisté par ordinateur sur la base des niveaux d'activité biologique mesurés, aussi appelé TDM pour Therapeutic Drug Monitoring (173). Cette prophylaxie permet d'établir la dose minimale à injecter pour une fréquence d'injection déterminée et d'observer des réductions significatives de consommation de facteur quand l'intervalle entre deux injections est diminué (95,165,172-173,175). Par ailleurs, cette diminution de la dose injectée pourrait minimiser la fréquence d'apparition d'éventuels effets secondaires liés à la dose (175). Lorsque la fréquence des injections est très élevée, il s'agit plus d'une prophylaxie expérimentale du fait des contraintes associées aux nombreuses injections qui rendraient l'adhérence très difficile dans le cadre d'une PLT. Par ailleurs la question de savoir si le seuil de 1% est le plus adapté pour l'ensemble des patients est très débattue (cf Chap.II.III.2, p.95).

c. Traitement péri-opératoire

Le traitement péri-opératoire consiste à établir préventivement et à maintenir une correction du déficit en FIX suffisante pendant l'intervention. En post-opératoire, le but est de maintenir un taux suffisamment élevé jusqu'à la cicatrisation et à la disparition du risque hémorragique lié à l'intervention (36). Lors de l'intervention chirurgicale, l'injection de FAH sera réalisée soit par bolus (injections discontinues), soit par perfusion continue (cf Chap.II.III.3, p.101). En pratique, une épreuve de cinétique préopératoire précède systématiquement les interventions programmées pour adapter au mieux la dose de FIX à administrer en fonction du taux de récupération du patient (36). Les recommandations nationales et internationales évoquées précédemment (49,70,88,97,99,101,102,104) distinguent deux types de chirurgies : les **chirurgies mineures** dont l'extraction dentaire, l'endoscopie, la biopsie de peau, la bronchoscopie, la ponction lombaire par exemple, et les **chirurgies majeures** dont l'arthroplastie et la laparotomie entre autres.

Les chirurgies mineures sont des situations cliniques dans lesquelles un taux plasmatique de FIX de 30 à 60 % est recommandé (49,70,97,104). Le niveau souhaitable en facteur avant une intervention chirurgicale majeure est de 80 à 100 % (49,70,97,101,104). Le renouvellement des injections, dans le cas des injections discontinues, est conseillé quotidiennement pour les chirurgies mineures et elles peuvent être répétées plus fréquemment pour les chirurgies majeures. Suite à une chirurgie majeure, un traitement de sept jours minimum permettant de maintenir un taux entre 30 et 60 % est recommandé. (voir tableau X)

Tableau X. Doses recommandées pour le traitement peri-opératoire de l'hémophilie B selon différentes recommandations nationales. (49,64,70,88,97,101,104)

Types de chirurgie	Concentration plasmatique en FIX à atteindre (%)	Fréquence d'injection	Durée de traitement
Chirurgies mineures	30 à 60	24h	1 jour minimum
Chirurgies majeures	80 à 100	8h à 24h	Jusqu'à cicatrisation de la plaie puis 7 jours minimum, entre 30 et 60%

Tableau XI. Niveaux de facteur IX et traitements péri-opératoires recommandés à l'échelle mondiale selon l'OMS, l'ISTH et la WFH (99) pour tous les pays, et selon la WFH (102) en fonction des restrictions sur l'accès aux concentrés de facteurs.

Types de chirurgies	Recommandations dans les pays SANS restriction		Recommandations internationales		Recommandations dans les pays AVEC restriction	
	Niveau de FIX désiré (%)	Durée de traitement (j)	Niveau de FIX désiré (%)	Durée de traitement (j)	Niveau de FIX désiré (%)	Durée de traitement (j)
Chirurgie mineure			50-100	Jusqu'à disparition du risque hémorragique		
*Pré-opératoire	50-80				40-80	
*Post-opératoire	30-80	1-5			20-50	1-5
Chirurgie majeure			50-100	Jusqu'à disparition du risque hémorragique		
*Pré-opératoire	60-80				50-70	
*Post-opératoire	40-60	J1-J3			30-40	J1-J3
	30-50	J4-J6			20-30	J4-J6
	20-40	J7-J14			10-20	J7-J14

III. DISCUSSION ET COMPARAISON DES DIFFÉRENTES THÉRAPIES

La présence de facteurs substitutifs ainsi que la variété des schémas thérapeutiques possibles dans la prise en charge de l'hémophilie sont à l'origine de nombreuses études comparatives. L'objectif de ce chapitre est d'établir une synthèse sur les principales problématiques associées à la prise en charge des hémophiles B en France et dans le monde à partir des données de la littérature.

III.1. FIX dérivé du plasma (pdFIX) et FIX recombinant (rFIX)

III.1.1. Études pharmacocinétiques

Sur les 16 études pharmacocinétiques analysées (voir tableau XII), la majorité d'entre elles ont été réalisées séparément, soit pour le FIX issu du plasma (pdFIX), soit pour le FIX d'origine recombinante (rFIX), avec des protocoles souvent différents. Leurs résultats sont donc difficiles à comparer en l'état d'autant plus qu'ils sont fortement influencés par les choix de conception dans le protocole d'étude (118). Pour les pdFIX, on obtient des données cohérentes et fiables à partir de prélèvements sanguins réalisés sur les patients sur une période d'au moins 72h (116), conformément aux recommandations de l'ISTH (133). Les études en-deçà de cette durée d'observation et néanmoins incluses dans cette revue de littérature apportent des données pharmacocinétiques comparatives du pdFIX et du rFIX. Pour l'ensemble des études :

- Les patients sont des PTPs hémophiles B modérées ou sévères, sans allo-anticorps inhibiteurs du FIX détectés et sans manifestations hémorragiques au moment de l'étude.
- L'activité coagulante du FIX est mesurée par dosage coagulométrique.
- Le paramètre pharmacocinétique le plus souvent mesuré est l'IVR. On retrouve également dans de nombreuses études l'estimation de la demi-vie d'élimination ($t_{1/2}$), de la clairance (Cl) et de l'AUC.
- Les données pharmacocinétiques non fournies dans le cadre des études ont été calculées dans la mesure du possible à l'aide de rapport d'autres paramètres, par exemple : $Cl = \text{Dose}/\text{AUC}$ (116, 129). Des données ne démontrant pas de différences significatives entre deux concentrés de même origine ou permettant d'affirmer leur bioéquivalence ont été rassemblées (119,121). À l'opposé, une étude comparative entre des pdFIX de haute pureté (35) qui n'a pas démontré de bioéquivalence sera présentée sous forme de deux résultats séparés.

- Études PK portant sur le FIX issu du plasma (34-35,89,119-126)
- L'ensemble de ces études met en valeur le constat énoncé plus tôt : l'étude pharmacocinétique des pdFIX nécessite au moins 72h d'échantillonnage. En effet, on observe nettement l'écart entre la demi-vie d'élimination des études à échantillonnage pendant 48h : $t_{1/2}$ compris entre 13 et 18h, et les études à échantillonnage supérieur ou égale à 72h : $t_{1/2}$ compris entre 29 et 43h (voir tableau XII). La demi-vie d'élimination de 16,7h mesurée dans le cadre d'une étude PK préopératoire du Mononine[®] chez douze patients (122) est une valeur aberrante. Il est possible que le choix du modèle pharmacocinétique ou que la méthode d'estimation de la demi-vie ait été source d'erreur (120). La deuxième possibilité est la plus probable car les autres paramètres PK : IVR et clairance sont, eux, totalement cohérents avec les autres études. Une étude croisée en double aveugle entre deux pdFIX utilisant des procédés d'élimination virale différents (filtration 15 nm pour le nouveau pdFIX) a permis d'établir la bioéquivalence des deux concentrés. Une étude croisée, aussi dite «cross-over study», est une étude au cours de laquelle on administre à un même groupe de patient deux ou plusieurs thérapies différentes dans un ordre déterminé ou au hasard.
- Études PK portant sur le FIX d'origine recombinante (34,89,123-130)
- Les études retenues portant sur le Benefix[®], comparatives ou non, établissent des valeurs d'IVR proches de celle indiquée dans les RCP par le laboratoire ($0,75 \pm 0,23$) car elles varient entre 0,8 et 1,1 UI.dL⁻¹/UI.kg⁻¹. Les demi-vies d'élimination établies sur des prélèvements étalés sur 72h pour les 4 études non-comparatives se situent entre 19,3 et 24,4h. Les résultats de l'étude la plus ancienne (127) sont ceux actuellement fournis dans les RCP du Benefix[®] (118). Par ailleurs l'analyse par sous-groupes a permis d'établir que l'IVR est plus faible chez les sujets de moins de 15 ans. Dans un contexte préopératoire, le rFIX a été évalué chez 24 patients dont des hémophiles B sévères, modérés, mineurs et deux femmes conductrices à l'aide d'échantillons de sang collectés jusqu'à 72h (128). Ainsi les paramètres pharmacocinétiques sont très proches de ceux obtenus dans l'étude précédente : la demi-vie d'élimination est d'environ 21h, la clairance est évaluée à 7,8 mL.h⁻¹.kg⁻¹ et l'IVR obtenue est identique. Une étude croisée en double aveugle sur le Benefix[®] et un Benefix[®] reformulé, a permis d'établir la bioéquivalence des deux médicaments. Les données de cette étude (129) ont donc été regroupées et sont cohérentes avec les données préalablement établies. Une valeur aberrante de clairance : 4,8 mL.h⁻¹.kg⁻¹ a été obtenue dans le cadre d'une étude taïwanaise réalisée chez 9 patients hémophiles B sévères et 1 patient hémophile B modéré. Les auteurs de l'étude envisagent que cet écart observé sur d'autres paramètres PK soit lié à des facteurs ethniques et démographiques, à un nombre limité de patient et à une dose élevée de facteur injecté : 75 UI.kg⁻¹. Dans les faits, une autre étude menée avec des doses semblables (129) écarte la possibilité que la dose administrée soit à l'origine de l'écart observé. (voir tableau XII).

Tableau XII. Données pharmacocinétiques (écart-type) issues d'études sur les concentrés de FIX plasmatiques et recombinants (34-35, 89, 120-130)

		Protocoles				Paramètres PK mesurés			Ratios calculés		
Études [référence]		n (patients)	pdFIX/rFIX étudiés	Dose** (U.kg ⁻¹)	Période de mesure (h)	IVR (U.dL ⁻¹ /U.kg ⁻¹)	Clairance (mL.h ⁻¹ .kg ⁻¹)	Demi-vie (h)	IVR _r /IVR _{pd}	Cl _r /Cl _{pd}	t _r /t _{pd}
Études PK de FIX plasmatiques	Berntorp (1993) [119]	6 S	Nanotiv [®] Mononine [®]	–	–	–	4,3 (0,9)	29 (7,5)			
	Björkman (1994) [120]	6 S	Nanotiv [®]	80	0 - 104	1,3 (0,3)	4,0 (0,6)	33,6 (7,9)			
	Goudemand (1998) [121]	11 S/M	FIX-SD FIX-SD-15	60	0,25 - 72	1,0 (0,2)	–	34 (3,7)			
	Hoots (2003) [122]	12	Mononine [®]	60	0,25 - 76	1,2	4,5	16,7 [†]			
	Aznar (2009) [35]	25 S/M	FIX Grifols [®]	65-75	0,25 - 74	1,3 (0,3)	3,6 (0,8)	31,3 (22,1)			
	Aznar (2009) [35]	25 S/M	Immunine [®] Octanine [®]	65-75	0,25 - 74	1,0 (0,3)	3,9 (1,1)	43,3 (29,2)			
Études PK comparatives	Avec Cross-over	White (1997/98) [123,124]	pdFIX	50	0,25 - 72	1,2 (0,3)	5,4 (1,1)	18 [†] (5,3)	- 36%	+ 69%	0%
			Benefix [®]		0,25 - 72	0,8 (0,3)	9,1 (1,5)	18 (5,1)			
		Ewenstein(2002) [34]	Mononine [®]	50	0,25 - 48	1,7 (0,7)	–	14,9	- 47%	–	+ 12%
			Benefix [®]			0,9 (0,3)	–	16,8			
	Kisker*(2003) [125]	Mononine [®]	50	0,25 - 48	1,7* (1,1)	4,2*	12,9* (1,7)	- 47%	+ 69%	+ 6%	
		Benefix [®]			0,9* (0,3)	7,1*	13,7* (2,9)				
	Sans Cross-over	Poon (2002) [126]	pdFIX	50	–	1,1 (0,26)	–	–	- 30%	–	–
			Benefix [®]		–	0,8 (0,2)	–	–			
Négrier (2011) [89]		pdFIX	50	0,5 - 48	1,1	5,5	17,8	- 39%	+ 28%	+ 9%	
		Benefix [®]			0,7	7,0	19,3				
Études PK du FIX recombinant	Roth (2001) [127]	50 S,M	Benefix [®]	50	0,25 - 72	0,8 (0,2)	8,4 (2,0)	19,3			
	Ragni (2002) [128]	24	Benefix [®]	50	0,16 - 72	0,8 (0,2)	7,8 (2,7)	21,3 (8,1)			
	Lambert(2007) [129]	24 S/M	Benefix [®]	75	0,25 - 72	0,7 (0,2)	8,2 (3,1)	22,9 (5,9)			
	Chang (2007) [130]	9S, 1M	Benefix [®]	75	0,25 - 72	1,1 (0,3)	4,8 [†] (1,0)	24,4 (6,4)			

S :sévère, M : modérée, S,M : sévère ou modéré, S/M : ≤ 2 UI.dL⁻¹

*valeurs médianes **dose théorique administrée † valeurs aberrantes – non renseigné

– Études comparatives des propriétés pharmacocinétiques des pdFIX et des rFIX

- Seuls trois études croisées du pdFIX et du rFIX ont été publiées à ce jour (34,123-125). Elles utilisent le même protocole pour les deux thérapies et sont séparées par une période de lavage ou « washout period » d'environ 7 jours (34,125). L'étude croisée la plus ancienne (123,124) montre chez onze patients pendant 72h que le Benefix[®] a une clairance supérieure d'environ 70% et une demi-vie qui ne diffère pas significativement du pdFIX étudié, pour une dose injectée équivalente (50 UI.kg⁻¹). Une étude croisée en double aveugle chez 15 hémophiles sévères entre le Mononine[®] et le Benefix[®] est réalisée quelques années plus tard (125). Ses données sont moins certaines du fait

d'un temps d'échantillonnage plus court (48h) et de la publication de valeurs médianes uniquement et non moyennes, mais les mêmes tendances se dégagent concernant la comparaison des deux concentrés, tant au niveau de la clairance : +69% que de la demi-vie d'élimination. La troisième étude croisée (34) étudie également Mononine® et Benefix® chez 38 sujets hémophiles B sévères ou modérés avec une dose théorique injectée de 50 UI.kg⁻¹. On observe, sur les 48h d'observation, que le temps de demi-vie d'élimination ne varie pas significativement entre les deux concentrés contrairement à l'IVR dont la diminution varie entre 36% et 47% selon l'étude, du pdFIX au rFIX. Cependant, les résultats sont l'objet d'une large variabilité inter-individuelle (34)

- Deux études comparatives non croisées ont également été incluses dans la revue. La première est une étude canadienne publiée en 2002 dans le cadre de la surveillance post-marketing du Benefix® chez 126 patients pour le rFIX et chez 74 patients pour le pdFIX (126). Cette étude fait état d'une IVR inférieure de 30% environ pour le rFIX par rapport au pdFIX. La deuxième étude est une étude comparative d'une nouvelle molécule recombinante (N9-GP) par rapport au traitement régulier de 15 patients hémophiles B modérés et sévères (≤ 2 UI.dl⁻¹) : 7 d'entre eux utilisaient du Benefix® et 8 avaient recours à un concentré de pdFIX (89). Les données pharmacocinétiques établies sur des sujets différents pour les traitements réguliers semblent indiquer, pour le Benefix® une IVR plus faible d'environ 40%, une clairance plus élevée et un temps de demi-vie non significativement différent au bout de 48h. Il est à noter que l'IVR y est mesuré sur la base du pic plasmatique obtenu au premier échantillonnage post-infusion à 30 minutes et non à 15 minutes comme dans la plupart des études et dans les recommandations internationales (133).

– Analyse des résultats

- Le paramètre le plus robuste pour comparer les propriétés PK des deux concentrés de FIX est la clairance car elle est calculée à partir de l'AUC qui est issue de l'ensemble des mesures effectuées au cours de l'étude (118). L'AUC rapportée à la dose administrée (inverse de la clairance) est le paramètre généralement utilisé pour étudier la bioéquivalence de deux médicaments. Comparativement, la demi-vie d'élimination et l'IVR qui permettent d'établir la dose à injecter ne sont basées que sur quelques points voire même sur un seul point pour le calcul de l'IVR à partir du pic plasmatique obtenu (116) d'où la nécessité d'évaluer plusieurs paramètres PK pour réaliser une comparaison (64,133). Lorsqu'on néglige les valeurs aberrantes, on peut affirmer que :
 - **La clairance moyenne** du rFIX entre 7,0 et 9,1 mL.h⁻¹.kg⁻¹ selon les études est nettement supérieure à celle du pdFIX située entre 3,6 et 5,4 mL.h⁻¹.kg⁻¹.(voir tableau XII et figure 19)
 - **La demi-vie moyenne d'élimination** du rFIX estimée entre 18 et 24h est inférieure à celle du pdFIX : entre 29 et 43h, sur l'ensemble des études au cours desquelles les prélèvements ont été réalisés jusqu'à 72 h après injection ou plus.(voir tableau XII et figure 19)
 - **L'IVR moyenne** du rFIX est compris entre 0,7 et 1,1 UI.dL⁻¹/UI.kg⁻¹ tandis que celle du pdFIX est légèrement plus élevée : entre 1,0 et 1,7 UI.dL⁻¹/UI.kg⁻¹. La différence est moindre par rapport à celle observée pour les autres paramètres PK mais néanmoins l'IVR moyenne du rFIX est toujours plus faible que ne l'est celle du pdFIX (voir tableau XII et figure 19), conformément aux données établies par la WFH (102). Cela confirme l'existence d'une corrélation positive significative entre les taux de récupération des deux concentrés, attribuant de fait la variabilité inter-individuelle à des différences dans des caractéristiques inhérentes au sujet (34). Des situations rares où les patients consomment moins de FAH avec du rFIX

qu'avec du pdFIX sont possibles (125). L'IVR, comme évoqué précédemment, est aussi l'objet d'une grande variabilité pour un même individu et une même substance du fait de sa méthode de calcul basée sur un point.

- À partir des données des taux de récupération établies ci-dessus, il a été établi qu'un facteur de conversion de 1,5 s'appliquait au dosage du rFIX par rapport au pdFIX dans le cadre d'un traitement visant à atteindre un pic d'activité coagulante plasmatique défini : traitement d'une hémorragie constituée ou lors de certaines chirurgies (64,118). Par exemple, si 40 UI.kg⁻¹ de pdFIX étaient nécessaires pour atteindre 50 UI.dL⁻¹ chez un patient, alors le dosage nécessaire en rFIX pour réaliser le même objectif serait de 60 UI.kg⁻¹. Ce facteur de conversion peut être adapté en fonction de l'âge du patient notamment : il sera plus bas chez les enfants que chez les adultes (118).
- Dans le cadre d'une prophylaxie, l'objectif est d'établir une dose permettant de maintenir l'activité coagulante plasmatique au-delà d'un certain seuil pendant un temps donné. Ce n'est donc pas l'IVR mais la clairance des différents concentrés qui a été prise en compte. Un modèle pharmacocinétique a été établi sur la base des données de clairance, la demi-vie d'élimination étant obtenue à partir des clairances dans ce même modèle (118). Ainsi un facteur de conversion de 2 peut être utilisé pour déterminer la dose de rFIX nécessaire dans le cadre du démarrage d'une prophylaxie par rapport à la dose qui aurait été administrée en pdFIX.
- Les valeurs des facteurs de conversion présentées ne peuvent remplacer le suivi rapproché et les ajustements qui accompagnent tout changement ou démarrage de traitement du fait de la grande variabilité individuelle évoquée précédemment (64,118).

III.1.2. Avantages et inconvénients

Les paramètres pharmacocinétiques, en tant que tels, ne peuvent présider seuls au choix d'un concentré de facteur. C'est dans un contexte plus global qui tient compte de la concentration, de la facilité d'utilisation, des prix, des effets secondaires et de bien d'autres critères que le choix de pdFIX ou de rFIX peut se faire si choix il doit y avoir. Aussi peut-on citer certaines autres caractéristiques des deux concentrés :

- ❖ L'étude de la structure des deux protéines (29,34) a permis de mettre en évidence la présence de MPT comme la sulfatation de la tyrosine (Y) en 155 ou la phosphorylation de la sérine (S) en 158 sur 90% des facteurs IX dérivés du plasma. Ces mêmes MPT ne sont respectivement présentes que dans moins de 15% des cas et non détectable dans le cas des rFIX et ce, malgré une production recombinante par des cellules animales (CHO) (voir figure 19). Des études attribuent potentiellement la plus faible IVR des rFIX à cette différence dans les MPT (34,123,126). Mais pour autant toutes les MPT ne sont pas forcément indispensables à l'activité du facteur de coagulation (34).
- ❖ De par sa fabrication, le FIX d'origine recombinante ne peut *a priori* véhiculer de virus transmis par le sang. Cela bien sûr ne le prévient pas d'autres contaminations éventuelles au cours de la fabrication et donc ne le dispense pas des mêmes méthodes d'inactivation que celles utilisées pour certains pdFIX (voir figure 19).
- ❖ Toujours par essence, l'approvisionnement en rFIX n'est pas soumis à des contraintes liées au don de sang (voir figure 19). Dans le cas du FIX, les dangers de pénurie sont moindres que dans le cas du FVIII principalement car les besoins sont plus faibles du fait de la prévalence relative de

- l'hémophilie B par rapport à l'hémophilie A et d'un taux de récupération plus élevé pour le facteur IX que ne l'est celui du FVIII (68).
- ❖ Au niveau du prix, la situation française du prix unitaire fixé comme identique pour les concentrés de facteur IX commercialisés n'est pas la plus fréquente à l'échelle mondiale. En effet, une enquête de la WFH rapportant les prix pratiqués pour les concentrés de FAH dans 96 pays représentant 85% de la population mondiale indique que les pdFIX sont légèrement moins chers que les rFIX à l'échelle mondiale (68) (voir figure 19). Cette même enquête indique que, selon les pays, le prix du Benefix[®] peut varier entre 0,71\$ et 1,75\$ l'unité tandis que le prix du Mononine[®] varie entre 0,65\$ et 1,03\$ l'unité. Aux USA, dans l'Iowa par exemple, le prix unitaire est de 0,87\$ pour Benefix[®] et 0,86\$ pour Mononine[®] (125).
 Pour remettre dans le contexte l'impact d'un écart de prix dans le traitement de l'hémophilie B, on peut prendre pour exemple un patient hémophile B sévère de l'Iowa, 24 ans, 72 kg, traité par prophylaxie deux fois par semaine avec du Mononine[®] à la dose de 20 UI.kg⁻¹. Il consomme donc environ 2 900 unités par semaine (2×20×72) soit environ 150 000 unités par an. Si aucun facteur de conversion théorique issu de données PK n'est appliqué, le traitement suggéré à partir de Benefix[®] représenterait un surcoût annuel d'environ 1 500\$ (150 000×0,01), soit 1 150€, pour une différence initiale d'un centime de dollar dans le prix unitaire.
 Le facteur de conversion pharmacocinétique semble avoir plus d'impact sur le surcoût total du rFIX que la différence de prix unitaire initiale. En effet, en reprenant l'exemple précédent mais en utilisant cette fois un facteur double entre le pdFIX et le rFIX, on double la consommation annuelle de Benefix[®] nécessaire par rapport à celle de Mononine[®] et le surcoût annuel pour le rFIX est de 132 000\$ (300 000×0,87-150 000×0,86), soit 100 000€ environ.
 - ❖ Le rFIX est commercialisé notamment sous la forme de 2 000 et de 3 000 UI : ce n'est le cas d'aucun pdFIX en France (voir tableau VII). Le rFIX propose donc plus de possibilités thérapeutiques quant à la dose administrable par flacon et c'est un atout pratique puisque cela peut réduire le nombre de flacons et donc d'injections à réaliser pour le patient. (voir figure 19)
 Si on s'intéresse encore à la qualité de vie des patients hémophiles, le volume d'injection est important : il est dépendant de la concentration des produits et va déterminer le temps d'injection. Les 3 000, 2 000 et 1 000 UI de rFIX sont reconstituées dans 5mL, soient des concentrations respectives de 600, de 400 et de 200 UI.mL⁻¹, tandis que la plus haute concentration pour le pdFIX est de 100 UI.mL⁻¹: par exemple 1 000 UI dans 10 mL. Le rFIX peut donc être plus concentré, raccourcissant d'autant la durée des injections au patient. (voir figure 19)
 - ❖ Une étude réalisée chez 177 hémophiles B sévères, modérés et mineurs, nord-américains et européens étudie l'incidence des réactions allergiques en réponse au traitement substitutif en fonction du FAH utilisé (39). Sur les 177 patients, 17 ont été traités par du pdFIX uniquement, 92 avec du rFIX uniquement et 68 avec les deux concentrés. Les résultats observés soulignent une absence de variation significative dans la fréquence des réactions allergiques ou du développement d'anticorps inhibiteur du FIX en fonction que le FAH utilisé soit du rFIX ou du pdFIX (39,90).

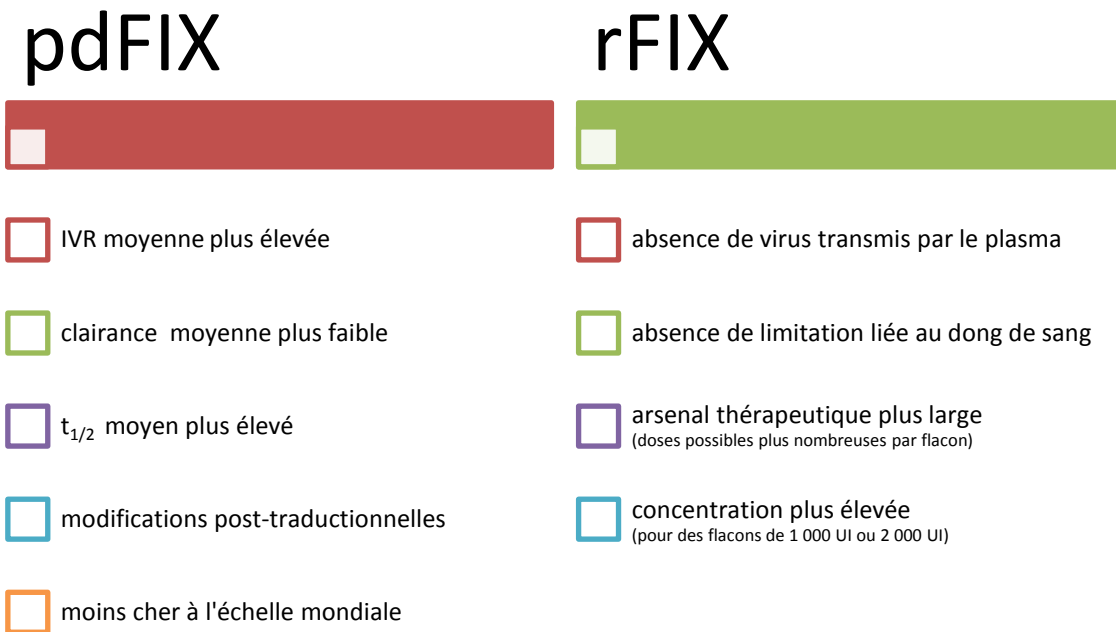


Figure 19. Présentation schématique des principaux avantages des concentrés de FIX issus du plasma (pdFIX) et des concentrés de FIX d'origine recombinante (rFIX)

III.1.3. Recommandations et états des lieux

- Recommandations

Les recommandations internationales (99,102) n'établissent aucune préférence pour l'un ou l'autre des concentrés en fonction de leur origine plasmatique ou recombinante. L'OMS recommande la mise en place de recommandations nationales optimales en fonction notamment de paramètres économiques sur différents sujets parmi lesquels les « produits » utilisés (99). La WFH présente la même recommandation en affirmant que le choix de rFIX ou de pdFIX doit être établi sur des critères locaux. Ce non choix dans les recommandations s'explique, entre autres, par la grande disparité entre les pays concernant l'accès aux thérapies (102)(cf Chap.II.IV.1, p.111).

Au niveau national, les recommandations en vigueur au Royaume-Uni, établies par l'organisation nationale des médecins des centres de l'hémophilie, United Kingdom Haemophilia Center Doctor's Organisation (UKHCDO) fixent les rFIX comme traitement de choix des hémophiles B (135). De même aux USA, le conseil scientifique et médical aussi appelé MASAC pour Medical And Scientific Advisory Council de la fondation nationale de l'hémophilie (NHF) recommande le rFIX comme choix de traitement prophylactique le plus approprié (140). En France, ce sont les établissements de santé et les médecins spécialistes de l'hémophilie qui décident des FAH qu'ils souhaitent utiliser au sein de leur CTH en fonction de leurs expériences personnelles de ces médicaments, sous la réserve de la validation préalable du FAH par les autorités sanitaires européennes, nationales et les instances de l'établissement même.

- État des lieux

Une enquête de 2012 rapportant le traitement de 5647 patients hémophiles B dans le monde, réalisée auprès de 163 CTH d'Europe (n=77), d'Amérique du nord (n=63), d'Amérique latine (n=17), d'Asie (n=5) et du Moyen-Orient (n=1) révèle que 59% des patients utilisent des concentrés de rFIX tandis qu'environ 41% sont traités par pdFIX (136). L'enquête révèle également de grandes disparités selon les zones géographiques et selon les pays. Les centres nord-américains sont ceux qui ont le moins recours au pdFIX : pour 18% des patients, alors que ce chiffre est de 44% pour les patients européens et qu'en Amérique latine les CTH utilisent presque exclusivement du pdFIX. Une des principales limites de cette enquête est de ne pas ou très peu représenter des continents comme l'Asie, l'Océanie et l'Afrique.

En France, un rapport de l'Inspection Générale des Affaires Sociales (IGAS) publié en 2010 indique que le marché français en 2009 était « principalement couvert avec des produits recombinants » (78) et la proportion des facteurs IX d'origine plasmatique était de 42,10% (soit 57,90% pour les rFIX).

III.1.4. Conclusion

Les concentrés de facteur IX plasmatiques et recombinants présentent chacun des avantages justifiant de leur instauration en tant que traitement des patients hémophiles B, au premier rang desquels on peut citer les propriétés pharmacocinétiques pour le pdFIX et l'absence de virus transmis par le sang pour le rFIX. Une quelconque recommandation en la matière tranchant pour l'un ou l'autre des médicaments paraît difficilement envisageable à l'échelle mondiale du fait des enjeux industriels pharmaceutiques et à l'échelle française du fait des convictions parfois opposées et souvent inébranlables des médecins spécialistes de l'hémophilie en France (137). Ces raisons, entre autres, expliquent le manque d'études internationales croisées, randomisées, standardisées qui sont depuis longtemps une nécessité selon de nombreux spécialistes (116,133) (cf Chap.II.iii.4, p.107). Par ailleurs une telle recommandation si elle existait nécessiterait une évaluation précise des bénéfices et des risques associés au changement de facteur en cours de traitement chez les patients hémophiles actuellement traités par pdFIX. En effet, ce changement pourrait augmenter le risque d'apparition d'anticorps inhibiteurs dirigés contre le facteur injecté (68). Mais, plus généralement, se pose aussi la question de la nécessité ou non de choisir entre plasmatique et recombinant. La stratégie qui consiste à garder un large éventail de possibilité n'est pas dénuée de sens dans la mesure où la consommation française (138) et mondiale de tous les facteurs augmente (68,139,204,205). Dès lors, une maîtrise de plusieurs thérapies pourrait être un atout si l'une d'entre elles venait à manquer ou à être retirée du marché. Quoiqu'il en soit, la priorité dans le choix d'une thérapie pour un patient donné doit demeurer l'évaluation de la réponse pharmacocinétique au traitement et son efficacité clinique à court et long terme. Le développement et la mise sur le marché prochaine de nouveaux concentrés recombinants se distinguant par leur prix ou leur efficacité (cf Chap.III, p.129) amènera sans doute l'ensemble du corps médical et pharmaceutique à réévaluer et faire évoluer les recommandations de traitement de l'hémophilie B et les pratiques à l'échelle française et mondiale.

III.2. Traitement à la demande et prophylaxies de long terme (PLT)

La PLT de manière générale a fait l'objet depuis sa mise en place de nombreuses études afin d'en établir précisément les bénéfices et les inconvénients en regard du traitement à la demande. Elle a également beaucoup été étudiée afin d'établir les modalités d'une stratégie prophylactique optimale et proposer des recommandations en conséquence.

III.2.1. Études

Parmi les 26 études réunies sur le sujet du traitement à la demande et des PLT, on peut d'abord regretter que plus du tiers d'entre elles ne concernent que l'hémophilie A et non l'hémophilie B et soient donc exclues *de facto* de l'analyse. Toutes les études réalisées sur les deux types d'hémophilie sont rétrospectives, avec une proportion d'hémophiles B en deçà de leur proportion dans la population hémophile mondiale : 1 hémophile B pour 7 hémophiles A dans les études analysées (105,144-151,155,163-164,296). Les différents régimes prophylactiques sont évalués par leurs impacts : sur le phénotype hémorragique, sur la consommation et le coût des facteurs consommés ou encore sur la qualité de vie des patients hémophiles et leur adhérence. L'impact clinique est le plus fréquemment évalué et il est généralement mesuré par le nombre total de saignement et le nombre d'hémarthroses, par un score radiologique et un score orthopédique recommandés à l'échelle internationale (102). Les scores les plus utilisés sont les scores de Gilbert et de Pettersson, respectivement orthopédique et radiologique. Ils étudient six articulations principalement : genoux, coudes et poignets (gauches et droits) en leur attribuant à chacune un score et en les additionnant, le score nul représentant le meilleur état possible pour l'articulation. La qualité de vie est généralement évaluée par les patients eux-mêmes au moyen de questionnaires qui couvrent plusieurs dimensions de la qualité de vie comme le SF-36 pour « medical outcomes trust Short Form 36 ».

▪ Efficacités des PLT

Le traitement à la demande ne permet pas la prévention des séquelles orthopédiques précoces et il est à l'origine d'une dégradation de la qualité de vie à long terme chez les hémophiles sévères (105,296). Une enquête épidémiologique française a été réalisée en 2000 auprès de 116 patients hémophiles A et B sévères ou modérés ($\leq 2\%$) adultes nés dans les années 70 ayant suivi un traitement à la demande. Dans l'ensemble, sur le plan orthopédique clinique, le score de Gilbert moyen est de 7,7 ($\pm 6,8$) sur 72 et seuls 16% d'entre eux ont préservé leurs articulations en bon état (score nul). À l'observation radiologique, le score moyen de Pettersson est 18,8 ($\pm 7,1$) sur 78 et seuls 3,7% des patients obtiennent un score nul. Ces scores sont très insatisfaisants d'après les auteurs, d'autant plus que la détérioration des articulations et les séquelles associées vont probablement s'aggraver encore avec l'âge chez ces patients qui ont entre 20 et 30 ans.

À côté de cela, les résultats rétrospectifs de la PLT en Suède et dans d'autres pays sont présentés à partir du début des années 90. Une des premières études publiées sur l'expérience suédoise de 25 ans de prophylaxie chez 60 patients souligne l'efficacité du traitement prophylactique qui empêche bien la chute d'activité biologique plasmatique du FIX en-dessous de 1% comme prévu initialement et permet à tous les patients de mener une vie normale (144). Mais pour prévenir totalement l'arthropathie hémophilique, les auteurs recommandent de démarrer la prophylaxie plus précocement : ce sera la PP. Différentes études ont par la suite établies que la PP à dose élevée permet de maintenir des scores

orthopédique et radiologique nuls ou quasi-nuls et prévient le développement de l'arthropathie hémophilique chez les patients hémophiles sévères (144,146,148). Une étude de 2003 réalisée auprès de 61 patients traités à la demande et 95 patients hémophiles sévères ($\leq 1\%$) de Suède et de Norvège compare traitement à la demande et PLT. L'étude vient corroborer les résultats présentés dans une étude de 1996 en Grande-Bretagne : le traitement prophylactique de long terme, même démarré tardivement, permet une diminution significative du nombre de saignements annuels, du nombre d'hospitalisations et de chirurgies, ainsi que du nombre de jours d'absence à l'école ou au travail du fait des saignements (148, 152) par rapport au traitement à la demande. La prophylaxie permet donc une amélioration du phénotype hémorragique et, de ce fait, une amélioration de la qualité de vie des patients (148,152,153) avec moins de douleurs, une meilleure santé physique et mentale, une meilleure estime de soi et une meilleure intégration en société (153). Indirectement, en favorisant l'activité sportive du patient, la PLT contribue également à la prévention mécanique de l'arthropathie hémophilique (154) (voir figure 21).

▪ Raisons des réticences face à la prophylaxie de long terme

Pour en revenir à l'étude épidémiologique française de 2000, les auteurs se sont demandé quelles étaient les raisons qui jusque-là avaient plutôt incité les patients et les soignants français à utiliser le traitement à la demande en dépit de l'insuffisance de ces résultats globaux. C'est une question que beaucoup de pays développés qui tardaient à adopter le régime prophylactique, comme les USA (143,158), se sont posée. Les raisons de réticence évoquées sont les suivantes, sans ordre de priorité :

- Le traitement prophylactique continu est un traitement contraignant pour l'enfant et pour la famille. Il est possible que les parents soient réticents vis-à-vis des contraintes liées aux deux injections intraveineuses par semaine (68,105) qui représentent deux à trois fois plus d'injections que le traitement à la demande (154). Cet aspect contraignant de la prophylaxie, décrit comme « time-consuming » par les études américaines, est un des principaux obstacles à la bonne compliance et par extension une des principale raison d'échec de la prophylaxie (68,154,158).
- Par ailleurs, la PP nécessite parfois la mise en place d'une chambre implantable (CVAD) (105,161). Ce dispositif permet d'injecter plus facilement le FAH à un enfant d'âge précoce en absence de voie d'accès veineuse périphérique susceptible de supporter les nombreuses injections. Mais la mise en place d'une CVAD n'est pas dénuée de risque : risques chirurgicaux d'abord : hémorragies, réactions auto-immunes, mais également dans son utilisation : infections, thromboses veineuses profondes des extrémités supérieures (90,148,157-160). Il est parfois recommandé d'entamer la PP avec une seule injection hebdomadaire afin de familiariser progressivement l'enfant et sa famille avec les injections intraveineuses (95) mais aussi afin d'éviter la mise en place de chambres implantables autant que possible, ou d'en réduire l'usage si celui-ci est indispensable (90,145,166,171,174).
- Les constats des études publiées diffèrent quant à la comparaison des consommations de FAH selon le schéma thérapeutique utilisé. Certaines études affirment que la consommation annuelle de FAH à la demande ne serait pas beaucoup plus basse que celle d'une prophylaxie adaptée à la pharmacocinétique du patient (105). Mais il s'agit là d'une prophylaxie de consommation minimale à injection très fréquente. La consommation annuelle de FAH médiane dans le cadre d'une PLT suédoise a été estimée significativement plus élevée : $3024 \text{ UI.kg}^{-1}.\text{an}^{-1}$, que celle à la demande : $780 \text{ UI.kg}^{-1}.\text{an}^{-1}$, dans l'étude publiée en 2003 sur 156 patients hémophiles sévères

suédois et norvégiens âgés de 14 à 46 ans évoquée précédemment (148)(voir figure 20). Cette étude réalisée de 1989 à 1999 souligne que la consommation annuelle dépend surtout de la dose prescrite par kg (148). Il a également été démontré que la fréquence d'injection choisie, comme évoqué précédemment dans le cadre de la prophylaxie adaptée à la pharmacocinétique, pouvait elle aussi fortement réduire la consommation de facteur, en adaptant la dose à l'objectif d'activité plasmatique supérieure ou égale à 1% (165).

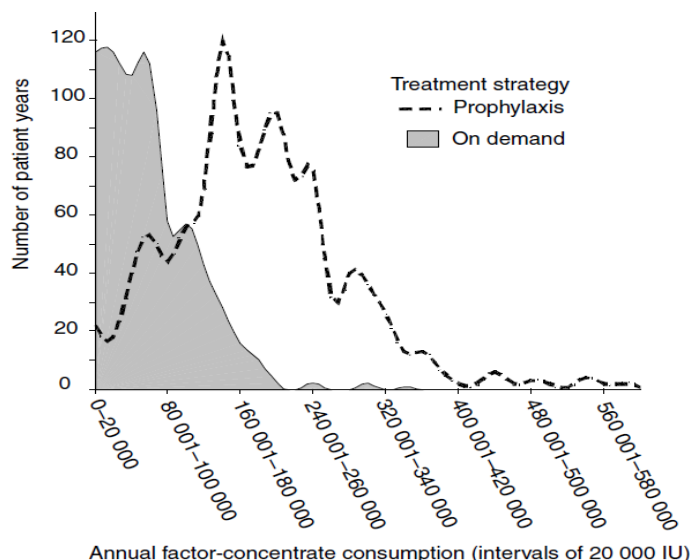


Figure 20. Distributions de la consommation annuelle totale de FAH chez des patients hémophiles B sévères ($\leq 1\%$) suédois et norvégiens nées entre 1954 et 1985, traités à la demande ou par PLT, données réunies de 1989 à 1999 (148). La consommation annuelle de FAH étant susceptible de varier selon les années, l'ordonnée est représentée en années patient

- La conséquence de cette consommation supérieure est un surcoût direct puisque 90% des coûts du traitement sont liés à la consommation de FAH (99,148,162) (voir figure 21). Ce surcoût est une contrainte financière importante pour la collectivité ou le patient lui-même ou les deux selon les pays. Le prix des soins et de la couverture santé en conséquence reste un problème majeur aux États-Unis (158) qui restreint l'accès aux thérapies substitutives et qui oblige parfois les patients à interrompre leur prophylaxie (156). Cependant plusieurs auteurs soulignent que des études médico-économiques doivent être réalisées en tenant compte également des coûts évités du fait de la préservation du statut orthopédique, de l'amélioration de la qualité de vie, de l'intégration sociale et parfois des performances scolaires (2) associées au traitement prophylactique de long terme (94,146).

Une synthèse des évaluations économiques publiées jusqu'alors concernant la comparaison du traitement à la demande et de la prophylaxie a été réalisée en 2012 (94). Cette synthèse révèle que des résultats très variés ont été publiés, allant d'une supériorité du traitement prophylactique considéré comme moins coûteux dans l'ensemble à, au contraire, un surcoût du traitement prophylactique estimé à environ un million d'euros par Quality-Adjusted Life-Year additionnelle (QALY) (94). Contrairement au DALY qui représente les années de vie en parfaite santé qui ont été perdues du fait de la maladie ou de l'incapacité, le QALY est un indice qui représente les années de vie en parfaite santé qui ont été gagnées par l'amélioration de la santé du fait d'un acte ou d'un schéma thérapeutique en l'occurrence. La grande variabilité sur les résultats publiés

semble être issue de définitions très différentes du régime prophylactique, des prix des FAH actualisés ou non, du choix des paramètres dont le coût a été évalué, et du nombre d'années de traitement comparé (94). Comme évoqué précédemment, la dose prescrite par unité de poids corporel influe sur la consommation annuelle. Par ailleurs, le nombre d'années de traitement évaluées est important car la consommation d'un patient sous prophylaxie est élevée dans l'enfance et décroît à l'âge adulte tandis que celle d'un patient traité à la demande augmente avec l'âge (99). Néanmoins, malgré leurs différences sur ces nombreux aspects, la plupart des études concluent que la PLT n'est pas la solution la plus rentable d'un point de vue financier (cost-effective). D'autres études sont encore en cours.

- La mise en place de la prophylaxie en France et dans de nombreux autres pays a probablement été freinée également par la crise de confiance consécutive aux contaminations virales des années 80 (154). La prophylaxie a été plus amplement proposée à partir de la fin des années 90 mais bien souvent sous la forme secondaire intermittente (154). C'est la restauration progressive du climat de confiance qui a permis l'établissement de recommandations en faveur de la PLT à partir de 2002 par la COMETH en France (cf Chap.II.III.2, p.97).
- Certains soignants n'étaient aussi peut-être pas assez convaincus des bénéfices de la prophylaxie de long terme pour en convaincre leurs patients (105). En effet, l'instauration de hautes doses de FIX chez des enfants hémophiles ne prévient pas totalement les patients de l'apparition d'hémarthroses perthérapeutiques (146, 151, 163) et, en présence d'une arthropathie constituée, n'inverse pas le processus pathologique articulaire et ne peut qu'en ralentir l'évolution (102,155). Par ailleurs, certains soignants ont pu craindre également que l'injection de doses élevées de facteur entraîne une réaction immunologique chez les patients hémophiles sévères, particulièrement ceux ne produisant pas de facteur IX endogène (68). Du point de vue scientifique, la revue de littérature manque encore à ce jour d'études prospectives randomisées (162) concernant l'hémophilie B notamment. La PLT optimale est toujours à définir puisque les questions sur les critères de début, sur l'intensité de la prophylaxie sont encore débattues.

Traitement à la demande

Prophylaxies de long terme

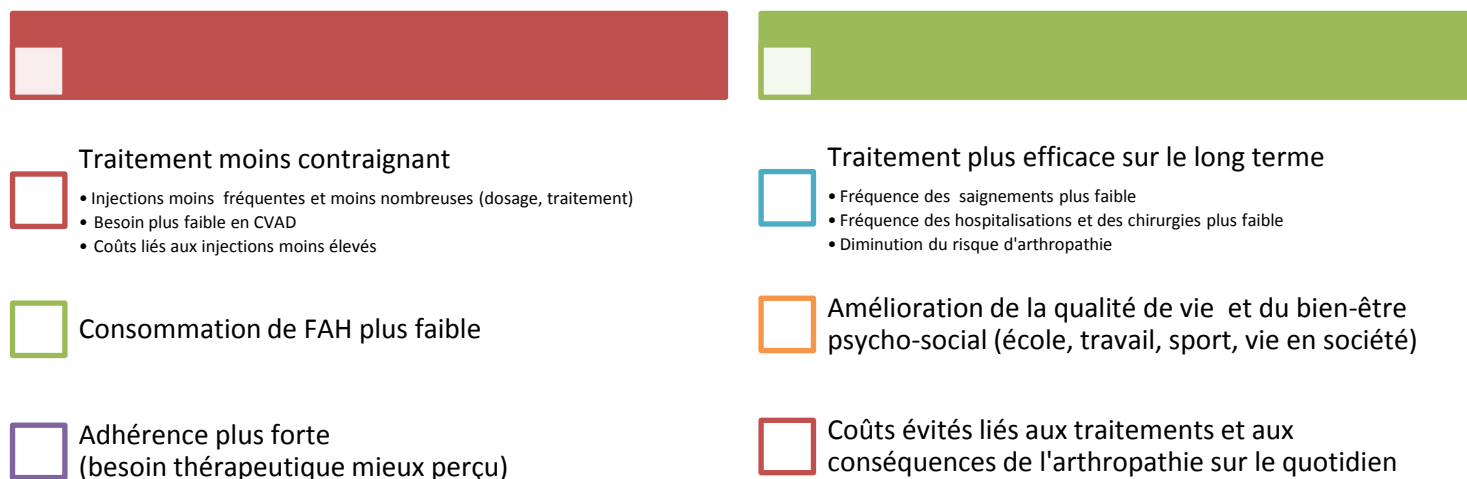


Figure 21. Présentation schématique des principaux avantages du traitement à la demande et de la prophylaxie de long terme

- Conditions d'instauration et d'arrêt de la prophylaxie de long terme : PP et SP

Dès lors que les bénéfices thérapeutiques de la PLT ont été établis, la question s'est posée de savoir dans quelles conditions exactes elle devait être mise en place. L'expérience suédoise de ce schéma thérapeutique les a poussés à avancer progressivement l'âge médian d'instauration de la prophylaxie de 3,1 ans dans les années 70 à 1,2 ans dans les années 80 (147). Ce choix d'une précocité plus grande dans l'instauration de la prophylaxie a plusieurs justifications. Tout d'abord, les études chez l'animal suggèrent une plus grande sensibilité du jeune cartilage vis-à-vis des hémarthroses (154). D'autre part, de nombreuses études cliniques portant sur les scores radiologiques et orthopédiques des patients ont établi l'impact favorable du jeune âge en début de prophylaxie sur le pronostic articulaire (144-146,150).

Les 25 ans d'expérience suédois suggèrent qu'une mise en place plus tardive de la prophylaxie, comme ce fut le cas chez les patients les plus âgés de la cohorte, est associée avec un score radiologique articulaire plus élevé et de plus fréquentes absences à l'école ou au travail (144). Ces conclusions ont été discutées car les patients les plus âgés ont reçu des doses prophylactiques moins élevées que les générations suivantes et par ailleurs, le risque d'arthropathie augmentant avec l'âge, il est possible que le score radiologique plus élevé des plus âgés ne soit pas ou peu lié à leur traitement (156). Dans une étude de 1999 réalisée auprès de 121 patients hémophiles sévères et modérés ($\leq 2\%$) suédois, les résultats cliniques observés concernant l'arthropathie sont meilleurs (plus de scores orthopédiques nuls) quand la prophylaxie est démarrée précocement : avant 3 ans (145) (voir figure 22). Cette étude a utilisé le score articulaire recommandé par la WFH.

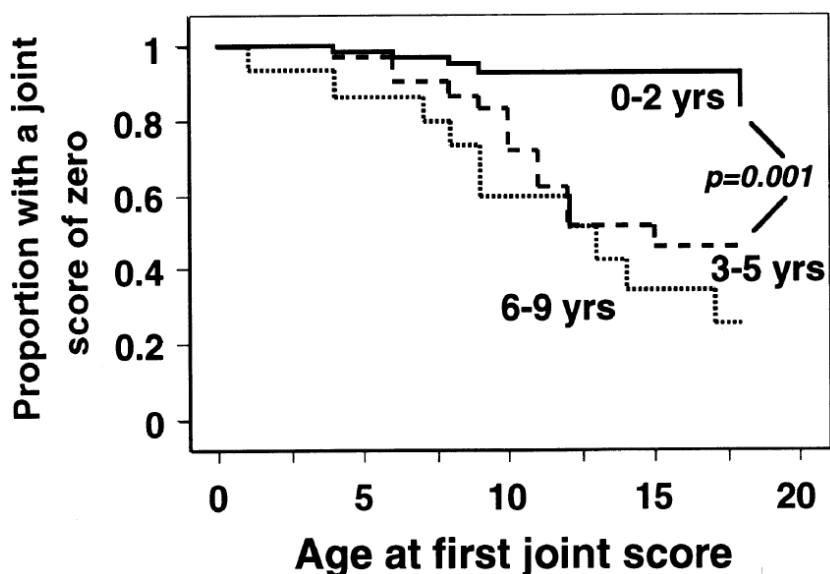


Figure 22. Graphique de Kaplan-Meier du développement de l'arthropathie, représenté par un score orthopédique articulaire non nul, chez des patients entamant un traitement prophylactique avant l'âge de 3 ans, entre 3 et 5 ans ou de 6 à 9 ans (145). La différence entre les deux derniers groupes d'âges n'est pas significative ($p=0,275$). L'analyse statistique de Kaplan-Meier permet d'évaluer la probabilité d'un évènement malgré des temps de participation différents selon les sujets. L'ordonnée représente la probabilité cumulée de l'évènement : « avoir un score articulaire nul chez les patients ».

Ainsi après avoir également observé l'impact d'autres paramètres caractérisant l'intensité de la prophylaxie (dose, fréquence) sur le développement de l'arthropathie, les auteurs concluent que l'âge d'instauration du traitement prophylactique est un facteur prédictif indépendant significatif du

développement de l'arthropathie (145). La dose et la fréquence d'administration initiales, par contre, ne montrent aucune différence significative sur le nombre de saignements, ni sur le développement de l'arthropathie selon que la prophylaxie soit mise en œuvre avant 3 ans ou entre 3 et 5 ans (145). Mais outre l'âge, c'est bien souvent le phénotype hémorragique qui a été évoqué comme un marqueur de la nécessité de débiter la prophylaxie (145,149-151,163). En effet, le nombre d'hémarthroses constituées avant instauration du traitement prophylactique influence l'évolution vers l'arthropathie (150). Aussi il apparaît comme essentiel de commencer le traitement prophylactique avant que le patient ne souffre de fréquents épisodes hémorragiques et d'hémarthroses évoluant vers des articulations cibles (145) et vers l'arthropathie hémophiliques (155). Une tentative d'intensification du traitement par une augmentation de la fréquence des injections a montré une corrélation significative entre le nombre d'hémarthrose avant et après changement de fréquence (145) (voir figure 23). Cela indique également la nécessité d'agir avant que ne se constitue le phénotype hémorragique.

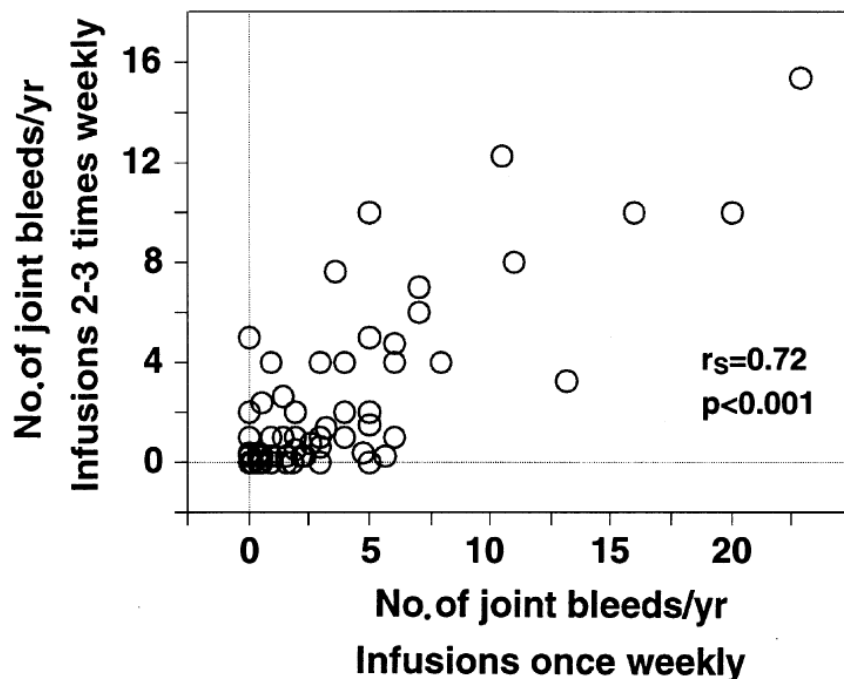


Figure 23. Diagramme de dispersion indiquant la corrélation entre le nombre moyen d'hémarthroses par an pour chaque patient sous traitement prophylactique à une injection ou plusieurs injections par semaine (145). Le coefficient de corrélation des rangs de Spearman : r_s mesure la corrélation entre deux variables qui ne semble pas être liées par une relation affine.

Plus la mise en place de la prophylaxie est retardée en regard de la première hémarthrose, plus le risque est grand de développer une arthropathie. Il augmenterait de 8% par an à partir de la première hémarthrose en absence de traitement prophylactique de long terme quel que soit l'âge de la première hémarthrose et le dosage prophylactique (151). En conséquence, plusieurs études recommandent de mettre en place la prophylaxie directement après la première hémarthrose (149,151,163). Le choix d'établir le début de la prophylaxie sur des aspects cliniques individuels présente plusieurs avantages. Premièrement, contrairement à la PP qui est systématiquement mise en place avant 2 ans, cela permet de décaler l'instauration de la prophylaxie de plusieurs mois voire années selon l'âge du patient à la première hémarthrose (voir figure 24) sans augmenter le risque d'arthropathie, avec bien souvent la

même efficacité que la PP (146,149). Cette variabilité clinique, à l'origine d'âges très différents à la première hémarthrose, pourrait plaider pour la mise en place d'une SP chez la plupart des patients (146,149, 151). Deuxièmement, cela peut réduire l'impact des injections multiples précoces, les coûts de traitement et peut-être éviter l'installation d'une CVAD chez les très jeunes enfants (149,151). Cela contribuerait favorablement à une plus grande compliance et donc une meilleure réussite globale de la prophylaxie. Enfin troisièmement, choisir de démarrer la prophylaxie après la première hémarthrose permettrait de réaliser que le recours à la prophylaxie n'est pas toujours le choix le plus adapté en tenant compte de la grande variabilité interindividuelle dans les phénotypes hémorragiques des patients hémophiles sévères (145, 156). En effet, il est possible et même raisonnable de traiter à la demande des patients hémophiles sévères présentant un phénotype clinique modéré, soit environ 10 à 15% des hémophiles sévères (2,149,156,192), sans que cela n'aboutisse à une arthropathie hémophilique précoce (149,156). Chez ces patients il est possible que des facteurs prothrombotiques tels la mutation Leiden du gène du FV ou la mutation G20210A du gène de la prothrombine aboutissent à l'atténuation du profil hémorragique observé mais de plus amples preuves scientifiques sont nécessaires (2,190).

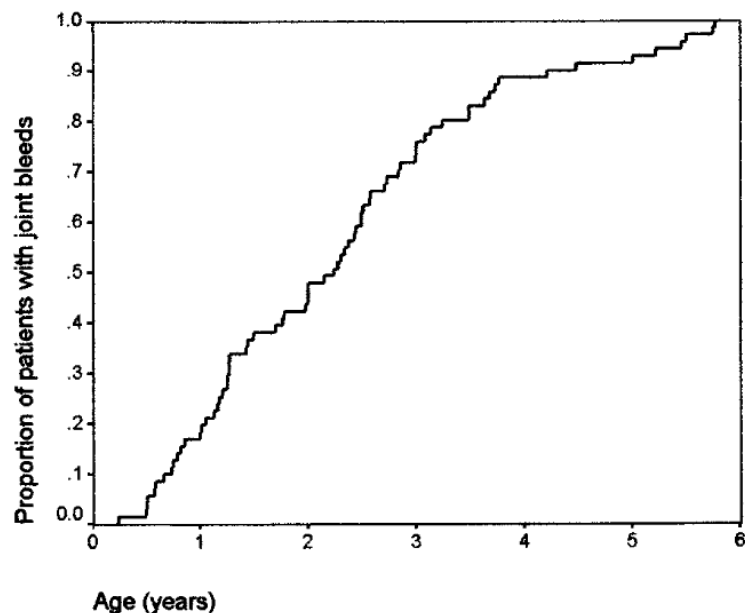


Figure 24. Distribution cumulative de l'âge à la première hémarthrose chez 71 patients hémophiles sévères ($\leq 1\%$) nés entre 1965 et 1985. La mise en place d'une prophylaxie est postérieure à la première hémarthrose pour l'ensemble des sujets et l'âge médian de la première hémarthrose est de 2,2 ans (151).

L'ensemble de ses raisons justifie l'existence et la pratique de traitements prophylactiques secondaires utilisés par des équipes soignantes pour un certain nombre de patients hémophiles dans le monde. Vis-à-vis du patient et de sa famille, attendre la première hémarthrose peut aider à convaincre concrètement de l'importance des risques encourus, de la nécessité du régime prophylactique de long terme et faciliter d'autant plus la bonne observance du traitement.

L'expérience internationale est néanmoins très favorable à la mise en place précoce de la prophylaxie. Ce choix thérapeutique est moins risqué car, comme évoqué précédemment, la plupart des études confirment qu'une fois le phénotype hémorragique installé (nombreuses hémarthroses, articulations cibles), la PLT ne peut que décaler et non prévenir l'évolution vers l'arthropathie (141,149-151,155-156, 163). Certains auteurs soulignent l'existence de dégradations articulaires précoces et subcliniques

issues de microhémorragies (40,143,154). Ceci plaide également en faveur du choix d'une prophylaxie aussi précoce que possible (voir figure 25). Si aujourd'hui la PP intensive reste un modèle, plusieurs spécialistes concluent au fort intérêt que présente l'individualisation de la thérapie prophylactique dans son intensité et dans sa date de mise en œuvre selon le profil hémorragique du patient (145,149,154,156,159,162).

La plupart des auteurs insistent sur la nécessité de maintenir le traitement prophylactique pendant toute la période de croissance ostéo-articulaire : enfant, adolescent, jeune adulte hémophile sévère (156). Il est possible d'envisager à l'âge adulte un passage à une prophylaxie à dose plus faible ou même la thérapie à la demande en fonction du contexte clinique et de l'adhérence du patient à son traitement (154). Cependant les avis divergent à ce sujet et il n'existe pas actuellement de consensus sur la prophylaxie chez l'adulte (156). Dans tous les cas, l'efficacité du traitement et l'observance de ce dernier par le patient doivent être des priorités complémentaires, donc la concertation est nécessaire.

Prophylaxie secondaire continue



- Adhérence plus facile
 - mise en place plus tardive de la prophylaxie
 - besoin thérapeutique mieux perçu
 - moins de CVAD après 2 ans

- Meilleure adaptation au phénotype hémorragique individuel du patient

- Identification possible des hémophiles sévères à phénotype hémorragique modéré (10 à 15%)

- Coûts plus faibles sur les premières années de vie

Prophylaxie primaire



- Meilleur pronostic articulaire

- Moins de saignements

- Moins d'articulations cibles

- Meilleure mobilité et meilleure qualité de vie

Figure 25. Présentation schématique des principaux avantages de la prophylaxie secondaire continue et de la prophylaxie primaire

- Conditions de dosage, de fréquence de la prophylaxie de long terme

À ce jour, une seule étude comparative des modèles suédois et néerlandais chez des hémophiles A et B a été publiée, avec une proportion de 1 hémophile B pour 9 hémophiles A. Cette étude publiée en 2002, réalisée sur trois années, regroupe 128 patients hémophiles sévères ($\leq 1\%$) nés entre 1970 et 1990 et évalue leurs scores orthopédiques, radiologiques, leur nombre de saignements et leur consommation annuelle de FAH sur la période d'étude (147). Du fait de l'intensification des deux régimes prophylactiques étudiés au cours des années (147,149), les patients sont séparés entre ceux nés dans les années 70 : 68 patients, et ceux nés dans les années 80 : 60 patients. La deuxième tranche d'âge est plus pertinente car elle reflète les pratiques les plus récentes des deux régimes. Il a ainsi été démontré (147) que les patients sous PLT suédoise (voir figure 26) :

- ont débuté leur prophylaxie plus précocement avec un âge médian de 2 ans contre 5 ans pour les néerlandais.
- consomment plus de facteur par kilogramme de poids corporel que les patients utilisant une prophylaxie à dose intermédiaire : 2,7 fois plus de FAH consommés pour ceux nés dans les années 80.
- ont subi moins d'hémarthroses au cours des trois années d'études avec une valeur médiane à 0,2 hémarthroses par an contre 3,7 pour les néerlandais.
- démontrent des scores radiologiques (Pettersson) ajustés à l'âge et cliniques non significativement différents des patients néerlandais.
- estiment leur qualité de vie liée à la santé à un niveau non significativement différent de celui estimé par les néerlandais pour leur propre qualité de vie.

Mais ces constats sont limités par le fait que la durée d'observations a été très courte : 3 ans. Les auteurs estiment que ce suivi est peut-être trop court dans le temps et les patients nés dans les années 80, trop jeunes pour que des différences dans ces deux régimes de prophylaxie apparaissent quant à l'incidence d'arthropathie. De plus, les patients suédois étant significativement plus jeunes que les néerlandais : âge médian de 9,0 ans contre 13,5 ans et le score de Pettersson étant un score cumulatif, la comparaison des scores radiologiques a été ajustée à l'âge. Néanmoins, du fait des résultats en apparence non concordants entre le nombre d'hémarthroses et le score radiologique, il semble que le score de Pettersson ne soit pas assez sensible pour détecter les hémarthroses précoces (147) comme plusieurs études le soulignent (151,156,165,298). Par ailleurs, le questionnaire SF-36 sur la qualité de vie est un questionnaire générique qui n'a pas été conçu pour les hémophiles et la proportion de patients y ayant répondu est estimée très faible. La validité du constat sur la qualité de vie en est donc d'autant moins certaine (147).

	SUÈDE « pleines doses »	PAYS –BAS « doses intermédiaires »	CANADA « tailored »	Pharmacocinétique (PK)
Début	Entre 1 et 2 ans quel que soit le phénotype hémorragique	Après 1 hémarthrose ou si >2 saignements/mois traités	Avant 3 ans	Avant la constitution du phénotype hémorragique
Rythme	2 à 3 fois/semaine avec début progressif de 1 à 2 fois par semaine	2 fois/semaine avec début progressif de 1 à 2 fois par semaine	50 IU.kg ⁻¹ , 1 fois/semaine initialement.	3 à 7 fois/semaine
Dose	environ 25-40 IU.kg ⁻¹ basée sur la clinique ET sur la PK du FIX pour maintenir FIX ≈ 1%	environ 30-50 IU.kg ⁻¹ basée sur les objectifs cliniques : aucun saignement	diminution de la dose et augmentation de la fréquence des injections par palier	Suffisante pour maintenir FIX ≥ 1% entre deux injections
Facilité d'adhérence	+/-	+/-	+	-
Efficacité clinique	++	+	+	+++
Coûts	--	-/+	+	+++

Figure 26. Modalités actuelles et comparaisons de différentes stratégies de traitement prophylactique nationales (90,147,149,172,173)

+ : avantage et - : désavantage

- Taux résiduel hémostatique dans la prophylaxie de long terme

Il existe très peu d'études concernant le niveau d'activité biologique plasmatique résiduelle de FAH visé dans le cadre d'une PLT, et encore moins pour le FIX (173). Le fait que tant de stratégies progressives et de dosages prophylactiques existent est aussi le reflet d'une méconnaissance réelle du taux résiduel qui permettrait de lutter efficacement contre les hémorragies du patient : le taux résiduel hémostatique. Ce taux résiduel hémostatique varie d'un patient à l'autre : certains patients vont connaître plusieurs épisodes hémorragiques sans pour autant jamais descendre en dessous de 1% tandis que d'autres ne saigneront pas du fait de l'hémophilie malgré plusieurs heures par semaine passées en dessous du seuil de 1% (117,171-173). Cette variabilité des taux résiduels hémostatiques empêche de prédire l'activité biologique plasmatique cible qui à la fois protège le patient des hémorragies et évite de consommer plus de facteur que nécessaire. Par conséquent, on peut considérer la cible d'au moins 1% d'activité coagulante plasmatique comme une règle du pouce pour un patient en absence de détériorations articulaires avancées (173) mais la réponse doit là encore être individualisée : un taux résiduel hémostatique pour un patient (172).

Dans une étude randomisée croisée réalisée chez 10 patients hémophiles suédois publiée récemment (300), les patients ont été exposés à leur prophylaxie habituelle pendant un an et à une prophylaxie journalière dosée pour atteindre au moins le taux résiduel obtenu par leur régime standard pendant un an. Lors de l'injection journalière, les coûts liés à la consommation de FAH ont diminué de 30% en moyenne mais l'incidence des hémorragies spontanées s'est révélée être significativement supérieure (300). Les auteurs supposent donc que le taux résiduel hémostatique est une caractéristique d'un patient donné dans un régime prophylactique donné. En effet, ce taux peut être différent chez un patient quand une autre stratégie de prophylaxie est utilisée (172). Ceci révèle, outre notre méconnaissance des liens entre le déficit en facteur et le phénotype hémorragique, notre méconnaissance de l'explication précise du lien entre prophylaxie et prévention des hémorragies (117). Du fait des résultats obtenus dans la précédente étude, il semble que, en plus du taux résiduel en FAH, les pics plasmatiques consécutifs aux injections contribuent également à la détermination du phénotype hémorragique du patient lors d'une prophylaxie (89,172). Mais cette conclusion ne fait pas consensus. La prophylaxie a été conçue pour atteindre la situation des hémophiles modérés et réduire le risque d'arthropathie chronique. Or les hémophiles modérés ont moins d'hémorragies spontanées avec une activité de 1% à 5% sans pic plasmatique. Ceci remet donc en cause la contribution éventuelle des pics (173).

Il est possible qu'individuellement le taux résiduel hémostatique soit différent de 1% mais pour autant individualiser la prophylaxie en la matière conduit bien souvent à trouver un équilibre entre ce qui est souhaitable et ce qui est possible (95). En effet, des problématiques nouvelles apparaissent aussi bien en deçà qu'au-delà de 1%. Lorsque le taux résiduel hémostatique est en fait bien plus élevé : de l'ordre de 10 à 15 UI.dL⁻¹, la contrainte financière déjà associée au régime prophylactique s'en trouve d'autant plus amplifiée et la stratégie prophylactique devient irréalisable (40,95). Dans l'autre sens, lorsque le taux résiduel hémostatique est inférieur à 1%, on se trouve confronté à une limite technique puisque le dosage du facteur, tel qu'il est pratiqué actuellement, ne permet pas d'établir avec précision une activité biologique plasmatique entre 0% et 1% (117). Quoiqu'il en soit, la plupart des auteurs concluent que le taux résiduel ciblé n'est pas une fin en soi et que la réponse clinique du patient est le seul critère qui permet d'établir si le dosage thérapeutique utilisé est bon (171,173).

Cependant toute démarche prédictive du phénotype hémorragique ne doit pas être abandonnée et

d'autres facteurs que le taux résiduel, actuellement étudiés, pourraient influencer sur la survenue d'épisodes hémorragiques : des facteurs liés à l'hémostase du patient ou plus simplement aux risques hémorragiques dans sa vie quotidienne. Certains tests dont l'objectif serait de mieux représenter le profil hémostatique du patient ont été étudiés et sont envisagés par l'ISTH en vue d'éventuelles recommandations (190). La mesure du temps de génération de thrombine (FIIa) sur du plasma riche en plaquettes et l'utilisation de la thromboélastométrie rotative sur sang total pourraient fournir des informations additionnelles et complémentaires sur la capacité hémostatique globale du patient en ne reflétant pas uniquement l'activité du FIX et en se rapprochant plus des conditions *in vivo* (190-193). Enfin, afin de prévenir au mieux le risque hémorragique, des paramètres tels que l'activité physique du patient doivent être discutés avec le patient et sa famille dans une prise en charge globale (117).

III.2.2. Recommandations et états des lieux

- **Recommandations**

- Internationales

Les recommandations internationales, établies dans les années 90 sur la base des différentes études publiées, ont placé la prophylaxie de longue durée comme traitement de référence pour les enfants hémophiles sévères A et B. L'OMS a présenté cette recommandation de traitement dès 1994. Dans son rapport « delivery of treatment for haemophilia » de 2002, elle estime que la comparaison sur la base des effets à long terme démontre que la prophylaxie peut décaler voire prévenir l'arthropathie hémophilique (99). Pour autant, elle rappelle que la consommation de FAH fait de la prophylaxie une stratégie de traitement bien plus coûteuse que ne l'est le traitement à la demande. Cependant, en tenant compte du fait que la consommation de FAH augmente avec l'âge chez les patients traités à la demande, l'OMS souligne qu'une prophylaxie de dose intermédiaire pourrait être la plus économique sur 20 ans (99). La WFH et l'OMS recommandent, comme la plupart des études, une individualisation de la prophylaxie, basée notamment sur l'âge, l'accès veineux, le profil hémorragique, l'activité spécifique et l'accès aux concentrés de FAH (99,102). Sur les questions du début et de l'arrêt du traitement prophylactique, selon quelles modalités, l'OMS présente ces questions comme sans réponse à l'heure actuelle. La WFH fait état de nombreux protocoles différents dans le monde, y compris au sein d'un même pays, avant de rappeler que le régime optimal de prophylaxie est encore à définir. L'association recommande la prophylaxie comme objectif en soi : l'objectif des thérapies visant à préserver une fonction musculo-squelettique normale (102).

Au niveau européen, l'association européenne pour l'hémophilie et les troubles associés : l'EAHAD, composée de professionnels de santé se consacrant à l'hémophilie et à d'autres troubles de la coagulation, propose également les principes d'une prise en charge globale de l'hémophilie en Europe (167). Un des principes fondamentaux (le principe n°7) est l'accès des patients hémophiles à la prophylaxie de longue durée qui permet de prévenir et d'améliorer l'arthropathie chronique, tout en préservant une bonne santé et une bonne qualité de vie (167). L'association ne propose pas plus en détail de recommandation sur les modalités de traitement mais réalise une revue de littérature. Elle évoque les efforts à faire pour harmoniser les définitions de la prophylaxie en Europe et dans le monde puis appelle à maintenir sinon augmenter l'approvisionnement en FAH dans les pays européens afin de promouvoir l'usage de la prophylaxie ou de la rendre possible (167).

- États-Unis

Sur la base de l'expérience suédoise, le MASAC de la NHF américaine a recommandé la PP intensive suédoise dès 1997 en la définissant comme la modalité thérapeutique optimale pour les patients hémophiles sévères A et B (145). Leur plus récente recommandation concernant l'hémophilie B date de 2007 (140). Afin de maintenir le taux basal de FIX au-delà de 1%, le MASAC recommande une PP avec un dosage de 40 à 100 IU.kg⁻¹ de FIX, deux à trois fois par semaine avec un suivi régulier. Le conseil recommande dans tous les cas un choix de modalité thérapeutique concerté entre le patient, sa famille et l'équipe soignante.

- France

La COMETH a diffusé en France des recommandations en 2002 en faveur d'une « PP de longue durée débutée précocement et progressivement intensifiée pour les enfants hémophiles A et B sévères » (166). Ces recommandations, complétées en 2006, s'inspirent de schémas innovants de prophylaxie précoce et espacée prenant en compte le profil hémorragique, comme la PLT en escalade de dose expérimentée au Canada (154) (voir figure 26). Elles ne font pas référence aux mêmes définitions de la PP et de la SP.

La PP recommandée a pour objectifs la prévention maximale des hémarthroses spontanées, la prévention de l'arthropathie hémophilique et l'amélioration de la qualité de vie. Elle est débutée chez l'hémophile sévère de moins de 3 ans après deux hémarthroses sur une période de 6 mois ou, au plus tard, après la troisième hémarthrose. Elle est mise en place à raison d'une seule injection hebdomadaire et peut être intensifiée si besoin en trois paliers jusqu'à une injection toutes les 72h (166). Les paliers sont définis ainsi :

- 1^{er} palier : 70 UI.kg⁻¹, 1 fois par semaine
- 2^{ème} palier : 50 UI.kg⁻¹, 2 fois par semaine OU toutes les 96h (4j) selon la compliance
- 3^{ème} palier : 50 UI.kg⁻¹, toutes les 72h (3j) : palier de « plein régime »

Sur des bases d'absence de récurrence d'hémarthrose et de scores orthopédique et radiologique stables pendant un an, une « désescalade » de la prophylaxie sera possible jusqu'au palier 2 (166).

La SP, définie par rapport à la définition de la PP, est débutée après 3 ans ou après de plus nombreuses hémarthroses que celles définies comme critères d'initiation de la PP (166).

- États des lieux

- Monde

Une enquête de 2012 rapportant le traitement de 5647 patients hémophiles B dans le monde, réalisée auprès de 163 CTH d'Europe (n=77), d'Amérique du nord (n=63), d'Amérique latine (n=17), d'Asie (n=5) et du Moyen-Orient (n=1) révèle que 84% des patients sont traités à la demande tandis que seuls 16% sont traités par PLT, majoritairement au rythme de deux injections par semaine (136). L'enquête révèle également de grandes disparités selon les zones géographiques et selon les pays (cf Chap.II.IV.1, p.111). Les centres européens sont ceux qui ont le plus recours à la PLT: pour 22% des patients, alors que ce chiffre est dans la moyenne de 16% pour les patients nord-américains et qu'en Amérique latine

les CTH utilisent presque exclusivement le traitement à la demande (136). La faible utilisation moyenne de la PLT dans le monde a plusieurs explications :

- La majorité des hémophiles B (65%) sont modérés ou mineurs (136), et le traitement de choix en absence de phénotype hémorragique sévère est le traitement à la demande.
- Le choix du traitement à la demande peut être un choix par défaut pour cause d'accès restreint aux thérapies et de limitations financières.
- Les réticences évoquées précédemment peuvent motiver les soignants à s'orienter plutôt vers le traitement à la demande et expliquent que certains pays à haut niveau de ressource d'Amérique et d'Europe aient tardé à adopter la PLT comme traitement de référence de l'hémophilie sévère (154).

○ *Amérique du Nord*

Les données établies à partir des CTH américains montrent que la pratique prophylactique a significativement progressé. De 37% en 2002 et 48% en 2006, elle est passée à 53% des hémophiles sévères en 2010 (169). Une enquête relative aux modalités des pratiques aux USA en 2010 (143), notamment chez les hémophiles B sévères, établit plusieurs constats (voir figure 27) :

- La PLT s'est établi comme le schéma principal (> 50%) en pédiatrie : entre 0 et 18 ans.
- Le traitement à la demande est le mode de traitement principal des adultes au-delà de 25 ans et la proportion des patients hémophiles B sévères traités à la demande augmente avec l'âge à partir de 2 ans.
- Le passage d'une PLT au traitement à la demande est le plus élevé chez les patients de 13 à 24 ans. Dans cette tranche d'âge, l'adhérence au traitement est plus faible et l'incidence des épisodes hémorragiques est plus grande comparativement aux autres âges.

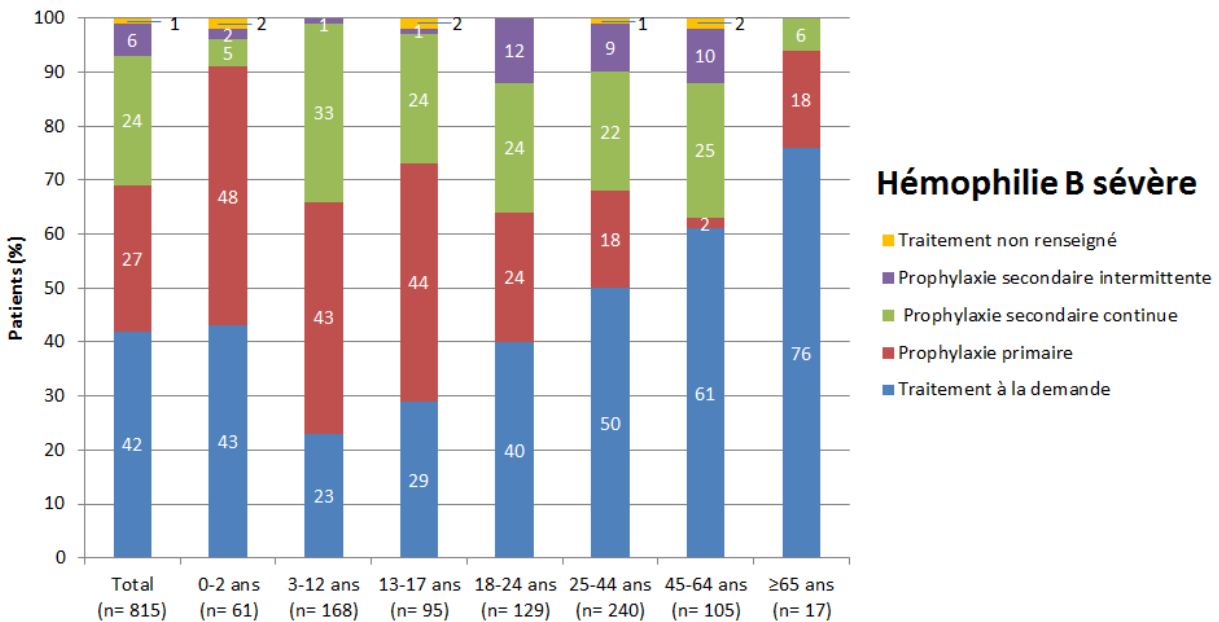


Figure 27. Traitement à la demande et traitement prophylactique des hémophiles B sévères aux États-Unis en fonction de leur tranche d'âge (143). n : nombre de patients étudiés.

Au Canada, la pratique de la PLT chez les hémophiles sévères est bien moins répandue. Une enquête de 2008 fait état de 32% des patients hémophiles B sévères traités par PLT. Dans la tranche d'âge de 0 à 2 ans, ils représentent même moins de 20% (134). Les hémophiles A sévères canadiens sont eux 69% à être traités par PLT. Le taux beaucoup plus faible d'utilisation dans l'hémophilie B est attribué à des différences dans le phénotype hémorragique, au manque d'études prospectives et aux traditions de traitement préalables.

○ Europe

La prophylaxie a été mise en œuvre de façons très diverses à l'échelle européenne dans les pays industrialisés (154). Une enquête du réseau pédiatrique européen Pednet sur l'évolution de la prise en charge des hémophiles sévères en 1998 puis en 2003 auprès de 22 CTH de 16 pays ouest-européens révèle une convergence des pratiques vers l'utilisation de la PLT : primaire et secondaire (168). Cette évolution est attribuée aux résultats cliniques de la PLT ainsi qu'à la restauration de la confiance du fait de la sécurisation des thérapies et de leur dispensation dans les années 90 (168). L'étude indique également que l'approche de la prophylaxie adaptée au phénotype hémorragique peut néanmoins donner lieu à des arthropathies et que les membres de PedNet ne modifient pas les traitements prophylactiques du fait du possible risque qu'un âge précoce soit un facteur prédictif pour le développement d'anticorps inhibiteur de la coagulation (168). Autrement dit, PedNet semble être en faveur d'une PLT démarrée à un âge précoce. Nos voisins européens (Allemagne, Grande-Bretagne, Italie) pratiquent un démarrage précoce : avant la deuxième hémarthrose en Italie et en Allemagne ou juste après celle-ci en Grande-Bretagne, avec une intensification vers le plein régime ensuite. Malgré la convergence observée vers les PLT, de grandes disparités persistent en Europe dans l'accès aux thérapies et par conséquent, dans la mise en place des schémas prophylactiques (297). Une étude de l'« European Study of Clinical, Health economic and Quality of Life outcomes » (ESCHQoL), financée par la commission européenne en 2005, a groupé les patients de 21 pays européens selon la quantité de FAH consommé moyenne par habitant dans leur pays. Elle démontre que, dans les pays européens à plus faible accès aux FAH (moins de 2 UI par habitant), les enfants hémophiles sont majoritairement traités à la demande (69%), souffrent de plus nombreuses hémarthroses et ont un score articulaire supérieur aux patients des autres pays européens étudiés (297).

○ France

En France, la diffusion des recommandations de la COMETH en faveur de la PLT semble avoir contribué à une mutation rapide et significative des pratiques (154). Dans l'enquête du réseau PedNet de 1998, moins de 30% des patients hémophiles sévères français suivaient une PLT et aucun d'entre eux n'avait initié une PP, à l'opposé des CTH du nord de l'Europe qui déclaraient la mise en place de la PP parfois chez 100% des patients (168). Les résultats de la même enquête en 2003 semblent indiquer que la France a rattrapé son retard et que la PLT est devenue le schéma thérapeutique majoritaire dans les CTH français. Ce constat est néanmoins limité car les CTH français suivis sont peu nombreux dans cette enquête européenne : deux en 1998 et trois en 2003 (168). En 2006, l'élan pour la PLD intensifiée, ajustée au profil hémorragique de l'enfant en France, a encouragé l'extension des recommandations de la COMETH à toute la population pédiatrique (154). Les données du RFC à la fin 2010 font état de 45% des patients hémophile B sévères recevant un traitement prophylactique (58). Ce chiffre est de 59% pour l'hémophilie A. Évoluant dans le même sens que la prophylaxie

suédoise (146) et conformément aux recommandations de la COMETH (166), l'âge médian de début de prophylaxie pour les hémophiles sévères français est passé progressivement de 4 ans pour ceux nés entre 1996 et 1999, à 2,9 ans pour ceux nés entre 2000 et 2002, puis à 1,8 an pour ceux nés entre 2004 et 2007 (58,154).

III.2.3. Conclusion

Alors que le traitement à la demande a longtemps prévalu, il apparaît qu'à l'échelle mondiale la prophylaxie de long terme est désormais reconnue comme le « gold standard » du traitement des hémophiles sévères enfants, adolescents et jeunes adultes (144). Le traitement à la demande ne disparaît pas pour autant : PLT et traitement à la demande n'ont pas les mêmes objectifs et sont complémentaires dans la prise en charge efficace d'un hémophile sévère. Le traitement d'urgence des manifestations hémorragiques éventuelles a pour objectif de limiter l'impact du saignement et la PLT, initiée à la fin des années 50, a permis d'établir un nouvel objectif dans la prise en charge de l'hémophilie : celui de prévenir l'arthropathie hémophilique. S'il n'existe pas de consensus actuellement sur les modalités que doit prendre cette PLT, elle s'est néanmoins imposée par son efficacité sur le pronostic articulaire et par l'amélioration de qualité de vie qui en résulte pour les patients hémophiles sévères (99,102). La question des conditions dans lesquelles la prophylaxie doit être engagée est une question essentielle, très liée à la grande variabilité interindividuelle des manifestations hémorragiques observable dans les études publiées (149,151,156). Face à cette incertitude, aucun consensus n'a pu être établi à ce jour mais deux tendances se dégagent des études et ne sont pas forcément conciliables. La première est celle qui vient de l'affirmation de l'âge comme facteur prédictif du développement de l'arthropathie et qui établit donc une limite d'âge entre la PP et la SP (145). La seconde est celle qui se base sur le phénotype hémorragique individuel et qui établit une limite en termes de nombre d'hémarthroses entre la PP et la SP (100). Certaines recommandations et certaines pratiques de prophylaxie tentent de concilier les deux tendances dans l'instauration de la PLT (154,166) mais, par essence, la limite d'âge restreint toujours l'adaptation aux phénotypes hémorragiques d'un certain nombre de patients (151). Il est possible qu'à l'avenir les notions de PP et de SP de long terme, sujettes à de trop nombreuses définitions différentes, soient délaissées au profit des notions de prophylaxie de long terme initiée selon le phénotype hémorragique et de prophylaxie de long terme initiée sur des critères prédéterminés indépendant du patient.

Si la plupart des pays développés convergent aujourd'hui vers des PLT, le constat est très différent dans le reste du monde où le diagnostic et l'accès à des thérapies abordables et sûres sont des problématiques bien plus urgentes (40). Aussi les recommandations internationales incitent souvent les pays à établir des objectifs nationaux en fonction de leurs possibilités d'action et présentent la prophylaxie comme un objectif en soi plutôt que comme un moyen (40,99,102). Dans cette optique, toutes les études présentant les résultats de prophylaxies à des doses intermédiaires ou basses, souvent secondaires du fait des détériorations articulaires déjà engagées (164) sont d'un grand intérêt pour les patients hémophiles à l'échelle mondiale (95) et rappellent que la réponse à la problématique de la « meilleure » PLT, quelle qu'elle soit, demeure accessible à un petit nombre de pays.

Pour autant, la recherche du traitement optimal et l'étude de son mécanisme d'action ne doivent pas être abandonnées. Elles sont fondamentales pour permettre l'évolution de la prise en charge globale

des patients partout dans le monde à plus ou moins long terme (40). La recherche, la mise en place et la standardisation de techniques reflétant au mieux le risque hémorragique individuel par une meilleure évaluation du taux résiduel hémostatique ou par une évaluation de l'hémostase dans son ensemble devraient permettre d'établir le dosage prophylactique le moins coûteux et le plus efficace cliniquement chez le patient (190). Il s'agit là d'une priorité partagée par tous, y compris les pays en développement (95).

Aujourd'hui de nombreux modèles de PLT existent. Tous sont justifiés dans la mesure où ils répondent à des situations et des priorités différentes. Il est loin le temps où la prophylaxie avait un seul objectif : celui de prévenir l'arthropathie et, autant que possible, les manifestations hémorragiques. La prophylaxie du XXI^{ème} siècle est toujours la solution d'une équation complexe avec autant d'inconnues que d'objectifs : lutte contre les saignements, prévention de l'arthropathie, amélioration de la qualité de vie et de l'insertion sociale, optimisation des coûts, absence de réaction immunologique. Et une autre inconnue, mais non la moindre, est le patient : son profil hémorragique, ses paramètres pharmacocinétiques, son taux résiduel hémostatique, son âge, son poids, son entourage familial, ses activités sportives, sa perception du traitement et de la maladie, son adhérence. Ces objectifs nombreux et évolutifs incitent à une prise en charge globale individualisée et multidisciplinaire du patient et de son entourage lorsqu'elle est possible (40). Admettre cette nécessité d'individualisation, c'est admettre que le patient est unique et change de façon singulière au cours du temps : sa maladie le change et sa vie le change. L'ajustement de son régime prophylactique au cours de sa vie est donc une nécessité (95).

III.3. Injections discontinues et Perfusion continue en chirurgie

L'évolution des thérapies de l'hémophilie B a rendu possible pour les patients tous les actes chirurgicaux qui, par le passé, leur ont été proscrits (20). La prévention des épisodes hémorragiques éventuels durant une chirurgie est donc assurée par l'injection de FAH comme évoqué précédemment (cf Chap.II.11.2, p.76). Cette substitution a depuis longtemps pris la forme d'injections discontinues, répétées toutes les 8 à 12h aussi appelées injections par *bolus* ou « *bolus* injection » : BI (176). Néanmoins ce traitement par BI présente un certain nombre d'inconvénients autant pour le patient que pour les équipes soignantes. En effet, les injections discontinues (176) :

- entraînent d'importantes variations d'activité coagulante plasmatique du FIX.
- nécessitent des soins infirmiers répétés.
- présentent un fort risque d'infections nosocomiales et d'erreurs de dosage.

En réaction à cela, dès les années 50, il a été suggéré d'administrer de façon continue du FAH à un taux compensant son élimination de manière à maintenir un niveau d'activité biologique plasmatique constant chez le patient (178). Concrètement, avant la chirurgie, le patient se verrait administré un *prébolus* qui lui permettrait d'atteindre l'activité biologique souhaitée, puis ensuite la perfusion continue serait mise en place. Le premier traitement utilisant cette perfusion continue ou « continuous infusion » : CI, a été décrit dans les années 70 dans un contexte chirurgical (181). Les intérêts potentiels d'une telle administration en continu sont nombreux. Tout d'abord en maintenant un niveau

hémostatique constant, on éviterait la chute d'activité coagulante que l'on retrouve entre deux injections discontinues. Ainsi on ne passerait jamais en-dessous du niveau d'activité souhaité et on minimiserait le risque hémorragique durant l'intervention. On éviterait également les pics d'activité non nécessaires qui suivent généralement les injections discontinues, diminuant ainsi la consommation de facteur. Malgré cela, pendant longtemps la CI n'a pas été utilisée pour plusieurs raisons (178) :

- Manque d'étude sur la stabilité des concentrés, parfois dilués, destinés à être perfusés pendant plusieurs heures à température ambiante.
- Développement fréquent de thromboses veineuses au niveau du site d'injection.
- Risque de croissance bactérienne dans la solution de FAH injectée.
- Manque d'expérience et de recommandations dans la pratique de la CI.

III.3.1. Études

Depuis, des études *in vitro* ont été menées attestant de la stabilité des FAH utilisés à température ambiante pendant plusieurs heures voire plusieurs jours dont certaines rares concernaient les FIX (180,184). La sécurité microbiologique des solutions des FAH a également été renforcée dans le cadre d'une préparation de FAH pour CI dans des conditions stériles sous hotte à flux laminaire (179-180) et les risques de thrombose veineuse au site d'injection ont été fortement diminués par l'ajout de faibles quantités d'héparine (2 à 5 U.mL⁻¹) aux concentrés administrés (178-179). Aujourd'hui des expériences de CI publiées étudient l'efficacité de cette modalité d'administration du FAH et ses inconvénients éventuels mais leur nombre reste relativement restreint. L'argumentaire clinique en faveur de la CI est illustré dans des références bibliographiques internationales (15,176-179,182) bien qu'aucune d'entre elles ne soit d'une qualité scientifique suffisante pour apporter une preuve scientifique forte (179).

À la fin des années 90 et au début des années 2000, deux études : l'une française avec un pdFIX et l'autre britannique avec un rFIX, réalisées chacune dans le cadre de plusieurs opérations chirurgicales sur des hémophiles B mineurs ou modérés, valident l'efficacité de la CI. Cette modalité d'administration y est décrite comme sûre, efficace et facile à utiliser (176-177). Elle est efficace sur le plan clinique puisqu'aucun saignement anormal n'a été observé, ni pendant, ni après la chirurgie. D'autre part, les patients n'ont pour la plupart pas présenté de complications thrombotiques de type périphlébite au niveau du site d'injection ou thromboembolisme en post-opératoire. Deux patients de l'étude anglaise ont développé une thrombose veineuse au site d'injection en raison de l'absence d'héparine dans le FAH administré chez ces deux patients (177). Comme prévu, la CI a également une consommation de facteur moindre. En effet, une étude rétrospective de 2011 sur dix années d'expérience d'un CTH londonien dans l'utilisation du FIX en chirurgie du genou conclut à une consommation de facteur significativement réduite par CI, plutôt que par BI : de 30% environ (182). Une étude internationale prospective de 1999 dresse le même constat (183). Cette modalité d'administration présente donc dans l'ensemble un meilleur rapport « efficacité-coût » que la BI. Par meilleur rapport « efficacité-coût », on entend une meilleure efficacité en regard des coûts occasionnés, principalement du fait de la consommation de FAH (178). Cette économie de consommation semble être liée au fait d'éviter les pics plasmatiques non nécessaires mais aussi à un phénomène de ralentissement de la clairance du patient au bout de quelques jours de perfusion continue en post-opératoire (122,177-179,183) (voir figure 28). Le mécanisme précis expliquant ce phénomène est encore inconnu mais les explications envisagées principalement sont : la saturation des sites récepteurs du facteur, de l'espace extravasculaire et des mécanismes d'élimination (177).

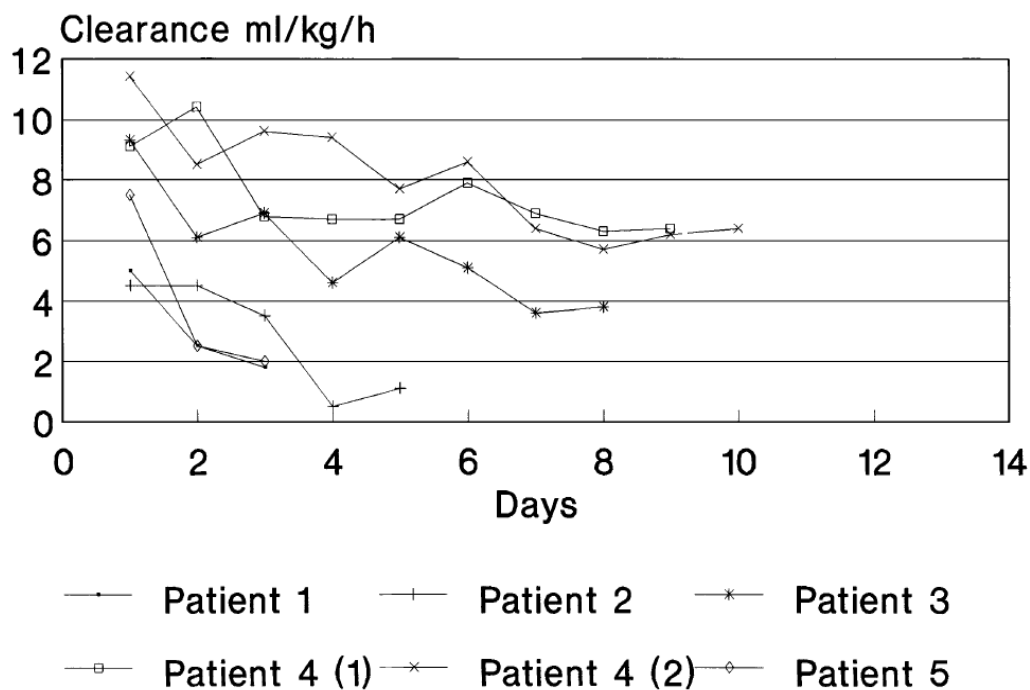


Figure 28. Clairance du FIX chez cinq patients hémophiles B modérés ou mineurs sous perfusion continue en FAH (177). La clairance a été calculée quotidiennement pour chaque patient. Le patient 4 a été traité à deux reprises par CI pour des hématomes enkystés sévères et récurrents au niveau de son muscle quadriceps.

Ce ralentissement de clairance conduit logiquement à ajuster le régime de perfusion continue notamment par sa vitesse d'injection à l'aide de la formule suivante

$$\text{Vitesse d'injection (UI.kg}^{-1}\text{.h}^{-1}) = \text{Clairance (mL.kg}^{-1}\text{.h}^{-1}) \times \text{Augmentation souhaitée en FIX (IU.mL}^{-1})$$

L'ajustement de la vitesse d'injection au ralentissement de la clairance contribue à la diminution de consommation de FAH (178).

La forte variabilité de la clairance initiale entre les patients est un argument fort en faveur de la réalisation d'études PK préopératoires qui permettent d'administrer au patient la dose qui est la plus adaptée. Plusieurs expériences montrent que les études PK préopératoires sur un modèle monocompartimental et une durée d'observation de 48h, plus courte que les études généralement recommandées sur 72h, suffisent à établir des paramètres prédictifs acceptables (89,122). Certains affirment même que cette étude PK préalable ne serait pas nécessaire (178). Il est vrai que, dans les situations d'opérations d'urgence, des perfusions continues peuvent être réalisées sans étude PK préalable et avec succès en fixant des paramètres de perfusion sur la base du risque hémorragique associé à la chirurgie, sur les paramètres observés lors de l'injection du *bolus* préopératoire et sur l'expérience des vitesses de perfusion standard dans ces situations (122,176). Par ailleurs la formule de la vitesse d'injection, lorsqu'elle est utilisée dans le contexte du démarrage d'une perfusion continue, est une formule théorique. En effet, elle utilise la clairance du patient au repos donc une clairance qui ne tient pas compte du contexte chirurgical avec des pertes de sang notamment. Aussi certains soignants préfèrent utiliser des abaques établis sur la base de leur expérience pour initier la perfusion

continue (15). Pour autant la mise en place de la CI sans étude PK préalable oblige à un suivi encore plus rapproché du patient et présente potentiellement plus de risque hémorragique, particulièrement dans les chirurgies majeures (122). De ce fait, l'étude PK demeure un prérequis lorsqu'elle est réalisable, au même titre que la recherche d'anticorps neutralisant le FIX ou que les études de stabilité sur les produits utilisés.

Au sujet de la CI, les auteurs évoquent d'autres avantages plus pratiques pour les équipes soignantes et pour le patient. Les contrôles d'activité coagulante peuvent être réalisés à tout moment puisque le taux doit être constant, contrairement aux injections discontinues. Le nombre de gestes pratiqués pour préparer et administrer le FAH est réduit par la perfusion continue. Cela a pour conséquence pour le patient, une réduction du risque d'infection nosocomiale et pour l'équipe soignante, une amélioration de l'organisation d'ensemble avec une économie de temps significative puisque le temps estimé pour préparer et réaliser les injections discontinues est estimé 1,5 fois à 2 fois plus long (176).

Néanmoins la perfusion continue présente encore certains inconvénients et risques potentiels. La stabilité de la plupart des concentrés de haute pureté aussi bien plasmatiques que recombinant pendant au moins 24h à température ambiante a été démontrée (176-179). Pour autant, une perte d'activité biologique des FAH est possible en raison de l'adsorption aux matériaux des contenants : cassettes et seringues (pour le *prébolus*) ou des tubes utilisés. La perte d'activité peut également être le fait d'une dilution de la solution de FAH à administrer par un liquide stabilisateur lorsqu'elle a lieu (179). Cet aspect a été très peu étudié pour le FIX. Par ailleurs, le risque de défaillance de la pompe et le risque infectieux sont des risques qui ne peuvent être écartés totalement (177). Enfin, la possibilité d'une stimulation du système immunitaire et de la production d'anticorps neutralisant le facteur de coagulation exogène est un risque à envisager (122,177-179).

Atouts de la perfusion continue

- **Maintien de l'activité biologique plasmatique du FIX constante**
 - Diminution du risque hémorragique
 - Diminution de la consommation de facteur
→ **Meilleur rapport "efficacité-coût"**
 - Prélèvements possibles à tout moment
- **Diminution du nombre d'actes de préparation et d'injections**
 - Réduction du risque nosocomial
 - Gain de temps pour l'équipe soignante

Risques potentiels de la perfusion continue

- Défaillance de la pompe
- Perte d'activité par adsorption ou dilution du FAH
- Apparition d'anticorps anti-FIX
- Risque infectieux

Figure 29. Présentation schématique des atouts et des risques associés à l'utilisation de la perfusion continue dans le cadre d'une chirurgie (122,177-179,295).

III.3.2. Recommandations et états des lieux

- Recommandations

L'OMS recommande le recours à la CI comme la méthode la plus efficace en regard des coûts occasionnés dans le traitement péri-opératoire des patients hémophiles. Elle recommande néanmoins la réalisation d'une enquête dans le but de comparer BI et CI dans des chirurgies majeures, particulièrement au niveau de la formation d'anticorps inhibiteurs. L'organisation insiste aussi sur la nécessité de mettre en place une étude randomisée entre BI et CI sur la mise en place de prothèses totales de hanche ou de genou afin d'établir des taux résiduels hémostatiques dans ces situations (99). La WFH reconnaît que la CI permet d'éviter des niveaux d'activité coagulante trop élevés ou trop faibles et que certains la considèrent comme avantageuse et plus facile d'utilisation que la BI mais ne la recommande pas clairement. L'association indique également que les patients doivent faire l'objet d'un suivi très régulier afin de pallier une éventuelle défaillance de la pompe (102). Les AMM établies pour les concentrés de FIX commercialisés en France établissent les modes d'administration envisageables pour ces spécialités (70-73). Seul le Mononine[®] est indiqué pour une administration par perfusion continue, avec la recommandation de le perfuser à une vitesse de 4 UI.kg⁻¹.h⁻¹ si un niveau stable de 80% est souhaité en absence de données sur la clairance du patient. Le laboratoire indique que chez l'enfant et l'adolescent, la perfusion peut être envisagée si les données PK sont disponibles et si les taux sont surveillés en péri-opératoire. Néanmoins ni l'efficacité, ni la tolérance du Mononine[®] n'ont été étudiées par le laboratoire pour la perfusion continue chez les enfants, conformément aux recommandations européennes en matière d'essais cliniques sur les concentrés de FIX (72,111). En effet, l'efficacité clinique d'un concentré de FIX dans le cadre d'une perfusion continue si elle est demandée par le laboratoire, doit être démontrée par des tests chez au moins 10 PTPs hémophiles sévères ou modérés ($\leq 2\%$) d'un âge supérieur ou égal à 12 ans. Par ailleurs, les données pharmaceutiques sur la reconstitution et la stabilité des produits doivent également être présentées dans le dossier soumis à l'EMA (111). L'existence de publications et d'études concluant à la stabilité et l'innocuité des concentrés de FAH *in vitro* a néanmoins permis aux pharmaciens hospitaliers de préparer dans le respect des bonnes pratiques les doses de FAH à administrer en CI comme des préparations magistrales (181).

Concernant l'Octafix[®] et le Benefix[®], les deux laboratoires indiquent clairement qu'il n'y a pas de données cliniques suffisantes pour recommander l'utilisation de ce médicament en perfusion continue lors d'interventions chirurgicales (71,73). Il n'est pas fait mention de la perfusion continue dans les RCP du Betafact[®].

- États des lieux

Une enquête de 2012 rapportant le traitement de 5647 patients hémophiles B dans le monde, réalisée auprès de 163 CTH d'Europe (n=77), d'Amérique du nord (n=63), d'Amérique latine (n=17), d'Asie (n=5) et du Moyen-Orient (n=1) révèle que 97,7% des 163 CTH traitent les chirurgies mineures par des injections discontinues : BI uniquement. Concernant les chirurgies majeures, 72,7% des centres pratiquent par BI uniquement également, donc 27,3% couvrent parfois ou toujours les chirurgies majeures par perfusion continue (136). On constate donc que cette pratique est encore largement

minoritaire à l'échelle mondiale malgré les recommandations internationales.

Au CRTH de Lyon, l'utilisation de l'injection par perfusion continue de FAH se fait depuis 1992 et au moyen d'une pompe à perfusion portable depuis 1998 (20). Le centre a d'abord réalisé ses propres études de stabilité biologique et de stérilité de la préparation après reconstitution et dans l'unique pompe à perfusion choisie préalablement par l'équipe soignante : CADD PRIZM VIP™(181). La perfusion continue est pratiquée au CRTH de Lyon pour toutes les chirurgies de patients hémophiles et lorsque le délai de substitution prévu est supérieur à 3 mois. Entre 1998 et 2004, ce sont 70 patients hémophiles tous degrés de sévérité confondus dont 23 patients hémophiles B qui ont été traités par perfusion continue de FAH dans le cadre d'une chirurgie (181). Certains d'entre eux ont plusieurs fois eu recours à la perfusion continue et, au total sur les six années, c'est en fait 92 perfusions totales qui ont été réalisées, nécessitant plus de 1000 préparations sur la période étudiée. L'implication pharmaceutique dans la perfusion continue, de la mise en place des conditions stériles de fabrication à la traçabilité des FAH utilisés en passant par l'analyse de l'ordonnance et la préparation magistrale des cassettes et des *prébolus*, est un élément clé pour permettre une prise en charge optimale des patients (181). Cet élément fait aussi de la CI une modalité d'administration difficilement généralisable à l'ensemble des CTH.

III.3.3. Conclusion

La perfusion continue de FAH semble être une thérapie sûre, économique et efficace dans le traitement des patients hémophiles B dans le cadre d'une prévention péri-opératoire. Il en est de même dans le traitement des traumatismes, d'hémorragies spontanées sévères et, plus généralement, des situations où un apport substitutif intensif ou prolongé est nécessaire chez ces patients (122,179). Pour autant la question de la preuve scientifique reste à établir par des études croisées randomisées notamment en regard du traitement par injections discontinues (179).

La question de généraliser l'administration en continue aux traitements prophylactiques de long terme ne fait l'objet d'aucun consensus à ce jour (178). En effet, si les économies de consommation de FAH liées à la perfusion continue ont été établies dans la littérature, il n'en reste pas moins qu'aucun moyen ne permet actuellement l'administration continue sans contraintes excessives (125). Pour autant, un taux d'activité biologique plasmatique de FIX hémostatique et constant sur une longue période de temps reste un objectif et il est possible que la thérapie génique soit le plus efficace moyen de l'atteindre (125) (cf Chap.III.v, p.150).

III.4. Niveau de preuve dans la littérature portant sur l'hémophilie B

En termes d'études en recherche clinique, une hiérarchie de la preuve apportée selon les caractéristiques d'une étude a été établie au niveau international de manière à orienter les décisions cliniques (voir figure 30). Les deux premiers niveaux de preuves, classés 1a, sont des synthèses d'experts et des recommandations sur la base des publications présentant un haut niveau de preuve. Pour ce qui est du niveau de preuve selon les caractéristiques des études de recherche clinique, le « gold standard » est l'essai randomisé contrôlé : Randomized Controlled Trials : RCT, classé 1b (188). Le terme « contrôlé » désigne le fait que la ou les thérapies évaluées soient également comparées à un groupe de patients « contrôle » recevant du placebo ou le traitement de référence au moment de l'étude. Plus généralement on distingue les études **expérimentales** : RCT et essais cliniques notamment, des études **observationnelles**. Et parmi les études observationnelles, on distingue les études **analytiques** où il y a comparaison avec un groupe contrôle ou un groupe témoin comme les suivis des cohortes et les études cas-témoin, dites « case-control », des études **descriptives** d'une série de cas ou d'un cas. Dans l'ordre décroissant de preuve apportée, les études expérimentales, observationnelles analytiques puis observationnelles descriptives participent du choix clinique effectué (188).

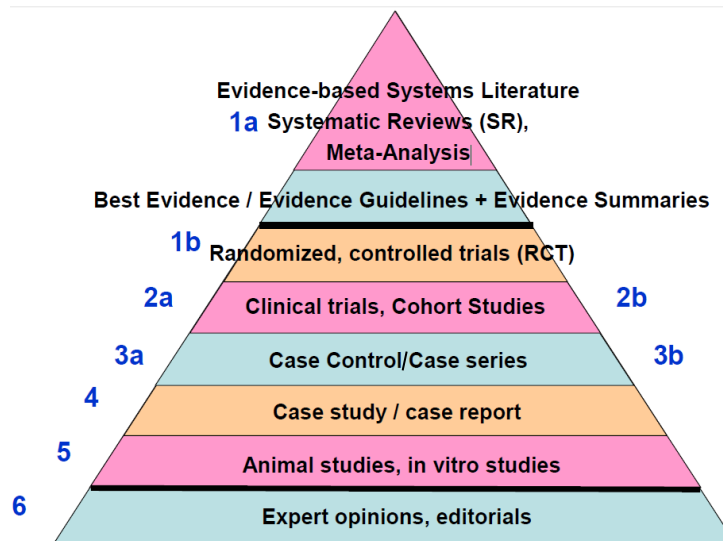


Figure 30. Hiérarchie de la preuve : confiance portée à une étude pour orienter les choix cliniques selon ses caractéristiques (188)

III.4.1. États des lieux

La revue de littérature de l'évaluation des traitements de l'hémophilie B a fait apparaître, dans chaque problématique évoquée précédemment, un manque certain d'études d'essais randomisés et contrôlés (99,116,133-134,162,179). Une étude de 2012, sur la base d'une revue systématique des caractéristiques des 5 666 études publiées sur le traitement de l'hémophilie dans la base de données PubMed™, confirme ce constat (186). Par comparaison à des pathologies telles que l'accident vasculaire cérébral (AVC) ou à la maladie d'Alzheimer pour lesquelles une revue du même type a été effectuée, l'hémophilie fait l'objet d'une proportion bien moindre d'essais contrôlés randomisés (voir

tableau XIII). Cette étude mériterait d'être débattue afin d'établir s'il est judicieux de comparer ces trois maladies pour autant les auteurs les ont choisies car toutes trois sont des pathologies invalidantes, avec des complexités jugées comparables dans la détermination du traitement efficace (186).

Tableau XIII. Répartition des études publiées dans la base de données Pubmed™ selon leurs caractéristiques pour le traitement de l'hémophilie, de l'AVC et de la maladie d'Alzheimer (186)

	Hemophilia	Stroke	Alzheimer
Total (title)	5666	40607	8188
SR	17% (1.8)	25% (8.0)	5% (0.5)
RCT	19% (1.9)	49% (15.4)	74% (6.8)
Prospective cohort	2% (0.2)	5% (1.6)	4% (0.4)
Case control	3% (0.4)	17% (5.3)	13% (1.2)
Case series	59% (6.0)	4% (1.1)	4% (0.4)

L'observation réalisée dans cette étude permet de mieux comprendre un constat dressé en 2012 au terme d'une analyse de la littérature également (93) : la preuve scientifique est insuffisante pour affirmer des différences entre pdFIX et rFIX, entre traitement à la demande et PLT, entre BI et CI.

III.4.2. Explications possibles

Un certain nombre d'explications au constat du manque de preuve scientifique dans le domaine de l'hémophilie sont citées dans la littérature.

- Prévalence de la maladie

Dans le cas des maladies rares comme l'hémophilie, les RCTs et les études observationnelles sur des critères d'évaluation statistiquement significatifs sont toujours très difficiles à entreprendre du fait de la faible prévalence de la pathologie à l'origine de petites cohortes de patients. La difficulté est encore plus grande dans le cas de l'hémophilie B qui est le type d'hémophilie le moins fréquent et qui, de plus, est largement sous-représentée sur l'ensemble des études qui ont traité à l'hémophilie (cf Chap.II.iii.2, p.86). Le nombre de patients nécessaire à un essai randomisé contrôlé est difficile à réunir sinon dans un essai international de grande échelle (93,162,185-187). Mais à l'échelle internationale, le risque d'hétérogénéité des patients, des traitements, des critères d'évaluation clinique peut également être un obstacle.

- Longueur de suivi nécessaire et développement de nouveaux médicaments

Le développement de nouvelles thérapies de l'hémophilie B et de stratégies thérapeutiques en conséquence a été très rapide au cours des 50 dernières années. Ce développement rapide ne permet pas la réunion de cohorte de patients homogène de grande taille, ayant suivi le même traitement. D'autre part le suivi nécessaire à l'évaluation complète des bénéfices de la prophylaxie sur le développement de l'arthropathie est au minimum 15 à 20 ans, ce qui est très contraignant en soi. Avec

le développement et la commercialisation de nouvelles thérapies, maintenir aussi longtemps des patients avec un traitement qui, selon toute vraisemblance, n'est pas le plus efficace et le plus sûr, soulève très vite des problèmes d'ordres éthiques (93,162,172,185).

- Considérations éthiques

En raison des résultats observés des pratiques prophylactiques actuelles dans la plupart des pays développés, la mise en place d'essais randomisés dans lesquels certains patients seraient soumis à des thérapies que l'on sait être moins efficaces et insuffisantes pour prévenir des séquelles irréversibles soulève un important problème éthique. La comparaison de patients traités avec les thérapies les plus récentes dans les pays développés et de patients traités avec les thérapies accessibles dans les pays en développement est bien sûr inenvisageable pour les mêmes raisons éthiques, en plus du problème d'hétérogénéité des patients étudiés que cela poserait. L'expérience internationale des bénéfices de la prophylaxie initiée avant que le phénotype hémorragique soit installé est aujourd'hui trop grande pour envisager un RCT avec une autre stratégie thérapeutique. Par contre, sur des sujets où la supériorité clinique de l'un ou l'autre des choix n'a pas été établi (pdFIX et rFIX, BI et CI) et même entre les prophylaxies initiées avant l'installation du phénotype hémorragique, les considérations éthiques ne sont pas un obstacle (40,93,162,186,187).

- Incertitudes sur les définitions et les critères d'évaluation clinique

Le manque d'harmonisation des définitions des stratégies thérapeutiques, des critères d'évaluation clinique et économiques de ces stratégies est un obstacle à l'internationalisation des études et à leur comparaison (185,186,94). De trop nombreuses différences de définitions des prophylaxies primaire et secondaire mais également de termes cliniques comme une articulation cible par exemple coexistent et de là découlent des résultats différents en terme d'efficacité et de coûts (94,185). Par ailleurs, les études utilisent souvent une évaluation empirique de l'efficacité du traitement vis-à-vis des hémorragies : réponse « excellente », « bonne » ou « modérée », avec des définitions très variables de chacun de ces termes selon les études (93). Ceci a poussé le sous-comité scientifique FVIII/FIX de l'ISTH à mettre en place, en décembre 2009, un groupe de travail chargé d'établir les définitions des termes utilisés dans les études cliniques sur des patients hémophiles (185). Ce groupe de travail se focalise sur plusieurs domaines : les degrés de sévérité, les hémorragies, les reprises de saignement, les articulations cibles, les prophylaxies, les inhibiteurs, et la réponse au traitement (dont la chirurgie et la prophylaxie). Les premiers éléments des travaux du groupe ont été publiés (100) mais le rapport final est encore en cours d'élaboration.

Par ailleurs, les exigences requises dans les essais cliniques des traitements par la FDA et l'EMA diffèrent et gagneraient à être harmonisées afin d'envoyer un message plus clair sur les informations requises dans le cadre de l'évaluation de l'efficacité clinique (68,185). C'est également l'objet d'un groupe de travail du même sous-comité de l'ISTH.

- Contraintes financières

La réalisation d'une étude randomisée contrôlée est extrêmement onéreuse et nécessite un budget consacré uniquement à l'étude. Ce type d'étude n'est donc pas réalisée dans des pays où l'accès aux

thérapies seul est déjà restreint pour des raisons financières (93,172,186,188).

○ Contraintes réglementaires

Plusieurs auteurs considèrent la réglementation sur les essais cliniques établie par les principales autorités sanitaires au niveau international : EMA, FDA, comme une contrainte (93,186). Dans cette optique, certains appellent à une voie alternative d'évaluation clinique scientifique des thérapies de l'hémophilie et des maladies rares en général (40,185,187). Consciente de cela et du faible taux de succès dans le développement pharmaceutique du fait de difficultés de plus en plus grandes à prouver les bénéfices d'un médicament, la FDA a publié en 2006 une liste des voies possibles vers la mise en place de conceptions innovantes d'essais cliniques : « critical path opportunities list » (195). Des méthodologies d'essais cliniques alternatives comme la conception adaptative de l'essai, et l'approche bayésienne ou d'autres approches statistiques de la modélisation dans l'analyse des essais sont des possibilités envisageables déjà pratiquées dans certaines études (68,185,189,194). Ces méthodes ont en commun le fait de se baser sur l'expérience des résultats des précédentes études pour adapter le modèle ou l'étude et en améliorer les résultats en termes de preuve. La conception adaptative d'un essai permet la modification des paramètres de l'essai ou de l'analyse statistique en cours d'essai. Elle est donc plus difficilement réalisable de façon rétrospective (194). L'approche bayésienne consiste à éprouver la robustesse d'un modèle représentant des résultats cliniques de patients en observant les variations des résultats issus de cette modélisation en fonction des paramètres qui lui sont appliqués. On choisit généralement des paramètres initiaux sur la base des résultats cliniques obtenus dans les expériences précédentes. Plus la variation possible des paramètres est grande sans que les résultats ne sortent de critères d'acceptation statistiques fixés, plus le modèle est robuste. Les critères d'acceptation fixés qui permettent l'établissement d'un modèle robuste sont les critères d'acceptation statistiques *ad hoc* (189).

III.4.3. Conclusion

Les conséquences de ce niveau faible de preuves sont très débattues. Les mêmes qui faisaient état d'un niveau de preuve insuffisant en introduction jugent que cette situation conduit à de hauts risques de biais dans l'évaluation et donc dans la définition de la prise en charge optimale des patients (186). Cette dernière est jugée plus facilement sujette à interprétation et aux différentes opinions du fait du faible niveau de preuve (93). À l'opposé de cela, certains mettent plutôt en cause une position dogmatique inadaptée aux maladies rares établissant le RCT comme le meilleur moyen d'atteindre le niveau de preuve scientifique suffisant (187).

Dans ce domaine comme dans de nombreux autres, les susceptibilités doivent être ménagées. Le travail déjà réalisé par l'ensemble des acteurs réunis autour de l'hémophilie à l'échelle mondiale, présentant des résultats basés sur les « meilleures pratiques cliniques », a déjà permis une amélioration significative de l'espérance de vie des patients et de leur qualité de vie durant les cinquante dernières années. Néanmoins il est indéniable aujourd'hui que des efforts peuvent être réalisés tant au niveau des chercheurs, afin d'améliorer le niveau de preuve des études portant sur le traitement de l'hémophilie, que des instances réglementaires internationales, afin de promouvoir des conceptions d'essais cliniques nouvelles et plus adaptées aux maladies rares.

IV. PRINCIPAUX OBSTACLES DANS LA MISE EN PLACE DES THÉRAPIES ACTUELLES

À quoi bon rechercher le médicament le plus efficace et le plus sûr s'il n'est pas accessible aux patients car trop coûteux ? À quoi bon rechercher le schéma thérapeutique optimal s'il n'est pas suivi par le patient ? À quoi bon enfin rechercher le traitement le meilleur s'il induit chez le patient une réponse immunitaire dirigée contre ce même traitement ? Si des pas de géants ont été faits dans la prise en charge de l'hémophilie au cours des cinquante dernières années, ces problématiques demeurent, affectent et mobilisent les patients et les soignants du monde entier. Une meilleure prise en charge des patients hémophiles B dépendra principalement des réponses apportées à ces complications issues des thérapies actuelles.

IV.1. Disparités mondiales dans le diagnostic et l'accès aux thérapies

Les thérapies de l'hémophilie B ont évolué vers plus d'efficacité et vers plus de sécurité (cf Chap.II.1, p.48) en quelques décennies, permettant à de nombreux patients de se protéger d'une dégradation progressive de leurs articulations. Pour autant, tous les hémophiles du monde entier ne bénéficient pas encore de ces progrès (99). Si on peut penser qu'un traitement reconnu efficace dans une pathologie qui touche environ 100 000 personnes sur la planète (40) devrait déjà être accessible à tous les patients, on réalise en fait très rapidement que la situation française et celle de la plupart des pays développés est une exception dans le paysage hémophile mondial. De grandes disparités dans la prise en charge des patients hémophiles dans le monde ont été établies, souvent décrites comme un fossé par la WFH tant ces disparités sont importantes (40,205). Ce fossé s'est établi sur trois critères principaux (40,164) :

- le diagnostic des patients
- l'accès aux thérapies
- l'espérance de vie des patients

○ Diagnostic des patients

Si le sous-diagnostic des patients ne constitue pas une complication des thérapies *stricto sensu*, il est indissociable de la problématique de la prise en charge des patients hémophiles dans le monde. Pour que les patients bénéficient de l'accès à des traitements adéquats, il faut d'abord les identifier comme malades et connaître la pathologie en cause (161). Dans l'enquête annuelle de la WFH de 2010 réalisée auprès de 106 pays, il apparaît clairement que des variations considérables existent entre les pays concernant la proportion des cas d'hémophilie B diagnostiqués par rapport à leur population, c'est-à-dire la prévalence rapportée de l'hémophilie B (207). Si on se concentre sur les 20 pays les plus peuplés dans le monde, qui représentent environ cinq milliards d'habitants, on constate que le nombre de patients hémophiles B rapportés ne suit pas une relation de proportionnalité avec la population des pays (voir figure 31 A et B). Sur la base d'une prévalence mondiale estimée à environ 1 pour 50 000 (40), la prévalence anormalement faible est manifeste dans des pays comme la Chine avec une population plus de 20 fois supérieure à celle de la France et un nombre de patients hémophiles B diagnostiqués rapporté quasi-identique. C'est le cas de nombreux autres pays dont l'Éthiopie avec 9 hémophiles B rapportés

parmi plus de 88 millions d'habitants. Les raisons principales de cette faible prévalence mondiale en regard de la prévalence estimée sont le sous-diagnostic et la mortalité précoce (99,164). Le sous diagnostic est lié au manque d'infrastructure de soin de qualité à proximité des patients et au prix des réactifs de diagnostic trop élevé pour de nombreux pays en développement (99). La mortalité précoce des patients est la conséquence de la maladie, diagnostiquée ou non, en absence de traitement et d'éducation thérapeutique adéquats (164).

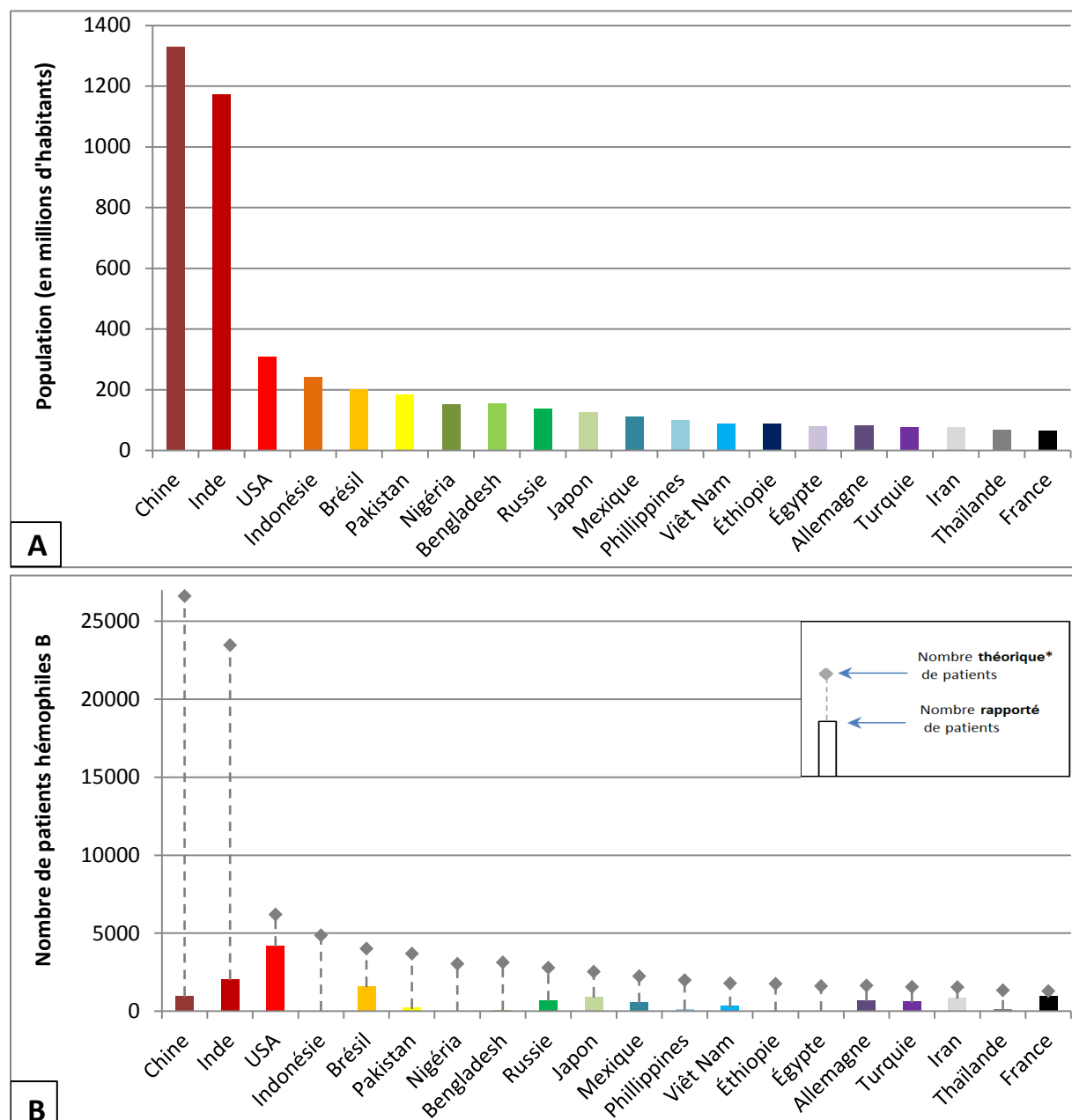


Figure 31. Population en millions d'habitants (A), nombre de patients hémophiles B théorique et nombre de patients rapporté (B) dans les 20 pays les plus peuplés de l'enquête mondiale de la WFH de 2010 (208). *Le nombre de patient théorique est estimé à partir de la prévalence théorique mondiale de l'hémophilie B de 1 sur 50 000 personnes (40,164).

Sans connaître précisément l'impact du taux de mortalité des patients sur la prévalence, on peut néanmoins observer que des pays comme la Chine et l'Inde à eux seuls présentent un réservoir potentiel de patient hémophiles B non-diagnostiqués considérable à l'échelle internationale (161)(voir figure 31 B). Dans une étude de 2012 analysant les données des enquêtes de la WFH sur 105 pays de 1998 à 2006, trois pays se distinguent par des prévalences d'hémophilie B significativement élevées : l'Irlande, la Hongrie et la Macédoine. Ce phénomène est inexpliqué mais le cas de l'Irlande est probablement causé par un effet fondateur (207).

La grande disparité des prévalences dans le monde à l'heure actuelle a probablement plusieurs origines. Le simple processus aléatoire de brassage génétique et les probables différents taux de mortalité du fait des infections par le VIH ou le VHC selon les pays (208) pourraient contribuer à la disparité des prévalences mondiales mais ceci n'a pas été prouvé (207). Néanmoins, pour l'ensemble des pays à l'exception des trois évoqués précédemment, les écarts à l'estimation de prévalence observés semblent être corrélés à la performance économique du pays. La prévalence de l'hémophilie B est d'autant plus élevée que la capacité économique du pays est grande (207). La classification de capacité économique la plus utilisée est la classification économique de la banque mondiale qui distingue les pays en fonction de leur appartenance à l'Organisation de Coopération et de Développement Économique (OCDE) et de leur Revenu National Brut (RNB) par habitant (205) :

- Élevés : supérieurs ou égaux à 11 116 \$ par habitant
 - Membres de l'OCDE : catégorie 1
 - Non-membres de l'OCDE : catégorie 2
- Élevés intermédiaires : entre 3 596 \$ et 11 115 \$ par habitant : catégorie 3
- Bas intermédiaires : entre 906 \$ et 3 595 \$ par habitant : catégorie 4
- Bas : inférieurs ou égaux à 905 \$ par habitant : catégorie 5

Les résultats observés, une fois les pays classés selon ce principe, montrent une prévalence moyenne de l'hémophilie B pour 100 000 personnes plus élevée pour les pays membres de l'OCDE à RNB élevés que pour les autres pays avec, respectivement, $2,69 \pm 1,61$ et $1,20 \pm 1,33$ patients hémophiles (207)(voir figure 32).

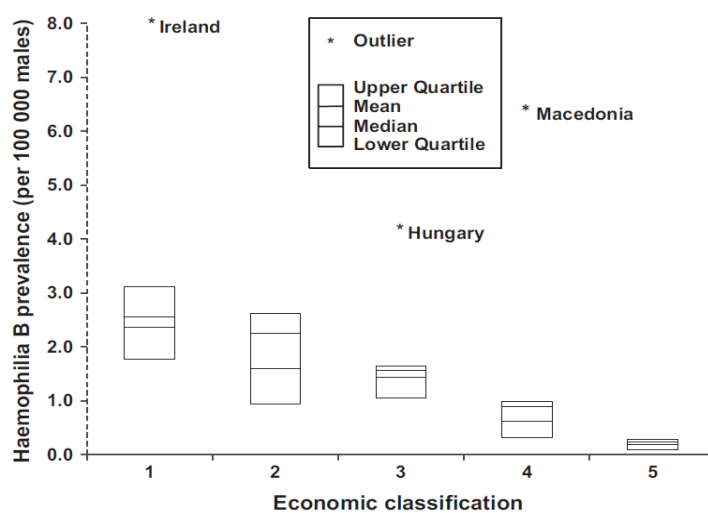


Figure 32. Diagramme en boîte représentant la distribution de la prévalence de l'hémophilie B pour 100 000 personnes dans 105 pays classés selon la classification de la banque mondiale et du RNB par habitant (207)

1 : élevés : supérieurs ou égaux à 11 116 \$, membres de l'OCDE; 2 : élevés : supérieurs ou égaux à 11 116 \$, non-membres de l'OCDE; 3 : élevés intermédiaires : entre 3 596 \$ et 11 115 \$; 4 : bas intermédiaires : entre 906 \$ et 3 595 \$; 5 : bas : inférieurs ou égaux à 905 \$ (205)

Conscient de cette problématique du sous-diagnostic dans les pays en développement, l'OMS souligne l'existence d'adaptations possibles vers des méthodes de diagnostic plus abordables en citant notamment l'exemple de la Thaïlande où a été mis en place un test de coagulation sur sang total utilisant des plasmas déficients en FIX lyophilisés (99). Dans son objectif de « combler le fossé global » des patients hémophiles, la WFH a mis en place en 2003 un programme nommé Global Alliance for Progress (GAP) destiné à améliorer les programmes nationaux de prise en charge des patients souffrant de troubles de l'hémostase dans 20 pays cibles. Un des objectifs GAP était de diagnostiquer 50 000 nouveaux patients hémophiles A ou B dans le monde en 10 ans, ce qui a été réalisé puisque 57 000 nouveaux patients avaient déjà été diagnostiqués en 2010 (40,208). De 1998 à 2006, sur l'ensemble des 105 pays suivis, la prévalence de l'hémophilie B a augmenté pour 72% d'entre eux. Cette augmentation progressive de la prévalence peut refléter une augmentation de la durée de vie, une amélioration du diagnostic, une facilitation de l'accès aux soins, l'immigration de patients vers des pays ayant une meilleure prise en charge, l'amélioration de la collecte de données ou probablement toutes ces raisons à la fois à différents degrés (207). Pour autant, combler le fossé de la prévalence nécessite de concentrer les efforts sur les pays qui ont la prévalence la plus faible. Seuls 9% des patients diagnostiqués avec un trouble de l'hémostase dans le monde le sont dans des pays dont le RNB est inférieur à 1500\$ par habitant : pays regroupant environ un tiers de la population mondiale (40). Aussi, pour la prochaine décennie 2013-2022, la WFH s'est fixée comme objectif le diagnostic de 50 000 nouveaux patients hémophiles A ou B dont au moins la moitié serait issue des pays les plus pauvres (40).

Les résultats de l'enquête annuelle réalisée par la WFH sont limités par une variabilité des définitions nécessaire au diagnostic : définition de l'hémophilie mineure par exemple, selon les pays (207). Par ailleurs, les données fournies dans l'enquête proviennent des membres de la WFH dans les pays concernés et elles ne sont pas vérifiées par un organisme indépendant. Certaines données ne sont issues que de certains CTH ou certaines grandes villes du pays mais ne sont pas toujours issues du pays entier. Malgré ces limites, l'étude globale de la WFH est une des sources les plus fiables de données internationales concernant l'hémophilie (207). C'est pourquoi on peut affirmer que le fossé représenté par tous les patients hémophiles non diagnostiqués dans le monde constitue une problématique majeure. La lutte contre le sous-diagnostic, établie comme une priorité, a déjà permis d'établir l'hémophilie de nombreux patients et ainsi combler progressivement ce fossé. Cette augmentation continue du nombre de cas rapportés permettra de mieux orienter la prise en charge des patients et l'attribution de ressources humanitaires à l'échelle mondiale (207). Le plein bénéfice de la progressive disparition du sous-diagnostic ne pourra néanmoins être atteint que lorsque les thérapies seront accessibles à l'ensemble des patients dans le monde.

- Accès

D'après les estimations de la WFH, seuls 25% des patients hémophiles A et B dans le monde reçoivent le traitement minimalement adéquat. Un traitement minimalement adéquat est synonyme d'un accès à un traitement à la demande par concentrés de facteurs de coagulation (40). La problématique de l'accessibilité des thérapies dans le monde est à la fois liée au prix des traitements substitutifs et à leur disponibilité.

Lorsqu'on évoque les succès thérapeutiques dans le traitement de l'hémophilie B, on oublie souvent de mentionner que, comme le précise l'OMS, l'hémophilie est devenue par la même occasion une des maladies dont les traitements sont les plus chères au monde (99). Pour une prophylaxie de 30 UI.kg⁻¹

de Betafact[®] deux fois par semaine chez un patient hémophile B français de 60 kg par exemple, le coût annuel du traitement avoisine les 135 000 € (= 2×30×60×0,72×52) sans tenir compte des nécessaires injections liées notamment aux traitements des épisodes hémorragiques. Sur la base de ces prix élevés de traitement, une grande disparité dans la consommation de FIX s'est établie dans le monde. Une enquête publiée en 2011 rapportant l'utilisation de FIX dans 90 pays entre 1998 et 2006 a démontré que la consommation de FIX est d'autant plus élevée que les capacités économiques du pays sont élevées (205). Cette consommation moyenne rapportée au nombre d'habitant, aussi dit *per capita*, est supérieure pour les pays membres de l'OCDE à RNB élevés : 0,65 ± 0,50 IU par habitant comparativement à celle des autres pays : 0,10 ± 0,14 (205)(voir figure 33).

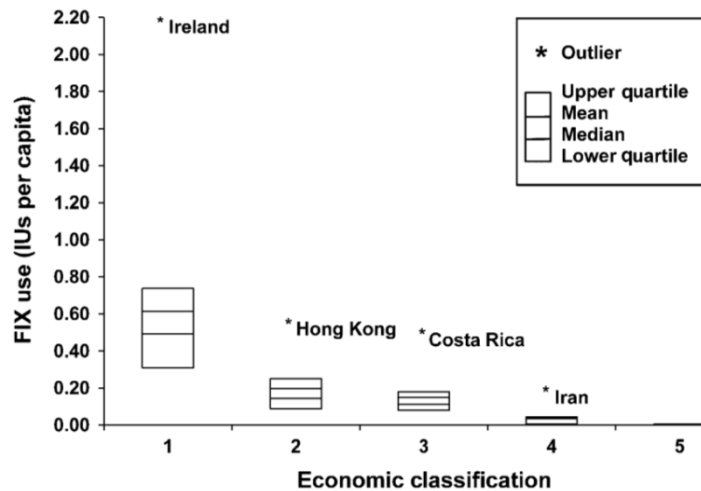


Figure 33. Diagramme en boîte représentant la distribution de la consommation de FIX par habitant (*per capita*) dans 90 pays classés selon la classification de la banque mondiale et du RNB par habitant (205) 1 : élevés : supérieurs ou égaux à 11 116 \$, membres de l'OCDE; 2 : élevés : supérieurs ou égaux à 11 116 \$, non-membres de l'OCDE; 3 : élevés intermédiaires : entre 3 596 \$ et 11 115 \$; 4 : bas intermédiaires : entre 906 \$ et 3 595 \$; 5 : bas : inférieurs ou égaux à 905 \$

La consommation de FIX par habitant tend à augmenter avec les années dans 78% des pays de l'enquête mais cette augmentation est inégalement répartie. La consommation de FIX augmente d'autant plus vite que la capacité économique du pays est élevée, accentuant encore les disparités (295).

Au-delà de la capacité économique, la consommation de FIX par habitant peut être influencée également par d'autres facteurs tels que :

- les traitements utilisés
- la politique de soin nationale
- la prévalence de la pathologie
- la proportion des profils hémorragiques sévères parmi les patients

Les choix des traitements utilisés pourraient expliquer les différences de consommation observées entre des pays de niveaux économiques et de politique de soins semblables. En effet, le taux de récupération plus faible des rFIX comparativement aux pdFIX oblige à une consommation d'un plus grand nombre d'UI pour atteindre le même taux d'activité biologique plasmatique en FIX (205). Mais l'impact de cette observation est très limité car le rFIX est utilisé par un très faible nombre de pays dans le monde. Seuls 9 pays sur les 52 ayant répondu à l'enquête de la WFH en 2010 sur la

consommation de FAH utilisent majoritairement du rFIX (208). On a longtemps cru que le développement de facteur recombinant allait abolir la contrainte sur l'approvisionnement liée au plasma pour que ne reste plus que la contrainte du prix (40), mais ce n'est pas le cas. La réalité est que la plupart des pays du monde utilisent encore des produits plasmatiques de pureté intermédiaire voire même du plasma, comme c'est le cas en Chine, avec les problèmes d'efficacité et de sécurité virale associés (cf Chap.II.1, p.48) (164,211). Ainsi 40% de la population mondiale consomment moins de 2% des concentrés de facteurs produits dans le monde (68). On retrouve cette inégalité en amont dans la collecte de plasma. Sur 178 pays, 81 millions de litres de plasma sont collectés mais 60% de cette quantité est destinée uniquement à 20% de la population mondiale (68).

Les politiques de soin nationales influent forcément sur la consommation des FAH selon les pays. En effet, face au prix élevé des traitements, plusieurs réponses sont possibles à la question de savoir qui paye : le gouvernement, les laboratoires, les assurances santé, les patients. En France, le remboursement des traitements est intégral mais c'est une situation rare à l'échelle mondiale. Dans les pays en développement, on estime de 50 à 95% la proportion de la thérapie que les patients doivent payer par leurs propres moyens (68). La prise en charge à l'échelle mondiale est très hétérogène, y compris au sein des pays développés.

Dans plusieurs pays, la décision du remboursement ou non des thérapies est assistée par une analyse des coûts supplémentaires en regard de l'efficacité par rapport au traitement en vigueur, aussi appelée « cost utility analysis » (CUA). L'efficacité peut être mesurée de façon comparative par rapport au traitement en vigueur par des critères cliniques : par exemple le nombre d'hémorragies à traiter (209). Le résultat est généralement présenté sous la forme d'un ratio appelé « incremental cost effectiveness ratio » (ICER). Ce résultat est ensuite comparé à un ratio seuil au-delà duquel les agences sanitaires recommandent de ne pas rembourser le traitement. Dans des pays à RNB bas intermédiaires, la CUA se fait souvent au détriment d'une prise en charge de l'hémophilie plus efficace car les seuils à ne pas dépasser sont très bas. En Thaïlande par exemple, pays à RNB par habitant bas intermédiaire, un programme de traitement à domicile a été refusé ainsi (209). Bien souvent, ces pays n'ont pas les moyens d'engager immédiatement des fonds importants, y compris dans leurs CUA expérimentales, pour pouvoir mesurer les coûts évités sur plusieurs années en terme d'hospitalisation ou d'amélioration de la qualité de vie (209). Pour autant, les seuils des pays les plus riches sont souvent également en défaveur d'une prise en charge optimale de l'hémophilie. L'efficacité, dans le cadre des CUA, y est parfois mesurée en QALY comme c'est le cas aux États-Unis, en Grande-Bretagne, en Australie, au Canada ou au Pays-Bas (187). Les agences sanitaires de ces pays ne recommandent pas de remboursement public au-delà d'un seuil de 50 000\$ par QALY obtenue du fait d'un traitement. Ce seuil a été fixé en 1992 par l'agence de santé publique américaine et est encore appliqué de nos jours. La plupart des CUA concluent que les PLT dépassent le montant de 50 000\$ par QALY en regard du traitement à la demande. Alors bien sûr, d'autres éléments rentrent en compte dans la prise de décision : le lobbying des associations de patients, l'éthique en regard des résultats cliniques internationaux publiés, les enjeux politiques également (187). De ce fait, la plupart des pays développés, malgré les résultats de la CUA, décident de rembourser au moins partiellement les PLT. Mais il faut garder à l'esprit que peu de gouvernements de pays développés peuvent aujourd'hui se permettre financièrement d'adopter les modalités de traitement disponibles les plus avancées dans la prise en charge de l'hémophilie et de les rembourser (209). En France en 2009, les dépenses totales moyennes de l'assurance maladie pour la prise en charge d'un patient hémophile ont été estimées à

19 591 € par patient par an, soit la 3^{ème} ALD la plus coûteuse par patient, derrière la mucoviscidose et les néphropathies (206). Les dépenses à engager afin de prendre en charge l'hémophilie optimalement représentent donc un coût important (187,212). Aux États-Unis par exemple, le traitement substitutif représente environ 50 à 90% de l'ensemble des frais de santé d'un patient hémophile et le coût annuel total en FAH oscille entre 60 000\$ et 250 000\$ (210). Or, 16,7% des patients hémophiles citoyens ou résidents américains ne disposent pas d'une assurance santé qui pourrait couvrir partiellement ou totalement ces frais. Plus de 60% de ces patients hémophiles non assurés ne bénéficient d'aucun programme d'aide (210). Ces hémophiles non assurés sont souvent des patients qui ont à la fois des revenus trop faibles pour financer leur traitement substitutif eux-mêmes et trop élevés pour être éligibles aux programmes d'aide. En absence de traitement substitutif, ces patients retardent autant que possible le moment de leur prise en charge dans des services d'urgence du fait des coûts associés (210). Les hémophiles sans papier, représentant environ 14% des patients hémophiles, ne peuvent ni souscrire une assurance santé américaine ni bénéficier des programmes d'aide américains et n'ont donc pas d'autres solutions pour obtenir leur traitement que d'être pris en charge, eux aussi, aux urgences (210). Ainsi la prise en charge des patients hémophiles B dans les pays développés peut être très hétérogène entre pays et au sein d'un même pays (205). L'arthropathie hémophilique et la mortalité précoce sont donc des problèmes qui peuvent encore être rencontrés dans les pays développés. La problématique du coût du traitement est donc bien une problématique mondiale et non pas réservée aux pays en développement seuls.

En absence de contraintes sur l'accès aux thérapies, c'est à dire pour un faible nombre de pays, la consommation nationale en FAH peut dépendre également de la prévalence (205). La prévalence de la maladie influence le calcul de la consommation par habitant puisque dans les pays où l'accès aux thérapies adéquates n'est pas restreint et où la prévalence est élevée, comme c'est notamment le cas de l'Irlande, la consommation par habitant y est également élevée. L'observation de la consommation de FIX par patients atteints d'hémophilie et non par habitant, réalisée dans l'enquête de la WFH de 2010, permet de s'affranchir des disparités de prévalence et aboutit au même constat d'une consommation de FIX très liée au niveau économique du pays. (voir figure 34)

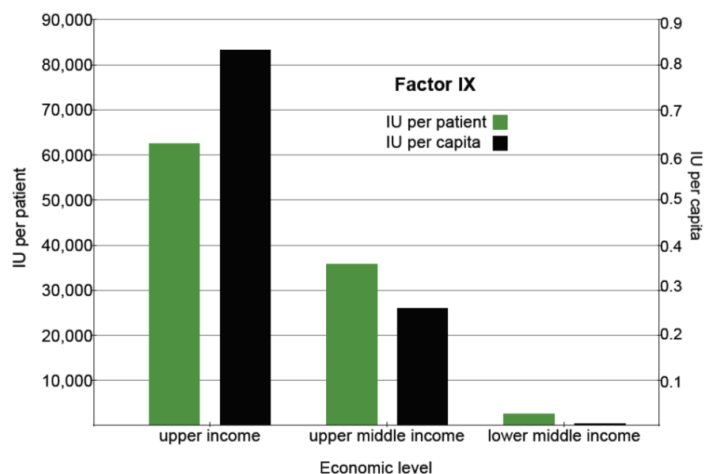


Figure 34. Consommation moyenne de FIX par habitant (*per capita*) et par patient dans 52 pays classés selon la classification de la banque mondiale et du RNB par habitant (208). Élevés : supérieurs ou égaux à 11 116 \$; Élevés intermédiaires : entre 3 596 \$ et 11 115 \$; Bas intermédiaires : entre 906 \$ et 3 595 \$ (205)

Des variations dans la proportion de patients présentant de larges délétions ou un phénotype hémorragique sévère, donc susceptibles de suivre des PLT, peuvent également être sources de variations de consommations de facteurs.

○ Espérance de vie

L'espérance de vie d'un patient hémophile est liée aux conditions de sa prise en charge. Comme évoqué précédemment, l'espérance de vie d'un patient hémophile est proche de celle d'une personne non hémophile s'il est diagnostiqué précocement et s'il bénéficie d'une PLT par injections régulières de concentrés de FAH. Un diagnostic tardif, une prise en charge tardive ou inadéquate liée à la situation économique sont les éléments d'une équation aboutissant implacablement à des hémorragies récurrentes, au développement d'articulations cibles, au handicap fonctionnel. Si un portrait type de la vie d'un hémophile dans le monde devait être dressé, il ressemblerait plus à un patient hémophile chinois qu'à un patient hémophile français. Il s'agirait d'un patient qui meurt jeune ou, s'il survit, qui souffre d'importantes dégradations articulaires laissant des séquelles invalidantes et douloureuses permanentes (211). Une étude réalisée à l'hôpital pédiatrique de Pékin en 2008 a démontré que 85% des enfants hémophiles sévères et modérés de 6 ans souffrent déjà d'arthropathie chronique et que cette proportion augmente avec l'âge (164). Le traitement des hémophiles B y est réalisé par des injections de plasma ou de CCP si les parents ont les moyens de les financer. Ainsi, du fait de la mortalité élevée et précoce, 52,3% des patients hémophiles rapportés par le registre national chinois de l'hémophilie ont moins de 15 ans (164). L'enquête globale de la WFH de 2010 révèle d'ailleurs que plus la proportion des enfants hémophiles est grande en regard de celle des adultes hémophiles, plus la capacité économique du pays est faible (208,211)(voir figure 35) .

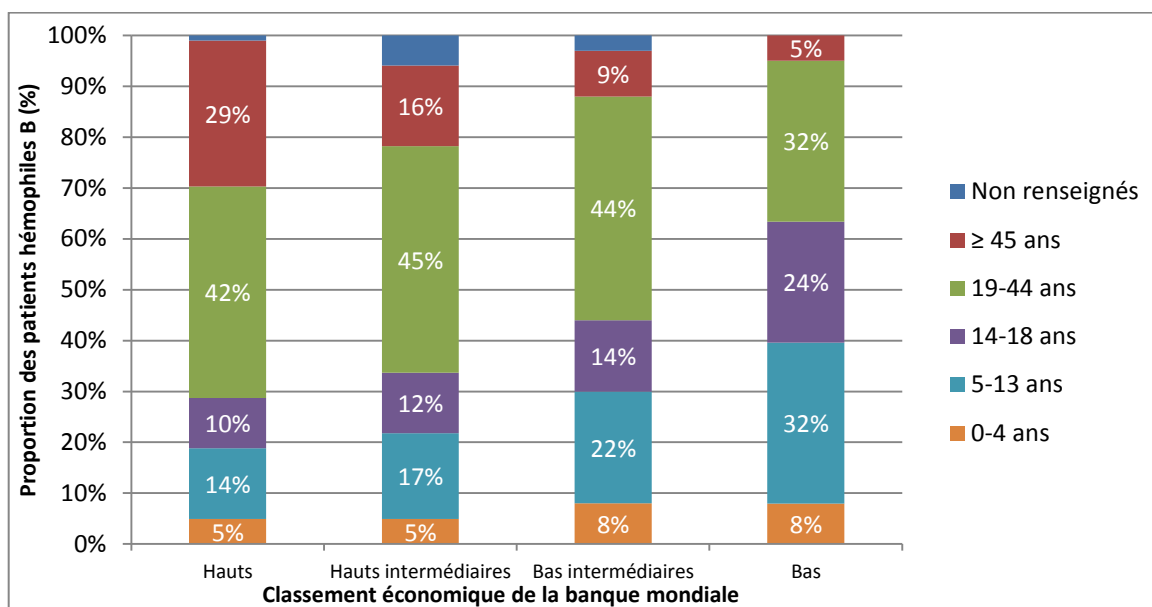


Figure 35. Répartition des patients hémophiles en fonction de leur tranche d'âge dans 71 pays classés selon la classification de la banque mondiale et du RNB par habitant (208,211)

Hauts : supérieurs ou égaux à 11 116 \$; Hauts intermédiaires : entre 3 596 \$ et 11 115 \$; Bas intermédiaires : entre 906 \$ et 3 595 \$; Bas : inférieurs ou égaux à 905 \$ (205)

Autrement dit, plus le pays a une capacité économique faible, plus la probabilité pour un enfant hémophile d'atteindre l'âge adulte est faible. Cependant il est important de souligner que la tendance observée depuis 2002 est celle d'un nombre de plus en plus grand d'enfants hémophiles atteignant l'âge adulte (211). Pour autant l'espérance de vie jusqu'à l'âge adulte n'est pas un objectif en soi tant les situations des patients adultes peuvent être différentes au niveau clinique et au niveau de la qualité de vie qui en résulte. Une étude qui tenterait d'établir une amélioration de la prise en charge des patients utilisera plutôt comme critère l'espérance de vie en bonne santé (40).

○ *Vers des solutions possibles*

Tant au niveau du diagnostic que de l'accès aux thérapies et de l'espérance de vie, des tendances positives et d'évolution rapide sont observées à l'échelle mondiale. Elles permettent d'affirmer que, malgré les disparités persistantes dans la situation actuelle et les nombreux obstacles encore à franchir, le fossé est en train d'être comblé (205,207,208,211). Afin de lutter contre les disparités, très liées à la capacité économique des pays, des programmes de diagnostic orientés vers les pays en développement sont établis (40) et des solutions existent également dans le domaine de l'accessibilité aux thérapies (205). Améliorer l'accessibilité des concentrés de FAH à l'échelle mondiale nécessite une approche globale qui implique d'agir à différents niveaux pour (68):

- *une meilleure gestion des ressources en FAH* : Certains pays ont réalisé la transition vers des concentrés d'origine recombinante et par conséquent une partie de leurs ressources en plasma est désormais inutilisée. La WFH travaille actuellement à rendre possible l'utilisation de cette production de concentrés de FAH afin qu'elle bénéficie à d'autres pays dans le monde. Un projet de développement de concentrés de FAH abordables à l'attention des pays en développement et de l'aide humanitaire est en cours au Canada (68). Dans ce contexte, l'harmonisation des principales réglementations internationales (FDA, EMEA) en matière de sécurité et d'efficacité requises pour les concentrés de FAH pourrait influencer favorablement la circulation des concentrés à l'échelle internationale (68).

- *la différenciation des prix des FAH en fonction des pays* : Une étude du prix d'achat des facteurs de coagulation réalisée dans 96 pays a démontré que, pour un même concentré de facteur, les prix d'achat peuvent varier du simple au double selon le pays. Malgré cela, en regard des revenus par habitant, le prix est significativement plus élevé dans les pays en développement (68). C'est pourquoi, dans l'idée des modèles innovants de prix établis par l'OMS pour les thérapies du VIH, certains envisagent la possibilité d'adapter le prix de vente des concentrés de FAH aux capacités économiques des pays et au pouvoir d'achat des patients (68). Ce modèle, aussi appelé « twin-track pricing » ou « differential tiered pricing », pourrait être réalisé en concertation avec l'industrie pharmaceutique par exemple en retirant du prix d'achat, dans certains pays, les coûts liés à l'investissement et au développement (68). Si la baisse des prix est aujourd'hui un élément clé dans l'amélioration de l'accessibilité des FAH, les soignants et les patients insistent sur le fait qu'en aucun cas elle ne doit se faire au dépend de l'efficacité et la sécurité des concentrés (40).

- *le développement de nouveaux marchés plus compétitifs* : Étant données la croissance de la demande en concentrés dans le monde, la contrainte économique actuelle pour accéder à ces thérapies et l'augmentation de la compétition entre fournisseurs avec l'arrivée de nouvelles thérapies (facteurs à

demi-vie prolongées, thérapie génique), un nouveau marché des concentrés de FAH naît en ce début de XXI^{ème} siècle. Les patients, les soignants, les CTH, les gouvernements et l'industrie pharmaceutique devront inévitablement s'adapter à ce changement progressif de paradigme d'une gestion de la rareté à un marché compétitif en expansion (40). Beaucoup de pays ont mis en place des appels d'offre pluriannuels sur des critères d'efficacité, de sécurité mais également de prix. Les choix des fournisseurs ainsi établis sur des critères techniques et par un système d'« enchères inversées » ont permis au Brésil depuis 2004 d'économiser jusqu'à 60% sur les prix des concentrés de FAH (68). De plus, la mise en place d'achats groupés, régionaux ou nationaux peut s'avérer être un moyen efficace d'exercer une pression sur les prix des industriels. Cette stratégie n'est pour autant pas toujours la plus efficace car elle peut limiter le nombre de potentiels fournisseurs du fait des quantités de FAH requises et donc diminuer la pression compétitive sur les prix. La stratégie des CTH britanniques qui consiste à négocier les prix dans chaque CTH et à multiplier autant que possible les fournisseurs, est judicieuse de ce point de vue (68).

- *le développement et la promotion de stratégies thérapeutiques économes en FAH* : Bien que des modèles efficaces aient déjà été établis, les besoins en facteur à l'échelle mondiale renforcent la nécessité de trouver une stratégie optimale en termes d'efficacité et de consommation de facteur. Aussi les questions du dosage optimal, du taux résiduel hémostatique du patient et de l'efficacité des prophylaxies à doses faibles sont plus que jamais d'actualité (68,102,161,164,213). Le développement de nouvelles thérapies de l'hémophilie devrait permettre une consommation moindre de FAH à l'avenir sous réserve de leur accessibilité. D'autre part, des améliorations sont souhaitées dans le conditionnement des FIX afin de s'adapter au mieux à des schémas thérapeutiques de plus en plus ajustés aux besoins des patients (99,117). En effet la tendance observée est celle d'une augmentation des doses par flacon. Cette tendance permet notamment d'utiliser parfois un flacon au lieu de deux mais elle tend à faire augmenter la consommation de FAH et donc les coûts de la prophylaxie (117). L'OMS recommande donc une plus large variété de flacons avec des doses différentes ainsi que le développement de flacon multidoses (99).

- *la diminution des coûts de fabrication* : Dans cette optique, des médicaments génériques dits « biosimilaires » des concentrés de FAH princeps commercialisés sont en développement (40,220). Cette approche sera plus développée par la suite (cf Chap.III.III, p.145)

IV.2. Défaut d'adhérence aux thérapies

Adhérer à un traitement, c'est en accepter les modalités, les objectifs et respecter strictement la prescription du médecin en conséquence. Le manque d'adhérence est une complication restreinte par définition aux patients ayant accès aux thérapies mais il s'agit d'une des principales problématiques dans la prise en charge des patients hémophiles traités par PLT (143). C'est d'ailleurs un problème que l'on constate dans l'ensemble des maladies chroniques nécessitant un traitement de long terme. Un rapport de l'OMS de 2003 portant sur l'adhérence estime que, dans les pays développés, 50% des patients seulement observent leur traitement de long terme, toutes maladies chroniques confondues (196). Pour autant, la question de savoir « pourquoi ce manque d'adhérence » ne peut être envisagée seulement du fait d'un traitement contraignant sur le long terme ou seulement du fait d'un éventuel

manque de volonté du patient. Telle que l’OMS la décrit, l’adhérence est un phénomène multifactoriel : elle dépend de la thérapie bien sûr, mais aussi de la maladie, du patient, des soignants, du système de soin et également de facteurs sociaux ou économiques (196). Ces différents facteurs interagissent les uns avec les autres et la problématique du défaut d’adhérence doit donc être étudiée dans sa globalité afin d’en établir les raisons les plus probables et les réponses adéquates pour chaque patient.

Il existe plusieurs moyens de mesurer l’adhérence d’un patient hémophile : du suivi des hémorragies perthérapeutiques, à l’enquête directement auprès des patients, en passant par le suivi des bordereaux de traitement ou de l’approvisionnement en FAH (143,197,199). Quelle que soit la méthode de mesure, l’adhérence est souvent présentée sous la forme d’un taux d’adhérence calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'adhérence} = \frac{\text{Nombre de doses prophylactiques consommées}}{\text{Nombre de doses prophylactiques prescrites}}$$

Dans une enquête mesurant l’adhérence de patients hémophiles A et B sévères dans 71 CTH américains publiée en 2012, le taux d’adhérence moyen rapporté par les infirmières est de 78% pour les 815 patients hémophiles B sévères suivis (143). Le commentaire sur la valeur en elle-même est limité par une définition variable de l’adhérence et de sa mesure selon les CTH. Mais néanmoins des variations intéressantes de ce taux peuvent être observées selon les tranches d’âge (voir figure 36).

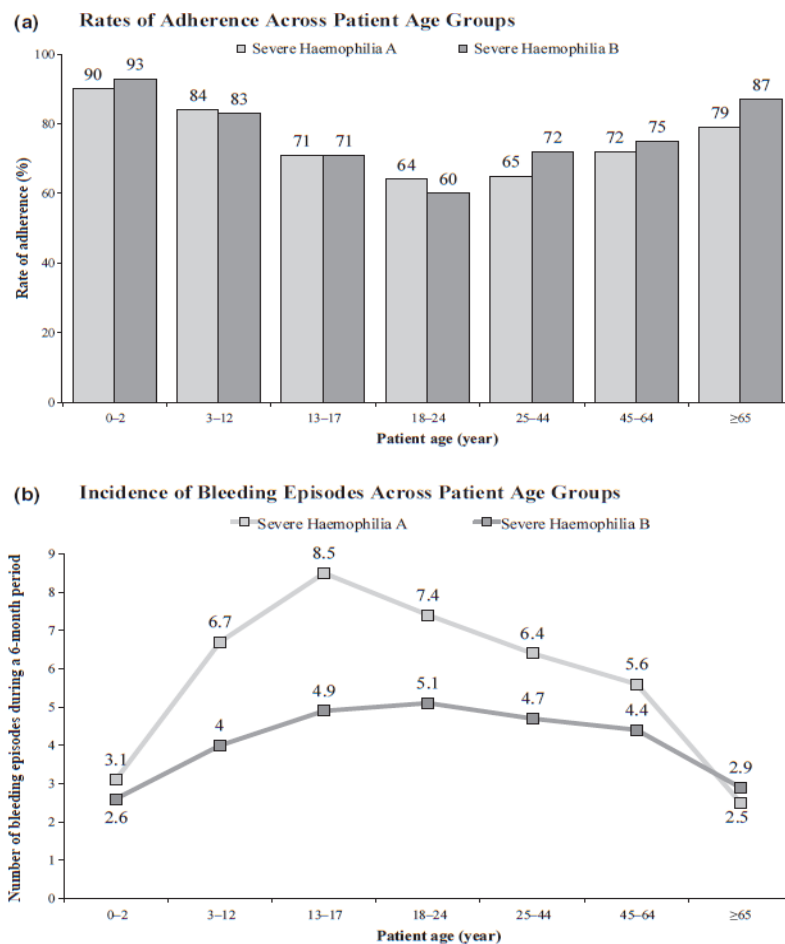


Figure 36. Taux d’adhérence (a) et incidence des épisodes hémorragiques (b) de patients hémophiles sévères de 71 CTH américains en fonction de leur tranche d’âge (143)

Ainsi on peut observer, chez les hémophiles B sévères, que le taux d'adhérence moyen le plus élevé est obtenu pour des âges de 0 à 2 ans (93%) et que le taux diminue ensuite pour atteindre son minimum dans la tranche d'âge de 18 à 24 ans (60%). Une comparaison avec les données cliniques chez ces patients permet d'observer que la plus forte incidence des épisodes hémorragiques se situe dans la même tranche d'âge que le plus faible taux d'adhérence : la tranche 18-24 ans (voir figure 36). Cette observation ne permet pas d'établir si la diminution de l'adhérence est à l'origine de l'augmentation du nombre d'hémorragie ou si, inversement, la recrudescence d'épisodes hémorragiques, par découragement du patient, entraîne une diminution du taux d'adhérence. Les auteurs observent également que le passage du traitement prophylactique au traitement à la demande est plus fréquent chez les 13-24 ans (143). La concomitance de l'incidence des épisodes hémorragiques la plus élevée, du taux d'adhérence le plus faible et des abandons de prophylaxie les plus fréquents chez les 13 à 24 ans est significative. Elle démontre que l'adolescence et le début de l'âge adulte constitue une période clé dans l'adhérence de la plupart des patients hémophiles B sévères (143,169,198,201).

Si les thérapies prophylactiques de long terme peuvent être à l'origine d'une perte d'adhérence du fait de la difficulté d'intégrer ce schéma thérapeutique dans la vie quotidienne (89,143,199), elles le sont également paradoxalement du fait de leur efficacité. En effet, l'absence d'expérience marquante de saignement chez le patient peut l'inciter à se placer dans une position de déni de la maladie et de l'utilité de son traitement. L'adolescence est un période favorable au développement de ce déni car c'est une période de transition (198). Tout d'abord, c'est une période de transition vers l'acquisition d'un corps d'adulte, plus grand, plus lourd, plus musclé et capable en théorie de réaliser des activités physiques plus intenses et plus risquées. Le déni de la maladie dans le cadre d'une prise de risque excessive peut être associé à une nécessité de braver les interdits ou, plus simplement, à une forme de pression sociale qui pousse le patient à vouloir être et se conduire comme les autres enfants et adolescents de son âge dans une recherche de normalité. Lorsqu'il a été demandé à 108 patients hémophiles A et B sévères et modérés de 13 à 25 ans d'établir, sur différents thèmes, s'ils avaient les mêmes opportunités qu'une personne non hémophile, plus de 86% ont répondu favorablement sur la plupart des sujets, à l'exception des activités sportives (200)(voir figure 37). Cela prouve que l'activité physique est un des domaines où les patients adolescents ressentent le plus de contraintes. Par ailleurs, c'est à l'adolescence que l'implication des parents s'efface progressivement et que le patient devient la personne clé qui décide de l'évolution de son propre traitement. Si dans cette période il ne perçoit pas l'intérêt de son traitement prophylactique le risque est grand de déni de la maladie et de perte d'adhérence.

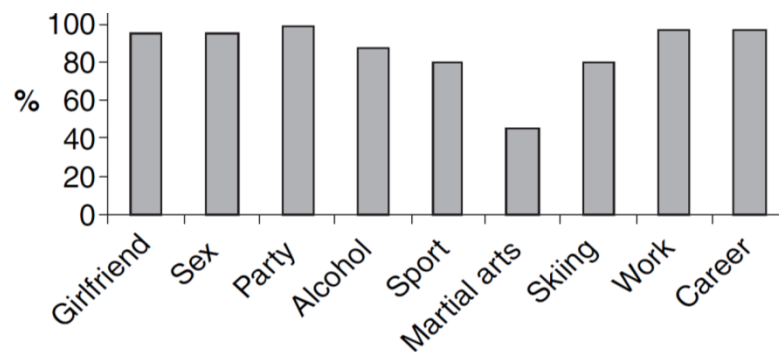


Figure 37. Proportion de 108 patients hémophiles sévères et modérés se percevant comme ayant les mêmes opportunités qu'un patient non hémophile sur différents sujets (200)

La solution à envisager en prévention de la perte d'adhérence passe par l'ETP. Le développement de la progressive responsabilisation et de la nécessaire implication du patient en tant qu'acteur de son traitement est préférable avant l'adolescence si le patient le souhaite et que l'équipe soignante le pense être prêt à assumer ces nouvelles responsabilités. Elles passent notamment par l'apprentissage de l'auto-traitement, la concertation avec les soignants pour intégrer le calendrier des injections dans la vie quotidienne du patient en développant des routines durables (198,201). Les adolescents impliqués dans la conception d'une prophylaxie sur mesure qui ne leur est pas imposée par leur CTH ont une meilleure adhérence (201). Par l'ETP toujours, il est essentiel de faire comprendre aux patients hémophiles que leur bonne santé n'est pas innée, elle est acquise. Dans cette optique, la progressive autonomie qui est confiée au patient est une responsabilité avant d'être un pouvoir. Une enquête sur 56 CTH américains a révélé qu'environ deux tiers des patients ont expérimenté une diminution ou un arrêt de la prophylaxie après avoir pris la responsabilité de l'auto-perfusion, par déni de l'utilité de la prophylaxie (169). L'ETP et la transmission de savoir par des patients expérimentés peuvent contribuer à atténuer le déni de la maladie en présence d'un traitement efficace (169,201). Pour autant, une étude japonaise réalisée sur 84 patients hémophiles auto-traités auxquels ont été dispensés plusieurs cours sur la pathologie et l'utilité du traitement démontrent l'absence de différence significative dans l'adhérence des patients selon leur connaissance de leur maladie (202). Ce constat est limité par le fait que l'ETP ne consiste pas en un simple cours sur la pathologie.

Si l'incapacité à percevoir les bénéfices de l'adhérence a été évoquée précédemment, la principale barrière à l'adhérence évoquée par les hémophiles est l'interférence des nombreuses injections avec les activités quotidiennes (89,143,199). Comme évoquée précédemment, l'adhérence est un phénomène multifactoriel qu'il ne faut pas réduire aux facteurs venant du patient. Pour ces raisons, si la perte d'adhérence est constituée, la situation n'est pas irréversible pour autant et le patient a besoin d'être soutenu plutôt que de se voir reprocher son attitude (196). Dès lors peut s'engager une phase d'explication, de concertation avec le patient qui peut aboutir à une modification des modalités de sa prophylaxie (dose, fréquence) ou à un changement de stratégie thérapeutique si nécessaire : traitement intermittent ciblant les périodes à risque ou traitement à la demande (169,198).

Le moment de ces choix et de cette progressive responsabilisation du patient n'a pas toujours lieu à l'adolescence : il peut être plus précoce ou plus tardif selon les patients. Pour autant, il s'agit toujours d'une période de transition qui nécessite une prise en charge capable de s'adapter au patient sur la base d'une évaluation concertée et fréquemment renouvelée des bénéfices et des risques encourus (198). L'enjeu principal d'une telle démarche est la mise en place d'un traitement efficace qui ne soit pas ressenti par le patient comme une contrainte sur sa qualité de vie (201). C'est lui donner la possibilité de minimiser les contraintes liées à l'hémophilie, non pas par déni de la maladie, mais parce que le traitement est intégré dans son quotidien, le protège efficacement, lui permet de se sentir en sécurité et de s'intégrer comme acteur de la société (196,201).

Des experts internationaux estiment que l'amélioration de l'adhérence dans l'ensemble des maladies chroniques pourrait avoir un impact plus important sur la santé des patients que toute amélioration médicale *stricto sensu* des traitements (196,203). Dans les faits, ces deux objectifs ne sont pas forcément opposés. Dans le cadre de l'hémophilie, les thérapies en développement telles que les FIX à demi-vie allongée ou la thérapie génique sont des progrès médicaux qui contribueront sans doute à une amélioration de l'adhérence des patients en facilitant la mise en place des PLT.

IV.3. Allo-anticorps inhibiteurs

○ Généralités

La survenue d'anticorps neutralisant partiellement ou totalement le FIX exogène injecté, aussi appelés « inhibiteurs » ou « anticoagulants circulants » ou « anticorps anti-FIX », est une des principales complications du traitement substitutif chez les patients hémophiles (2). Cet évènement survient généralement au début du traitement substitutif et est associé à un risque d'anaphylaxie lors de la réponse immune. Il compromet l'efficacité immédiate du traitement conventionnel, alourdit la prise en charge des patients, aggrave les complications orthopédiques et altère la qualité de vie des patients hémophiles. À terme, cette allo-immunisation augmente le taux de mortalité chez les patients quel que soit le degré de sévérité de l'hémophilie (2,214). La survenue d'inhibiteur chez un patient hémophile B est un évènement rare dont la fréquence est estimée inférieure à 3% des hémophiles B (2,19,88,102,214-216) mais qui nécessite une prise en charge particulière. En effet, on observe alors une diminution ou une abolition de la réponse du patient au traitement substitutif en FIX mais parfois aussi des réactions cutanées, un syndrome néphrotique ou un choc anaphylactique.

○ Mécanisme du développement d'inhibiteurs et facteurs de risque

L'allo-immunisation est une réponse immunitaire humorale. Elle nécessite dans un premier temps l'endocytose et la dégradation de molécules de FIX exogènes par des cellules présentatrices d'antigène (CPA) tels que des monocytes, des macrophages, des cellules dendritiques ou des lymphocytes B. Par la suite, certains peptides formés par cette dégradation sont sélectionnés et présentés par la CPA à l'aide d'une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité II (CMH II) aux récepteurs des lymphocytes T CD4+ (TCR) aussi dits lymphocytes T-helper (T_H) ou auxiliaire. Le lymphocyte T est ainsi activé par plusieurs signaux : le peptide antigénique présenté par la CPA, des signaux de costimulation et des cytokines. Une fois activé, ce lymphocyte T va participer à l'activation d'un lymphocyte B ayant préalablement capturé, apprêté et présenté l'antigène. C'est ce lymphocyte B activé qui va se différencier à l'aide de cytokines en plasmocytes sécrétant d'anticorps anti-FIX (217)(voir figure 38).

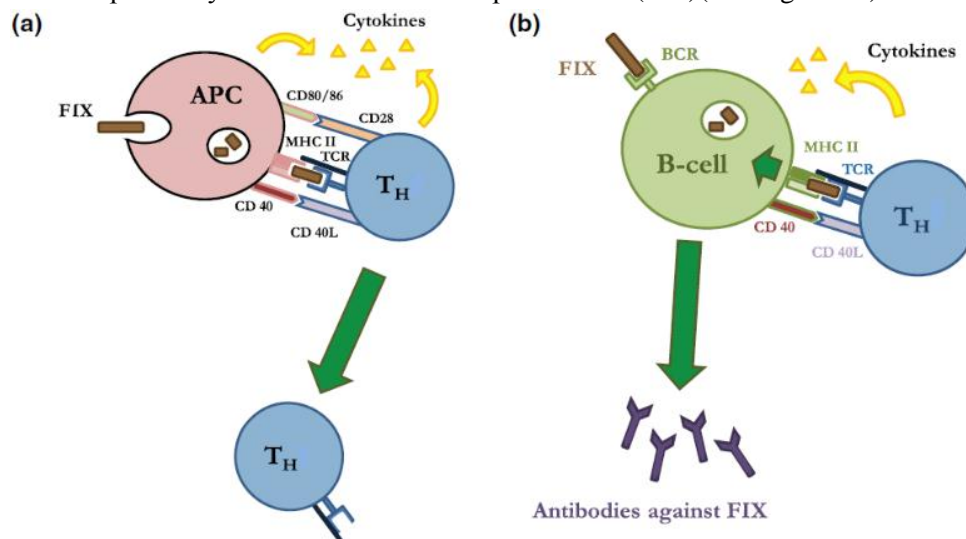


Figure 38. Principe de la réponse immunitaire humorale possible suite à l'injection d'un FIX exogène (218).

(a) Endocytose, dégradation protéolytique, présentation du peptide antigénique par une cellule présentatrice d'antigène (APC) puis activation d'un lymphocyte T_H;
(b) Activation d'un lymphocyte B présentant l'antigène par le T_H activé, la costimulation et les cytokines puis différenciation du lymphocyte B en cellule sécrétrice d'anticorps.

Le phénomène d'allo-immunisation est un phénomène multifactoriel (218-220) qui n'est pas encore totalement compris. Néanmoins plusieurs études s'accordent sur le fait que coexistent des facteurs génétiques et des facteurs non-génétiques.

L'existence de facteurs génétiques vient de l'observation d'un risque de survenue d'anticorps significativement plus élevé dans les familles présentant des antécédents d'inhibiteur (218,221). L'apparition d'inhibiteurs survient presque exclusivement chez des patients avec des remaniements moléculaires majeurs tel qu'une grande délétion (2,30,90,294). Ceci explique que les anticorps inhibiteurs soient plus souvent rencontrés chez les patients hémophiles sévères que modérés ou mineurs (19,30,102). Cependant l'évènement génétique délétère sur le gène *F9* ne suffit pas à prédire l'apparition d'inhibiteurs et des mutations influençant le fonctionnement de la réponse immunitaire sont également étudiées. Ainsi, les régions promotrices de gène codant pour des cytokines, les gènes codant pour des marqueurs de surface cellulaire des T_H ou des marqueurs de signalisation intracellulaire peuvent faire l'objet de mutations qui semblent être associées à une modification du risque de survenue d'inhibiteur. Pour autant la valeur prédictive de ces mutations ne se vérifie pas dans tous les groupes de patients (218). Par ailleurs, les études observationnelles soulignent une plus grande incidence de la survenue d'inhibiteurs chez les patients de race noire (2,221).

La nécessaire prise en compte de facteurs non-génétiques est issue de l'observation que des jumeaux monozygotes peuvent avoir des réponses immunitaires différentes en réaction au traitement (218). Parmi les facteurs envisagés, on peut citer notamment la survenue d'évènements stimulant le système immunitaire (chirurgies, vaccinations, infections), l'intensité et la précocité du traitement, le type de facteurs utilisés, le nombre de jours d'exposition au traitement et le changement de traitement (2,218,222). Le rôle de ces facteurs non-génétiques aussi dits environnementaux est très débattu. Une revue des études cliniques portant sur ces facteurs environnementaux, menée par un groupe d'expert internationaux en hémophilie : l'European Haemophilia Therapy Standardization Board (EHTSB), souligne le manque de preuve scientifique permettant de définir l'influence des différents facteurs non-génétiques (222). Dans ce contexte, les recommandations de l'EHTSB sont d'éviter, dans la mesure du possible, l'injection de traitement substitutif lors d'une situation pro-inflammatoire et de surveiller particulièrement les patients durant les premières expositions au traitement substitutif (222).

Les facteurs de risque d'allo-immunisation sont encore très étudiés car ils devraient permettre une meilleure évaluation du risque d'apparition d'inhibiteurs et donc une meilleure prise en charge précoce des patients hémophiles dans l'avenir (2).

- Diagnostic

Le test classique de quantification des anticorps anti-FIX présents dans le sang du patient se fait par la méthode Bethesda. Dans cette méthode, dans un premier temps on réalise deux mélanges incubés pendant 2h à 37°C : un **mélange test** d'un volume de plasma titré à 100% en FIX et d'un volume de plasma du patient d'une part, et un **mélange contrôle** d'un volume de plasma titré à 100% en FIX et d'un volume de tampon d'autre part (291). Le dosage différentiel du FIX de chaque mélange permet ensuite d'établir un taux résiduel en FIX à l'aide de la formule (291) :

$$\text{Taux de FIX résiduel} = \frac{\text{Taux de FIX mélange test (patient + normal)}}{\text{Taux de FIX mélange contrôle (tampon + normal)}}$$

Plusieurs dilutions du plasma du patient sont testées. Si le taux résiduel est trop bas, donc l'action des anticorps dans le plasma du patient trop élevée, le plasma du patient pourra être encore dilué dans un tampon d'imidazole. Le taux résiduel obtenu est ensuite converti en unités Bethesda (UB) à l'aide d'une droite de conversion semi-logarithmique. Une UB correspond à la quantité d'anticorps anti-FIX contenu dans 1 mL de plasma inactivant 50% des 100% de FIX contenu dans un plasma normal. Plus la quantité d'anticorps inhibiteurs est grande, plus le taux résiduel sera bas, plus le titre d'anticorps en UB par mL sera élevé. En fonction des résultats obtenus au test Bethesda, on distingue deux types de patients avec inhibiteurs: patients **faibles répondeurs** (≤ 5 UB) et patients **forts répondeurs** (> 5 UB) (2). En 1995, la méthode de Nijmegen a modifié la méthode Bethesda en ajoutant un tampon de pH (292) dans le plasma titré à 100% de FIX et utilisant préférentiellement un plasma déplété en FIX plutôt qu'un tampon dans le mélange contrôle. Ces modifications ont permis de diminuer la fréquence d'observation de titre faible d'inhibiteurs sans corrélation clinique (291). La méthode de Nijmegen a été adoptée comme méthode de référence pour la quantification des anticorps inhibiteurs en 1996 par l'ISTH suite à une étude comparative des deux méthodes chez des patients hémophiles A (224). Cette méthode n'a jamais été validée de la même façon dans l'hémophilie B (223).

○ Prise en charge

On distingue généralement deux stratégies thérapeutiques dans la prévention du risque hémorragique selon que le patient soit faible répondeur ou fort répondeur. Pour les patients faibles répondeurs, le traitement substitutif initial reste généralement efficace mais avec une posologie plus forte et une dose de charge initiale dans le but de saturer l'anticorps anti-FIX (2). Dans le cas des patients forts répondeurs, le traitement substitutif en FIX est inefficace et on utilise des médicaments dits « by-passants » capables d'induire une coagulation efficace en absence de FIX. Deux types de produits sont actuellement commercialisés dans cette indication : le complexe prothrombique activé (FEIBA[®]) et le FVII activé recombinant (Novoseven[®]) (229-230). Le rFVIIa est particulièrement indiqué pour les patients hémophiles B avec inhibiteurs en pédiatrie car il a un faible volume de reconstitution et, contrairement au FEIBA[®], il ne contient pas de FIX. Ainsi il permet d'éviter les risques de relance anamnastique de la réponse immune et d'anaphylaxie liés à la réexposition à l'antigène (2). On estime néanmoins que 10 à 20% des épisodes hémorragiques chez les hémophiles fort répondeurs ne peuvent être contrôlés par les agents « by-passants » (266). Une autre problématique est celle de la durée de vie. La demi-vie du FVIIa dans la circulation est d'environ 2,3h (234). Chez la plupart des patients, une hémostase efficace sera obtenue suite à l'injection d'au moins 2 à 3 doses de $90 \mu\text{g.kg}^{-1}$ à 2h d'intervalle. Il y a donc un besoin clinique pour des FVIIa à activité prolongée et amplifiée, que les traitements actuellement en développement tentent de combler (90,234).

Une autre stratégie thérapeutique consiste à essayer de faire disparaître l'anticorps par un traitement de fond de doses répétées de FAH, aussi appelé Induction de Tolérance Immune (ITI). La tolérance est obtenue lorsqu'on observe la disparition de l'activité titrable des anticorps inhibiteurs mais aussi une restauration du taux de récupération et de la demi-vie du FAH injecté (2). Elle est plus difficile à atteindre dans l'hémophilie B (225-226) que dans l'hémophilie A pour des raisons encore inconnues et elle peut se compliquer par l'apparition d'un syndrome néphrotique notamment lors d'ITI à fortes doses de FIX (2,219,226). Dans tous les cas, la difficulté de prise en charge immédiate du jeune enfant qui développe un anticorps neutralisant nécessite une prise en charge pluridisciplinaire spécialisée dans la pédiatrie et l'hémostase (2).

Afin de préserver les bénéfices de la prophylaxie en présence de patients hémophiles forts répondeurs, des prophylaxies par agents « by-passants » (Bypassing Agents Prophylaxis :BAP) sont actuellement envisagées dans différentes situations (227-228) :

- initialement telle une PP
- en remplacement de la prophylaxie substitutive en FAH après développement d'inhibiteurs
- en parallèle de l'ITI
- en PLT après l'échec de l'ITI

Pour autant, les BAP n'ont pas été admises unanimement principalement du fait d'une efficacité hémostatique incomplète des agents « by-passants » comparativement aux FAH et de limitations en termes de coûts et d'adhérence. En effet, si l'espoir des patients hémophiles en absence d'inhibiteur réside notamment dans l'augmentation de la demi-vie des thérapies actuelles et la thérapie génique, un médicament hautement efficace injecté à la même fréquence que les concentrés de FAH actuellement serait déjà une avancée majeure pour les patients en présence d'anticorps neutralisants (4,228). Dans cette optique, de nouvelles thérapies sont actuellement étudiées. Elles devraient permettre de réduire le phénomène d'allo-immunisation chez les patients hémophiles B tout en les prévenant efficacement du risque hémorragique (220).

Conscients des complications liées aux thérapies actuelles de l'hémophilie B, l'industrie pharmaceutique, les soignants et les chercheurs sont aujourd'hui mobilisés pour améliorer les thérapies substitutives. Allonger la demi-vie, améliorer l'activité procoagulante, atténuer l'immunogénicité, réduire les prix des traitements sont autant d'objectifs que visent les thérapies actuellement en développement à l'aide du génie génétique et biopharmaceutique (231). La troisième partie de cette thèse sera consacrée à ces perspectives nombreuses dans le traitement de l'hémophilie B à l'origine des traitements actuels de demain.

**CHAPITRE III : PERSPECTIVES
DANS LE TRAITEMENT DE
L'HÉMOPHILIE B**

I. ALLONGER LA DEMI-VIE PLASMATIQUE DU FIX INJECTÉ

L'approche la plus souvent envisagée en réponse au problème des injections fréquentes de traitement substitutif et de la perte progressive d'adhérence qui en résulte chez certains patients est la modification du FIX par génie génétique afin d'en allonger de la demi-vie plasmatique (220). Dans cette optique, deux méthodes sont actuellement envisagées :

- La conjugaison avec des polymères hydrophiles
- La fusion avec une protéine porteuse à demi-vie longue

I.1. Conjugaison à des polymères hydrophiles

- Principe

Cette méthode consiste à lier de façon covalente une ou plusieurs chaînes de polymères hydrophiles sur une protéine d'intérêt afin d'en modifier les propriétés PK. Le polymère principalement utilisé est le polyéthylène glycol (PEG) et la conjugaison porte alors le nom de PEGylation (231).

La PEGylation repose sur l'utilisation des propriétés chimiques et pharmacocinétiques du PEG au profit de la protéine d'intérêt. Le PEG dispose d'une grande solubilité en milieu aqueux et en milieu organique. On en retrouve dans certains produits de consommation courante : gel dentifrice, shampoings, savons, parfums (246). Il se distingue notamment par l'augmentation très importante de son volume hydrodynamique lors de l'hydratation, à l'origine de son utilisation dans certaines spécialités pharmaceutiques en tant que laxatif osmotique sous le terme de macrogol. Hautement hydratée, chaque unité éthylène glycol peut se lier à deux molécules d'eau et ainsi un PEG peut avoir un rayon cinq à dix fois plus grand qu'initialement (233). L'augmentation significative de la taille de la protéine PEGylée occasionne une diminution de la clairance rénale par filtration et une diminution de la diffusion transmembranaire qui contribuent à maintenir plus longtemps la protéine dans la circulation sanguine (231-234). De plus, l'encombrement stérique créé par les PEG est à l'origine d'un effet « écran » qui protège la protéine d'intérêt de la dégradation enzymatique protéolytique par masquage de certains sites d'action. Cet effet « écran » est d'autant plus fort que l'affinité de la protéase pour la protéine d'intérêt est faible (233). L'augmentation de la demi-vie du fait de la PEGylation est donc principalement liée à cette diminution de la clairance totale issue à la fois de la diminution de la clairance rénale et de la protection contre la protéolyse. Mais la PEGylation permet également le masquage de certains épitopes de la protéine contribuant ainsi à une réduction de l'immunogénicité (231-234). Dans de rares cas cependant, l'effet inverse a été observé avec une formation accrue d'anticorps neutralisants notamment dans le développement de la PEG-asparaginase et du PEG-interféron β_{1a} (234,246). Par ailleurs, un autre inconvénient potentiel des PEG réside dans le fait qu'ils ne sont pas biodégradables et leur excrétion ne peut se faire que lentement par voie urinaire ou fécale (246). Ils présentent donc des risques potentiels du fait de leur accumulation possible dans le corps humain.

La première protéine thérapeutique PEGylée : la PEG-adénosine désaminase luttant contre le déficit immunitaire combiné sévère (DICS), a été approuvée par la FDA en 1990 sous le nom d'Adagen®. Initialement la méthode utilisée était une PEGylation aléatoire de la protéine d'intérêt avec des PEG de petites tailles jusqu'à 5 kDa avec un nombre variable de PEG fixés par protéine (235). Le principal défaut de la PEGylation aléatoire est que la liaison aléatoire des PEG peut interférer avec les sites de fixation aux cofacteurs et aux récepteurs de la protéine, diminuant ainsi l'affinité de la protéine et son effet pharmacodynamique (PD) (233-234). Aussi des PEGylations ciblées ont vu le jour, basées sur la conjugaison de seulement un ou deux PEG de grande taille par protéine sur des sites de liaison spécifiques déterminés ou introduits par génie génétique (235) (voir figure 39). Depuis l'Adagen®, au moins une dizaine de protéines thérapeutiques PEGylées ont été approuvées par la FDA et l'EMA (232-235) : aussi bien des enzymes comme la L-asparaginase, que des cytokines : interféron- α 2b, G-CSF, ou des hormones et de nombreuses autres protéines PEGylées sont en développement, notamment dans l'hémophilie (233,235).

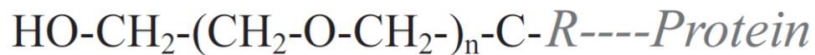


Figure 39. Structure schématique d'une protéine mono-PEGylée (235)

n : nombre de répétitions; R : séquence de liaison

○ Molécule PEGylée en développement dans le traitement de l'hémophilie B

Au cours du développement d'un médicament dans le traitement de l'hémophilie B, comme dans le développement de tout médicament, plusieurs étapes sont nécessaires :

- ✓ Essais précliniques : réalisés chez les animaux pour déterminer notamment l'activité, le mécanisme d'action, la toxicité.
- ✓ Essais cliniques pré-AMM : réalisés chez l'Homme
 - ❖ **Phase I** : évalue à court terme la sécurité d'emploi en fonction de la dose : tolérance et détermine la dose maximale sans effets indésirables par administration unique, les premières données de PK et de PD chez un petit effectif de sujets sains.
 - ❖ **Phase II** : évalue à court terme l'effet PD, PK, recherche la dose optimale et les interactions par administration unique ou répétée chez des petits effectifs de sujets sains (IIa) ou malades (IIb)
 - ❖ **Phase III** : démontre la preuve de l'intérêt d'un médicament en étudiant à plus grande échelle la PD en situation thérapeutique chez les malades tout en le comparant au placebo ou au traitement de référence.
- ✓ Essais cliniques post-AMM
 - ❖ **Phase IV** : mesure l'efficacité à long terme, la tolérance et les effets indésirables chez les patients dans un objectif de pharmacovigilance.

Dans le cas de l'hémophilie B, la distinction entre sujets sains et malades est souvent remplacée par la distinction entre :

- patients hémophiles à qui on administre le médicament testé en dehors de tout traitement d'épisode hémorragique donc en absence d'épisode hémorragique également (phase I et IIa)
- et patients hémophiles à qui on administre le médicament testé dans le cadre du traitement des épisodes hémorragiques : prophylactique ou à la demande (phase IIb, III et IV).

De plus, pour des raisons éthiques, la thérapie en développement n'est jamais comparée au placebo chez l'Homme mais toujours au traitement de référence du patient hémophile.

Dans le domaine de l'hémophilie B, un FIX PEGylé à demi-vie longue est maintenant en phase III de son développement clinique par le laboratoire Novo Nordisk™ sous le nom provisoire de N9-GP. Le N9-GP est un rFIX glycoPEGylé par des PEG de 40kDa liés spécifiquement à des N-glycanes situés sur le peptide d'activation du FIX. Le rFIX du N9-GP a une structure primaire identique au Benefix® et est produit par des CHO. La glycoPEGylation est réalisée enzymatiquement sur un N-glycane par liaison d'un groupement d'acide sialique conjugué au PEG de 40kDa en remplacement de l'acide sialique terminal du N-glycane. Les deux sites N-glycosylés du FIX constituent donc les deux sites de PEGylation possibles (voir figure 3). Ils sont situés au sein du peptide d'activation au niveau des résidus asparagine 157 et 167. Dans 80% des cas, le N9-GP est mono-PEGylé avec une répartition environ égale entre les deux sites possibles (89). Lors de l'activation du FIX, le peptide d'activation et le PEG conjugué sont clivés et libèrent le FIXa. Si l'activité spécifique du N9-GP est inférieure de 27% à celle du rFIX non glycoPEGylé (N9) lors du dosage coagulométrique, les paramètres élastographiques obtenus à partir de sang total de patients hémophiles B modérés et sévères sont semblables (245).

Les essais de phase I du N9-GP (NCT00956345) ont été réalisés sur des patients hémophiles B modérés ou sévères ($\leq 2\%$) adultes en absence de saignements au moment de l'étude et avec au moins 150 jours d'exposition préalables à un traitement substitutif (89). Elle avait pour objectif d'évaluer la sécurité et de déterminer les propriétés pharmacocinétiques du N9-GP comparativement au traitement précédent des patients : rFIX ou pdFIX. Trois cohortes de patients ont été réalisées afin d'expérimenter différentes doses : 25U.kg^{-1} , 50U.kg^{-1} et 100U.kg^{-1} (89). Chaque patient a donc reçu une dose de son traitement substitutif précédent puis, suite à une période de lavage, la même dose de N9-GP. Pour chaque traitement étudié, les paramètres PK sont ceux d'une dose unique en intraveineuse à partir d'un modèle non-compartmental et sur la base de la mesure de l'activité du FIX. Ce modèle pharmacocinétique ne nécessite pas l'hypothèse d'un nombre de compartiment pour le calcul des paramètres PK. Il se rapproche néanmoins du modèle monocompartimental car il s'applique aux molécules ayant une cinétique de premier ordre, notamment dans le calcul de la demi-vie (237). Pour la mesure de l'activité, une UI de FIX a été considérée égale à une unité (U) de N9-GP. Les dosages d'activité sont réalisés avant injection puis à plusieurs reprises entre 0,5 et 48h post-injection pour le rFIX et le pdFIX et entre 0,5 et 168h post-injection pour le N9-GP (voir figure 40). Au total, seize patients ont été exposés au N9-GP. Les paramètres PK étudiés sont l'IVR sur la base du pic plasmatique à 30 minutes (IVR_{30}), la $t_{1/2}$, l'AUC, la clairance (Cl) et le volume de distribution (V_d).

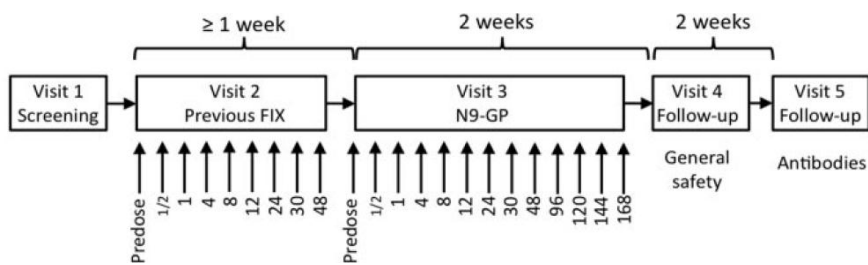


Figure 40. Conception schématique de l'essai NCT00956345 (89)

Les flèches noires verticales indiquent les prélèvements sanguins pré-injection et l'heure des prélèvements post-injections

Concernant la sécurité toxicologique du N9-GP et de son accumulation possible, elle est évaluée à part conformément aux recommandations internationales. Les auteurs soulignent que des traitements commercialisés occasionnant une exposition aux PEG supérieure à celle issue d'une prophylaxie de N9-GP n'ont pas révélé de problèmes de sécurité toxicologique liés aux PEG (89).

Aucun développement d'anticorps inhibiteurs contre le FIX ou le N9-GP n'a été détecté chez les patients suite à l'administration de N9-GP. Onze effets secondaires ont été observés chez six (37,5%) patients exposés au N9-GP : dix étaient modérés ou mineurs dont seulement trois ont été jugés possiblement liés au N9-GP, et un seul était sévère et probablement lié au N9-GP. Cet effet secondaire sévère fut une réaction d'hypersensibilité durant l'administration du N9-GP caractérisée notamment par une paresthésie des membres supérieurs, inférieurs et de la face. Les auteurs soulignent néanmoins que des réactions d'hypersensibilité ont été rapportées pour tous les concentrés de FIX commercialisés. Suite à cet évènement inexpliqué en amont et en aval duquel aucun anticorps n'a été détecté, le patient a été retiré de l'analyse PK (89).

Sur les quinze patients restants, huit utilisaient du pdFIX et sept utilisaient du rFIX. L'analyse pharmacocinétique dans la gamme de doses étudiée semble indiquer une relation linéaire en fonction de la dose administrée de N9-GP pour l'AUC et l'activité biologique plasmatique à 30 minutes post-injection. Cette hypothèse de linéarité appliquée au N9-GP, au pdFIX et au rFIX permet d'estimer l'AUC et l'activité plasmatique de tous les patients pour une injection initiale de 50U.kg⁻¹(voir figure 41). Les résultats observés sont les suivants pour le N9-GP (89) :

- la Cl moyenne est ralentie d'un facteur 10 comparativement aux rFIX et pdFIX
- **le t_{1/2} moyen est environ 5 fois plus long que celui des rFIX et pdFIX**
- l'IVR₃₀ moyen est 94% plus élevée que celle du rFIX et non significativement différente du pdFIX
- le Vd moyen est réduit de moitié par rapport au rFIX et pdFIX
- l'AUC moyenne ajustée à 50U.kg⁻¹ est 10 fois supérieure à celle du rFIX et 8 fois supérieure à celle du pdFIX

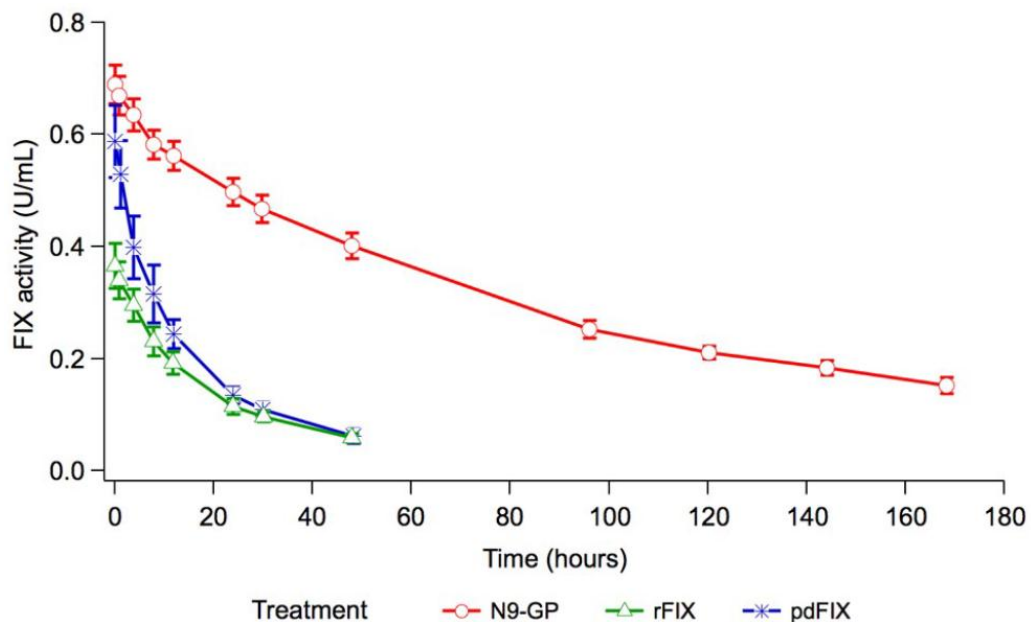


Figure 41. Profils des activités plasmatiques moyennes en FIX estimées chez 15 patients hémophiles B adultes modérés et sévères ($\leq 2\%$) en réponse à différents traitements, pour une dose injectée de 50 U.kg⁻¹ selon une hypothèse de linéarité des activités plasmatiques en fonction de la dose injectée (89). La courbe N9-GP (courbe o) représente les données de 15 patients dont 7 étaient préalablement traités par rFIX (courbe Δ) et 8 par pdFIX (courbe *).

En ajustant l'activité plasmatique des patients à une dose administrée de 50 U.kg⁻¹, les temps moyens post-injection de N9-GP pour atteindre une activité plasmatique de FIX de 3% puis de 1% sont de 16,2

jours et 22,5 jours respectivement. Ces derniers résultats sont limités par le fait qu'après 168h, l'activité plasmatique n'a été mesurée qu'à deux et à quatre semaines post-dose, sur des patients n'ayant pas reçus d'injection de FIX depuis l'administration de N9-GP : soit sur onze patients à deux semaines et seulement quatre patients à quatre semaines.

Néanmoins l'ensemble des résultats confirment la diminution de la CI et l'augmentation de la demi-vie du FIX du fait de la glycoPEGylation site-spécifique réalisée. La forte diminution du volume de distribution suggère que le N9-GP circule principalement dans le sang et est peu diffusé dans les tissus. La demi-vie longue du N9-GP devrait donc permettre d'envisager une prophylaxie à la fréquence d'une injection hebdomadaire ou moins fréquemment encore, soit un progrès considérable pour l'adhérence des patients et indirectement pour le succès de la PLT.

L'étude de la sécurité et l'efficacité du N9-GP dans le traitement à la demande des hémorragies et la prophylaxie chez des patients hémophiles B adultes modérés ou sévères ($\leq 2\%$) (NCT01333111) est en cours et devrait être terminée en avril 2013. D'autres essais cliniques sont actuellement mis en place et réalisés afin d'évaluer l'efficacité à long-terme de la molécule sur les patients adultes d'une part (NCT01395810) et afin d'évaluer la sécurité, l'efficacité et les paramètres pharmacocinétiques de la molécule chez des enfants préalablement traités d'autre part (NCT01467427). Les résultats finaux de ces deux études sont attendus pour janvier 2016 en théorie (236). Enfin, l'indication de cette molécule dans la chirurgie des patients hémophiles B fait également l'objet d'un essai clinique (NCT01386528).

○ Autres conjugaisons ou liaisons à un polymère hydrophile possibles

Le FIX peut également être conjugué à l'acide polysialique (PSA) par une réaction de polysialylation. La conjugaison aux PSA est une stratégie alternative à la PEGylation qui permet de charger négativement la surface de la protéine, contribue à augmenter la taille de la protéine et prolonge sa demi-vie par un mécanisme très semblable de « nuage aqueux » (90,232). La principale différence avec le PEG est que l'acide sialique, aussi appelé acide N-acétylneuraminique (NANA) est une substance naturellement produite par le corps à la surface de nombreuses cellules et protéines. Le NANA est biodégradable, ce qui rend possible son administration à des doses importantes sur des longues périodes de temps contrairement au PEG qui aura tendance à s'accumuler dans une telle situation (232). La polysialylation est réalisée sur plusieurs protéines thérapeutiques commercialisées telles que la L-asparaginase, l'interféron ou l'insuline par exemple et a fait l'objet d'études précliniques sur le FVIII (90). Concernant l'hémophilie B, un PSA-FIX est actuellement en développement préclinique par les laboratoires Baxter™ et Xenetic Biosciences™.

Une autre stratégie thérapeutique, déjà envisagée pour le FVIII et le FVII, est l'utilisation de liposomes PEGylés comme protéines porteuses du facteur de coagulation (234). Le facteur de coagulation est lié de façon non-covalente au liposome PEGylé via un résidu PEG comportant une séquence consensus. L'intérêt de cette formulation dite « PEGlip » est triple en théorie. Tout d'abord, la structure du facteur de coagulation demeure inchangée donc ses interactions également en théorie (232). Cette formulation permet aussi d'apporter au liposome et donc au facteur de coagulation un allongement de demi-vie par les PEG (232). Enfin, le liposome PEGylé dispose d'une meilleure affinité pour les plaquettes dont bénéficie le FVIIa ou le FVIIIa porté (234). Cette formulation, actuellement expérimentée dans des essais cliniques (PEGLip-FVIIIa, NCT00245297) et précliniques (PEGLip-FVIIa), devrait permettre d'accélérer la formation du caillot sanguin et d'augmenter sa résistance à la fibrinolyse (234,236). Des recherches doivent encore être effectuées afin d'établir si cette formulation est adaptable au FIX.

I.2. Protéines fusion

○ Principe

Cette stratégie consiste à utiliser le génie génétique afin de fusionner une protéine de demi-vie plus longue à une extrémité de la protéine d'intérêt. L'albumine et le fragment constant (Fc) des immunoglobulines de type G (IgG) sont tous deux de bons candidats pour être fusionnés avec la protéine d'intérêt. En effet, ils sont présents dans la circulation sanguine à une concentration élevée et ont une demi-vie très longue : supérieure à 20 jours (231). Cette longue demi-vie est associée à un mode de protection du catabolisme et un recyclage particulier lié au récepteur néonatal du fragment Fc (FcRn). Le FcRn est une molécule apparentée au CMH de classe I qui marque le soi. Ce récepteur peut prendre en charge les IgG et l'albumine grâce à des liaisons pH-dépendantes : la liaison est possible à pH acide (< 6,5) mais elle ne l'est pas à pH physiologique (7,4). Ainsi lorsque ces protéines plasmatiques sont internalisées dans les cellules endothéliales pour y être dégradées à pH acide au sein des lysosomes, elles sont transitoirement protégées par leur fixation sur le FcRn puis relâchées dans la circulation sanguine à pH physiologique (voir figure 42). La protéine d'intérêt fusionnée se protégerait donc elle aussi du catabolisme par le même mécanisme.

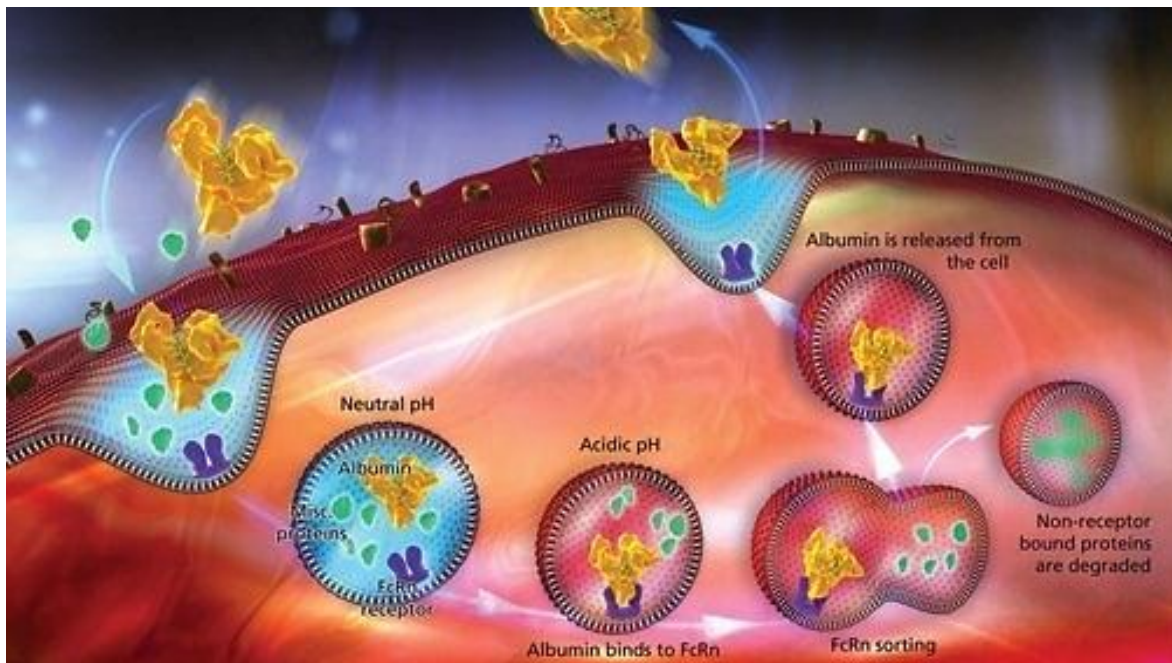


Figure 42. Schéma représentant le mécanisme hypothétique de recyclage pH-dépendant de l'albumine plasmatisque par liaison au FcRn (247)
L'albumine se lie (bind) au FcRn à pH acide contrairement aux diverses (miscellaneous) protéines non liées qui seront dégradées.

Cette méthode de fusion au fragment Fc ou à l'albumine pour allonger la demi-vie de la protéine d'intérêt, a déjà été utilisée avec succès (238). C'est notamment le cas du récepteur soluble du TNF α fusionné à un Fc : Enbrel[®], qui est indiqué comme anti-TNF α par inhibition compétitive dans le traitement de certaines maladies auto-immunes (234). D'autres protéines fusion sont actuellement étudiées : insuline, urokinase, ainsi que plusieurs facteurs de coagulation dont le facteur IX (231,234).

○ Protéines fusion en développement dans le traitement de l'hémophilie B

Parmi les FIX fusion actuellement en développement préclinique ou clinique, deux sont dans des phases avancées : le rFIXFc issu d'une fusion avec un fragment Fc d'une IgG₁(Biogen™) en phase III et le rIX-FP issu d'une fusion avec l'albumine (CSL Behring™) en phase II/III. Un autre FIX fusion : le FIX-CTP, dont le développement en est au stade préclinique, est issu de la fusion avec un peptide C-terminal de la β-hCG (Prolor™).

➤ rFIXFc

Le rFIXFc est produit dans des cellules d'embryon de rein humain immortalisées : Human Embryonic Kidney 293 : HEK 293. Le rFIXFc sécrété consiste en un rFIX fusionné par son extrémité C-terminale de façon covalente à l'extrémité N-terminale d'un monomère de Fc qui forme un pont disulfure avec un autre monomère de Fc lors de la synthèse et la sécrétion (240). Contrairement à d'autres molécules comme rIX-FP qui sera évoqué par la suite (cf Chap.III.1., p.137), la protéine de demi-vie longue fusionnée au FIX n'est pas clivée lors de l'activation du FIX dans le cas du rFIXFc.

Lors des essais cliniques de développement en phase I et IIa (NCT00716716), quatorze patients hémophiles B modérés ou sévères adultes ($\leq 2\%$) avec au moins 150 jours d'exposition préalables à un traitement substitutif ont reçu une dose unique de rFIXFc. Quatre ont reçu respectivement une dose de 1, 5, 12,5 ou 25 IU.kg⁻¹, cinq ont reçu 50 IU.kg⁻¹ et les cinq autres ont reçu 100 IU.kg⁻¹(240). L'objectif de l'essai était d'évaluer la sécurité du rFIXFc sur 30 jours et d'en évaluer les paramètres PK sur la gamme de doses injectées étudiées. Dans cet objectif, des prélèvements sanguins ont été réalisés pour les doses administrées supérieures ou égales à 12,5 IU.kg⁻¹ avant l'injection et à plusieurs reprises entre 15 minutes et 240h post-injection. Des prélèvements supplémentaires à 12 et à 14 jours ont été réalisées pour le groupe 100 IU.kg⁻¹. Les paramètres PK tels que la Cl, le t_{1/2}, l'IVR, le Vd, la C_{max} et le MRT ont été déterminés pour les patients ayant reçus 25, 50 ou 100 IU.kg⁻¹ à l'aide d'une modélisation bi-compartmentale. Contrairement à l'essai réalisé sur le N9-GP évoqué précédemment (89), l'objectif de cet essai n'était pas de réaliser une comparaison avec les traitements substitutifs de référence. Pour néanmoins replacer les paramètres PK obtenus dans leur contexte, les paramètres PK des RCP du Benefix® (73,127) ont parfois été utilisés comme point de comparaison (240).

Au cours de l'étude, sept patients ont présenté des effets indésirables dont la plupart sont mineurs ou modérés. C'est notamment le cas d'un patient du groupe 50 IU.kg⁻¹ qui a ressenti une céphalée et une dysgueusie. Deux sujets ont eu des effets secondaires sévères nécessitant une hospitalisation : adhérences abdominales et dépression, mais aucun n'a été jugé comme étant lié au rFIXFc. Aucune réaction allergique, aucune thrombogénicité et aucun développement d'anticorps neutralisant dirigés contre le FIX ou le rFIXFc n'ont été détectés.

L'analyse PK des doses de 25, 50 et 100 IU.kg⁻¹ semble indiquer une relation linéaire en fonction de la dose administrée de rFIXFc pour l'AUC et l'activité biologique plasmatique maximale post-injection. Les résultats observés sont les suivants pour le rFIXFc (240) :

- la Cl moyenne est environ 2,6 fois inférieure à celle rapportée pour le rFIX
- **le t_{1/2} d'élimination et le MRT moyens sont environ 3 fois supérieurs à ceux rapportés pour le Benefix®**
- l'IVR moyen est supérieur de 24% par rapport à celui rapporté pour le Benefix® mais la différence n'est pas significative.

L'ensemble des résultats est cohérent avec les résultats déjà obtenus dans les études précliniques précédentes réalisées chez des souris, des rats, des chiens et des macaques (239). D'après les auteurs, la meilleure récupération du rFIXFc pourrait être liée au fragment Fc ou à la supériorité de la lignée cellulaire HEK293 dans les modifications post-traductionnelles d'une protéine destinée à l'Homme comparativement à la lignée CHO issus de rongeurs (239,241).

Le temps moyen pour atteindre 3% puis 1% est proportionnel à la dose de rFIXFc administrée. Dans le groupe des 50 UI.kg⁻¹, ces temps sont en moyenne 6,3 et 10,1 jours respectivement (240). À partir des données PK obtenues sur 11 patients dans cet essai de phase I/IIa, les auteurs ont pu réaliser un modèle PK sur lequel ils ont réalisé une simulation de Monte Carlo (voir figure 43). Cette simulation permet de générer aléatoirement un grand nombre d'évènements : des profils d'activité en l'occurrence, sur la base de données PK, des variances interindividuelles préalablement calculées. Ainsi les auteurs ont simulé les profils d'activité hypothétiques de 1 000 patients. Cette simulation leur permet de suggérer plusieurs fréquences et doses d'injections de rFIXFc dans le cadre d'un traitement prophylactique visant au minimum 1% d'activité plasmatique : 20 UI.kg⁻¹ une fois par semaine ou 40 UI.kg⁻¹ tous les 10 jours ou 100 UI.kg⁻¹ toutes les deux semaines.

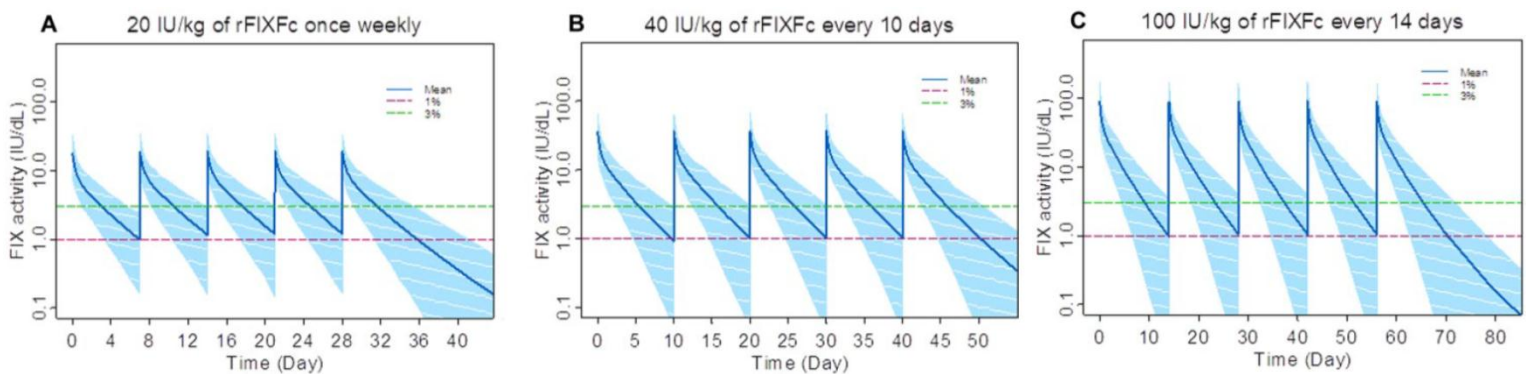


Figure 43. Profils d'activité plasmatiques hypothétiques de 1 000 patients hémophiles B sévères ou modérés ($\leq 2\%$) adultes obtenus par simulation de Monte Carlo sur la base des paramètres PK et des variances obtenus lors d'essais de phase I/IIa sur 11 patients, dans le cadre d'une prophylaxie visant une activité plasmatique supérieure ou égale à 1% selon différentes modalités de dose et de fréquence d'injection de rFIXFc (240). Les fréquences d'injection testées ont été une fois par semaine (A), une fois tous les 10 jours (B) et une fois toutes les deux semaines (C). La dose choisie est celle qui permet en moyenne (trait plein) de ne pas passer en-dessous de 1% d'activité plasmatique (pointillé rouge) pour la fréquence d'injection fixée sur cinq cycles.

Les résultats d'une étude de phase IIb/III réalisée auprès de 105 patients hémophiles B modérés et sévères ($\leq 2\%$) entre 12 et 65 ans, étudiant notamment différents schémas thérapeutiques et l'usage du rFIXFc en chirurgie (NCT01027364), devraient être publiés prochainement. En phase III, deux autres essais sont en cours. C'est le cas de l'étude de la sécurité, de la PK et de l'efficacité du rFIXFc dans le traitement à la demande des hémorragies et la prophylaxie chez des patients hémophiles B adultes modérés ou sévères (NCT01425723) qui devrait être terminée en décembre 2015. Un autre essai clinique mis en place depuis février 2012 évalue la sécurité, l'efficacité et les paramètres PK du rFIXFc chez des enfants préalablement traités (NCT01440946) et devrait se terminer en février 2015 (236).

➤ rIX-FP

Le rIX-FP est une protéine recombinante de fusion de haute pureté produite en CHO liant le FIX par son extrémité C-terminale à l'albumine via un lien clivable (voir figure 44). Ce court lien peptidique est en fait issu d'une séquence du FIX endogène impliquée dans l'activation du FIX par clivage. Ainsi lors de l'activation physiologique du FIX, ce dernier se sépare simultanément du peptide d'activation et du résidu albumine (241).

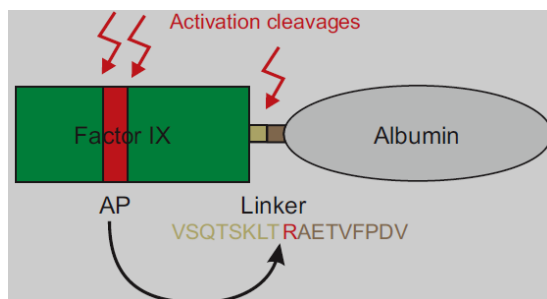


Figure 44. Représentation schématique du rIX-FP (238)
Le lien clivable dérivé du peptide d'activation (AP) est inséré entre l'albumine et le rFIX

Dans un premier temps, une protéine fusion proche, avec un lien glycine-sérine flexible mais non clivable, a été envisagée mais son activité était bien plus faible que celle d'un rFIX classique. Ceci était probablement dû à la présence de l'albumine qui limitait les interactions du FIX avec les autres facteurs de coagulation (238). L'introduction du lien clivable a permis de multiplier l'activité spécifique molaire du FIX fusion par un facteur 10 à 30 (voir tableau XIV). Malgré cela, l'activité spécifique du rIX-FP demeure inférieure à celle du rFIX ou du pdFIX (242). Mais cette protéine fusion a d'autres qualités (238,242).

Tableau XIV. Activités spécifiques de différents FIX (242)

La composition des liens (linker) : Glycine (G ou Gly), Valine (V), Sérine (Ser), est indiquée lorsqu'ils ne sont pas clivables (cleavable)

Sample	Linker	Molar specific activity (IU/nmol)
BeneFIX® (rFIX)	-	14.4
Mononine® (pd FIX)	-	11.2
rFIX FP	(G) ₆ V	0.2
rFIX FP	Gly/Ser	0.7
rIX-FP (HEK-293 cells)	Cleavable	5.0
rIX-FP (CHO cells)	Cleavable	6.7

Les essais de phase I du rIX-FP (NCT01233440) ont été réalisés sur 25 patients hémophiles B modérés ou sévères ($\leq 2\%$) entre 12 et 65 ans en absence de saignements au moment de l'étude et avec au moins 150 jours d'exposition préalables à un traitement substitutif (241). L'étude avait pour objectif d'évaluer la sécurité et de déterminer les propriétés PK d'une injection de rIX-FP aux doses de 25, 50 et 75 IU.kg⁻¹. Pour la dose 50 IU.kg⁻¹, l'objectif était aussi de comparer le rIX-FP au traitement précédent des patients : rFIX ou pdFIX. Certains patients ont été autorisés à expérimenter deux doses différentes de rIX-FP entrecoupées d'une période de lavage d'au moins deux semaines. Quatre patients ont été retirés de l'étude pour l'analyse PK en raison d'épisodes hémorragiques ou d'erreurs pré-analytiques et, parmi les vingt-et-

un restants, quinze ont également reçu une injection de leur ancien traitement à 50 IU.kg⁻¹. Pour chaque traitement étudié, les paramètres PK sont ceux d'une dose unique en intraveineuse à partir d'un modèle non-compartmental et sur la base de la mesure de l'activité du FIX. Pour la mesure de l'activité, une UI de FIX a été considérée égale à une unité (U) de rIX-FP. Les dosages d'activité sont réalisés avant injection puis à plusieurs reprises entre 0,5 et 336 h post-injection pour le rIX-FP et entre 0,5 et 48h post-injection pour le rFIX et le pdFIX. Les paramètres PK étudiés sont l'IVR₃₀, la t_{1/2}, le temps de résidence moyen (MRT), l'AUC, la C_{max}, la clairance (Cl) et le volume de distribution (V_d).

Concernant la sécurité, aucune réaction d'hypersensibilité et aucun développement d'anticorps inhibiteurs contre FIX ou le rIX-FP n'ont été détectés chez les patients suite à l'administration de rIX-FP. Vingt-deux effets secondaires ont été observés chez treize patients exposés au rIX-FP: tous étaient mineurs à l'exception d'un effet secondaire modéré : une douleur abdominale jugée comme n'étant pas liée à l'injection de rIX-FP. Parmi les effets secondaires mineurs possiblement liés au rFIX-FP, on retrouve chez trois sujets : maux de tête, bouffée de chaleur, constipation, érythème au point d'injection (241).

Au terme de l'étude PK réalisée comparativement pour différentes doses de rIX-FP, les auteurs concluent à une proportionnalité approximative de l'AUC et de la C_{max} à la dose administrée. Sur les quinze patients auxquels a également été injecté l'ancien traitement, cinq utilisaient du pdFIX et dix utilisaient du rFIX. Comme évoqué précédemment, certains ont été retirés de l'analyse PK. Les résultats observés pour une dose de 50 IU.kg⁻¹ sont les suivants pour le rIX-FP (241) (voir figure 45) :

- la Cl moyenne est environ 7 fois inférieure à celle du rFIX et 6 fois inférieure à celle du pdFIX
- **le t_{1/2} moyen est environ 5,3 et 5,8 fois plus long que celui du rFIX et du pdFIX respectivement**
- l'IVR₃₀ moyen est 44% plus élevée que celle du rFIX et 29% plus élevée que celle du pdFIX
- le Vd moyen est réduit de 28% par rapport au rFIX et est non significativement différent du pdFIX
- l'AUC moyenne est environ 7 fois supérieure à celle du rFIX et 6 fois supérieure à celle du pdFIX

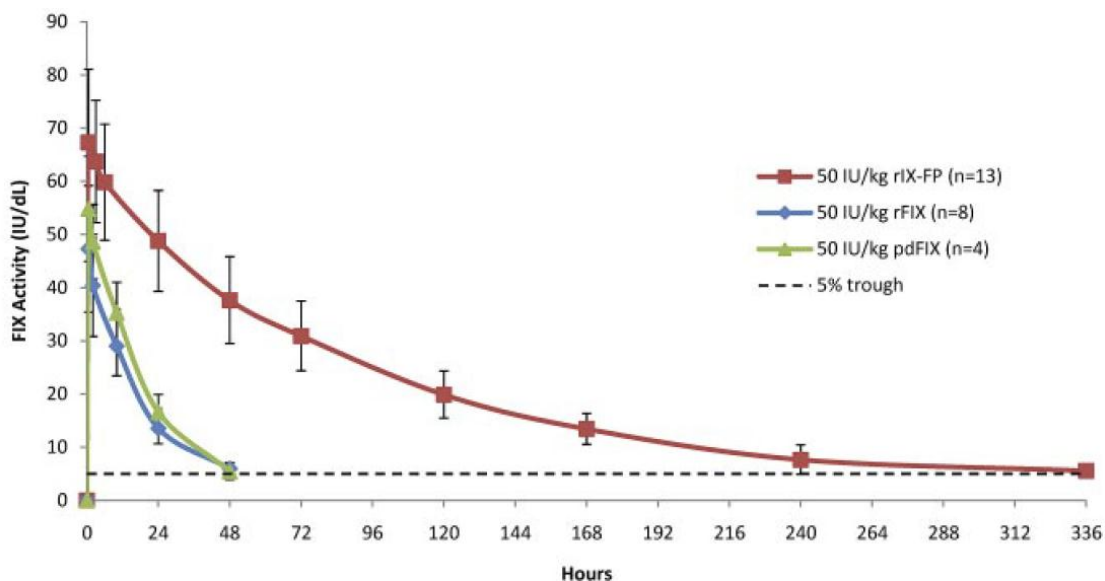


Figure 45. Profils des activités plasmatiques moyennes en FIX estimées chez 13 patients hémophiles B modérés et sévères (≤2%) entre 12 et 65 ans en réponse à différents traitements, pour une dose injectée de 50 U.kg⁻¹ (241).

La courbe rIX-FP (courbe □) représente les données de 13 patients dont 8 étaient préalablement traités par rFIX (courbe ◇) et 4 par pdFIX (courbe Δ). La droite en pointillés représente un niveau d'activité biologique plasmatique de 5%.

Au terme de l'étude de l'activité plasmatique du rFIX-FP, c'est-à-dire au bout de 336h (14j), il est intéressant d'observer que le niveau d'activité plasmatique est encore environ de 5% soit le niveau atteint avec le pdFIX et le rFIX au bout de 48h avec le même dosage (241) (voir figure 45). L'ensemble de ces résultats confirment les résultats d'études déjà réalisées chez le rat, le lapin, la souris, le chien et le macaque qui indiquaient déjà des propriétés PK bien meilleures pour le rIX-FP malgré une activité spécifique plus faible (238,242).

Les résultats d'une étude de phase I/II réalisée auprès 17 patients hémophiles B modérés et sévères ($\leq 2\%$) entre 12 et 65 ans, étudiant la sécurité et l'efficacité du rIX-FP dans le contrôle et la prévention des épisodes hémorragiques (NCT01361126) devraient être publiés prochainement. En phase II/III, un essai clinique étudie actuellement la sécurité, la PK et de l'efficacité du rIX-FP dans le traitement à la demande des hémorragies et la prophylaxie chez 60 patients hémophiles B modérés ou sévères entre 12 et 65 ans (NCT01496274). Cet essai devrait se terminer en septembre 2013. En phase III, un autre essai clinique mis en place depuis septembre 2012 évalue la sécurité, l'efficacité et les paramètres PK du rIX-FP chez des enfants préalablement traités (NCT01662531) et devrait se terminer en mars 2016 (236).

➤ FIX-CTP

Le FIX-CTP est sécrété par des CHO. Il est issu de la fusion d'un peptide C-terminal (CTP) de la sous-unité β de l'hormone gonadotrophine chorionique humaine (β -hCG) avec le FIX. Cette technologie de fusion au CTP est actuellement utilisée pour allonger la demi-vie d'une hormone de croissance humaine (hGH) dans des essais cliniques en phase IIb chez des enfants avec déficit en hormone de croissance sous le nom MOD-4023 (NCT01592500) (236). Le mécanisme à l'origine de l'allongement de la demi-vie n'est pas totalement éclairci. Le développement du FIX-CTP en est au stade préclinique. Des expériences réalisées sur des souris déficientes en FIX ont montré une demi-vie du FIX-CTP quatre fois supérieure, une IVR deux fois plus élevée comparativement au rFIX, malgré une activité spécifique légèrement plus faible (244). Le FIX-CTP a également été bien toléré par les souris. Cette protéine fusion devra donc être étudiée plus encore.

I.3. Synthèse sur l'allongement de la demi-vie du FIX

Allonger la demi-vie du FIX est aujourd'hui une des approches les plus souvent envisagées dans les perspectives de traitements pour l'hémophilie B, comme en témoignent les nombreuses thérapies en développement clinique très avancé (voir tableau XV).

Tableau XV. Tableau récapitulatif des principaux FIX à demi-vie prolongée en développement (89,236,240,241)
(n : nombre de patients hémophile B)

Méthode utilisée	n	$t_{1/2}$ d'élimination moyen (h)	Facteur d'allongement du $t_{1/2}$ d'élimination moyen (par rapport au rFIX)	Thérapies en développement	Statut des essais cliniques
PEGylation	7	92,8	4,8	N9-GP (Novo Nordisk™)	Phase III
Fusion Fc	5	57,6	3,0[†]	rFIXFc (Biogen Idec™)	Phase III
Fusion albumine	8	89,9	5,3	rIX-FP (CSL Behring™)	Phase III

[†] Comparaison des données PK obtenue avec les RCP du Benefix®

Les différents facteurs d'allongement de la demi-vie d'élimination obtenus dans les différents essais donnent une bonne idée de l'efficacité des molécules en développement mais ils ne peuvent être bien sûr comparés entre eux si ce n'est dans un essai comparatif des différentes thérapies. Par ailleurs, le fait que les études aient été réalisées sur des petits échantillons de patients et avec des points de comparaison différents quant à la demi-vie du rFIX limiteraient la pertinence d'une telle comparaison. Les résultats observés pour l'ensemble de ces thérapies soulignent l'existence d'un fort potentiel thérapeutique et induisent la nécessaire continuation des essais cliniques en cours.

Motivé notamment par les contraintes liées aux injections prophylactiques fréquentes, par la diminution de qualité de vie et parfois d'adhérence qui en résulte, le développement de ces FIX à demi-vie prolongée devrait permettre la prophylaxie sous forme d'une injection hebdomadaire voire même moins fréquente encore (89,241). Cela réduirait ainsi le besoin d'implantation de CVAD chez les plus jeunes patients et éviterait les complications associées. De plus, on pourrait aussi envisager une légère diminution de la fréquence des injections dans le traitement à la demande qui parfois nécessite plusieurs injections pour traiter un épisode hémorragique (89). Cette évolution vers une fréquence d'injection plus faible dans le traitement à la demande mais surtout dans le traitement prophylactique pourrait sensiblement améliorer l'attrait du traitement prophylactique à l'échelle mondiale (89). Les questions du prix et de la disponibilité des FIX à demi-vie prolongée demeurent néanmoins des possibles limites à cette évolution du fait des technologies utilisées et des disparités préexistantes à l'échelle mondiale (cf Chap.II.iv.1, p.111) (30).

II. AUGMENTER L'ACTIVITÉ PRO-COAGULANTE DU TRAITEMENT

Dans le cadre d'une thérapie substitutive protéique, deux voies sont possibles et complémentaires pour limiter les contraintes liées aux injections prophylactiques : d'une part augmenter la demi-vie du FIX comme évoqué précédemment, d'autre part augmenter l'activité pro-coagulante du FIX. L'augmentation de l'activité spécifique coagulante du FIX permettrait en théorie de réduire la quantité de FIX injectée et la durée des injections aux patients (248). Une autre approche également étudiée afin d'améliorer l'activité pro-coagulante du traitement consiste à cibler les inhibiteurs de la coagulation.

II.1. FIX à activité pro-coagulante augmentée

La compréhension des relations structure-fonction et la maîtrise des procédés de recombinaison génétique ont permis d'envisager de modifier la structure primaire de certaines protéines thérapeutiques afin d'en améliorer les propriétés PK et PD. La substitution d'acides aminés est un procédé déjà utilisé dans certaines spécialités pharmaceutiques. Par des modifications de charges, d'hydrophobicité ou par création de site susceptibles d'être N-glycosylés, le changement de certains acides aminés a permis de modifier la demi-vie de l'insuline (Humalog[®], Lantus[®]) ou de l'EPO (Aranesp[®]) notamment (234). Dans le domaine de l'hémophilie B, deux rFVIIa dont plusieurs acides aminés ont été substitués sont actuellement en cours de développement clinique : le NN1731 (Novo Nordisk[™]) dont l'essai de phase III s'est terminé en août 2012 (NCT01392547) et le BAY86-6150 (Bayer Healthcare[™]) actuellement en phase II/III (NCT01625390) (234,236).

Concernant le FIX, la recherche et le développement préclinique chez les animaux ont établi très tôt le potentiel gain d'activité issu de modifications structurales sur le FIX. Plusieurs pistes ont été ou sont actuellement étudiées. Parmi elles, on peut citer notamment :

- ❖ le FIX_{VIIIEGF1} chimérique (249)
- ❖ la mutation de l'arginine 338 (250-251)
- ❖ le FIX-Triple (248,252).

Le FIX_{VIIIEGF1} est un rFIX chimérique dans lequel le domaine EGF-1 a été remplacé par celui du FVII (voir figure 46). D'après une étude réalisée sur des chiens hémophiles B, la modification structurale réalisée a pour conséquence d'augmenter significativement l'affinité du FIXa pour son cofacteur : le FVIIIa. En conséquence, le FIX_{VIIIEGF1} a une activité coagulante 2 à 3 fois plus élevée que le rFIX sauvage. Ils ont par ailleurs une demi-vie et une clairance identiques (249).



Figure 46. Représentations schématiques des domaines du FIX sauvage et du FIX_{VIIIEGF1}(249)
Le domaine EGF1 sur fond noir est issu du FVII. (AP : peptide d'activation)

Le changement de domaine EGF-1 induit au total la substitution de 12 acides aminés tous exposés à la surface de la protéine entre la cystéine 51 et la cystéine 82 (249). Parmi ces 12 substitutions, certaines ont lieu entre des acides aminés à chaînes latérales assez semblables et n'expliquent probablement pas l'augmentation de l'activité coagulante du FIX_{VIIIEGF1}. On distingue, à l'inverse, une substitution au niveau des acides aminés 74 et 75 qui semble apporter un changement significatif par le passage de proline-phénylalanine dans le FIX sauvage à leucine-proline dans le FIX_{VIIIEGF1}. En effet, la phénylalanine 75 (Phe75) du FIX sauvage participerait théoriquement du maintien de l'EGF-2 dans une orientation fixe par rapport à l'EGF-1. L'hypothèse avancée pour expliquer la plus grande affinité du FIX_{VIIIEGF1} avec son cofacteur est donc celle d'un gain de flexibilité des domaines EGF-1 et EGF-2 qui lui permettrait de prendre une conformation interagissant plus efficacement avec le FVIIIa (249).

À partir de techniques de recombinaison génétique, plusieurs rFIX mutés ont été conçus dans le but de localiser les résidus de FIXa qui interagissent avec le FVIIIa (250). Les chercheurs ont ainsi pu mettre en évidence qu'une substitution du résidu arginine 338 en alanine (**R338A**) permet de multiplier par 2,5 à 3 l'activité coagulante *in vitro* (250). Différents essais visant à expliquer l'impact de la mutation ont mis en évidence que la hausse d'activité n'a lieu qu'en présence de FVIIIa et est issue d'une augmentation de l'activité catalytique et de l'affinité du complexe tenase (VIIIa-IXa) pour le FX. La situation est donc différente de celle du FIX_{VIIIEGF1} où l'activité catalytique du complexe tenase était inchangée et seule l'affinité entre le FVIIIa et le FIXa était en cause (250). Au terme de l'étude, l'hypothèse la plus probable est que la R338 du rFIX sauvage appartient à un site de fixation du FX qui devient plus accessible lors de la formation du complexe tenase et donc augmente l'activité catalytique. La mutation R338A contribuerait à amplifier ce phénomène (250).

La mutation de la R338 a été rapportée comme amplifiant l'activité coagulante dans le cas d'un jeune homme souffrant de thrombophilie liée à l'X décrit en 2006 à l'université de Padua (251). La mutation de l'arginine 338 du FIX en leucine, décelée chez ce patient et sur d'autres membres de sa famille, aboutit à la formation d'un FIX, nommé **FIX-Padua**, ayant une activité spécifique 5 à 10 fois plus élevée qu'un rFIX sauvage. Ainsi ce patient de 23 ans et son frère de 11 ans présentaient des activités biologiques plasmatiques très supérieures à la normale : 776% et 551% respectivement (251).

Sur la base des expériences évoquées précédemment et d'une mutagenèse dite « alanine-scanning » réalisée sur les domaines EGF et le domaine catalytique du FIX, trois mutations en alanine semblent augmenter l'activité coagulante du facteur : celle de la valine 86, celle de l'acide glutamique 277 et celle de l'arginine 338 (248). Des mutagenèses site-spécifiques ont été réalisées afin de produire, en HEK-293, les 7 variants du FIX possibles à partir de ces trois mutations : trois FIX à substitution simple, trois FIX à substitution double et un FIX à substitution triple dit « **FIX-Triple** ». L'ensemble des variants du FIX conçus présentent une activité spécifique moyenne 1,1 à 14 fois plus élevée que celle du FIX sauvage (FIX Wild Type : FIX-WT). Les deux variants qui se distinguent principalement sont le variant monosubstitué R338A et surtout le FIX-Triple avec des activités spécifiques moyennes 4 et 14 fois supérieures à celle du FIX-WT respectivement (248)(voir tableau XVI). Des analyses pharmacodynamiques ont été réalisées notamment par résonance plasmonique de surface (SPR). Le principe de la SPR est de mesurer l'affinité d'un ligand à un récepteur adsorbé à la surface d'une couche métallique et ce, à l'aide de l'angle de résonance d'un rayon de lumière projeté et réfléchi sur cette surface (253). Ces analyses ont montré que l'affinité du FIXa Triple pour le FVIIIa est environ 10 fois plus élevée que ne l'est celle du FIX-WT et dépasse aussi celle du FIX-R338A (248). Afin de

confirmer cela, un certain nombre de tests *in vivo* ont été réalisés chez des souris hémophiles B par injection directe des variants de FIX, par injection de plasmides les exprimant, par création de souris mutées « knock-in » exprimant le FIX-Triple ou le FIX-WT et par le transfert génique à l'aide d'un vecteur viral. Ces tests *in vivo* confirment les résultats précédemment obtenus (248).

Tableau XVI. Activités spécifiques moyennes (\pm écart-type) de différents FIX mutés ou sauvage (Wild Type) par dosage coagulométrique (248)

	Specific clotting activity (U mg^{-1})
FIX-WT	188.8 \pm 32.4
FIX-86	214.4 \pm 20.0
FIX-277	238.4 \pm 30.8
FIX-338	723.2 \pm 5.6
FIX-86/277	253.6 \pm 13.6
FIX-86/338	340.4 \pm 82.4
FIX-277/338	375.2 \pm 132.0
FIX-Triple	2641.6 \pm 113.6

La plus grande affinité du FIX-Triple pour le FVIIIa est difficile à expliquer. Lorsqu'on observe que certains variants à substitution double montrent de moins bons résultats que des variants monosubstitués au cours des tests (voir tableau XVI), on peut déduire que l'effet de la triple mutation est un effet synergique qui ne peut être réduit aux effets cumulés de trois mutations. En regard de la structure du complexe tenase (VIIIa-IXa) (voir figure 47), cet effet synergique des trois mutations semble être issu d'une modification conformationnelle rapprochant l'acide aminé 277 du FIXa de la zone de liaison avec le FVIIIa. La perte de charge liée à la mutation d'acide aspartique en alanine pourrait l'amplifier cette modification conformationnelle et faciliter la fixation au FVIIIa (248)

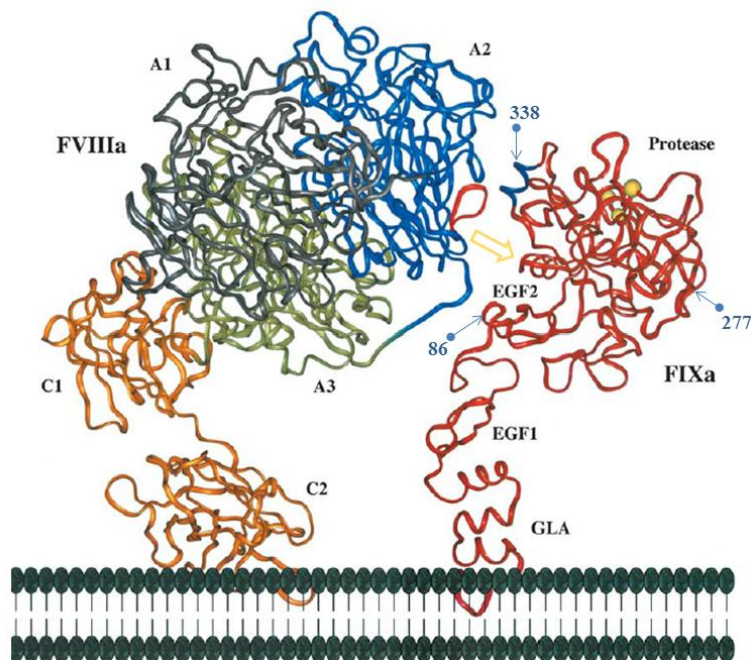


Figure 47. Structure du complexe tenase entre le FVIIIa et le FIXa-Triple (248,254)

FVIIIa (à gauche) et FIXa (à droite) sont fixés sur une membrane phospholipidique. Les résidus 86, 277 et 338 sont indiqués par des flèches bleues.

Les coûts élevés et la faible disponibilité des concentrés de rFIX dans le monde ont fait de la question des doses administrées une question cruciale dans la prise en charge des patients hémophiles B. Du fait de l'augmentation de l'activité coagulante spécifique du FIX par mutagenèse, des variants du FIX comme le FIX-Triple ou le FIX_{VIIIEGFI} dont la stabilité, l'efficacité et la non-thrombogénicité à doses thérapeutiques sont établies (248,249,252), devraient permettre à terme une diminution des doses employées. Cette propriété devrait également faciliter la mise en place de protocoles de thérapie génique nécessitant une quantité plus faible de gène et de vecteurs donc théoriquement plus efficaces car moins immunogènes (248,249,252).

S'il est possible que la diminution de la consommation de facteur, autant pour les FIX à demi-vie prolongée que pour les FIX à activité coagulante augmentée, aboutisse à une diminution des coûts du traitement des patients hémophiles B (248), ceci ne peut être affirmé avec certitude. Le coût déjà élevé des thérapies substitutives commercialisées laisse supposer que la diminution de consommation de ces nouveaux FIX sera au moins compensée par un prix plus élevé à l'unité. Mais le marché des thérapies de l'hémophilie B est en pleine mutation comme l'illustre les nombreuses perspectives de traitement. Aussi, il faut espérer que la compétition accrue entre laboratoire contribue fortement à diminuer les prix et permette à ces innovations de bénéficier au plus grand nombre de patients. Quoiqu'il en soit des thérapies en développement ont été conçues pour être plus abordables que les FIX actuellement commercialisés tout en étant aussi efficaces et sûres.

II.2. Agents ciblant les inhibiteurs de la coagulation

Une nouvelle approche envisagée par les chercheurs consiste à cibler des inhibiteurs de la coagulation tels que l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (Tissue Factor Pathway Inhibitor :TFPI) ou la protéine C activée (APC) (246). En effet, si la voie extrinsèque peut être stimulée par les « by-passants » comme le rFVIIa ou le CCPa (cf Chap.II.IV.3, p.126), on peut également la stimuler en inhibant le TFPI qui en est le principal régulateur.

Des anticorps anti-TFPI, des inhibiteurs du TFPI (naturels tel que le fucoïdane ou synthétiques tels que des aptamères) sont actuellement étudiés et développés dans le but d'atténuer l'inhibition de la voie extrinsèque et de faciliter le processus hémostatique chez des patients hémophiles (232,246,281-284). Deux essais de phase I ont été réalisés et un autre est en cours sur des patients hémophiles A et B et des sujets non hémophiles (NCT01555749, NCT01228669, NCT01631942) pour un anticorps monoclonal anti-TFPI nommée NN7415 (Novo Nordisk™) (236).

Le fucoïdane est un polysaccharide dérivé des algues brunes appartenant à la famille des Polysaccharides Sulfatés Non-Anticoagulant : NASP. Les NASP sont des molécules « heparine-like » théoriquement dépourvues d'activité anticoagulante (232,283). Leur mécanisme d'action n'est pas encore élucidé mais les NASP inhibent le TFPI et accélèrent le temps de coagulation des hémophiles (232,283). Le AV315 (Avigen™) est un exemple de fucoïdane développé dans cette indication (283).

Un aptamère est une chaîne d'acides nucléiques monobrin qui peut inhiber directement la fonction d'une protéine cible en se liant à elle dans une structure tridimensionnelle spécifique à haute affinité (232). L'ARC19499 (Archemix™) et le BAX499 (Baxter™) sont des aptamères PEGylée en phase I/II de développement (NCT01191372) qui inhibent spécifiquement le TFPI (284,301).

L'inhibition de l'APC permettrait également une augmentation de la génération de thrombine. L'utilisation d'aptamères et d'ARN interférents sont les moyens principalement envisagés pour réaliser cette inhibition (246).

III. RÉDUIRE LES COÛTS DES TRAITEMENTS

La priorité pour réduire les coûts de la prise en charge d'un patient hémophile est la réduction des coûts liés au FAH puisque ceux-ci représentent environ 90% du coût total du traitement (99). Dans ce but, plusieurs solutions sont possibles à partir des thérapies actuelles (cf Chap.II.IV.1, p.119). La plus fréquemment évoquée dans la littérature est sans doute celle du développement de schémas thérapeutiques plus économes en FAH : approche très liée aux questions du dosage optimal et du taux résiduel hémostatique évoquées précédemment (cf Chap.II.III.2, p.95). Cependant d'autres recherches visent à développer des concentrés de facteurs nouveaux tout aussi efficaces et sûrs que leurs prédécesseurs mais plus abordables donc plus accessibles. Parmi les options envisagées, les principales sont :

- l'amélioration du procédé de fabrication
- les biosimilaires

III.1. Amélioration du procédé de fabrication

Les ingénieurs chimiques et les pharmaciens travaillent en permanence à améliorer les procédés de fabrication des médicaments. Toutes les étapes du procédé de fabrication peuvent être concernées. Lorsque la modification implique un changement susceptible de modifier les propriétés du médicament, un nouveau dossier d'AMM pour un FAH modifié doit être présenté et doit démontrer la bioéquivalence à l'égard du concentré non-modifié (111). Parmi les modifications étudiées, la littérature évoque notamment l'optimisation de la culture cellulaire en bioréacteurs pour les rFIX (256). En effet, le choix du type de réacteur et d'agitation, du mode d'alimentation, de la lignée cellulaire, de la composition du milieu de culture et de l'alimentation, des paramètres contrôlés peuvent influencer sur la densité cellulaire, sur la sécrétion de la protéine d'intérêt ainsi que sur sa qualité. Une étude portant sur la production de rFIX par des CHO en mode cuvée (batch) a ainsi démontré qu'une diminution de la concentration d'ion Ca^{2+} de 1,0 à 0,5 mM inhibe l'activation précoce du FIX en FIXa, connue pour augmenter le risque thrombogène (256).

De nouveaux systèmes d'expression de la protéine sont également envisagés afin d'obtenir des rendements plus élevés que ceux actuellement obtenus par la culture cellulaire en bioréacteur. Par recombinaison génétique, les régions de contrôle de la transcription d'un gène hautement exprimé dans les CHO : le Chinese Hamster Elongation Factor 1 (CHEF-1), ont été intégrées au gène du rFIX. Cette méthode a permis d'augmenter le niveau d'expression du FIX d'un facteur 10 (232,246,257). L'utilisation du lait d'animaux transgéniques présente également un fort potentiel comme source de FIX du fait de la haute densité cellulaire dans les glandes mammaires, le bioréacteur devenant alors l'animal lui-même (246). Des niveaux d'expression 20 fois supérieurs à ceux préalablement reportés

ont ainsi obtenus à partir du lait de truie avec environ 2 à 3g de rFIX par litre et de nouvelles méthodes de purification ont été envisagées pour purifier ces grandes quantités de FIX (37).

Ainsi, en aval, le procédé de séparation, aussi appelé DownStream Processing (DSP), peut également évoluer afin d'être plus productif et plus rapide. Concernant le pdFIX par exemple, des procédés chromatographiques de purification et de régénération en continu ont été étudiés comparativement à des procédés discontinus (255).

III.2. Biosimilaires

En 2010, le « biologic price competition and innovation act » participant de la réforme du système de santé américain autorise la FDA à approuver des « abbreviated Biologic License Application » : aBLA pour des produits biologiques biosimilaires basés sur un produit biologique de référence. Ces biosimilaires peuvent se différencier de leur modèle par des différences mineures dans des composés cliniquement inactifs dès lors qu'ils ne possèdent pas de « différences cliniquement significatives » dans l'activité, la pureté et la sécurité (246,258). Néanmoins certains experts estiment que la plupart des laboratoires utiliseront encore la voie classique des Biologic License Application car l'aBLA correspond à des exigences jugées imprécises et à des contraintes trop grandes sur le secret de fabrication (258).

Le IB1001 développé par la firme Inspiration Biopharmaceuticals™ a suivi un développement clinique jusqu'en phase II/III (NCT00768287) dont les résultats ont été publiés en novembre 2012 (236,259). Cet essai randomisé avait pour objectif de comparer, pour une dose de 75 UI.kg⁻¹, les paramètres PK et la sécurité de l'IB1001 avec ceux du nonacog alfa (Benefix®), d'évaluer les effets PK d'une prophylaxie d'IB1001 de 4 à 18 mois et d'évaluer la sécurité et l'efficacité de l'IB1001 dans la prise en charge des chirurgies majeures (236,260). Les 32 patients inclus dans l'essai étaient tous des hémophiles B sévères ou modérés ($\leq 2\%$) d'au moins 12 ans et avec au moins 150 jours d'exposition à un traitement substitutif en FIX préalable (259). Afin d'établir les paramètres PK, des prélèvements sanguins ont été réalisés avant l'injection et à plusieurs reprises entre 30 minutes et 72h post-injection et un modèle non-compartimental a été utilisé. D'après les auteurs, l'analyse PK comparative des deux thérapies ne montre pas de « différences cliniquement significative » concernant la demi-vie d'élimination, la clairance, l'IVR, l'AUC et le MRT. Concernant la sécurité, l'incidence d'effets secondaires fut identique pour les deux thérapies avec 16 effets secondaires observés dont 8 chez des patients utilisant de l'IB1001 et 8 chez des patients utilisant du nonacog alfa (259). Tous les effets secondaires ont été jugés modérés ou mineurs et non liés au médicament utilisé, à l'exception de deux maux de tête. Un effet secondaire sévère : une hémarthrose de cheville survint deux jours après la période d'échantillonnage dans un traitement au nonacog alfa. Aucune preuve de thrombogénicité de l'IB1001 n'a été identifiée. Sans indiquer la méthode de détection utilisée ni les résultats obtenus, les auteurs indiquent qu'aucun des participants n'a développé d'anticorps inhibiteurs. La conclusion de cette étude est que l'IB1001 est « non-inférieur » au nonacoag alfa (259). Concernant les chirurgies majeures, la prise en charge par BI ou par CI d'IB1001 a permis de maintenir un niveau hémostatique suffisant chez les patients et peut donc être utilisé efficacement pour ce type d'interventions (260). Un essai pédiatrique de phase III pour l'IB1001(NCT0127868) a été initié en janvier 2009 et aurait dû se finir en novembre 2012 (236). Mais les deux essais sur l'IB1001 ont été placés en suspension clinique par la FDA en juillet 2010 en raison d'une proportion anormalement élevée d'individus traités avec de

l'IB1001 ayant développés des anticorps contre les protéines des CHO ou les CHO elles-mêmes d'après le laboratoire (261). Le laboratoire suit les directives de la FDA dans tous les pays où ces essais internationaux ont été mis en place. Depuis, la situation s'est aggravée pour ce laboratoire fondé par des familles de patient qui souhaitait apporter de nouvelles options thérapeutiques pour les patients hémophiles, puisque le 31 octobre 2012, Inspiration Biopharmaceuticals™ a annoncé un plan de réorganisation volontaire de ses activités sous le régime du chapitre 11 du code des faillites américain (262). Le laboratoire met ainsi aux enchères tous ses actifs dont notamment les droits commerciaux d'IB1001 (262,263). L'IB1001 ne devrait donc pas être commercialisé dans un avenir proche.

Néanmoins l'offre de rFIX a vocation à se diversifier à l'avenir. Une demande de BLA dans le traitement des hémophiles B adolescents et adultes a été effectuée auprès de la FDA en septembre 2012 pour le BAX 326 (Baxter™), un nouveau rFIX dont les essais de phase I à III ont pris fin en août 2012 (NCT01174446) sans donnée publiée à l'heure actuelle. Des essais de phase III continuent pour cette molécule notamment dans l'indication éventuelle pour la chirurgie et pour la pédiatrie (NCT01507896, NCT01488994) et le laboratoire espère déposer un dossier de demande d'autorisation de commercialisation en Europe en 2013 (236,280).

Si l'arrivée des thérapies biosimilaires dans le domaine de l'hémophilie B semble plutôt compromise actuellement, la naissance d'une compétition nouvelle sur le marché des rFIX ainsi que de procédés de fabrication améliorés devraient permettre une diminution progressive des prix (220). Cette diminution des prix du fait de la rupture d'une situation de monopole dans le domaine des rFIX, devrait s'appliquer non seulement au Benefix® mais également par ricochet à l'ensemble des thérapies substitutives de l'hémophilie B et la compétition sur les prix entre les pdFIX et les rFIX devrait également s'accroître à terme.

IV. RÉDUIRE OU ÉVITER L'IMMUNOGÉNÉICITÉ ASSOCIÉE AUX TRAITEMENTS

IV.1. Réduire l'immunogénéicité du rFIX

Compte-tenu du mécanisme à l'origine du développement d'anticorps neutralisants, deux stratégies sont actuellement envisagées dans l'objectif de réduire l'immunogénéicité : la première consiste à essayer de produire le FIX le plus proche possible du FIX produit par l'Homme, la seconde est la substitution d'acides aminés participant à l'immunogénéicité et à la présentation d'épitopes.

Les CHO sont les cellules utilisées pour la production de l'unique rFIX commercialisé actuellement, le Benefix[®]. Cependant leur capacité limitée à induire des MPT induit une gamma-carboxylation incomplète, une faible phosphorylation et une faible sulfatation du rFIX en regard du pdFIX (264) (cf Chap.II.III.1, p.82). Des études attribuent potentiellement la plus faible IVR des rFIX à cette différence dans les MPT (34,123,126). C'est pourquoi un système d'expression basé sur des cellules humaines pourrait conférer à la protéine recombinante des caractéristiques uniques comme une immunogénéicité plus faible, une meilleure récupération *in vivo* et une demi-vie allongée en se rapprochant des PTM observés dans les pdFIX (264). Afin de vérifier ces arguments théoriques, un rFIX humain a été produit par des cellules humaines HuH-7 en laboratoire. La lignée cellulaire HuH-7 est issue d'un carcinome hépatocellulaire humain. Cette lignée, comparativement à des lignées comme HEK ou CHO, a démontré une capacité supérieure à phosphoryler des résidus sérine d'une autre protéine recombinante. De plus, ces cellules d'origine hépatique sont connues pour préserver les capacités d'exprimer certaines protéines plasmatiques comme le FX par exemple sous forme de traces et elles ne nécessitent pas la co-transfection d'une vitamine K réductase contrairement aux CHO (264). Le rFIX ainsi produit a été purifié et son profil de sulfatation et de phosphorylation a été étudié par spectrométrie de masse puis comparé à ceux du Mononine[®] (pdFIX) et du Benefix[®] (rFIX). Les résultats observés montrent que les HuH-7 ont une capacité de glycosylation au moins aussi efficace que les CHO et sont plus efficaces que les CHO au niveau de la phosphorylation du rFIX. Les HuH-7 ont sécrété en grande quantité un rFIX pleinement activable dont l'activité spécifique moyenne est de 300U.mg⁻¹. Cette activité spécifique élevée est probablement liée aux traces de FX dans le milieu de culture et le fait que ce rFIX soit pleinement activable suggère un degré de gamma-carboxylation au moins égal à ceux du Mononine[®] et du Benefix[®]. Les auteurs concluent donc que les HuH-7 permettent la production d'un rFIX humain fonctionnel dont certains MPT sont plus proches du pdFIX que le rFIX produit en CHO ne l'est (264).

En reprenant le principe de la substitution d'acides aminés afin de modifier les propriétés d'une protéine recombinante, des chercheurs ont identifié des séquences de protéine en contact avec le CMH de classe II et des substitutions d'acide aminé qui pourraient éventuellement modifier l'affinité de ces séquences pour le CMH II. Dans le domaine C2 du FVIII la mutation F2196A entre autres a été identifiée comme une candidate possible pour produire des FVIII moins immunogéniques (265).

Concernant le FIX, la substitution d'acide aminé dans le but d'atténuer l'immunogénicité de la protéine est encore une voie à explorer.

IV.2. Éviter l'immunogénicité à l'aide de nouvelles thérapies « by-passantes »

Afin d'augmenter et de prolonger l'activité du rFVIIa, plusieurs voies sont envisagées. Celles-ci sont bien souvent les mêmes que celles évoquées dans le cadre du développement de nouveaux rFIX à objectif équivalent, sans doute du fait de la proximité de structure et d'activité de ces deux sérine-protéases vitamine-K dépendantes. Ainsi, à titre d'exemples, on peut citer brièvement certaines thérapies actuellement en recherche et développement (90,234,236,246,267-277,279) :

- des rFVIIa avec substitutions d'acide aminé
(**NN1731** de Novo Nordisk™ : phase III, **BAY 86-6150** de Bayer Healthcare™ : phase II/III)
- des rFVIIa fusion
(**rVII-FP** de CSL Behring™, **rFVIIFc** et **rFVIIa-XTEN** de Biogen™)
- un rFVIIa glycoPEGylé
(**N7-GP** de Novo Nordisk™ : phase I)
- un PEGLip-FVIIa
(**PEGLip-FVIIa** d'Omri Laboratories™ : phase I/II)

Par ailleurs, afin de lutter contre le relatif manque d'efficacité des traitements « by-passants », la possibilité d'un traitement combiné séquentiel des principaux « by-passants » : rFVIIa et CCPa, aussi appelée **SCBT** pour Sequential Combined Bypassing Therapies, a été envisagée. L'idée de cette thérapie est venue du constat d'un effet synergique de ces deux « by-passants » *in vitro* et *in vivo* (266). Néanmoins la SCBT, en raison des potentiels risques de thrombose et d'immunogénicité particulièrement chez l'hémophile B, demeure une solution de secours en absence de réponse au traitement par « by-passant » classique (266).

Selon le même principe de tirer bénéfice de l'effet synergique du FVIIa et du FX, un nouveau « by-passant » composé de ces deux facteurs dans un *ratio* de poids moléculaire de 1:10 respectivement : le **MC710** (Kaketsuken™) est en phase I de son développement clinique (278). Un total de 25 administrations de MC1710 ont été réalisées chez 11 patients hémophiles A ou B sévères avec inhibiteurs et les résultats indiquent que le MC1710 a un effet hémostatique dose-dépendant qui est supérieur à celui du Novoseven® et du FEIBA® avec une tolérance jusqu'à 120 µg.kg⁻¹ (278). Les auteurs soulignent l'existence d'une efficacité hémostatique de longue durée liée à l'augmentation de la concentration plasmatique de FX activé par le FVIIa qui amplifie l'effet « by-passant » et la génération de thrombine, et également à la demi-vie longue du FX : environ 20 à 23h (278).

Le domaine des « by-passants » fait l'objet de nombreuses recherches et innovations. Ceci pourrait paraître surprenant en comparaison de l'incidence faible du développement d'inhibiteurs chez les hémophiles B. Il faut cependant rappeler que cette complication est bien plus fréquente dans le traitement substitutif de l'hémophile A où environ 30% des patients développent des inhibiteurs (90). Ainsi le marché potentiel des thérapies « by-passantes » destinées à un grand nombre d'hémophiles dans le monde pourrait en partie expliquer le nombre important de thérapies en développement dans ce domaine.

V. THÉRAPIE GÉNÉRIQUE

La thérapie génique a fait l'objet de nombreux travaux dans le domaine de l'hémophilie depuis les vingt-cinq dernières années (2,46,185). Cette approche est en effet très séduisante dans le domaine de l'hémophilie. Des résultats, même modestes, de synthèse endogène de FAH permettant de passer d'un statut d'hémophile sévère à modéré sur le moyen ou long terme pourraient modifier radicalement la vie des patients hémophiles (2). Beaucoup d'espoirs de la communauté hémophile et scientifique mondiale reposent depuis longtemps sur la thérapie génique car elle présente le potentiel de soigner la pathologie et non pas seulement de limiter ses conséquences en injectant du FAH exogène.

○ Principe

De façon générale, la thérapie génique consiste à introduire un ou plusieurs exemplaires d'un transgène, c'est-à-dire une version fonctionnelle du gène codant pour une protéine d'intérêt, dans des cellules cibles afin de leur faire synthétiser cette protéine (46). Pour cela, on distingue deux types de thérapies géniques : la thérapie génique embryonnaire (TGE) et la thérapie génique somatique (TGS). Dans le cas de la TGE, la modification génique est introduite dès le stade embryonnaire et on la retrouve dans toutes les cellules de l'organisme au cours de son développement. C'est la thérapie génique utilisée notamment dans le cadre des transgénèses animales. Pour des raisons autant techniques qu'éthiques, ce n'est pas la thérapie génique envisagée dans le cadre du traitement des pathologies congénitales. Contrairement à cela, la TGS visent des cellules somatiques et non germinales. La modification génétique n'est donc pas transmise à la descendance du patient traité qui conserve donc la même probabilité génétique de transmission de la maladie (46). La thérapie génique somatique peut être réalisée *ex vivo* ou *in vivo* (voir figure 48).

- **TGS *ex vivo*** : elle consiste à modifier en laboratoire des cellules cibles prélevées chez le patient en y introduisant le gène fonctionnel de la protéine d'intérêt et à réintroduire ces cellules cibles chez le patient une fois la modification génétique effectuée. Étant donné qu'il s'agit des propres cellules du patient, la probabilité de réaction de rejet est plus faible.
- **TGS *in vivo*** : le transgène véhiculé par un vecteur est introduit dans l'organisme directement et va s'intégrer préférentiellement ou exclusivement dans les cellules ciblées (46,287).

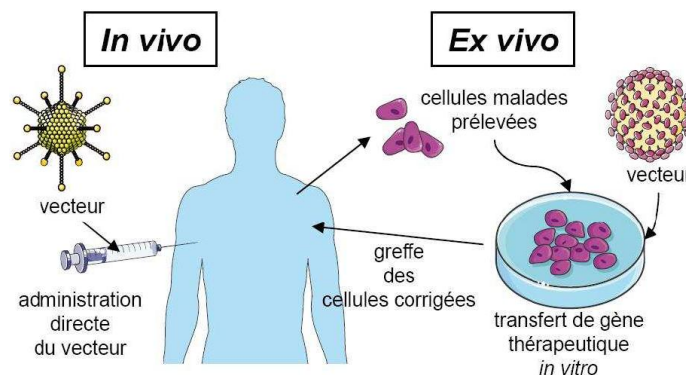


Figure 48. Thérapie génique somatique *in vivo* et *ex vivo* (287)

Parmi les vecteurs utilisés pour transporter le gène fonctionnel de la protéine d'intérêt jusqu'aux cellules cibles, on distingue des vecteurs viraux : rétroviraux, adénoviraux, associés aux adénovirus, conjugués moléculaires et des vecteurs non viraux.

- ❖ Les **rétrovirus** sont des virus à ARN monobrin utilisés dans les premières expériences de thérapie génique de l'hémophilie sur des animaux à la fin des années 80 et sont encore utilisés dans des transferts de gènes *ex vivo*. Ils permettent l'intégration à long terme du transgène dans le génome de la cellule hôte. Cette intégration chromosomique pérenne et aléatoire présente en revanche des inconvénients. Si elle se produit au sein d'un autre gène, elle peut en perturber la séquence et en modifier la transcription. Par ailleurs, il existe toujours le risque d'effets délétères à long terme liés à l'expression chronique augmentée du transgène (46,286-287).
- ❖ Les **adénovirus** sont des virus à ADN double brin qui ont été utilisés aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*. Ces virus ne permettent pas l'insertion de la nouvelle information génétique dans le chromosome de la cellule et le transgène persiste sous forme d'épisome. Contrairement aux rétrovirus, l'expression du transgène, en absence d'intégration chromosomique, est transitoire. D'autre part, les réactions immunitaires dirigées à l'encontre des vecteurs adénoviraux de la part de l'organisme hôte peuvent empêcher l'utilisation ultérieure de ces mêmes vecteurs chez un patient lors du renouvellement de la thérapie génique (46,286).
- ❖ Les **virus associés aux adénovirus (AAV)** sont des virus à ADN simple brin appartenant à la famille des parvovirus qui nécessitent une co-infection par un adénovirus ou un herpesvirus pour réaliser leur réplication. En absence de co-infection, le transgène persiste sous forme d'épisomes dans la cellule cible mais est néanmoins exprimé durablement (286-287). Par ailleurs, à la différence des rétrovirus et des adénovirus, ils sont non pathogènes donc les risques d'effets secondaires et d'immunogénicité associés à leur utilisation sont réduits dans le cadre d'une TGS (220,287). Une particularité des AAV est que, selon le sérotype du virus, le tropisme de la capsidie peut varier considérablement. Ceci en fait un bon vecteur pour les TGS *in vivo* avec des cellules à cibler dans l'organisme (287)(voir figure 49). AAV8 par exemple a un tropisme pour les tissus hépatiques. Dans le cadre de la TGS de l'hémophilie, son utilisation comme vecteur permet une injection veineuse périphérique à distance de la zone ciblée. Le principal défaut des AAV est qu'ils ne peuvent transférer que de petits gènes inférieurs à 5 kb contrairement aux rétrovirus et aux adénovirus qui peuvent transférer plus de 7 kb (46).

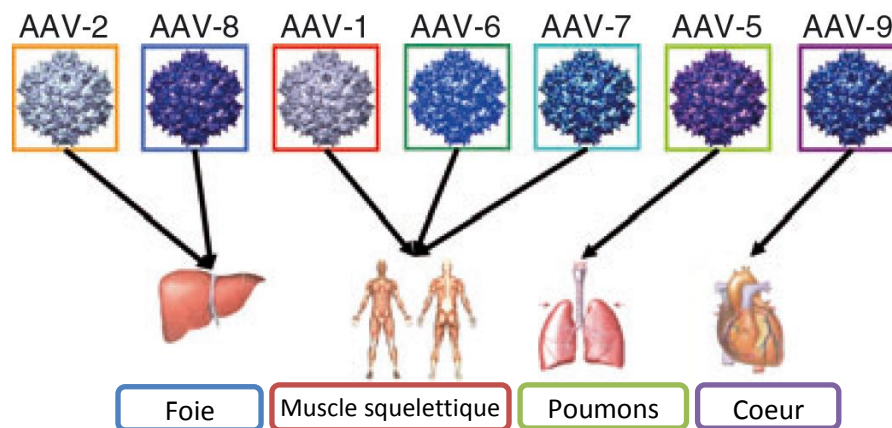


Figure 49. Présentation des sérotype AAV les plus couramment utilisés pour le transfert de gène chez l'animal et de leurs tropismes préférentiels respectifs (288). L'œil et le SNC n'ont pas été représentés ici.

- ❖ Les **conjugués moléculaires** sont des complexes moléculaires formés d'un adénovirus recombinant lié à une polylysine chargée positivement qui va porter l'ADN chargé négativement. Ce vecteur peut transporter plus de 10 kb mais l'expression du transgène est transitoire comme dans le cas de l'adénovirus (46).
- ❖ Les **vecteurs non viraux** sont formés d'un complexe lipidique associé au plasmide. Ils peuvent porter un transgène de plusieurs dizaines de kb dans les cellules cibles. Un autre de leurs atouts est qu'ils ne peuvent pas former de particules infectieuses. Cependant l'efficacité du transfert puis de l'expression du transgène est souvent trop faible (46,293).

○ Application de la TGS à l'hémophilie B

L'hémophilie B est une candidate intéressante à la réalisation d'une TGS pour plusieurs raisons (2,46,285) :

- Il s'agit d'une maladie monogénique dont le gène est connu et cloné depuis 1982.
- Le gène *F9* est un gène de petite taille qui peut être intégré dans les vecteurs évoqués précédemment et il est cinq à six fois plus petit que le *F8*.
- Un accroissement de la concentration plasmatique de FAH n'induit pas de diminution de la production par un mécanisme de régulation négative qui annulerait les effets d'une TGS.
- Dans cette pathologie, une faible synthèse de FIX aurait un impact très significatif sur le phénotype hémorragique et sur la vie des patients souffrant d'hémophilie B sévère.
- De bons modèles animaux d'hémophilie (souris, chiens, singes) existent pour réaliser les premiers tests des différentes stratégies de traitement *in vivo*.
- La réponse au traitement peut être facilement mesurée et le niveau de FIX ne nécessite pas d'être étroitement contrôlé.
- Il n'existe pas de spécificité tissulaire de production pour le FIX : de nombreuses cellules peuvent acquérir la capacité de produire le FIX.

Dès 1974, une transplantation hépatique orthotopique chez un chien hémophile B fut réalisée avec succès. À certains égards, la transplantation d'organe peut être considérée comme une TGS puisque, en l'occurrence, elle permet de remplacer un tissu contenant un gène défectueux par un tissu porteur du gène sauvage afin de lui faire produire la protéine d'intérêt (46). Mais il faudra attendre la fin des années 80, pour que des thérapies géniques au sens propre, aboutissant à la synthèse et la sécrétion de rFIX humain dans la circulation d'animaux, soit réalisées et publiées (288-289). Ces TGS *ex vivo* réalisées sur des modèles murins ont démontré que des fibroblastes murins ou humains infectés par un rétrovirus portant l'ADN du FIX humain, implantés chirurgicalement sous la peau des rongeurs permettent la synthèse et la sécrétion de FIX dans le sang (46,285). Depuis, plus d'un millier d'articles ont été publiés à propos de la TGS dans le traitement de l'hémophilie, témoignant des succès de la production de FIX par rétrovirus dans de nombreuses cellules : fibroblastes, cellules musculaires, kératinocytes, cellules endothéliales (46,285) notamment. L'objectif était de développer une TGS assez sûre et efficace par des modèles animaux pour envisager les essais chez l'Homme par la suite (285). Si de nombreux éléments sont en faveur de la mise en place de protocole de TGS, celle-ci s'accompagne d'exigences de sécurité extrêmes d'autant plus primordiales que l'hémophilie B est une maladie non maligne qui n'engage pas le pronostic vital et pour laquelle un traitement substitutif efficace existe par ailleurs (2).

Les premiers essais de TGS réalisés sur l'Homme ont démontré leur sécurité mais ont montré une efficacité plus faible que celle obtenue dans certains modèles animaux : preuve de l'impossibilité d'extrapoler des résultats entre espèces dans la biologie des infections (46,285,287). Ces résultats ont dans un premier temps provoqué une perte d'intérêt de l'industrie pharmaceutique et une grande déception dans la communauté hémophile à la hauteur des espoirs placés dans cette thérapie depuis la fin des années 80 (285). Mais de nouvelles technologies ont été progressivement mises en place. Plusieurs virus ont été testés et c'est désormais les AAV qui sont préférentiellement utilisées du fait de leur non-pathogénicité et de leur non-insertion chromosomique (248,285,287). Le procédé de transfert et d'expression du FIX par vecteur AAV dans une TGS *in vivo* a été mis en place à la fin des années 90 (290). De très bons résultats ont d'abord été obtenus avec ces vecteurs AAV dans des modèles murins et canins hémophiles. Là encore, d'aussi bons résultats n'ont pas été retrouvés dans les premières phases des essais cliniques par injection intramusculaire ou intra-artérielle du vecteur avec une expression seulement transitoire de FIX (285). Par ailleurs, une élimination précoce des cellules transfectées par réponse immune aux protéines de la capsid du virus et la chute du taux de FIX plasmatique en conséquence ont été observées environ huit semaines après injection du vecteur (285). Suite à cela, les AAV ainsi que le gène *F9* ont été modifiés par génie génétique afin d'en améliorer l'efficacité (285) et un essai de TGS *in vivo* sur l'Homme, publié en 2012, a montré des résultats très encourageants (285) qui sont présentés plus en détail ici.

Cet essai a été conçu dans le but d'évaluer la sécurité et de déterminer la dose minimale de vecteur AAV8 requise pour élever le taux d'activité biologique plasmatique du FIX de moins de 1% jusqu'à plus de 3% chez des patients hémophiles B sévères adultes sans précédents d'inhibiteurs, non contaminés par le VHC ou le VIH et en absence de tout dysfonctionnement hépatique. Il est important de noter que des tests préalables ont exclu la moitié des volontaires pour participer à l'étude principalement du fait du développement d'anticorps contre le vecteur AAV8 amélioré utilisé (285). Les six premiers patients dont les résultats ont été décrits ont été traités par TGS pendant 12 mois par injection de vecteurs au moins une fois toutes les six semaines. Chez les deux premiers patients, une dose faible de vecteurs : $2 \cdot 10^{11}$ génomes de vecteur par kilogramme ($\text{vg} \cdot \text{kg}^{-1}$) a été injectée. Le premier patient (sujet 1) a vu son taux de FIX se stabiliser à 2% et il a arrêté sa prophylaxie depuis deux ans et se traite désormais à la demande lors d'accidents hémorragiques. Le deuxième patient (sujet 2) a lui aussi atteint 2% d'activité biologique mais a eu besoin de continuer sa prophylaxie principalement, d'après les auteurs, en raison de détériorations articulaires préalables et sévères (285). Du fait qu'aucun des deux patients ne se soit stabilisé au-delà des 3% visés, une dose intermédiaire de $6 \cdot 10^{11}$ $\text{vg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a été testée auprès de deux autres patients. Parmi ces deux patients, le premier (sujet 3) s'est stabilisé à 2% mais a continué sa prophylaxie à un intervalle plus grand entre les injections, et le deuxième (sujet 4) s'est stabilisé à 3% pendant 15 mois et n'a nécessité aucune injection de FIX pendant un an. Afin d'atteindre des taux résiduels supérieurs à 3%, une dose encore plus élevée a été injectée à deux nouveaux patients : $2 \cdot 10^{12}$ $\text{vg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (voir figure 50). Le premier patient (sujet 5) s'est stabilisé à environ 6% avant d'observer à 6 semaines post-injection une augmentation forte et rapide de la concentration d'alanine aminotransférase : ALAT. L'ALAT est une transaminase qui participe du métabolisme au niveau des hépatocytes et qui est généralement utilisé pour apprécier la cytolysé hépatique. On observe une diminution concomitante de la sécrétion de FIX (285). Afin de limiter ce phénomène lié à une réaction immune dirigée contre les capsides des vecteurs, le patient s'est vu injecté pendant 6 semaines une dose d'anti-inflammatoire stéroïdien : prednisolone, diminuée progressivement par palier qui lui a permis de retrouver un taux d'ALAT normal et de se stabiliser à

2% de FIX. Le sujet n'a plus eu recours à la prophylaxie dans les 15 mois qui ont suivi l'injection de vecteurs et il a adopté un traitement à la demande. Le second patient traité à dose élevée (sujet 6) a bénéficié de l'expérience du patient précédent et a été traité efficacement par prednisolone immédiatement après une légère augmentation des ALAT à 8 semaines post-injection (voir figure 50). Ainsi le patient qui dans un premier temps avait un taux de FIX de 9%, s'est finalement stabilisé à 5%, a arrêté la prophylaxie et n'a pas vécu d'épisode hémorragique pendant 14 mois malgré la pratique d'un sport de contact (285).

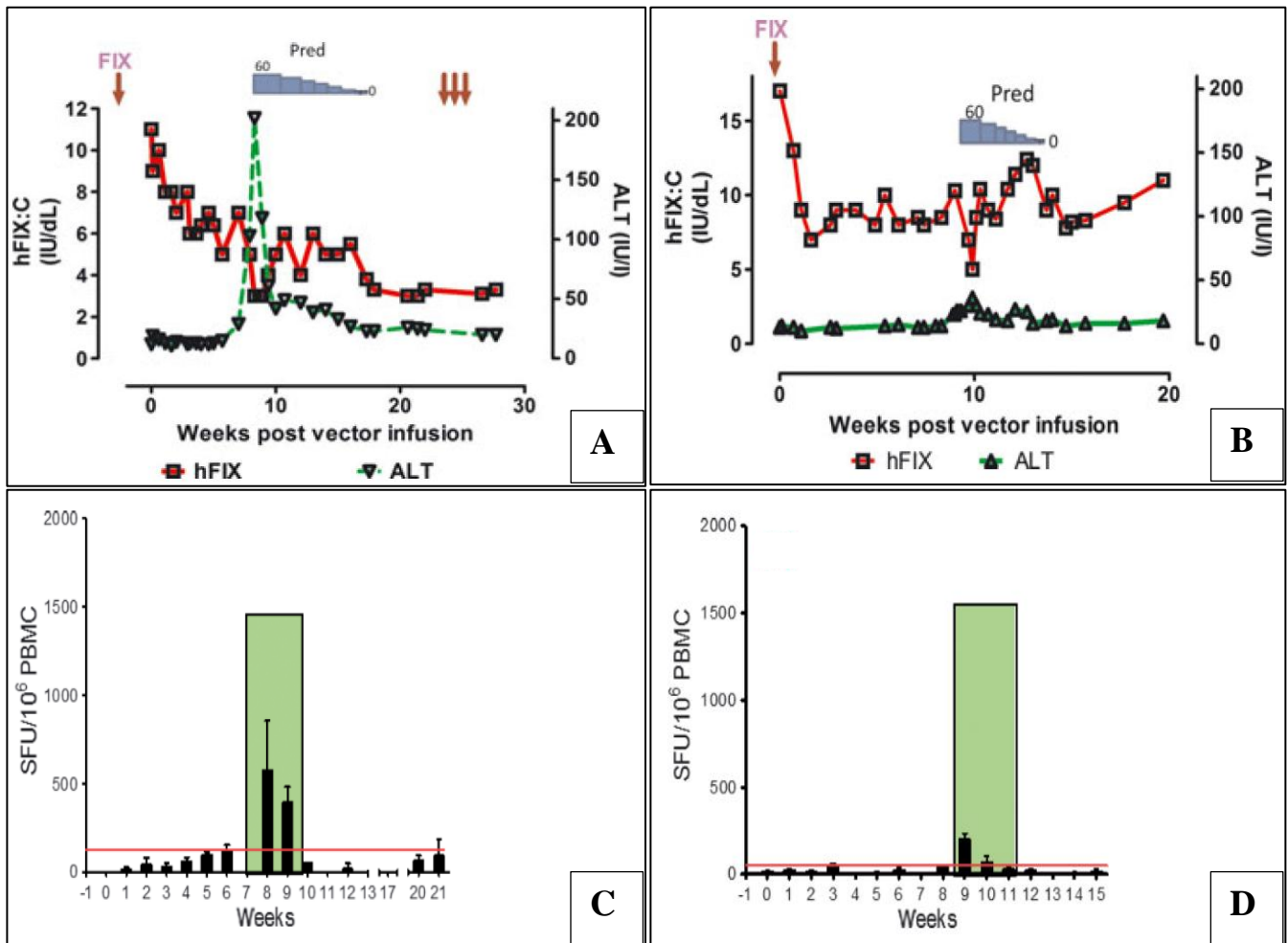


Figure 50. Profils d'activité biologique plasmatique du FIX, de concentration d'ALT (ou ALAT) [A,B] et réponse immunitaire [C,D] au cours des premières semaines de traitement de TGS *in vivo* réalisée par injection veineuse périphérique d'une dose de 2.10^{12} vg.kg⁻¹ d'un vecteur AAV8 amélioré chez deux patients hémophiles B sévères adultes : sujet 5 [A,C] et sujet 6 [B,D](285) Les flèches verticales descendantes indiquent les injections substitutives de FIX en réponse à un épisode hémorragique. Les doses dégradées de prednisolone (Pred) injectées journalièrement sont indiquées sous forme d'escalier. La réponse immunitaire a été évaluée par un IFN γ -ELISPOT qui mesure le nombre de cellules mononucléaires du sang périphérique (Peripheral Blood Mononuclear Cells : PBMC) produisant de l'interféron-gamma par le nombre d'unités colorés (Spot Forming Unit : SFU) à l'issue d'un ELISA sandwich. Elle montre l'élévation concomitante à la période d'augmentation des ALAT (zone rectangulaire verte). La ligne rouge indique la réponse immune maximale en dehors de la période d'augmentation des ALAT.

En résumé, au cours de l'étude, aucune toxicité aiguë ou chronique chez les six patients n'a été observée. Une élévation transitoire des enzymes hépatiques à la dose la plus élevée de vecteurs administrée a été rapidement contrôlée à l'aide de prednisolone. Tous les patients ont pu atteindre un taux de FIX entre 2% et 5% et ainsi diminuer la fréquence ou se passer d'injections prophylactiques de

FIX exogène (285). Ces résultats sont très encourageants et sept nouveaux patients ont été recrutés et seront traités à la dose élevée de vecteurs : $2 \cdot 10^{12}$ vg.kg⁻¹. Malgré le faible nombre de cas étudiés et la réaction immune initiale au vecteur qui a écartée de l'essai la moitié des volontaires, cet essai est présenté comme le premier essai clinique réussi de TGS dans l'hémophilie B. L'approfondissement de cet essai et l'amélioration des modalités de sa mise en place et de son suivi devraient permettre, dans la décennie à venir, de finalement répondre aux espoirs de thérapie génique de l'hémophilie B nés dans les années 80.

VI. DISCUSSION

Les perspectives dans le traitement de l'hémophilie B sont nombreuses et en perpétuelle évolution à l'image d'une communauté de soignants et de patients mobilisée autour de la maladie. L'augmentation de la demi-vie d'élimination, de l'activité pro-coagulante tout comme la réduction de l'immunogénicité et des coûts des traitements sont des objectifs qui, séparés ici dans un but didactique, sont en fait bien souvent atteints de façon combinée par les thérapies en développement. Ainsi, développer des FIX à activité pro-coagulante augmentée devrait permettre de réduire l'intensité des traitements prophylactiques mais aussi potentiellement de diminuer l'immunogénicité éventuelle associée. Par ailleurs, la commercialisation d'une nouvelle rFIX quels que soient ses atouts devrait permettre d'augmenter la compétitivité sur le marché des traitements de l'hémophilie B et ainsi contribuer à faire diminuer le prix de vente et le coût des traitements.

Quels que soient les changements certains dans l'avenir des traitements des patients hémophiles B, les schémas prophylactiques devront s'y adapter. Avec l'arrivée des FIX à demi-vie prolongée, les patients pourront maintenir un taux résiduel hémostatique avec moins d'injections mais ils passeront aussi plus de temps à des niveaux d'activité biologique de FIX plus bas qu'auparavant. Le risque hémorragique pourrait être accru de ce fait, particulièrement lors d'activités physiques (95). Les nouveaux schémas thérapeutiques, basés sur la demi-vie longue ou sur la thérapie génique, seront donc probablement accompagnés d'extradoses de concentrés de FIX, classiques ou à activité coagulante augmentée, en prévention des activités physiques et en traitement à la demande (90,172,241). (voir figure 51).

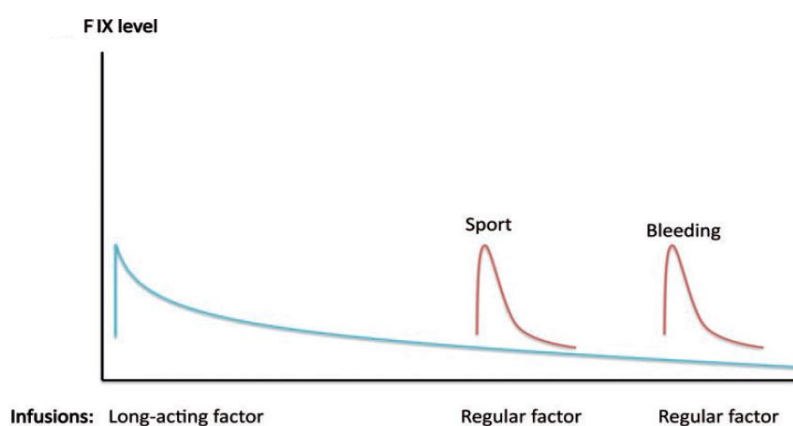


Figure 51. Profil d'activité biologique plasmatique théorique en FIX au cours d'un traitement par FIX à demi-vie prolongée. Des extradoses de concentrés à demi-vie plus courte sont injectées en anticipation de l'activité physique ou en traitement à la demande des épisodes hémorragiques (90).

La nécessité persistante de superposer des traitements de long terme et de court terme permet de comprendre qu'un véritable arsenal thérapeutique est actuellement en train de naître dans le traitement de l'hémophilie B. Derrière la notion d'arsenal thérapeutique, c'est la notion de complémentarité des thérapies qui sera sans doute un élément clé de la prise en charge à venir de l'hémophilie B. Cette notion permet aujourd'hui d'envisager des thérapies combinées : FIX à demi-vie courte et FIX à demi-vie longue, SCBT (266), association du FIX à un anti-TFPI (282) ou même à un inhibiteur de la fibrinolyse comme l'acide tranexamique (4,31,99). Ainsi les perspectives thérapeutiques de l'hémophilie B évoluent, tels les schémas thérapeutiques actuels, vers un meilleur ajustement au patient et à ces besoins et, tels les équipes soignantes multi-disciplinaires : vers une complémentarité et une synergie au bénéfice du patient.

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

THESE SOUTENUE PAR : M. TAILHEFER Hugo.....

Au regard du chemin déjà parcouru, d'énormes progrès ont été réalisés dans le traitement de l'hémophilie B. Les pdFIX hautement purifiés et le rFIX ont permis aux patients hémophiles B d'approcher l'espérance de vie de la population générale. La prophylaxie de long terme a rendu possible la prévention de l'arthropathie hémophilique des patients à phénotype hémorragique sévère et elle est désormais reconnue comme la référence du traitement des hémophiles B sévères enfants, adolescents et jeunes adultes.

Aujourd'hui de nombreux modèles de prophylaxie de long terme existent dans le monde. Tous sont justifiés dans la mesure où ils répondent à des situations et des priorités différentes. Il est loin le temps où la prophylaxie avait un seul objectif : celui de prévenir l'arthropathie et, autant que possible, les manifestations hémorragiques. La prophylaxie du XXI^{ème} siècle est toujours la solution d'une équation complexe avec autant d'inconnues que d'objectifs : lutte contre les saignements, prévention de l'arthropathie, amélioration de la qualité de vie et de l'insertion sociale, optimisation des coûts, absence de réaction immunologique. Et une autre inconnue, mais non la moindre, est liée au patient : son profil hémorragique, ses paramètres pharmacocinétiques, son taux résiduel hémostatique, son entourage familial, ses activités sportives, son âge, son poids, sa perception du traitement et de la maladie. Ces objectifs nombreux et évolutifs incitent aujourd'hui à une prise en charge globale individualisée et pluridisciplinaire du patient et de son entourage lorsqu'elle est possible.

La réalité de la prise en charge des patients hémophiles B à l'échelle mondiale peut cependant s'éloigner des schémas thérapeutiques recommandés en raison de différences entre les pays et entre les patients. Les disparités dans le diagnostic et l'accès aux thérapies, le défaut d'adhérence et le développement d'inhibiteurs sont concrètement les trois principales raisons qui peuvent empêcher la mise en place d'un schéma prophylactique substitutif efficace.

Le traitement de l'hémophilie B est aujourd'hui à la croisée des chemins. Si les thérapies substitutives développées au cours des cinquante dernières années ont permis l'émergence des schémas prophylactiques de long terme, c'est désormais sur la base des principales difficultés dans la mise en place des prophylaxies que sont développées les thérapies de demain. De nouvelles thérapies aux propriétés pharmacocinétiques ou pharmacodynamiques améliorées, moins immunogènes ou à des prix plus abordables devraient ainsi permettre une évolution rapide vers la résolution de ces difficultés à l'avenir. En cherchant à établir une possible production endogène de long terme de FIX par les patients eux-mêmes, la thérapie génique somatique a déjà obtenu des résultats encourageants qui doivent désormais être confirmés. À terme, l'ensemble des thérapies nouvelles devrait permettre l'émergence d'un véritable arsenal thérapeutique dans le traitement de l'hémophilie B facilitant la réalisation d'un schéma prophylactique adapté au patient et à ses besoins.

L'hémophilie B bénéficie d'une remarquable mobilisation de tous les acteurs impliqués dans sa prise en charge : patients, soignants, industrie pharmaceutique et c'est là un atout précieux pour une maladie rare. Quel que soit l'avenir des thérapies actuellement en développement, c'est avec beaucoup de passion et d'engagement que les pratiques ont pu évoluer et évoluent encore vers la meilleure prise en charge possible. Aussi longtemps que cette situation perdurera, on pourra affirmer sans crainte que, pour tous les patients hémophiles B dans le monde, le meilleur reste à venir.

Le Président de la thèse,

Vu et permis d'imprimer, Lyon, le

Nom : **C. VINCIGUERRA**

Vu, la Directrice de l'Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Faculté de Pharmacie

Signature :

Pour le Président de l'Université Claude Bernard Lyon 1,

Professeure C. VINCIGUERRA

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- (1). Guérois C. L'hémophilie aujourd'hui.
Kinesither Rev. 2009; (88): 32-6.
- (2). Chambost A., Meunier S. Enjeux d'une prise en charge pédiatrique précoce de l'hémophilie sévère. Archives de pédiatrie. 2006; 13: 1423-30.
- (3). Céleste B., INS HEA. Hémophilies (les). <http://www.integrascol.fr/fichemaladie.php?id=40>, consulté le 27 novembre 2012.
- (4). Sørensen B. Future pharmacological strategies in management of Haemophilia.
Thromb Res. 2010; 126(4): 259-61.
- (5). Bidart J. Hémophilie, prévenir les handicaps à long terme.
Professions Santé Infirmier Infirmière. 2004; 55: 12-3.
- (6). Caritoux L. L'hémophilie.
Cahiers de la puéricultrice. 2007; 207: 13-22.
- (7). Goudemand J., Laurian Y., AFCG, AFH. L'hémophilie. http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_PatientEncyclo.php?lng=FR, consulté le 27 novembre 2012.
- (8). Azfar-e-Alam Siddiqi, Shahul H. Ebrahim, Soucie J., Parker S., Atrash H. Burden of disease resulting from hemophilia in the US. Am J Prev Med. 2010; 38(4S); S482-8.
- (9). Nguyen P. L'hémophilie en questions
Phase 5 éditions, 2010.
- (10). Trzeciak M.-C., Denninger M.-H. L'hémostase en question.
Biomérieux éditions, 2003.
- (11). Delmotte H., Dazet D. Actualités de l'hémophilie - l'éducation des enfants et des parents, une démarche fondamentale. Revue de l'infirmière. 2005; 112: 27-28.

- (12). Anonyme. Les cahiers de l'intégration : l'hémophilie. Réadaptation. 2001; 476: 33-34.
- (13). Alcalay M. Complications musculaires de l'hémophilie. Archives de pédiatrie. 2009; 16: 196-200.
- (14). Alcalay M., Deplas A. Prise en charge rhumatologique de l'hémophilie. Rev Rhum. 2002; 69: 868-76 et 1191-4.
- (15). Lienhart A. Prise en charge et suivi orthopédique des hémophiles. In : XXI^{ème} journée du Club Française des Techniciens en Hémostase. 2011 May 27; Lyon, France [Power Point]
- (16). Dussol A. Les rencontres multidisciplinaires en hémophilie de Bayer ScheringTM. Décision Santé Le Pharmacien Hôpital. 2007; 239: 20-21.
- (17). Circulaire DGS/DHOS n°2001-413 du 22 Août 2001 relative au suivi national des personnes atteintes de maladies hémorragiques dues à des déficits héréditaires en protéines coagulantes et à l'organisation des centres de traitement de l'hémophilie (Bulletin officiel du Ministère chargé de la Santé, n°2001/48, p129-136).
- (18). Institut de Veille Sanitaire. Réseau FranceCoag : statistiques nationales : données démographiques : hémophilie A et hémophilie B. http://www.francecoag.org/SiteWebPublic/public/stats/stats_page.jsp?stat2=on&stat3=on, mis à jour le 20 septembre 2012, consulté le 27 novembre 2012.
- (19). Institut de Veille Sanitaire. Réseau FranceCoag : cohorte française des patients atteints d'une maladie hémorragique héréditaire – Le point en 2011. 2011, 8p. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr>.
- (20). CRTH de Lyon. Actualité et devenir des traitements sur l'hémophilie. Tonic. 2003; 103: 26-28.
- (21). Guérois C. L'éducation thérapeutique du patient hémophile. Kinesither Rev 2009; 88; 37-40.
- (22). Ministère de la Santé. Mise en place des cartes de soins et d'informations pour les personnes atteintes de maladies rares. <http://www.sante.gouv.fr/l-hemophilie.html>, consulté le 27 novembre 2012.
- (23). Cormi A. Hémophilie - Intervenir à temps Professions Santé Infirmier Infirmière. 2001; 24 : 36.
- (24). AFH. Rapport moral 2010. <http://www.afh.asso.fr/spip.php?article14>, consulté le 27 novembre 2012.

- (25). WFH. À propos de la fédération mondiale d'hémophilie. http://www.wfhcongress2012.org/index.php?option=com_content&view=article&id=69&Itemid=57&lang=fr, consulté le 27 novembre 2012.
- (26). HAS, INPES. Guide méthodologique : structuration d'un programme d'éducation thérapeutique du patient dans le champ des maladies chroniques. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/etp_-_guide_version_finale_2_pdf.pdf, consulté le 27 novembre 2012.
- (27). Bourdillon F., Collin J.-F, SFSP. Dix recommandations pour le développement de programmes d'éducation thérapeutique du patient en France. 2008, 13p. Disponible à partir de l'URL : <http://www.sfsp.fr/activites/file/RecoETPV12.pdf>, consulté le 27 novembre 2012.
- (28). Herring S. Grifol's factor IX concentrates : new findings in biochemical characteristics and safety profiles. *Haemophilia*. 2010; 16 (Suppl. 6) : 3-8.
- (29). Barrowcliffe T.W. Insights from factor IX activation studies with chromogenic assays : implications of disparate product results. *Haemophilia*. 2010; 16 (6): 9-12.
- (30). Key N. S., Négrier C. Coagulation factor concentrates : past, present, and future. *The Lancet*. 2007; 370: 439-48.
- (31). Brummel-Ziedins K.E., Branda R.F., Butenas S., Mann K.G. Discordant fibrin formation in hemophilia. *J Thromb Haemost*. 2009; 7: 825-32.
- (32). Lowe G. D.O. Review. *Br J Haematol*. 2001; 115: 507-13.
- (33). Ronzi E., Capolongo A., Rovero G., Bucci E., Mondini S., Falbo A. Optimisation of a freeze-drying process of high purity factor VIII and factor IX concentrates. *Chem Eng Process*. 2003; 42 : 751-7.
- (34). Ewenstein B. M., Joist J. H., Shapiro A. D., Hofstra T. C., Leissinger C. A., Seremetis S.V *et al*. Pharmacokinetic analysis of plasma-derived and recombinant FIX concentrates in previously treated patients with moderate or severe hemophilia B. *Transfusion*. 2002; 42: 190-7.
- (35). Aznar J.A., Cabrera N., Matysiak M., Zawilska K., Gercheva L., Antonov A *et al*. Pharmacokinetic study of a high-purity factor IX concentrate (factor IX Grifols®) with a 6-month follow up in previously treated patients with severe haemophilia B. *Haemophilia*. 2009; 15: 1243-8.
- (36). Pages A. Facteur IX filtre 15 nanomètres et hémophilie B. Th D Pharm, UCBLyon1-ISPBB; 1999.

- (37). Lindsay M., Gil G.-C., Cadiz A., Velander W. H., Zhang C., Van Cott K. E. Purification of recombinant DNA-derived factor IX produced in transgenic pig milk and fractionation of active and inactive subpopulations. *J Chromatogr A*. 2004; 1026: 149-57.
- (38). EAHAD. Abstracts of the 4th annual congress of the european association for Haemophilia and allied disorders - Speaker abstracts. *Haemophilia*. 2011; 17: 335-51.
- (39). Recht M., Pollmann H., Tagliaferri A., Musso R., Janco S. R., Richey Neuman W. A retrospective study to describe the incidence of moderate to severe allergic reactions to factor IX in subjects with haemophilia B. *Haemophilia*. 2011; 17: 494-9.
- (40). Skinner M.W. WFH : closing the global gap – achieving optimal care. *Haemophilia*. 2012;18 (Suppl. 4): 1-12.
- (41). Lefrère J.-J., Schved J.-F. *Transfusion en hématologie*. Paris : John Libbey Eurotext ; 2010.
- (42). Centre national d'information sur le médicament hospitalier. Médicaments dérivés du sang. Dossier du CNIMH. 1997; 18 (2-3):1-219.
- (43). La société canadienne de l'hémophilie. L'historique de l'hémophilie. <http://www.hemophilia.ca/fr/troubles-de-la-coagulation/hemophilie-a-et-b/l-historique-de-l-hemophilie/>, consulté le 27 novembre 2012.
- (44). La société canadienne de l'hémophilie. 50 ans de souvenir. <http://www.hemophilia.ca/files/1953-1962.pdf>, consulté le 27 novembre 2012.
- (45). Bensa J.-C. Histoire de la transfusion sanguine. Enseignement de PCEM1-Faculté de médecine de Grenoble (UJF). 2007; Grenoble, France [Power Point]
- (46). Négrier C. Le traitement de l'hémophilie : des dérivés du plasma à la thérapie génique. *Hématologie*. 1996; 2(1): 17-27.
- (47). Haanen C., McShine R. L., Kunst A. Preparation and clinical use of factor IX concentrate PPSB according to Soulier. *Vox Sanguinis*. 1969; 16(5): 398-411.
- (48). Pillonel J., Bouraoui L., Saura C., Courouge A.-M. Le point sur le dépistage du V.I.H. chez les donneurs de sang de 1985 à 1993. *B.E.H.* 1995; 10: 43-44.
- (49). Poon M.-C., Jackson S., Brown M., Mc Clure W. *Tout sur l'hémophilie : Guide à l'intention des familles – Traitement par facteurs de la coagulation*. 2^{ème} éd. Montréal : Société canadienne de l'hémophilie; 2010.

- (50). Auzanneau M. Histoire de l'hémophilie et de ses traitements. *Hémophilie*. 2005; 171: 11-4.
- (51). Loi n°93-5 du 4 janvier 1993 (J.O. 4 janvier 1993)
- (52). Mammette A. *Virologie médicale*. Lyon : Presses universitaires de Lyon ; 2002
- (53). Mader S. *Biology*. 7^{ème} éd. New-York : Mc Graw-Hill Companies; 2001
- (54). Yoshitake S., Schach B., Foster D. C., Davie E. W., Kurachi K. Nucleotide sequence of the gene for human factor IX (antihemophilic factor B). *Biochemistry*. 1985; 24: 3736-50.
- (55). Sabatino D. E., Armstrong E., Edmonson S., Liu Y.-L., Pleimes M., Schuettrumpf J. *et al.* Novel hemophilia B mouse models exhibiting a range of mutations in the factor IX gene. *Blood*. 2004; 104 (9): 2767-74.
- (56). Geddes V.A., Mac Gillivray R.T. The molecular genetics of hemophilia B. *Transfus Med Rev*. 1987; 1(3): 161-170.
- (57). Thompson A.R. Structure, function, and molecular defects of factor IX. *Blood*. 1986; 67(3): 565-72.
- (58). Gailani D. Activation of factor IX by factor XIa. *Trends in cardiovascular medicine*. 2000; 10(5): 198-204.
- (59). Bowen D.J. Haemophilia A and Haemophilia B : molecular insights. *Mol Path*. 2002; 55(2): 127-44.
- (60). Bihoreau N., Nony E., Just O., Chtourou S., Belghazi M., Schmitter J.-M. Analyse des modifications post-traductionnelles du facteur IX. *Sang Thrombose Vaisseaux*. 1999; OCT : 23-9.
- (61). Haematologic Technologies Inc. Coagulation factor IX. http://www.haemtech.com/Zymogens/Factor_IX.htm?gclid=CJi-q9nS4rECFYYNfAodlAcA6w, consulté le 27 novembre 2012.
- (62). Centre national d'information sur le médicament hospitalier. Facteurs antihémophiliques : traitement substitutif de l'hémophilie A et B. Dossier du CNIMH. 2003; 24 (3-4) :1-84.
- (63). Santhouse A. Accuracy about coagulation products. *Am J Health-Syst Pharm*. 2001; 58: 812.

- (64). Lissitchkov T., Matysiak M., Zawilska K., Gercheva L., Antonov A., Montañes M. *et al.* An open clinical study assessing the efficacy and safety of Factor IX Grifols[®], a high-purity factor IX concentrate in patients with severe haemophilia B. *Haemophilia*. 2010; 16: 240-6.
- (65). Roddie P.H., Ludlam C.A. Recombinant coagulation factors. *Blood Reviews*. 1997; 11: 169-77.
- (66). Johnston A., MacGregor A., Borovec S., Hattarki M., Stuckly K., Anderson D. *et al.* Inactivation and clearance of viruses during the manufacture of high purity factor IX. *Biologicals*. 2000; 28: 129-36.
- (67). Clifton J., Huang F., Gaso-Sokac D., Brilliant K., Hixson D., Josic D. Use of proteomics for validation of the isolation process of clotting factor IX human plasma. *J Proteomics*. 2010; 73(3): 678-88.
- (68). Skinner M., Manucci P.M., Farrugia A., DiMichele D., Bolton-Maggs P., Burnouf T. *et al.* Global forum of the World Federation of Hemophilia, September 26-27, 2005, Montreal, Quebec, Canada. *Transfusion and apheresis science*. 2006; 35: 151-72.
- (69). Zaman S.M.A., Hill F.G.H., Palmer B., Millar C.M., Bone A., Molesworth A.M. *et al.* The risk of variant Creutzfeldt-Jakob disease among UK patients with bleeding disorders, known to have received potentially contaminated plasma products. *Haemophilia*. 2011; 17: 931-7.
- (70). Base de données Thériaque[®]. Betafact[®] 500UI/5mL, poudre et solvant pour solution injectable – Monographie complète. <http://www.theriaque.org/apps/monographie/index.php?type=SP&id=25034>, mis à jour le 22 mars 2010, consulté le 27 novembre 2012.
- (71). Base de données Thériaque[®]. Octafix[®] 500UI/5mL, poudre et solvant pour solution injectable – Monographie complète. <http://www.theriaque.org/apps/monographie/index.php?type=SP&id=17339>, mis à jour le 12 septembre 2011, consulté le 27 novembre 2012.
- (72). Base de données Thériaque[®]. Mononine[®] 500UI/5mL, poudre et solvant pour solution injectable ou perfusion – Monographie complète. <http://www.theriaque.org/apps/monographie/index.php?type=SP&id=8790>, mis à jour le 8 septembre 2011, consulté le 27 novembre 2012.
- (73). Base de données Thériaque[®]. Benefix[®] 500UI/5mL, poudre et solvant pour solution injectable - Monographie complète. <http://www.theriaque.org/apps/monographie/index.php?type=SP&id=22145>, mis à jour le 7 juillet 2011, consulté le 27 novembre 2012.
- (74). Décret n°95-566 du 6 mai 1995, (J.O. 7 mai 1995)
- (75). Arrêté du 22 septembre 1993 portant homologation du règlement de l'agence française du sang relatif aux bonnes pratiques de prélèvement et pris en application de l'article L.668-3 du code de la santé publique.(J.O. 8 octobre 1993)

- (76). Circulaire DGS/SQ4/98/231 du 9 avril 1998 relative à l'information des malades, en matière de risques liés aux produits sanguins labiles et aux médicaments dérivés du sang, et sur les différentes mesures de rappel effectuées sur ces produits sanguins
- (77). Négrier C. Les produits antihémophiliques en France : état des lieux en 2012. *Hémophilie*. 2012; 199: 14-8
- (78). Aballea P., Vieilleribiere J.-L., Costa de Beauregard M. Les conditions de l'autosuffisance en produits sanguins du marché français. Rapport RM2010-089P de l'inspection générale des affaires sociales, Paris; 2010
- (79). Varin R. Enseignement de pharmacie clinique – Les MDS. [Power Point]. <http://www.univ-rouen.fr/servlet/com.univ.utils.LectureFichierJoint?CODE=1191935506204&LANGUE=0>, consulté le 27 novembre 2012.
- (80). Orphanet. Centres de référence labellisés et centres de compétences désignés pour la prise en charge d'une maladie rare ou d'un groupe de maladie rare. Les cahiers d'Orphanet - Série Politique de santé - juin 2009. http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Liste_des_centres_de_compences_et_de_references_par_groupe.pdf, consulté le 27 novembre 2012.
- (81). CSL Behring. Étapes d'élimination/inactivation virale et d'élimination du prion. <http://www.cslobehring.fr/s1/cs/frfr/1255927167935/content/1255927167854/content.htm>, consulté le 27 novembre 2012.
- (82). White G.C., Rosendaal F., Aledort L.M., Lusher J.M., Rothschild C., Ingerslev J., on behalf of the Factor VIII and Factor IX Subcommittee. 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. *Thromb Haemost*. 2001; 85(3): 560.
- (83). Samama C.M. Conduites pratiques en hémostasie et thrombose. 3^{ème} éd. Paris : Alinéa+ éditions; 2008.
- (84). Giannelli F., Green P.M., Sommer S.S., Poon M.-C., Ludwig M., Schwaab R. *et al*. Haemophilia B : database of point mutations and short additions and deletions – eight editions. *Nucleic Acids Research*. 1998; 26(1): 265-8.
- (85). EMEA. Note for guidance on virus validation studies : the design, contribution and interpretation of studies validating the inactivation and removal of viruses. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003684.pdf, consulté le 27 novembre 2012.

- (86). Ragnier C. Les médicaments antihémophiliques en France : quelle réglementation? *Hémophilie*. 2008; 181: 16-9
- (87). US FDA. Draft quantitative risk assessment of vCJD risk potentially associated with the use of human plasma-derived factor VIII manufactured under United States. <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/SafetyAvailability/BloodSafety/UCM095104.pdf>, consulté le 27 novembre 2012.
- (88). Anonyme. Coagulation factor replacement pivotal in the comprehensive management of Haemophilia. *Drugs & Therapy Perspectives*. 2003; 19(2): 10-3.
- (89). Négrier C., Knobe K., Tiede A., Giangrande P., Møss J. Enhanced pharmacokinetic properties of a glycoPEGylated recombinant factor IX : a first human dose trial in patients with hemophilia B. *Blood*. 2011; 118(10): 2695-701.
- (90). Berntorp E. New treatments in hemophilia. In : Hematology education : the education programme for the annual congress of the European Hematology Association. 2011 Jun 9-12; London, United Kingdom. 2011; 5 : 84-90.
- (91). O'Mahony B., Noone D., Giangrande P., Prihodova L. Haemophilia care in Europe : a survey of 19 countries. *Haemophilia*. 2011; 17: 35-40.
- (92). Marco A., Aznar J., Querol F., Pérez Alenda S., Jaca M., Vila C. *et al.* Secondary prophylaxis in adult severe haemophilic patients : a prospective study in a single center. In : Non-speaker Abstracts. *Haemophilia*. 2012; 18(Suppl.1): 22.
- (93). Berntorp E., Astermark J., Baghael F., Bergqvist D., Holmstrom M. *et al.* Treatment of haemophilia A and B and von Willebrand's disease : summary and conclusions of a systematic review as part of a Swedish health-technology assessment. *Haemophilia*. 2012; 18: 158-65.
- (94). Berntorp E., Fischer K., Miners A. Models of prophylaxis. *Haemophilia*. 2012; 18 (Suppl.4): 136-40.
- (95). Collins P.W. Personalized prophylaxis. *Haemophilia*. 2012; 18 (Suppl.4): 131-5.
- (96). EMA. BeneFIX : EPAR – Product information. http://www.emea.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000139/human_med_000671.jsp&mid=WC0b01ac058001d124, mis à jour le 4 octobre 2012, consulté le 27 novembre 2012.
- (97). Santagostino E., Manucci P.M., Bianchi A. Guidelines on replacement therapy for haemophilia and inherited coagulation disorders in Italy. *Haemophilia*. 2000; 6(1): 1-10

- (98). Senat M.V., Fernandez H., Morin-Surroca M., HAS, Service évaluation des actes professionnels. Détermination prénatale du sexe fœtal à partir du sang maternel – Rapport d'évaluation technologique de la HAS, Saint-Denis-La-Plaine; 2009.
- (99). Barrowcliffe T., Berntorp E., Chuansumrit A., Escobar M.A., Fischer K., Ingerslev J., Schulman S., Srivastava A. Delivery of treatment for haemophilia. Report of a joint WHO/WFH/ISTH meeting. 2002 Feb 11-13; London, United Kingdom. Geneva : World Health Organisation, 2002. p.1-16.
- (100). Blanchette V., Srivastava A., Van den Berg M., Ljung R., Soucie M., Manco-Johnson M., Key N., Gringeri A., on behalf of the factor VIII/IX subcommittee. Consensus definitions in haemophilia - Recommendations of the Scientific Subcommittee on factor VIII/IX of the scientific and standardization committee of the ISTH. 2011. p.1-5.
- (101). Mahlangu J., Gillham A. Treatment guidelines for haemophilia in South Africa. South African Medical Journal. 2008; 98(2): 127-38.
- (102). Srivastava A., on behalf the WFH treatment guidelines working group. Guidelines for the management of hemophilia. Montréal, World Federation of hemophilia; 2012
- (103). Djulbegovic B., Goldsmith G.H.Jr. Guidelines for management of hemophilia A and B [letter; comment]. Blood. 1995; 85: 598-9.
- (104). Boehlen F. *et al.* Hémophilie dans la pratique du médecin de famille. Forum Med Suisse. 2011; 11(26) :453-7.
- (105). Molho P., Rolland N., Lebrun T., Dirat G., Courpied J.P. *et al.* Epidemiological survey of the orthopaedic status of severe haemophilia A and B patients in France. Haemophilia. 2006; 6: 23-32.
- (106). Octapharma. Octafix[®] 100 UI/mL, poudre et solvant pour solution injectable – Dossier technique. 2012
- (107). Jouvent O. Optimisation de l'accessibilité des médicaments employés dans les maladies rares : exemple des facteurs anti-hémophiliques. Th D Pharm, UCBLyon1-ISPb; 2009.
- (108). Bolton-Maggs P.H.B., John Pasi K. Haemophilias A and B. The Lancet. 2003; 361: 1801-9
- (109). Rallapalli P.M., Kembal-Cook G., Tuddenham E.G., Gomez K., Perkins S.J. Factor IX Mutation Database – version 1.1. <http://www.factorix.org/>, mis à jour en juillet 2012, consulté le 5 décembre 2012.

- (110). DGS/DHOS/AFSSaPS n°258-03 du 28 mai 2003 relative aux prescriptions de facteurs de la coagulation en situation de tension sur les approvisionnements. (Bulletin officiel du Ministère de la santé, de la famille et des personnes handicapées, n°2003-24).
- (111). EMA. Guideline EMA/CHMP/BPWP/144552/2009 on clinical investigation of recombinant and human plasma-derived factor IX products. 2012; 1-20.
- (112). D'Alisa R. Methods for the inactivation of viruses in viral-contaminated pharmaceutical compositions. US Patent 5300433. 1994 Apr 5.
- (113). Bret C., Biron-Andreani C. Orientation diagnostique : troubles de l'hémostase. Enseignement d'hématologie de DCEM2. 2009; Montpellier, France [Power Point]. http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/cycle_2/MIB/Ressources_locales/hemato/MIB_Item339_Hematologie.pdf, consulté le 27 novembre 2012.
- (114). Jedidi I, Hdiji S., Ajmi N., Makni F. et al. Hémophilie B acquise : à propos d'un cas avec revue de littérature. Annales de Biologie Clinique. 2011; 69(6): 685-8.
- (115). Henry O. Bioréacteurs - Génie biochimique (GCH8650). 2011. École Polytechnique de Montréal.
- (116). Björkman S., Carlsson M. The pharmacokinetics of factor VIII and factor IX : methodology, pitfalls and applications. Haemophilia. 1997; 3(1): 1-8.
- (117). Collins P.W, Fischer K., Morfini M., Blanchette V.S., Björkman S on behalf of international prophylaxis study group (IPSG) pharmacokinetics expert working group. Implications of coagulation factor VIII and IX pharmacokinetics in the prophylactic treatment of haemophilia. Haemophilia. 2011; 17(1): 2-10.
- (118). Björkman S. A commentary on the differences in pharmacokinetics between recombinant and plasma-derived factor IX and their implications for dosing. Haemophilia. 2011; 17: 179-184.
- (119). Berntorp E., Björkman S., Carlsson M., Lethagen S., Nilsson I.M. Biochemical and *in vivo* properties of high purity factor IX concentrates. Thromb Haemost. 1993; 70: 768-73.
- (120). Björkman S, Carlsson M., Berntorp E. Pharmacokinetics of factor IX in patients with haemophilia B : methodological aspects and physiological interpretation. Eur J Clin Pharmacol. 1994; 46: 325-32.
- (121). Goudemand J., Peynet J., Chambost H., Négrier C., Briquel M.E., Claeysens S. et al. Cross-over pharmacokinetic study of a double viral inactivated factor IX concentrate (15 nm filtration and SD) compared to a SD factor IX concentrate. Thromb Haemost. 1998; 80: 919-24.

- (122). Hoots W.K., Leissinger C., Stabler S., Schwartz B.A., White G.C., Dasani H. *et al.* Continuous intravenous infusion of a plasma-derived factor IX concentrate (Mononine) in haemophilia B. *Haemophilia*. 2003; 9(2): 164-72.
- (123). White G.C., Beebe A., Nielsen B. Recombinant factor IX. *Thromb Haemost.* 1997; 78: 261-5.
- (124). White G., Shapiro A., Ragni M., Garzone P., Goodfellow J., Tubridy K. *et al.* Clinical evaluation of recombinant factor IX. *Semin. Haematol.* 1998; 35: 33-8
- (125). Kisker C.T., Eisberg A., Schwartz B., the Mononine study group. Prophylaxis in factor IX deficiency product and patient variation. *Haemophilia*. 2003; 9(3): 279-84.
- (126). Poon M.C., Lillicrap D., Hensman C., Card R., Scully M.F. Recombinant factor IX recovery and inhibitor safety : a Canadian post-licensure surveillance study. *Thromb Haemost.* 2002; 87 : 431-5.
- (127). Roth D.A, Kessler C.M., Pasi K.J., Rup B. Courter S.J., Tubridy K.L. Human recombinant factor IX : safety and efficacy studies in hemophilia B patients previously treated with plasma-derived factor IX concentrates. *Blood*. 2001; 98 : 3600-6.
- (128). Ragni M.V., Pasi K.J., White G.C., Giangrande P.L., Courter S.G., Tubridy K.L. *et al.* Use of recombinant factor IX in subjects with haemophilia B undergoing surgery. *Haemophilia*. 2002; 8(2): 91-7.
- (129). Lambert T., Recht M., Valentino L.A., Powell J.S., Udata C., Sullivan S.T. *et al.* Reformulated BeneFIX : efficacy and safety in previously treated patients with moderately severe to severe haemophilia B. *Haemophilia*. 2007; 13(3): 233-43.
- (130). Chang H.-H., Yung Y.-L., Hung M.-H., Tsay W., Shen M.-C. Pharmacokinetic study of recombinant human factor IX in previously treated patients with hemophilia B in Taiwan. *J Formos Med Assoc.* 2007; 106(4): 281-7.
- (131). Monahan P.E., Di P.J. Recombinant factor IX for clinical and research use. *Semin Thromb Hemost.* 2010; 36(5): 498-509.
- (132). Kim H.C., Mc Millan C.W., White G.C., Bergman G.E., Horton M.W., Saidi P. Purified factor IX using monoclonal immunoaffinity technique : clinical trials in hemophilia B and comparison to prothrombin complex concentrates. *Blood*. 1992; 79: 568-75.
- (133). Lee M., Morfini M., Schulman S., Ingerslev J., the factor VIII/factor IX scientific and standardization committee of the international society for thrombosis and haemostasis. The design and analysis of pharmacokinetic studies of coagulation factors. <http://www.isth.org/default/assets/File/fviiiipharco.pdf>, consulté le 27 novembre 2012.

- (134). Santagostino E. Prophylaxis in haemophilia B patients : unresolved issues and pharmacoeconomic implications. *Haemophilia*. 2010; 16 (suppl. 6): 13-7.
- (135). Keeling D., Tait C., Makris M., United Kingdom Haemophilia Center Doctor's Organisation (UKHCDO). Guideline on the selection and use of therapeutic products to treat haemophilia and other hereditary bleeding disorders. *Haemophilia*. 2008; 14: 671-84.
- (136). Berntorp E., Shapiro A.D., Waters J., Astermark J., the international factor IX treatment network. Letters to the editors - The international factor IX network survey. *Haemophilia*. 2012; 18: e60-e87
- (137). Nau J.-Y. L'hémophilie, une pathologie avec laquelle on peut vivre. *Le Monde Éditions*. 2005; 18729 : 26-7.
- (138). Chamouard V., Cahoreau V., Chevallier Brilloit C., Danieau F., Lopez I., Pelus E., Toguyeni E., Varin R. Focus on the evolution of clotting factor concentrate consumption in seven french hospitals. *Haemophilia*. 2012; 18(suppl.3): 1-208.PO-TU-016.
- (139). WFH. The world federation of hemophilia's sixth global forum on the safety and supply of treatment products for bleeding disorders- proceedings. 2009 Sep 24-25; Montreal, Canada. Montreal: WFH, 2009. p.1-70.
- (140). NHF. MASAC recommandation n°179 concerning prophylaxis (regular administration of clotting factor concentrate to prevent bleeding). <http://www.hemophilia.org/NHFWeb/Resource/StaticPages/menu0/menu5/menu57/masac179.pdf>, consulté le 27 novembre 2012.
- (141). EMA. Guideline EMA/CPMP/BWP/268/95 on plasma-derived medicinal products, 4^{ème} révision. 2009; 1-26.
- (142). Donadel-Claeysens S. on behalf of the european paediatric network for haemophilia management. Current co-ordinated activities of the PEDNET (european paediatric network for haemophilia management). *Haemophilia*. 2006; 12: 124-7.
- (143). Zappa S., McDaniel M., Marandola J., Allen G. Treatments trends for haemophilia A and haemophilia B in the United States : results from the 2010 practice patterns survey. *Haemophilia*. 2012; 18: e140-e153.
- (144). Nilsson I.M., Berntorp E., Löfqvist T., Pettersson H. Twenty-five years' experience of prophylactic treatment in severe haemophilia A and B. *J Int Med*. 1992; 232: 25-32.
- (145). Astermark J., Petrini P., Tengborn L., Schulman S., Ljung R., Berntorp E. Primary prophylaxis in severe haemophilia should be started at an early age but can be individualized. *Br J Haematol*. 1999; 105: 1109-13.

- (146). Löfqvist T., Nilsson I.M., Berntorp E., Pettersson H. Haemophilia prophylaxis in young patients – a long-term follow-up. *J Int Med.* 1997; 241: 395-400.
- (147). Fischer K., Astermark J., Van der Bom J.G., Ljung R., Berntorp E., Grobbee D.E. *et al.* Prophylactic treatment for severe haemophilia : comparison of an intermediate-dose to a high-dose regimen. *Haemophilia.* 2002; 8: 753-60.
- (148). Steen-Carlsson K., Höjgård S., Glomstein A., Lethagen S., Schulman S., Tengborn L. *et al.* On-demand vs. prophylactic treatment for severe haemophilia in Norway and Sweden : differences in treatment characteristics and outcome. *Haemophilia.* 2003; 9: 555-66.
- (149). Van den Berg H.M., Fischer K., Mauser-Bunschoten E.P., Beek F.J.A., Roosendaal G., Van der Bom J.G. *et al.* Long-term outcome of individualized prophylactic treatment of children with severe haemophilia. *Br J Haematol.* 2001; 112: 561-5.
- (150). Funk M., Schmidt H., Escuriola-Ettingshausen C., Pons S., Dzinaj T., Weimer C. *et al.* Radiological and orthopedic score in pediatric hemophilic patients with early and late prophylaxis. *Ann Hematol.* 1998; 77: 171-4.
- (151). Fischer K., Van der Bom J. G., Mauser-Bunschoten E.P., Roosendaal G., Prejs R., De Kleijn P. *et al.* The effects of postponing prophylactic treatment on long-term outcome in patients with severe hemophilia. *Blood.* 2002; 99(7) : 2337-41
- (152). Liesner R.J., Khair K., Hann I.M. The impact of prophylactic treatment on children with severe haemophilia. *Br J Haematol.* 1996; 92(4): 973-8
- (153). Royal S., Schramm W., Berntorp E., Giangrande P., Gringeri A., Ludlam C. *et al.* Quality-of-life differences between prophylactic and on-demand factor replacement therapy in European haemophilia patients. *Haemophilia.* 2002; 8: 44-50.
- (154). Meunier S., Trossaert M., Berger C., Borel-Derlon A., Dirat G., Donadel-Claeyssens S. *et al.* French guidelines - Long-term prophylaxis for severe haemophilia A and B children to prevent haemophiliac arthropathy. *Archives de pédiatrie.* 2009; 16: 1571-8.
- (155). Manco-Jonhson M.J., Nuss R., Geraghty S., Funk S., Kilcoyne R. Results of secondary prophylaxis in children with severe hemophilia. *Am J Hematol.* 1994; 47: 113-7.
- (156). Valentino L. A. Secondary prophylaxis therapy : what are the benefits, limitations and unknowns? *Haemophilia.* 2004; 10: 147-57.
- (157). Blanchette V.S., Al-Musa A., Stain A.M., Ingram J., Fille R.M. Central venous access devices in children with hemophilia : an update. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 1997; 8(suppl.1): 11-14.

- (158). Shapiro A.D. Why is primary prophylaxis underutilized in the United States ?
Haemophilia. 2003; 9: 670-2.
- (159). Abshire T. An approach to target joint bleeding in hemophilia : prophylaxis for all or individualized treatment ? The journal of pediatrics. 2004; 145(5): 581-3.
- (160). Journeycake J.M., Quinn C.T., Miller K.L., Zajac J.L., Buchanan G.R. Catheter-related deep venous thrombosis in children with hemophilia. Blood. 2001; 98(6): 1727-1731.
- (161). De Kleijn P., Odent T., Berntorp E., Hilliard P., Pasta G., Srivastava A. *et al.* Differences between developed and developing countries in paediatric care in haemophilia.
Haemophilia. 2012; 18(suppl.4): 94-100.
- (162). Petrini P., Chambost H., Nemes L. Towards the goal of prophylaxis : experience and treatment strategies from Sweden, France and Hungary. Haemophilia. 2004; 10(suppl.4): 94-6
- (163). Kreuz W., Esculoria-Ettinghausen C., Funk M., Schmidt H., Kornhuber B. When should prophylactic treatment in patients with haemophilia A and B start ? The german experience.
Haemophilia. 1998;4(4): 413-7.
- (164). Wu R., Luke K.-H., Poon M.-C., Wu X., Zhang N., Zhao L. *et al.*. Low dose secondary prophylaxis reduces joint bleeding in severe and moderate haemophilic children : a pilot study in China. Haemophilia. 2011; 17: 70-4.
- (165). Fischer K., Van den Berg M. Prophylaxis for severe haemophilia : clinical and economical issues. Haemophilia. 2003; 9: 376-81.
- (166). COMETH. Prophylaxie de longue durée chez les enfants hémophiles A et B sévères en prévention de l'arthropathie hémophilique – Mise à jour des recommandations thérapeutiques françaises. 2006. <http://www.cometh.net/fic/ml/Recommand%20Proph%202006%20COMETH83.pdf>, consulté le 27 novembre 2012.
- (167). Colvin B.T. *et al.* for the inter disciplinary working group of the european association for haemophilia and allied disorders. European principles of haemophilia care.
Haemophilia. 2008; 14: 361-374.
- (168). Chambost H., Ljung L. on behalf of the PedNet group. Changing pattern of care of boys with haemophilia in western European centres. Haemophilia. 2005; 11: 92-9.
- (169). Thornburg C.D., Carpentier S., Zappa S., Munn J, Leissing C. Current prescription of prophylactic factor infusions and perceived adherence for children and adolescents with haemophilia : a survey of haemophilia healthcare professionals in the United States.
Haemophilia. 2012; 18: 568-74.

- (170). Dodd C., Watts R.G. A comparison of traditional vs. Canadian tailored prophylaxis dosing of prophylactic factor infusions in children with haemophilia A and B in a single hemophilia treatment center. *Haemophilia*. 2012; 18: 561-7.
- (171). Petrini P. What factors should influence the dosage and interval of prophylactic treatment in patients with severe haemophilia A and B ? *Haemophilia*. 2001; 7: 99-102.
- (172). Berntorp E. Optimizing patient therapy – optimal dosing : when is enough enough ? *Haemophilia*. 2011; 17(suppl.3): 5-8.
- (173). Björkman S. Prophylactic dosing of factor VIII and factor IX from a clinical pharmacokinetic perspective. *Haemophilia*. 2003; 9(suppl.1): 101-10.
- (174). Van Balen M., De Jong C.N., Peters M., De Goede-Bolder A. *et al.* Starting haemophilia prophylaxis with once weekly vs. more frequent infusions in The Netherlands : comparison of the need of venous access devices. 2011. In: Programme and Abstracts of the 4th Annual Congress of the European Association for Haemophilia and Allied Disorders – Non-speaker abstracts. 2011 Feb 2-4; Geneva, Switzerland. *Haemophilia*. 2011; 17: 352-380.
- (175). Carlsson M., Björkman S., Berntorp E. Multidose pharmacokinetics of factor IX : implications for dosing in prophylaxis. *Haemophilia*. 1998; 4: 83-8.
- (176). Ménart C., Petit P.Y., Attali O., Massignon D., Dechavanne M., Négrier C. Efficacy and safety of continuous infusion of Mononine[®] during five surgical procedures in three hemophilic patients. *Am J Hematol*. 1998; 58: 110-6.
- (177). Chowdary P., Dasani H., Jones J.A.H., Loran C.M., Eldridge A., Hughes S. *et al.* Recombinant factor IX (Benefix[®]) by adjusted continuous infusion : a study of stability, sterility and clinical experience. *Haemophilia*. 2001; 7: 140-5.
- (178). Batorova A., Martinowitz U. Continuous infusion of coagulation factors. *Haemophilia*. 2002; 8: 170-7.
- (179). Schulman S. Continuous infusion. *Haemophilia*. 2003; 9: 368-75.
- (180). Chamouard V., Moreau S., Attali O., Négrier C. Stabilité biologique et stérilité des facteurs anti-hémophiliques dans la pompe à perfusion CADD PRIZM VIP[™] : étude préliminaire. *J Pharm Clin* .2001; 20(3): 149-56.
- (181). Chamouard V., Paillet C., Parat S., Meunier S., Lienhardt A., Négrier C. Implication pharmaceutique dans la préparation de perfusions continues de facteurs antihémophiliques. *J Pharm Clin*. 2005; 24(2): 98-106.

- (182). Uprichard J., Adamidou D., Goddard N.J., Yee T.T. Factor IX replacement to cover total knee replacement surgery in haemophilia B : 10 years experience in a single centre. 2011. In : Non-speaker Abstracts. Haemophilia. 2011; 17: 352-80.
- (183). Schulman S., Wallensten R., White B., Smith O.P. Efficacy of a high purity, chemically treated and nanofiltered factor IX concentrate for continuous infusion in haemophilia patients undergoing surgery. Haemophilia. 1999; 5(2): 96-100.
- (184). Schulman S., Gitel S., Ziveliln. A., Katsarou O., Mandalaki T., Varon D., Martinowitz U. The feasibility of using concentrates containing factor IX for continuous infusion. Haemophilia. 1995; 1(2): 103-10.
- (185). Dimichele D.M., Blanchette V., Berntorp E. Clinical trial design in haemophilia. Haemophilia. 2012; 18(suppl.4): 18-23.
- (186). Orio A. The use of the clinical trial design in Hemophilia : methodological considerations. 2012. In: Abstracts of the 5th Annual Congress of the European Association for Haemophilia and Allied Disorders – Speaker abstracts. 2012 Feb 22-24; Roma, Italia. Haemophilia. 2012; 18(suppl.1): 1-10.
- (187). Farrugia A., O'Mahony B., Cassar J. Health technology assessment and haemophilia. Haemophilia. 2012;18: 152-7.
- (188). Sullivan B.M., Cambron J.A., Department of research evidence based practice. Overview of study design in clinical research. National University of Health Sciences (NUHS). 2008; Lombard, USA [Power Point].
- (189). Lee M.L., Roth D.A. A Bayesian approach to the assessment of inhibitor risk in studies of factor VIII concentrates. Haemophilia. 2005; 11: 5-12.
- (190). Dargaud Y., Sørensen B., Shima M., Hayward C., Srivastava A., Négrier C. Global haemostasis and point of care testing. Haemophilia. 2012; 18(suppl.4): 81-8.
- (191). Dargaud Y., Meunier S., Berger C. Place des tests globaux dans l'évaluation des thérapeutiques chez l'enfant. In : V^{ème} congrès annuel de la COMETH. 2012 Sep. 27-28; Toulouse, France [Power Point]
- (192). Santagostino E., Mancuso M.E., Tripodi A. *et al.* Severe hemophilia with mild bleeding phenotype : molecular characterization and global coagulation profile. J Thromb Haem. 2012; 8(4): 737-43.
- (193). Bauters A., Mazoyer E. Apport de la thromboélastométrie rotative (ROTEM[®]) pour l'exploration de l'hémostase : intérêt en pratique clinique. Revue francophone de laboratoires. 2007; 393: 45-50.

- (194). Chow S.-C., Chang M. Adaptative design methods in clinical trials – a review. Orphanet Journal of Rare Diseases. 2008; 3: 11.
- (195). FDA. Critical Path Opportunities List. 2006. <http://www.fda.gov/downloads/scienceresearch/specialtopics/criticalpathinitiative/criticalpathopportunitiesreports/UCM077258.pdf>, consulté le 27 novembre 2012.
- (196). WHO. Adherence to long-term therapies – Evidence for action. 2003. http://www.who.int/chp/knowledge/publications/adherence_full_report.pdf, consulté le 27 novembre 2012.
- (197). Khleif A., Gustafson S., Rodriguez N., Nguyen T., Brown D., Escobar M. Adherence to prophylaxis treatment regimens among persons with severe hemophilia A and B : results from a one-year, single institution study. Haemophilia. 2012; 18(suppl.3): 1-208. PO-TU-192.
- (198). John Pasi K. Haemophilia and adolescence. Haemophilia. 2012; 17(suppl.3): 1-24.
- (199). Schrijvers L., Beijlevelt Van Der Zande M., Peters M. *et al.* Adherence to prophylaxis in the Netherlands : a multicentre study. Haemophilia. 2012; 18(suppl.3): 1-208. FP-MO-04.4-3.
- (200). Lindvall K., Colstrup L., Wollter I.-M., Klemenz G., Loogna K., Grønhaug S. *et al.* Compliance with treatment and understanding of own disease in patients with severe and moderate haemophilia. Haemophilia. 2006; 12: 47-51.
- (201). Khair K., Gibson F., Meerabeau L. The benefits of prophylaxis : views of adolescents with severe haemophilia. Haemophilia. 2012; 18: e286-9.
- (202). Amano K., Sakai M., Takedani H., Tanaka I., Kudo K., Taki M. Observational study for improving adherence with prophylaxis in hemophilia. Haemophilia. 2012; 18(suppl.3): 1-208. PO-TU-182.
- (203). Haynes R.B, Ackloo E., Sahota N., Mc Donald H.P., Yao X. Interventions for enhancing medication adherence. The Cochrane Library – the Cochrane database of systematic reviews. 2^{ème} éd. John Wiley & Sons, Ltd; 2009.
- (204). Anonyme. New orphan drug designated for haemophilia B. Inpharma Weekly. 2008; 1667: 22.
- (205). Stonebraker J.S., Bolton-Maggs P.H.B., Brooker M., Farrugia A. Srivastava A. A study of reported factor IX use around the world. Haemophilia. 2011; 17: 446-55.

- (206). Assurance maladie. Dépenses annuelles totales de l'assurance maladie pour les personnes en affection de longue durée selon les libellées des ALD - Année 2009. <http://www.ameli.fr/l-assurance-maladie/statistiques-et-publications/donnees-statistiques/affection-de-longue-duree-ald/cout/cout-des-ald-en-2009.php>, consulté le 27 novembre 2012.
- (207). Stonebraker J.S., Bolton-Maggs P.H.B., Michael Soucie J., Walkers I., Brooker M. A study of variations in the reported haemophilia B prevalence around the world. *Haemophilia*. 2012; 18: e91-4.
- (208). World Federation of Hemophilia. Report on the annual global survey. 2010. <http://www1.wfh.org/publications/files/pdf-1427.pdf>, consulté le 27 novembre 2012.
- (209). Sooksriwong C., Boonkerd L., Chanjaruporn F., Chuansumrit A. Incremental cost effectiveness analysis for haemophilia home-based care programme in Thailand. *Haemophilia*. 2012; 18: e347-63.
- (210). Khleif A.A., Rodriguez N., Brown D., Escobar M.A. Utilization patterns and associated costs of factor assistance programmes among persons with haemophilia : a single institution review. *Haemophilia*. 2012; 18: e95-100.
- (211). Skinner M.W. Haemophilia : provision of factors and novel therapies : World Federation of Hemophilia goals and achievements. *Br J Haematol*. 2011; 154: 704-14.
- (212). Guh S., Grosse S.D., McAlister S., Kessler C.M., Soucie J.M. Costs of care for publicly insured males with hemophilia in the United States, 2008. In : Abstracts of the Hemostasis & Thrombosis Research Society, Annual Scientific Symposium. 2011 Apr 28-30; Chicago (IL), USA. *Haemophilia*. 2011; 17: 564-9.
- (213). Celkan T., Ozdemir T. Reduced early prophylaxis of children with haemophilia in a developing country, Turkey. *Haemophilia*. 2011; 17: e840-1.
- (214). Berntorp E. Importance of rapid bleeding control in haemophilia complicated by inhibitors. *Haemophilia*. 2011; 17: 11-6.
- (215). Valentino L.A., Cooper D.L., Goldstein B. Surgical experience with rFVIIa (Novoseven) in congenital haemophilia A and B patients with inhibitors to factors VIII or IX. *Haemophilia*. 2011; 17: 579-89.
- (216). Skhiri R., Rafowicz A., Peynet J., Bastenaire B. A case of inhibitor to factor IX in a two-year-old boy with severe congenital hemophilia. *Haemophilia*. 2012; 18(suppl.3): 1-208. PO-TU-054.
- (217). Male D. Immunologie – Aide-mémoire illustré. 3^{ème} éd. Bruxelles: De Boeck Université; 2005

- (218). Astermark J. Prevention and prediction of inhibitor risk. *Haemophilia*. 18 (suppl.4): 38-42.
- (219). Tengborn L., Hansson S., Fasth A., Lübeck P.O., Berg A., Ljung R. Anaphylactoid reactions and nephrotic syndrome – a considerable risk during factor IX treatment in patients with haemophilia B and inhibitors : a report on the outcome in two brothers. *Haemophilia*. 1998; 4: 854-9.
- (220). Manucci P.M. Treatment of haemophilia : building on strength in the third millenium. *Haemophilia*. 2011; 17(suppl.3): 1-24.
- (221). Astermark J., Berntorp E., White G.C., Kroner B.L. The Malmö International Brother Study (MIBS) : further support for genetic predisposition to inhibitor development. *Haemophilia*. 2001; 7: 267-72.
- (222). Astermark J., Altisent C., Batorova A., Diniz M.J. *et al.* Non-genetic risk factors and the development of inhibitors in haemophilia : a comprehensive review and consensus report. *Haemophilia*. 2010; 16: 747-66.
- (223). DiMichele D. Inhibitor development in haemophilia B : an orphan disease in need of attention. *Br J Haematol*. 2007; 138: 305-15.
- (224). Giles A.R., Verbruggen B., Rivard G.E., Teitel J., Walker I. A detailed comparison of the performance of the standard versus the Nijmegen modification of the Bethesda assay in detecting factor VIII:C inhibitors in the haemophilia A population of Canada. *Thromb Haemost*. 1998; 79(4): 872-5.
- (225). Nagel K., Laudenschlag L., Rivard G.E., Jardine L., Chan A.K.C., Pai M.K. Immune tolerance induction for a patient with factor IX inhibitors – a case report. *Haemophilia*. 2011; 17: 312-26.
- (226). Klukowska A., Laguna P., Waleszkiewicz Majewska B., Peregud Pogorzelski J. *et al.* Successful immune tolerance induction in two boys with haemophilia B and inhibitory antibodies. *Haemophilia*. 2012; 18: e60-e87.
- (227). Teitel J., Berntorp E., Dolan G., Fischer K., Gringeri A., Kessler C. *et al.* A consensus statement on clinical trials of bypassing agent prophylaxis in inhibitor patients. *Haemophilia*. 2011; 17: 516-21.
- (228). Young G., Auerswald G., Jimenez-Yuste V., Konkle B.A., Lambert T., Morfini M. *et al.* When should prophylaxis therapy in inhibitor patients be considered ? *Haemophilia*. 2011; 17 : e849-57.
- (229). Base de données Thériaque®. FEIBA® 500U/20mL, poudre et solvant pour solution injectable – Monographie complète. <http://www.theriaque.org/apps/monographie/index.php?type=SP&id=19047>, mis à jour le 2 décembre 2011, consulté le 27 novembre 2012.

- (230). Base de données Thériaque®. Novoseven® 5mg /5mL, poudre et solvant pour solution injectable – Monographie complète. <http://www.theriaque.org/apps/monographie/index.php?type=SP&id=23504>, mis à jour le 12 avril 2012, consulté le 27 novembre 2012.
- (231). Lillicrap D. Extending half-life in coagulation factors : where do we stand ?
Thromb Res. 2008; 122(suppl.4): 52-8.
- (232). Pipe S. Visions in haemophilia care.
Thromb Res. 2009; 124(suppl.2): S2-5
- (233). Simone Fishburn C. The pharmacology of PEGylation : balancing PD with PK to generate novel therapeutics. J Pharm Sci. 2007; 97(10): 4167-83.
- (234). Yatuv R., Robinson M., Dayan I., Baru M. Enhancement of the efficacy of therapeutic proteins by formulation with PEGylated liposomes; a case of FVIII, FVIIa and G-CSF.
Expert Opin Drug Deliv. 2010; 7(2): 187-201.
- (235). Ivens I.A., Baumann A., McDonald T.A., Humphries T.J., Michaels L.A., Mathew P.
PEGylated therapeutic proteins for haemophilia treatment : a review for haemophilia caregivers. Haemophilia. 2012; doi: 10.1111/j.1365-2516.2012.02931.x.
- (236). U.S. National Institute of Health. Clinical Trials.
<http://www.clinicaltrial.gov/>, consulté le 27 novembre 2012.
- (237). Scott Fogler H. Elements of chemical reaction engineering.
4^{ème} éd. Boston : Prentice Hall PTR international series, Pearson Education; 2006.
- (238). Schulte S. Half-life extension through albumin fusion technologies.
Thromb Res. 2009; 124(suppl.2): S6-8.
- (239). Peters R.T., Low S.C., Kamphaus G.D, Dumont J.A., Amari J.V., Lu Q. *et al.* Prolonged activity of factor IX as a monomeric Fc fusion protein. Blood. 2010; 115(10): 2057-64.
- (240). Shapiro A.D., Ragni M.V., Valention L.A., Key N.S., Josephson N.C. *et al.* Recombinant factor IX-Fc fusion protein (rFIXFc) demonstrates safety and prolonged activity in a phase 1/2a study in hemophilia B patients. Blood. 2012; 119(3): 666-71.
- (241). Santagostino E., Négrier C., Klamroth R., Tiede A., Pabinger-Fasching I., Voigt C. *et al.* Safety and pharmacokinetics of a novel recombinant fusion protein linking coagulation factor IX with albumin (rIX-FP) in hemophilia B patients. Blood. 2012; 120(12): 2405-11.

- (242). Metzner H.J., Weimer T., Kronthaler U., Lang W., Schulte S. Genetic fusion to albumin improves the pharmacokinetic properties of factor IX. *Thromb Haemost.* 2009; 102(4): 634-44.
- (243). Nolte M.W., Nichols T.C., Mueller Cohrs J. *et al.* rIX-FP, a recombinant fusion protein linking coagulation factor IX with albumin, demonstrates improved kinetics in cynomolgus monkeys and hemophilia B. In : Non-speaker Abstracts. *Haemophilia.* 2012; 18 (Suppl.1): 39.
- (244). Hart G., Zaker M., Hershkovitz O., Bar-Ilan A., Fima E. FVIIa-CTP and FIX-CTP, a novel long-acting coagulation factors with prolonged haemostatic effect and improved recovery in FVIII -/- and FIX -/- mice. In : Non-speaker Abstracts. *Haemophilia.* 2012; 18 (Suppl.1): 41.
- (245). Østergaard H., Bjelke J.R., Hansen L. *et al.* Prolonged half-life and preserved enzymatic properties of factor IX selectively PEGylated on native N-glycans in the activation peptide. *Blood.* 2011; 118(8): 2333-41.
- (246). Pipe S.W. The hope and reality of long-acting hemophilia products. In : THNSA meeting proceedings. *AMJ.* 2012.87(S1): S33-S39.
- (247). Perkins M., Novozymes Pharma. Flexing the rules on drug dosing frequency – The creation of a tunable half-life technology. *Contract pharma.* 2012; 110. http://www.contractpharma.com/issues/2012-10/view_features/flexing-the-rules-on-drug-dosing-frequency/, consulté le 27 novembre 2012.
- (248). Lin C.J., Kao C.Y., Miao C.H., Hamaguchi N., Wu H.L., Shi G.Y. *et al.* Generation of a novel factor IX with augmented clotting activities *in vitro* and *in vivo*. *J Thromb Haemost.* 2010; 8: 1773-83.
- (249). Chang J.-Y., Monroe D.M., Stafford D.W., Brinkhous K.M., Roberts H.R. Replacing the first epidermal growth factor-like domain of factor IX with that of factor VII enhances activity *in vitro* and in canine hemophilia B. *J Clin Invest.* 1997; 100(4): 886-92.
- (250). Chang J., Jin J., Lollar P., Bode W., Brandstetter H., Hamaguchi N. *et al.* Changing residue 338 in human factor IX from arginine to alanine causes an increase in catalytic activity. *J Biol Chem.* 1998; 20: 12089-94.
- (251). Simioni P., Tormene D., Tognin G., Gavasso S. *et al.* X-linked thrombophilia with a mutant factor IX (Factor IX Padua). *N Engl J Med.* 2006; 361: 1671-5.
- (252). Chung-Yang K., Lin C.-N., Yu I.-S., Tao M.-H., Wu H.-L. *et al.* FIX-Triple, a gain-of-function factor IX variant, improves haemostasis in mouse models without increased risk of thrombosis. *Thromb Haemost.* 2010; 104(2): 355-65.

- (253). De Crescenzo G. Méthodes analytiques - Procédés avancés de séparation (GCH8620). 2011. École Polytechnique de Montréal.
- (254). Fay P.J. Activation of factor VIII and mechanisms of cofactor action. *Blood Rev.* 2004; 18(1): 1-15.
- (255). Iberer G., Schwinn H., Josic D., Jungbauer A., Buchacher A. Continuous purification of a clotting factor IX concentrate and continuous regeneration by preparative annular chromatography. *J Chromatogr A.* 2002; 972: 115-29.
- (256). Kim W. H., Kim J.-S., Yoon Y., Lee G. M. Effects of Ca²⁺ and Mg²⁺ concentration in culture medium on the activation of recombinant factor IX produced in Chinese hamster ovary cells. *Journal of Biotechnology.* 2009; 142: 275-8.
- (257). Westwood A.D., Rowe D.A., Clarke H.R. Improved recombinant protein yield using a codon deoptimized DHFR selectable marker in a CHEF1 expression plasmid. *Biotechnol Prog.* 2010; 26(6): 1558-66.
- (258). Wiatr C. US biosimilar pathway unlikely to be used : developers will opt for a traditional BLA filing. *Biodrugs.* 2011; 25(1): 63-7.
- (259). Martinowitz U., Shapiro A., Quon D.V., Escobar M., Kempton C., Collins P.W. *et al.* Pharmacokinetic properties of IB1001, an investigational recombinant factor IX, in patients with haemophilia B : repeat pharmacokinetic evaluation and sialylation analysis. *Haemophilia.* 2012; 18: 881-7.
- (260). Lee M.L., Apte S.J., Morfini M., Ramanan V., Escobar M., Kempton C. *et al.* Use of IB1001, a new investigational recombinant factor IX, in patients with hemophilia B undergoing major surgical procedures. In : Non-speaker Abstracts. *Haemophilia.* 2012; 18 (Suppl.1): 41.
- (261). Inspiration Biopharmaceuticals. Inspiration Biopharmaceuticals announces clinical hold of clinical trials evaluating IB1001 for the treatment and prevention of bleeding in hemophilia B. In : Press releases Inspiration Biopharmaceuticals. 2012 Jul. 10. <http://www.inspirationbio.com/files/994/76221.pdf>, consulté le 27 novembre 2012.
- (262). Inspiration Biopharmaceuticals. Inspiration Biopharmaceuticals files for chapter 11 protection in order to pursue a broad strategic transaction – Assets to be sold comprise basis for a global hemophilia business. In : Press releases Inspiration Biopharmaceuticals. 2012 Oct. 31. <http://www.inspirationbio.com/files/994/78825.pdf>, consulté le 27 novembre 2012.
- (263). AFP. Le partenaire d'Ipsen en hémophilie, Inspiration Biopharmaceuticals, se place sous la protection du chapitre 11. <http://www.afp.com/fr/professionnels/partenaires/business-wire/le-partenaire-dipsen-en-hemophilie-inspiration-biopharmaceuticals-se-place-sous-la-protection-du>, consulté le 27 novembre 2012.

- (264). Enjolras N., Dargaud Y., Pérot É., Guillaume F., Becchi M., Négrier C. Human hepatoma cell line HuH-7 is an effective cellular system to produce recombinant factor IX with improved post-translational modifications. *Thromb Res.* 2012; 130: e266-73.
- (265). Ettinger R.A., Liberman J.A., Thompson A.R., Pratt K.P. Reduced immunogenicity of FVIII-C2 with F2196A modification of an immunodominant HLA-DRB1*0101-restricted T-cell epitope. In : Abstracts of the Hemostasis & Thrombosis Research Society, Annual Scientific Symposium. 2011 Apr 28-30; Chicago (IL), USA. *Haemophilia.* 2011; 17: 564-9.
- (266). Gringeri A., Fischer K., Karafoulidou A, Klamroth R., Lopez-Fernández M.F., Mancuso E. Sequential combined bypassing therapy is safe and effective in the treatment of unresponsive bleeding in adults and children with haemophilia and inhibitors. *Haemophilia.* 2011; 17 : 630-5.
- (267). Gray L.D., Hussey M.A., Larson B.M., Machlus K.R., Campbell R.A., Koch G *et al.* Recombinant factor VIIa analog NN1731 (V158D/E296V/M298Q-FVIIa) enhances fibrin formation, structure and stability in lipidated hemophilic plasma. *Thromb Res.* 2011; 128: 570-6.
- (268). Allen G.A., Persson E., Campbell R.A., Ezban M., Hedner U., Wolberg A.S. A variant of recombinant factor VIIa with enhanced procoagulant and antifibrinolytic activities in an *in vitro* model of hemophilia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27(3): 683-9.
- (269). Holmberg H.L., Lauritzen B., Tranholm M., Ezban M. Faster rFVIIa, aPCC and FVIII in tail bleeding in hemophilic mice. *J Thromb Haemost.* 2009; 7(9): 1517-22.
- (270). Moss J., Scharling B., Ezban M., Moller Sorensen T. Evaluation of the safety and pharmacokinetics of a fast-acting recombinant FVIIa analogue, NN1731, in healthy male subjects. *J Thromb Haemost.* 2009; 7(2) : 299-305.
- (271). Weimer T., Wormsbacher W., Kronthaler U., Lang W., Liebing U., Schulte S. Prolonged *in vivo* half-life of factor VIIa by fusion to albumin. *Thromb Haemost.* 2008; 9(4): 659-67.
- (272). Stennicke H.R., Ostergaard H., Bayer R.J., Kalo M.S., Kinealy K., Holm P.K. *et al.* Generation and biochemical characterization of glycoPEGylated factor VIIa derivatives. *Thromb Haemost.* 2008; 100: 920-8.
- (273). Dallabrida L., Salas J., Gary S., Hoehn T., Moore N., Li L. *et al.* Recombinant FVIIa-XTEN as a long-lasting form of rFVIIa with an enhanced PK profile. *Haemophilia.* 2012; 18(suppl.3): 1-208. FP-TU-01.1-2.
- (274). Salas J., Kistanova E., Ashworth T., Patel R., Pape B. *et al.* rFVIIIFc zymogens with enhanced activation kinetics. *Haemophilia.* 2012; 18(suppl.3): 1-208. PO-TU-047.

- (275). Petersen L.C., Karpf D.M., Agerso H., Hermit M.B., Pelzer H., Persson E. *et al.* Intravascular inhibition of factor VIIa and the analogue NN1731 by antithrombin. *Br J Haematol.* 2011; 152(1): 99-107.
- (276). Mahlangu J.N., Coetzee M.J., Laffan M., Windyga J., Yee T.T., Schroeder J. *et al.* Phase I, randomized, double-blind, placebo-controlled, single-dose escalation study of the recombinant factor VIIa variant BAY 86-6150 in hemophilia. *J Thromb Haemost.* 2012; 10(5): 773-80.
- (277). Spira J., Plyushch O., Zozulya N., Yatuv R., Dayan I., Bleicher A. *et al.* Safety, pharmacokinetics and efficacy of factor VIIa formulated with inhibitors to factor VIII – an open label exploratory, cross-over, phase I/II study. *Haemophilia.* 2010; 16: 910-8.
- (278). Shirahata A., Fukutake K., Mimaya J., Takamatsu J., Shima M. *et al.* Clinical pharmacological study of a plasma-derived factor VIIa and factor X mixture (MC710) in haemophilia patients with inhibitors – Phase I trial. *Haemophilia.* 2012; 18: 94-101.
- (279). Blanchette V.S., Pipe S.W., Chitlur M.B, Blood CME center. Current strategies for the surgical management of patients with congenital bleeding disorders. In : American Society of Pediatric Hematology/Oncology annual meeting, 2011 [Power Point]. <http://bloodmecenter.org/Downloads/Congenital%20Bleeding%20Disorders.pdf>, consulté le 27 novembre 2012.
- (280). Baxter submits application for FDA approval of recombinant factor IX for the treatment of hemophilia B. In : Press releases Baxter. 2012 Sep. 4. http://www.baxter.com/downloads/press_room/press_releases/2012/09_04_12_bax326.pdf, consulté le 27 novembre 2012.
- (281). Erhardtsen E., Ezban M., Madsen M.T., Diness V., Glazer S., Hedner U. *et al.* Blocking of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) shortens the bleeding time in rabbits with antibody induced haemophilia A. *Blood Coag Fibrinolysis.* 1995; 6(5): 388-94.
- (282). Hilden I., Lauritzen B., Sørensen B.B. *et al.* Hemostatic effect of a monoclonal antibody mAb 2021 blocking the interaction between FXa and TFPI in a rabbit hemophilia model. *Blood.* 2012; 119(24): 5871-8.
- (283). Prasad S., Lillicrap D., Labelle A., Knappe S., Keller T., Burnett E. *et al.* Efficacy and safety of a new-class hemostatic drug candidate, AV513, in dogs with hemophilia A. *Blood.* 2008; 111(2): 672-9.
- (284). Waters E.K., Genga R.M., Schwartz M.C., Nelson J.A., Schaub R.G., Olson K.A. *et al.* Aptamer ARC19499 mediates a procoagulant hemostatic effect by inhibiting tissue factor pathway inhibitor. *Blood.* 2011; 117(20): 5514-22.

- (285). Tuddenham E. Gene therapy for haemophilia B.
Haemophilia. 2012; 18(suppl.4): 13-7.
- (286). Lentz T.B., Gray S.J., Samulski R.J. Viral vectors for gene delivery to the central nervous system. Neurobiology of disease. 2012; 48: 179-88.
- (287). Moulay G. Approches de thérapies géniques pour des maladies neuromusculaires.
Th Doctorat, Évry Val d'Essonne; 2010.
- (288). Saint Louis D., Verma I.M. An alternative approach to somatic cell gene therapy.
Proc Natl Acad Sci USA. 1988; 85: 3150-4.
- (289). Palmer T.D., Thompson A.R., Miller A.D. Production of human factor IX in animals by genetically modified skin fibroblasts : potential therapy for hemophilia B.
Blood. 1989; 73(2): 438-45.
- (290). Herzog R.W., Hagstrom J.N., Kung S.H. *et al.* Stable gene transfer and expression of human blood coagulation factor IX after intramuscular injection of recombinant adeno-associated virus.
Proc Natl Acad Sci USA. 1997; 94: 5804-9.
- (291). Nougier C. Diagnostic biologique de l'hémophilie A – Aspect phénotypique. In : XXI^{ème} journée du Club Française des Techniciens en Hémostase. 2011 May 27; Lyon, France [Power Point]
- (292). Verbruggen B., Novakova I., Wessels H., Boezeman J., Van den Berg M., Mauser-Bunschoten E. The Nijmegen modification of the Bethesda assay for factor VIII:C inhibitors : improved specificity and reliability. Thromb Haemost. 1995; 73(2): 247-51
- (293). Liras A., Garcia Arranz M., Garcia Gomez I., Vega L., Garcia Olmo D., Olmedillas S. Factor IX secretion in human adipose-derived stem cells by non-viral gene transfer.
Haemophilia. 2012; 18(suppl.3): 1-208. PO-WE-091.
- (294). Schved J.-F. Hémophilie : physiopathologie et bases moléculaires.
Paris: Encycl. Med. Chir., Elsevier Masson; 2008.
- (295). Batorova A., Holme P., Gringeri A., Richards M., Hermans C., Altisent C. *et al.* Continuous infusion in haemophilia : current practice in Europe. Haemophilia. 2012; 18: 753-9.
- (296). Aznar J.A., Marco A., Jiménez-Yuste V., Fernandez-Fontecha E., Perez R., Soto I. *et al.* Is on-demand treatment effective in patients with severe haemophilia ? Haemophilia. 2012; 18: 738-42.
- (297). Schramm W., Gringeri A., Ljung R., Berger K., Crispin A., Bullinger M. *et al.* Haemophilia care in Europe : the ESCHQol study. Haemophilia. 2012; 18: 729-37.

- (298). Lundin B., Manco-Johnson M.L., Ignas D.M., Moineddin R., Blanchette V.S., Dunn A.L. *et al.* An MRI scale for assessment of haemophilic arthropathy from the International Prophylaxis Study Group. *Haemophilia*. 2012; 18: 962-70.
- (299). Hamasaki-Katagiri N., Salari R., Simhadri V.L., Tseng S.C., Needlman E., Edwards N.C. *et al.* Analysis of F9 point mutations and their correlation to severity of haemophilia B disease. *Haemophilia*. 2012; 18: 933-40.
- (300). Lindvall K., Astermark J., Björkman S., Ljung R., Carlsson K.S., Persson S. *et al.* Daily dosing prophylaxis for haemophilia : a randomized crossover pilot study evaluating feasibility and efficacy. *Haemophilia*. 2012; 18: 855-9.
- (301). Wong W.-Y., Bevan D., Sørensen B., Pasi J., Benson G., Dockal M. *et al.* Treatment of hemophilia A and B with BAX 499, an aptamer based specific inhibitor of TFPI – Summary data of a clinical phase 1 trial. In : Late-breaking abstracts from the WFH 2012 Hemophilia World Congress. *Haemophilia*. 2012; 18: 828-32. LB-WE-03.1.

L'ISPB - Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon 1 n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

TAILHEFER Hugo

Hémophilie B : actualités et perspectives thérapeutiques

Th. D. Pharm., Lyon 1, 2013, 186 p.

RESUME

L'hémophilie B est une maladie hémorragique constitutionnelle chronique qui affecte toutes les populations de la planète avec une prévalence d'environ 1 pour 50 000 personnes. Cette pathologie récessive liée à l'X touche presque exclusivement les hommes et se manifeste par un défaut qualitatif ou quantitatif du facteur de coagulation IX (FIX) à l'origine du syndrome hémorragique. Chez les patients en absence de traitement, la pathologie occasionne des hémarthroses récidivantes et douloureuses qui peuvent aboutir, entre autres, à une destruction irréversible de l'articulation. Ce syndrome d'arthropathie hémophilique est source d'un handicap majeur et d'une diminution de l'espérance et de la qualité de vie des patients hémophiles B.

Au cours des cinquante dernières années, les évolutions de l'hématologie, des techniques de purification, de la génétique et du génie biopharmaceutique ont permis une évolution spectaculaire des traitements de cette maladie millénaire. Sur la base d'un traitement substitutif prophylactique en concentrés de FIX exogène de haute pureté, il est désormais possible de traiter et de prévenir l'apparition des épisodes hémorragiques et ainsi empêcher l'évolution vers l'arthropathie.

Dans la mise en place de ce schéma prophylactique efficace idéalement adapté au patient et à ces besoins, un certain nombre de difficultés demeurent. L'industrie pharmaceutique, les soignants et les patients du monde entier sont mobilisés pour trouver des réponses à ces difficultés par des thérapies actuellement en développement. Parmi elles, la thérapie génique, qui permettrait la production endogène de FIX, est sans doute la plus innovante et la plus porteuse d'espoir.

MOTS CLES

Hémostase
Hémophilie
Facteur antihémophilique B
Thérapie génique

JURY

Mme VINCIGUERRA Christine, Professeur
Mme. CHAMOUARD Valérie, Docteur en Pharmacie
Mme MEUNIER Sandrine, Docteur en Médecine
M. NOUGIER Christophe, Docteur en Pharmacie
M. GIROLLET Thibaut, Docteur en Pharmacie

DATE DE SOUTENANCE

Jeudi 10 janvier 2013

ADRESSE DE L'AUTEUR

Chemin de chameau – 26130 Saint-Paul-Trois-Châteaux