



ROYAUME DU MAROC  
UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT  
FACULTE DE MEDECINE  
ET DE PHARMACIE  
RABAT



Année: 2021

Thèse N°: 119

# LES NOUVEAUX MEDICAMENTS DANS L'HEMOPHILIE

## THESE

Présentée et soutenue publiquement le : / /2021

PAR

**Madame Ikram HABBOUBAT**

*Née le 14 Juillet 1994 à Tiflet Khemisset*

*Médecin Interne du CHU Ibn Sina de Rabat*

*Pour l'Obtention du Diplôme de*

## Docteur en Médecine

**Mots Clés :** Emicizumab; Pegylation; Technologie de fusion; FVIII recombinant à demi-vie allongée; FIX recombinant à demi-vie allongée

Membres du Jury :

**Madame Souad BENKIRANE**

Professeur d'Hématologie Biologique

**Monsieur Azlarab MASRAR**

Professeur d'Hématologie Biologique

**Monsieur Abdellah DAMI**

Professeur de Biochimie et Chimie

**Monsieur Anas JEAIDI**

Professeur d'Hématologie Biologique

**Présidente**

**Rapporteur**

**Juge**

**Juge**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا

إنك أنت العليم الحكيم

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سورة البقرة: الآية: 31



**UNIVERSITE MOHAMMED V  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE  
RABAT**

**DOYENS HONORAIRES :**

1962 - 1969: Professeur Abdelmalek FARAJ  
1969 - 1974: Professeur Abdellatif BERBICH  
1974 - 1981: Professeur Bachir LAZRAK  
1981 - 1989: Professeur Taieb CHKILI  
1989 - 1997: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI  
1997 - 2003: Professeur Abdelmajid BELMAHI 2003  
- 2013: Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

**ADMINISTRATION :**

**Doyen :**

**Professeur Mohamed ADNAOUI**

**Vice-Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes**

Professeur Brahim LEKEHAL

**Vice-Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération**

Professeur Taoufiq DAKKA

**Vice-Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie**

Professeur Younes RAHALI

**Secrétaire Général**

Mr. Mohamed KARRA

\*Enseignant militaire

## 1 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS ET PHARMACIENS

### PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

#### Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi

Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine Interne - [Clinique Royale](#)

Anesthésie - Réanimation

Pathologie Chirurgicale

#### Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed

Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne - [Doyen de la FMPR](#)

Neurologie

#### Janvier et Novembre 1990

Pr. KHARBACH Aïcha

Pr. TAZI Saoud Anas

Gynécologie - Obstétrique

Anesthésie Réanimation

#### Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AZZOUZI Abderrahim

Pr. BAYAHIA Rabéa

Pr. BELKOUCHI Abdelkader

Pr. BENSOUA Yahia

Pr. BERRAHO Amina

Pr. BEZAD Rachid

Pr. CHERRAH Yahia

Pr. CHOKAIRI Omar

Pr. KHATTAB Mohamed

Pr. SOULAYMANI Rachida

Pr. TAOUFIK Jamal

Anesthésie Réanimation

Néphrologie

Chirurgie Générale

Pharmacie galénique

Ophthalmologie

Gynécologie Obstétrique [Méd. Chef Maternité des Orangers](#)

Pharmacologie

Histologie Embryologie

Pédiatrie

Pharmacologie- [Dir. du Centre National PV Rabat](#)

Chimie thérapeutique

#### Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed

Pr. BENSOUA Adil

Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza

Pr. CHRAIBI Chafiq

Pr. EL OUAHABI Abdessamad

Pr. FELLAT Rokaya

Pr. JIDDANE Mohamed

Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale [Doyen de FMPT](#)

Anesthésie Réanimation

Gastro-Entérologie

Gynécologie Obstétrique

Neurochirurgie

Cardiologie

Anatomie

Microbiologie

#### Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Nouredine

Pr. BEN RAIS Nozha

Pr. CAOUI Malika

Pr. CHRAIBI Abdelmjid

Pr. EL AMRANI Sabah

Pr. ERROUGANI Abdelkader

Pr. ESSAKALI Malika

Pr. ETTAYEBI Fouad

Pr. IFRINE Lahssan

Pr. RHRAB Brahim

Pr. SENOUCI Karima

Radiothérapie

Biophysique

Biophysique

Endocrinologie et Maladies Métaboliques [Doyen de la EMPA](#)

Gynécologie Obstétrique

Chirurgie Générale - [Directeur du CHUIS](#)

Immunologie

Chirurgie Pédiatrique

Chirurgie Générale

Gynécologie - Obstétrique

Dermatologie

#### Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed\*

Pr. BENTAHILA Abdelali

Pr. BERRADA Mohamed Saleh

Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae

Pr. LAKHDAR Amina

Pr. MOUANE Nezha

Urologie [Inspecteur du SSM](#)

Pédiatrie

Traumatologie - Orthopédie

Ophthalmologie

Gynécologie Obstétrique

Pédiatrie

#### Mars 1995

\*Enseignant militaire

Pr. ABOUQUAL Redouane  
Pr. AMRAOUI Mohamed  
Pr. BAIDADA Abdelaziz  
Pr. BARGACH Samir  
Pr. EL MESNAOUI Abbes  
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila  
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed  
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia  
Pr. SEFIANI Abdelaziz  
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

**Décembre 1996**

Pr. BELKACEM Rachid  
Pr. BOULANOVAR Abdelkrim  
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan  
Pr. GAOUZI Ahmed  
Pr. OUZEDDOUN Naima  
Pr. ZBIR EL Mehdi\*

**Novembre 1997**

Pr. ALAMI Mohamed Hassan  
Pr. BIROUK Nazha  
Pr. FELLAT Nadia  
Pr. KADDOURI Noureddine  
Pr. KOUTANI Abdellatif  
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid  
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ  
Pr. TOUFIQ Jallal  
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

**Novembre 1998**

Pr. BENOMAR ALI  
Pr. BOUGTAB Abdesslam  
Pr. ER RIHANI Hassan  
Pr. BENKIRANE Majid\*

**Janvier 2000**

Pr. ABID Ahmed\*  
Pr. AIT OUAMAR Hassan  
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr Sououd  
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine  
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer  
Pr. ECHARRAB El Mahjoub  
Pr. EL FTOUH Mustapha  
Pr. EL MOSTARCHID Brahim\*  
Pr. TACHINANTE Rajae  
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

**Novembre 2000**

Pr. AIDI Saadia  
Pr. AJANA Fatima Zohra  
Pr. BENAMR Said  
Pr. CHERTI Mohammed  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma  
Pr. EL HASSANI Amine  
Pr. EL KHADER Khalid  
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan  
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

**Décembre 2001**

Réanimation Médicale  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Gynécologie Obstétrique  
Chirurgie Générale  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Urologie  
Ophtalmologie  
Génétique  
Réanimation Médicale

Chirurgie Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Néphrologie  
Cardiologie [Directeur HMI Mohammed V](#)

Gynécologie-Obstétrique  
Neurologie  
Cardiologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Psychiatrie [Directeur Hôp.Ar-razi Salé](#)  
Gynécologie Obstétrique

Neurologie [Doyen de la FM Abulcassis](#)  
Chirurgie Générale  
Oncologie Médicale  
Hématologie

Pneumo-phtisiologie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Pneumo-phtisiologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pneumo-phtisiologie  
Neurochirurgie  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine Interne

Neurologie  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Générale  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Pédiatrie - [Directeur Hôp.Cheikh Zaid](#)  
Urologie  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Pédiatrie

\*Enseignant militaire

Pr. BALKHI Hicham\*  
 Pr. BENABDELJLIL Maria  
 Pr. BENAMAR Loubna  
 Pr. BENAMOR Jouda  
 Pr. BENELBARHDADI Imane  
 Pr. BENNANI Rajae  
 Pr. BENOACHANE Thami  
 Pr. BEZZA Ahmed\*  
 Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi  
 Pr. BOUMDIN El Hassane\*  
 Pr. CHAT Latifa  
 Pr. EL HIJRI Ahmed  
 Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid  
 Pr. EL MADHI Tarik  
 Pr. EL OUNANI Mohamed  
 Pr. ETTAIR Said  
 Pr. GAZZAZ Miloudi\*  
 Pr. HRORA Abdelmalek  
 Pr. KABIRI EL Hassane\*  
 Pr. LAMRANI Moulay Omar  
 Pr. LEKEHAL Brahim  
 Pr. MEDARHRI Jalil  
 Pr. MIKDAME Mohammed\*  
 Pr. MOHSINE Raouf  
 Pr. NOUINI Yassine  
 Pr. SABBAH Farid  
 Pr. SEFIANI Yasser  
 Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

**Décembre 2002**

Pr. AMEUR Ahmed\*  
 Pr. AMRI Rachida  
 Pr. AOURARH Aziz\*  
 Pr. BAMOU Youssef\*  
 Pr. BELMEJDOUB Ghizlene\*  
 Pr. BENZEKRI Laila  
 Pr. BENZZOUBEIR Nadia  
 Pr. BERNOUSSI Zakiya  
 Pr. CHOHO Abdelkrim\*  
 Pr. CHKIRATE Bouchra  
 Pr. EL ALAMI EL Fellous Sidi Zouhair  
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai  
 Pr. HAJJI Zakia  
 Pr. KRIOUILE Yamina  
 Pr. OUJILAL Abdelilah  
 Pr. RAISS Mohamed  
 Pr. SIAH Samir\*  
 Pr. THIMOU Amal  
 Pr. ZENTAR Aziz\*

**Janvier 2004**

Pr. ABDELLAH El Hassan  
 Pr. AMRANI Mariam  
 Pr. BENBOUZID Mohammed Anas  
 Pr. BENKIRANE Ahmed\*  
 Pr. BOULAADAS Malik

Anesthésie-Réanimation  
 Neurologie  
 Néphrologie  
 Pneumo-phtisiologie  
 Gastro-Entérologie  
 Cardiologie  
 Pédiatrie  
 Rhumatologie  
 Anatomie  
 Radiologie  
 Radiologie  
 Anesthésie-Réanimation  
 Neuro-Chirurgie  
 Chirurgie-Pédiatrique **Directeur Hôp. Des Enfants Rabat**  
 Chirurgie Générale **Directeur Hôp. Univ. International (Cheikh Khalifa)**  
 Pédiatrie - **Directeur Hôp. Univ. International (Cheikh Khalifa)**  
 Neuro-Chirurgie  
 Chirurgie Générale **Directeur Hôpital Ibn Sina**  
 Chirurgie Thoracique  
 Traumatologie Orthopédie  
 Chirurgie Vasculaire Périphérique **V-D chargé Aff Acad. Est.**  
 Chirurgie Générale  
 Hématologie Clinique  
 Chirurgie Générale  
 Urologie  
 Chirurgie Générale  
 Chirurgie Vasculaire Périphérique  
 Pédiatrie

Urologie  
 Cardiologie  
 Gastro-Entérologie  
 Biochimie-Chimie  
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
 Dermatologie  
 Gastro-Entérologie  
 Anatomie Pathologique  
 Chirurgie Générale  
 Pédiatrie  
 Chirurgie Pédiatrique  
 Gynécologie Obstétrique  
 Ophtalmologie  
 Pédiatrie  
 Oto-Rhino-Laryngologie  
 Chirurgie Générale  
 Anesthésie Réanimation  
 Pédiatrie  
 Chirurgie Générale

Ophtalmologie  
 Anatomie Pathologique  
 Oto-Rhino-Laryngologie  
 Gastro-Entérologie  
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale

\*Enseignant militaire

Pr. BOURAZZA Ahmed\*  
Pr. CHAGAR Belkacem\*  
Pr. CHERRADI Nadia  
Pr. EL FENNI Jamal\*  
Pr. EL HANCHI ZAKI  
Pr. EL KHORASSANI Mohamed  
Pr. HACHI Hafid  
Pr. JABOUIRIK Fatima  
Pr. KHARMAZ Mohamed  
Pr. MOUGHIL Said  
Pr. OUBAAZ Abdelbarre\*  
Pr. TARIB Abdelilah\*  
Pr. TIJAMI Fouad  
Pr. ZARZUR Jamila

**Janvier 2005**

Pr. ABBASSI Abdellah  
Pr. AL KANDRY Sif Eddine\*  
Pr. ALLALI Fadoua  
Pr. AMAZOUZI Abdellah  
Pr. BAHIRI Rachid  
Pr. BARKAT Amina  
Pr. BENYASS Aatif\*  
Pr. DOUDOUH Abderrahim\*  
Pr. HAJJI Leila  
Pr. HESSISSEN Leila  
Pr. JIDAL Mohamed\*  
Pr. LAAROUSSI Mohamed  
Pr. LYAGOUBI Mohammed  
Pr. SBIHI Souad  
Pr. ZERAIDI Najia

**AVRIL 2006**

Pr. ACHEMLAL Lahsen\*  
Pr. BELMEKKI Abdelkader\*  
Pr. BENCHEIKH Razika  
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine  
Pr. BOULAHYA Abdellatif\*  
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas  
Pr. DOGHMI Nawal  
Pr. FELLAT Ibtissam  
Pr. FAROUDY Mamoun  
Pr. HARMOUCHE Hicham  
Pr. IDRIS LAHLOU Amine\*  
Pr. JROUNDI Laila  
Pr. KARMOUNI Tariq  
Pr. KILI Amina  
Pr. KISRA Hassan  
Pr. KISRA Mounir  
Pr. LAATIRIS Abdelkader\*  
Pr. LMIMOUNI Badreddine\*  
Pr. MANSOURI Hamid\*  
Pr. OUANASS Abderrazzak  
Pr. SAFI Soumaya\*  
Pr. SOUALHI Mouna  
Pr. TELLAL Saida\*

Neurologie  
Traumatologie Orthopédie  
Anatomie Pathologique  
Radiologie  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Traumatologie Orthopédie  
Chirurgie Cardio-Vasculaire  
Ophtalmologie  
Pharmacie Clinique  
Chirurgie Générale  
Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique  
Chirurgie Générale  
Rhumatologie  
Ophtalmologie  
Rhumatologie [Directeur Hôp. Al Avachi Salé](#)  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Biophysique  
Cardiologie (mise en disponibilité)  
Pédiatrie  
Radiologie  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Parasitologie  
Histo-Embryologie Cytogénétique  
Gynécologie Obstétrique

Rhumatologie  
Hématologie  
O.R.L  
Chirurgie - Pédiatrique  
Chirurgie Cardio - Vasculaire. [Directeur Hôpital Ibn Sina Marr.](#)  
Gynécologie Obstétrique  
Cardiologie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Médecine Interne  
Microbiologie  
Radiologie  
Urologie  
Pédiatrie  
Psychiatrie  
Chirurgie - Pédiatrique  
Pharmacie Galénique  
Parasitologie  
Radiothérapie  
Psychiatrie  
Endocrinologie  
Pneumo - Phtisiologie  
Biochimie

\*Enseignant militaire

Pr. ZAHRAOUI Rachida

**Octobre 2007**

Pr. ABIDI Khalid

Pr. ACHACHI Leila

Pr. AMHAJJI Larbi\*

Pr. AOUFI Sarra

Pr. BAITE Abdelouahed\*

Pr. BALOUCH Lhousaine\*

Pr. BENZIANE Hamid\*

Pr. BOUTIMZINE Nourdine

Pr. CHERKAOUI Naoual\*

Pr. EL BEKKALI Youssef\*

Pr. EL ABSI Mohamed

Pr. EL MOUSSAOUI Rachid

Pr. EL OMARI Fatima

Pr. GHARIB Nouredine

Pr. HADADI Khalid\*

Pr. ICHOU Mohamed\*

Pr. ISMAILI Nadia

Pr. KEBDANI Tayeb

Pr. LOUZI Lhoussain\*

Pr. MADANI Naoufel

Pr. MARC Karima

Pr. MASRAR Azlarab

Pr. OUZZIF Ez zohra\*

Pr. SEFFAR Myriame

Pr. SEKHSOKH Yessine\*

Pr. SIFAT Hassan\*

Pr. TACHFOUTI Samira

Pr. TAJDINE Mohammed Tariq\*

Pr. TANANE Mansour\*

Pr. TLIGUI Houssain

Pr. TOUATI Zakia

**Mars 2009**

Pr. ABOUZAHIR Ali\*

Pr. AGADR Aomar\*

Pr. AIT ALI Abdelmounaim\*

Pr. AKHADDAR Ali\*

Pr. ALLALI Nazik

Pr. AMINE Bouchra

Pr. ARKHA Yassir

Pr. BELYAMANI Lahcen\*

Pr. BJIJOU Younes

Pr. BOUHSAIN Sanae\*

Pr. BOUI Mohammed\*

Pr. BOUNAIM Ahmed\*

Pr. BOUSSOUGA Mostapha\*

Pr. CHTATA Hassan Toufik\*

Pr. DOGHMI Kamal\*

Pr. EL MALKI Hadj Omar

Pr. EL OUENNASS Mostapha\*

Pr. ENNIBI Khalid\*

Pr. FATHI Khalid

Pr. HASSIKOU Hasna\*

Pneumo - Phtisiologie

Réanimation médicale

Pneumo phtisiologie

Traumatologie orthopédie

Parasitologie

Anesthésie réanimation

Biochimie-chimie

Pharmacie clinique

Ophthalmologie

Pharmacie galénique

Chirurgie cardio-vasculaire

Chirurgie générale

Anesthésie réanimation

Psychiatrie

Chirurgie plastique et réparatrice

Radiothérapie

Oncologie médicale

Dermatologie

Radiothérapie

Microbiologie

Réanimation médicale

Pneumo phtisiologie

Hématologie biologique

Biochimie-chimie

Microbiologie

Microbiologie

Radiothérapie

Ophthalmologie

Chirurgie générale

Traumatologie-orthopédie

Parasitologie

Cardiologie

Médecine interne

Pédiatrie

Chirurgie Générale

Neuro-chirurgie

Radiologie

Rhumatologie

Neuro-chirurgie [Directeur Hôp.des Spécialités](#)

Anesthésie Réanimation

Anatomie

Biochimie-chimie

Dermatologie

Chirurgie Générale

Traumatologie-orthopédie

Chirurgie Vasculaire Périphérique

Hématologie clinique

Chirurgie Générale

Microbiologie

Médecine interne

Gynécologie obstétrique

Rhumatologie

\*Enseignant militaire

Pr. KABBAJ Nawal  
Pr. KABIRI Meryem  
Pr. KARBOUBI Lamya  
Pr. LAMSAOURI Jamal\*  
Pr. MARMADE Lahcen  
Pr. MESKINI Toufik  
Pr. MESSAOUDI Nezha\*  
Pr. MSSROURI Rahal  
Pr. NASSAR Ittimade  
Pr. OUKERRAJ Latifa  
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani\*

#### **Octobre 2010**

Pr. ALILOU Mustapha  
Pr. AMEZIANE Taoufiq\*  
Pr. BELAGUID Abdelaziz  
Pr. CHADLI Mariama\*  
Pr. CHEMSI Mohamed\*  
Pr. DAMI Abdellah\*  
Pr. DARBI Abdellatif\*  
Pr. DENDANE Mohammed Anouar  
Pr. EL HAFIDI Naima  
Pr. EL KHARRAS Abdennasser\*  
Pr. EL MAZOUZ Samir  
Pr. EL SAYEGH Hachem  
Pr. ERRABIH Ikram  
Pr. LAMALMI Najat  
Pr. MOSADIK Ahlam  
Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
Pr. ZOUAIDIA Fouad

#### **Decembre 2010**

Pr. ZNATI Kaoutar

#### **Mai 2012**

Pr. AMRANI Abdelouahed  
Pr. ABOUELALAA Khalil\*  
Pr. BENCHEBBA Driss\*  
Pr. DRISSI Mohamed\*  
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna  
Pr. EL OUAZZANI Hanane\*  
Pr. ER-RAJI Mounir  
Pr. JAHID Ahmed

#### **Février 2013**

Pr. AHID Samir  
Pr. AIT EL CADI Mina  
Pr. AMRANI HANCHI Laila  
Pr. AMOR Mourad  
Pr. AWAB Almahdi  
Pr. BELAYACHI Jihane  
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain  
Pr. BENCHEKROUN Laila  
Pr. BENKIRANE Souad  
Pr. BENSGHIR Mustapha\*  
Pr. BENYAHIA Mohammed\*  
Pr. BOUATIA Mustapha  
Pr. BOUABID Ahmed Salim\*

Gastro-entérologie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Chimie Thérapeutique  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Pédiatrie  
Hématologie biologique  
Chirurgie Générale  
Radiologie  
Cardiologie  
Pneumo-Phtisiologie

Anesthésie réanimation  
Médecine Interne **Directeur ERSSM**  
Physiologie  
Microbiologie  
Médecine Aéronautique  
Biochimie- Chimie  
Radiologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Pédiatrie  
Radiologie  
Chirurgie Plastique et Réparatrice  
Urologie  
Gastro-Entérologie  
Anatomie Pathologique  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Anatomie Pathologique

Anatomie Pathologique

Chirurgie pédiatrique  
Anesthésie Réanimation  
Traumatologie-orthopédie  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Pneumophtisiologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Anatomie Pathologique

Pharmacologie  
Toxicologie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Réanimation Médicale  
Anesthésie-Réanimation  
Biochimie-Chimie  
Hématologie  
Anesthésie Réanimation  
Néphrologie  
Chimie Analytique et Bromatologie  
Traumatologie orthopédie

\*Enseignant militaire

Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba	Anatomie
Pr. CHAIB Ali*	Cardiologie
Pr. DENDANE Tarek	Réanimation Médicale
Pr. DINI Nouzha*	Pédiatrie
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali	Anesthésie Réanimation
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa	Radiologie
Pr. ELFATEMI NIZARE	Neuro-chirurgie
Pr. EL GUERROUJ Hasnae	Médecine Nucléaire
Pr. EL HARTI Jaouad	Chimie Thérapeutique
Pr. EL JAOUDI Rachid*	Toxicologie
Pr. EL KABABRI Maria	Pédiatrie
Pr. EL KHANNOUSSI Basma	Anatomie Pathologique
Pr. EL KHLOUFI Samir	Anatomie
Pr. EL KORAICHI Alae	Anesthésie Réanimation
Pr. EN-NOUALI Hassane*	Radiologie
Pr. ERRGUGI Laila	Physiologie
Pr. FIKRI Meryem	Radiologie
Pr. GHFIR Imade	Médecine Nucléaire
Pr. IMANE Zineb	Pédiatrie
Pr. IRAQI Hind	Endocrinologie et maladies métaboliques
Pr. KABBAJ Hakima	Microbiologie
Pr. KADIRI Mohamed*	Psychiatrie
Pr. LATIB Rachida	Radiologie
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra	Médecine Interne
Pr. MEDDAH Bouchra	Pharmacologie
Pr. MELHAOUI Adyl	Neuro-chirurgie
Pr. MRABTI Hind	Oncologie Médicale
Pr. NEJJARI Rachid	Pharmacognosie
Pr. OUBEJJA Houda	Chirurgie Pédiatrique
Pr. OUKABLI Mohamed*	Anatomie Pathologique
Pr. RAHALI Younes	Pharmacie Galénique <b>Vice-Doyen à la Pharmacie</b>
Pr. RATBI Ilham	Génétique
Pr. RAHMANI Mounia	Neurologie
Pr. REDA Karim*	Ophthalmologie
Pr. REGRAGUI Wafa	Neurologie
Pr. RKAIN Hanan	Physiologie
Pr. ROSTOM Samira	Rhumatologie
Pr. ROUAS Lamiaa	Anatomie Pathologique
Pr. ROUIBAA Fedoua*	Gastro-Entérologie
Pr. SALIHOUN Mouna	Gastro-Entérologie
Pr. SAYAH Rochde	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. SEDDIK Hassan*	Gastro-Entérologie
Pr. ZERHOUNI Hicham	Chirurgie Pédiatrique
Pr. ZINE Ali*	Traumatologie Orthopédie
<b><u>AVRIL 2013</u></b>	
Pr. EL KHATIB MOHAMED KARIM*	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
<b><u>MARS 2014</u></b>	
Pr. ACHIR Abdellah	Chirurgie Thoracique
Pr. BENCHAKROUN Mohammed*	Traumatologie- Orthopédie
Pr. BOUCHIKH Mohammed	Chirurgie Thoracique
Pr. EL KABBAJ Driss*	Néphrologie
Pr. EL MACHTANI IDRISSE Samira*	Biochimie-Chimie
Pr. HARDIZI Houyam	Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pr. HASSANI Amale*	Pédiatrie

\*Enseignant militaire

Pr. HERRAK Laila  
Pr. JEAIDI Anass\*  
Pr. KOUACH Jaouad\*  
Pr. MAKRAM Sanaa\*  
Pr. RHISSASSI Mohamed Jaafar  
Pr. SEKKACH Youssef\*  
Pr. TAZI MOUKHA Zakia

**DECEMBRE 2014**

Pr. ABILKACEM Rachid\*  
Pr. AIT BOUGHIMA Fadila  
Pr. BEKKALI Hicham\*  
Pr. BENAZZOU Salma  
Pr. BOUABDELLAH Mounya  
Pr. BOUCHRIK Mourad\*  
Pr. DERRAJI Soufiane\*  
Pr. EL AYOUBI EL IDRISSE Ali  
Pr. EL GHADBANE Abdedaim Hatim\*  
Pr. EL MARJANY Mohammed\*  
Pr. FEJJAL Nawfal  
Pr. JAHIDI Mohamed\*  
Pr. LAKHAL Zouhair\*  
Pr. OUDGHIRI NEZHA  
Pr. RAMI Mohamed  
Pr. SABIR Maria  
Pr. SBAI IDRISSE Karim\*

**AOÛT 2015**

Pr. MEZIANE Meryem  
Pr. TAHIRI Latifa

**PROFESSEURS AGREGES :**

**JANVIER 2016**

Pr. BENKABBOU Amine  
Pr. EL ASRI Fouad\*  
Pr. ERRAMI Nouredine\*  
Pr. NITASSI Sophia

**JUIN 2017**

Pr. ABI Rachid\*  
Pr. ASFALOU Ilyasse\*  
Pr. BOUAITI El Arbi\*  
Pr. BOUTAYEB Saber  
Pr. EL GHISSASSI Ibrahim  
Pr. HAFIDI Jawad  
Pr. MAJBAR Mohammed Anas  
Pr. OURAINI Saloua\*  
Pr. RAZINE Rachid  
Pr. SOUADKA Amine  
Pr. ZRARA Abdelhamid\*

**MAI 2018**

Pr. AMMOURI Wafa  
Pr. BENTALHA Aziza  
Pr. EL AHMADI Brahim  
Pr. EL HARRECH Youness\*  
Pr. EL KACEMI Hanan  
Pr. EL MAJJAOUI Sanaa

Pneumologie  
Hématologie Biologique  
Gynécologie-Obstétrique  
Pharmacologie  
CCV  
Médecine Interne  
Généologie-Obstétrique

Pédiatrie  
Médecine Légale  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Maxillo-Faciale  
Biochimie-Chimie  
Parasitologie  
Pharmacie Clinique  
Anatomie  
Anesthésie-Réanimation  
Radiothérapie  
Chirurgie Réparatrice et Plastique  
O.R.L  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Pédiatrique  
Psychiatrie  
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

Dermatologie  
Rhumatologie

Chirurgie Générale  
Ophtalmologie  
O.R.L  
O.R.L

Microbiologie  
Cardiologie  
Médecine préventive, santé publique et Hyg.  
Oncologie Médicale  
Oncologie Médicale  
Anatomie  
Chirurgie Générale  
O.R.L  
Médecine préventive, santé publique et Hyg.  
Chirurgie Générale  
Immunologie

Médecine interne  
Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Urologie  
Radiothérapie  
Radiothérapie

\*Enseignant militaire

Pr. FATIHI Jamal\*  
Pr. GHANNAM Abdel-Ilah  
Pr. JROUNDI Imane  
Pr. MOATASSIM BILLAH Nabil  
Pr. TADILI Sidi Jawad  
Pr. TANZ Rachid\*

**NOVEMBRE 2018**

Pr. AMELLAL Mina  
Pr. SOULY Karim  
Pr. TAHRI Rajae

**NOVEMBRE 2019**

Pr. AATIF Taoufiq\*  
Pr. ACHBOUK Abdelhafid\*  
Pr. ANDALOUSSI SAGHIR Khalid  
Pr. BABA HABIB Moulay Abdellah\*  
Pr. BASSIR RIDA ALLAH  
Pr. BOUATTAR TARIK  
Pr. BOUFETTAL MONSEF  
Pr. BOUCHENTOUF Sidi Mohammed\*  
Pr. BOUZELMAT HICHAM\*  
Pr. BOUKHRIS JALAL\*  
Pr. CHAFRY BOUCHAIB\*  
Pr. CHAHDI HAFSA\*  
Pr. CHERIF EL ASRI ABAD\*  
Pr. DAMIRI AMAL\*  
Pr. DOGHMI NAWFAL\*  
Pr. ELALAOUI SIDI-YASSIR  
Pr. EL ANNAZ HICHAM\*  
Pr. EL HASSANI MOULAY EL MEHDI\*  
Pr. EL HJOUJI ABDERRAHMAN\*  
Pr. EL KAOUI HAKIM\*  
Pr. EL WALI ABDERRAHMAN\*  
Pr. EN-NAFAA ISSAM\*  
Pr. HAMAMA JALAL\*  
Pr. HEMMAOUI BOUCHAIB\*  
Pr. HJIRA NAOUFAL\*  
Pr. JIRA MOHAMED\*  
Pr. JNIENE ASMAA  
Pr. LARAQUI HICHAM\*  
Pr. MAHFOUD TARIK\*  
Pr. MEZIANE MOHAMMED\*  
Pr. MOUTAKI ALLAH YOUNES\*  
Pr. MOUZARI YASSINE\*  
Pr. NAOUI HAFIDA\*  
Pr. OBTEL MAJDOULINE  
Pr. OURRAI ABDELHAKIM\*  
Pr. SAOUAB RACHIDA\*  
Pr. SBITTI YASSIR\*  
Pr. ZADDOUG OMAR\*  
Pr. ZIDOUH SAAD\*

Médecine Interne  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine préventive, santé publique et Hyg.  
Radiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Oncologie Médicale

Anatomie  
Microbiologie  
Histologie-Embryologie-Cytogénétique

Néphrologie  
Chirurgie réparatrice et plastique  
Radiothérapie  
Gynécologie-Obstétrique  
Anatomie  
Néphrologie  
Anatomie  
Chirurgie-Générale  
Cardiologie  
Traumatologie-Orthopédie  
Traumatologie-Orthopédie  
Anatomie pathologique  
Neuro-chirurgie  
Anatomie Pathologique  
Anesthésie-Réanimation  
Pharmacie-Galénique  
Virologie  
Gynécologie-Obstétrique  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Anesthésie-Réanimation  
Radiologie  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
O.R.L  
Dermatologie  
Médecine interne  
Physiologie  
Chirurgie-Générale  
Oncologie Médicale  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Cardio-Vasculaire  
Ophtalmologie  
Parasitologie-Mycologie  
Médecine préventive, santé publique et Hyg.  
Pédiatrie  
Radiologie  
Oncologie Médicale  
Traumatologie-Orthopédie  
Anesthésie-Réanimation

\*Enseignant militaire

## 2 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

### PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie-chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BARKIYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie <b>Vice-Doyen chargé de la Rech. et de la Coop.</b>
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie
moléculaire/Biotechnologie	
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Mohammed	Chimie Organique
Pr. RIDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie

### PROFESSEURS HABILITES :

Pr. BENZEID Hanane	Chimie
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie-chimie
Pr. DOUKKALI Anass	Chimie Analytique
Pr. EL JASTIMI Jamila	Chimie
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Histologie-Embryologie
Pr. LYAHYAI Jaber	Génétique
Pr. OUADGHIRI Mouna	Microbiologie et Biologie
Pr. RAMLI Youssef	Chimie
Pr. SERRAGUI Samira	Pharmacologie
Pr. TAZI Ahnini	Génétique
Pr. YAGOUBI Maamar	Eau, Environnement

Mise à jour le 05/03/2021  
KHALED Abdellah  
Chef du Service des  
Ressources Humaines  
FMPR

\*Enseignant militaire





*Mes remerciements les plus sincères*

*A mes chers parents, le plus beau cadeau que le seigneur m'a offert*

*HABBOUBAT Lahcen et MOUBARIK Najja*

*Autant de phrases et d'expressions aussi élogieuses soient-elles ne sauraient exprimer l'ampleur de la gratitude et de l'amour inconditionnel que je vous porte.*

*Vous n'avez jamais cessé de m'encourager, de m'épauler, de me protéger et de croire en moi durant toutes ces années.*

*Je ne vous remercierai jamais assez pour vos sacrifices inestimables, votre confiance inébranlable, votre présence continue, votre dévouement inlassable, votre grande patience ainsi que pour votre amour impérissable.*

*De tous les parents vous êtes les meilleurs, vous m'avez inculqué les valeurs les plus nobles, le sens de la rigueur, de la responsabilité, de l'honnêteté et de la persévérance. Vous étiez et vous serez toujours mon exemple pour vos qualités humaines et scientifiques. Je vous aime profondément et je n'imagine guère ma vie sans votre présence et j'espère être à la hauteur de vos attentes.*

*Que le grand dieu vous préserve de tous les malheurs de la vie afin que vous demeurez le flambeau illuminant mon chemin.*

*Rien n'aurait été possible sans vous, cette réussite est donc un peu la mienne, mais surtout la vôtre. Aucun remerciement ne serait suffisant. Ce travail ne vous est pas dédié, c'est le vôtre.*

*Amour et reconnaissance éternels*





***A ma petite sœur chérie HABBOUBAT ICHRAK***

*Ma complice, ma confidente, le plus beau cadeau de mes quatre ans qui a rapidement occupé une place unique et primordiale dans mon existence. je ne pourrai décrire ta bonté infinie, ta pureté et ta gentillesse. je t'écris ces quelques mots pour te remercier pour ta constante disponibilité, ton soutien inépuisable et ton amour inconditionnel . Un grand merci également d'avoir supporter mes caprices durant notre enfance. il faut que tu saches que je m'estime chanceuse de t'avoir et que je suis tellement fière de toi .*

*Je t'aime beaucoup*

***A ma petite sœur chérie HABBOUBAT OUMAYMA***

*Mon ange gardienne, je t'apprécie beaucoup tu as un bon cœur et tu es d'une bonté et douceur infinie. Tu es une personne merveilleuse qui incarnes toutes les qualités de partage et de dévouement. je suis tellement fière de toi et je serai toujours à tes cotés pour t'aimer, te protéger et t'épauler .*

*Je t'aime beaucoup*

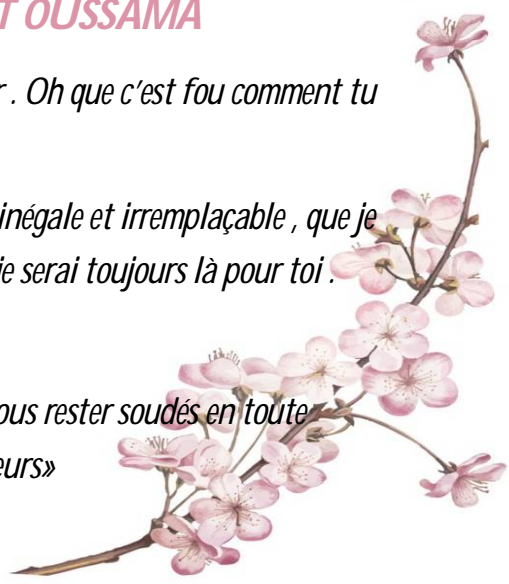
***A mon petit frère chéri HABBOUBAT OUSSAMA***


*Mon petit prince, mon petit protecteur et mon grand trésor . Oh que c'est fou comment tu grandis !*

*Il faut que tu saches que ta présence est d'une importance inégale et irremplaçable , que je suis tellement fière de l'homme que tu es devenu et que je serai toujours là pour toi .*

*Je t'aime beaucoup*

*«Je n'aurais jamais voulu naître ailleurs. Pussions-nous rester soudés en toute circonstance. Vous êtes les meilleurs»*





***A la mémoire de mes grands-parents AL KABRAOUI AMINA,  
MOUBARIK HAMMADI, HABBOUBAT AICHA ET EL AROUI  
MAHJOUR***

*Vous étiez si impatients de me voir finir enfin mes études... vous nous manquez profondément. Je vous aime tellement. Reposez en paix ! Que Dieu vous accueille en sa sainte miséricorde .J'aurais tant aimé que vous soyez à mes côtés ce jour . Vous êtes dans mon cœur. Une pensée spéciale à ma grande mère AL KABRAOUI AMINA qui m'a toujours gâté et qui a toujours pris soin de moi et protégé, tu as laissé un immense vide dans mon esprit. Je t'aime.*

***A Ma deuxième maman MOUBARIK MAHJOURBA***

*Je ne te remercierai jamais assez pour ton dévouement et ton amour, je te suis éternellement reconnaissante. Je prie que Dieu tout puissant t'accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.*

*Je t'aime beaucoup*

***A Ma chère tante MOUBARIK DRISSIA***

*Ma dridri d'amour, dans notre cas la distance n'est pas un obstacle mais un beau rappel de la force du véritable et pur amour . Vous m'êtes si précieuse et grâce à vous j'ai découvert une autre dimension de l'amour, celle qui donne sans attendre en retour, celle qui comprend sans qu'on explique, celle qui ne juge pas. Notre union est unique et éternelle, tu le sais très bien. Tu me manques profondément.*

*Je t'aime beaucoup*





*A Mes chères tantes MOUBARIK Bouchra, MOUBARIK Zoubida,  
MOUBARIK Latifa, MOUBARIK Hassania et MOUBARIK Hafida*

*Je ne peux exprimer à travers ces lignes tous mes sentiments d'amour et de gratitude que j'éprouve pour vous. Je suis ce que je suis devenue actuellement grâce à vous en partie. Je vous remercie énormément et j'espère que vous trouverez dans cette thèse l'expression de mon affection pour vous. Je vous souhaite un avenir florissant et une vie pleine de bonheur, de santé et de prospérité.*

*A Mon cher cousin KADDOUM Ali*

*Je t'es toujours considéré comme grand frère et je m'estime chanceuse de t'avoir à mes côtés. Ton soutien, ton amour et tes encouragements ont été pour moi d'un grand réconfort. Qu'ALLAH te protège et t'accorde santé, Bonheur et prospérité.*





*A mes amis intimes que j'ai eu le plaisir de côtoyer durant ces années*

*BOUSSAADANE Youssef, GABDAMASSI MOURIANA Ibrahim,*

*GUENOUN Hamza, HADDACHE Kaoutar, HAMDANI Nada et*

*OUDDOU Sara*

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon amour et ma gratitude. Vous m'êtes si précieux et je n'imagine guère ce long parcours sans votre soutien intarissable et votre disponibilité continue ainsi que votre grand amour. C'est grâce à vous que j'ai découvert une nouvelle dimension de l'amitié et LA VRAIE, celle où règne une confiance sans réserve, une sincérité et franchise absolues, le grand respect, une écoute inlassable, un amour inconditionnel loin de tout jugement et des attentions réciproques. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé, de bonheur et de réussite. Je vous aime tellement.*

*Que notre fraternité reste impérissable et éternelle !*





*Je passe ensuite une dédicace spéciale à **ALLOUL Nada, BENKIRANE Romaiassae, BENSAOUD Yasmine, BOUAMOUD Asmae, EL HAMRAOUI Imane, EL HARASS Yahya et ESSADEQ Ouissal**. Je m'estime tellement chanceuse d'avoir eu l'occasion de vous avoir rencontrer durant ces deux ans d'internat. Vous êtes très vite devenus mes meilleurs amis, pour finir mes sœurs et frère. Je vous aime profondément. tous mes souhaits les plus doux et les plus sincères de bonheur, de réussite et de santé.*

*Que ce lien qui nous unit reste inébranlable !*

*Une dédicace à la promotion d'internat 2018 BLACK FRIDAY et à l'AMIR, c'est un grand plaisir et un énorme honneur d'appartenir à cette large communauté. Je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de réussite et de santé.*

*Un grand merci à tous ceux qui me sont chers et que j'ai involontairement omis de citer et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*







*A Notre Maître et Présidente de thèse  
Mme BENKIRANE SOUAD  
Professeur d'Hématologie Biologique*

*Je vous remercie énormément pour le grand honneur que vous me faites en acceptant de juger et de présider ce travail de thèse.*

*Je vous prie d'accepter l'expression de ma respectueuse considération ainsi que celle de ma profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.*

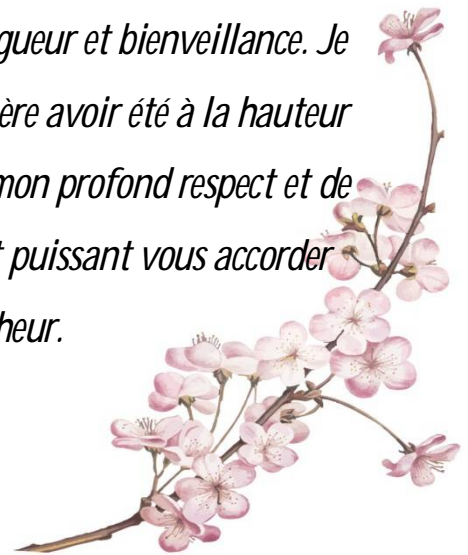
*Puisse Dieu le tout puissant vous accorder une très bonne santé, prospérité et bonheur.*





*A notre Maître et Rapporteur de thèse*  
*Monsieur Azlarab MASRAR*  
*Professeur d'Hématologie Biologique*

*C'est avec un grand plaisir que je me suis adressée à vous dans le but de bénéficier de votre encadrement et j'étais très touchée par l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de me confier ce travail. Votre bonté, votre modestie, votre compréhension, ainsi que vos qualités professionnelles et humaines ne peuvent que susciter ma grande estime. Vous m'avez toujours réservé le meilleur accueil malgré vos obligations professionnelles. Je vous remercie infiniment, cher Maître, pour avoir consacré à ce travail une partie de votre temps précieux et de m'avoir guidé avec rigueur et bienveillance. Je suis très fière d'avoir appris auprès de vous et j'espère avoir été à la hauteur de votre attente. Veuillez recevoir l'expression de mon profond respect et de ma très grande considération. Puisse Dieu le tout puissant vous accorder*  
*bonne santé, prospérité et bonheur.*






*A Notre Maître et Juge de thèse  
Monsieur Abdellah DAMI  
Professeur de Biochimie*

*Vous me faites un grand honneur en acceptant de vous associer à mon jury de thèse.*

*Veillez accepter à travers ce travail de thèse, l'expression de mon très profond respect, de ma grande admiration pour votre compétence et votre dévouement, qui sont un exemple à suivre dans l'exercice de la profession médicale.*


*Puisse Dieu le tout puissant vous accorder bonne santé, prospérité et bonheur.*





*A Notre Maître et Juge de thèse  
Monsieur ANASS JEAIDI  
Professeur d'Hématologie Biologique*

*Je vous remercie de m'avoir honoré par votre présence. Vous avez accepté aimablement de juger cette thèse. Cet honneur me touche infiniment et je tiens à vous exprimer ma profonde reconnaissance. Veuillez accepter Professeur, dans ce travail l'assurance de mon estime et de mon profond respect.  
Puisse Dieu le tout puissant vous accorder bonne santé, prospérité et bonheur*





*Liste des illustrations*

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Facteurs de la coagulation plasmatique.....	6
<b>Tableau 2 :</b> Principales caractéristiques et fonctions des facteurs de la coagulation. (PK : prékallicroïne. KHPM : kininogène de haut poids moléculaire.).....	7
<b>Tableau 3 :</b> Types de mutations retrouvées dans une cohorte de 845 familles d'hémophiles A. ....	49
<b>Tableau 4 :</b> Types de mutations retrouvées dans une cohorte de 267 familles d'hémophiles B dont 39% sont sévères. D'après Natalia et al. 2013.....	50
<b>Tableau 5 :</b> Principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques de FVIII plasmatique.....	78
<b>Tableau 6 :</b> Principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques de FVIII recombinant à demi-vie classique.....	79
<b>Tableau 7 :</b> Principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques de FVIII recombinant à demi-vie allongée.....	82
<b>Tableau 8 :</b> Présentation comparative des demi-vies des spécialités pharmaceutiques de FVIII recombinant à demi-vie « allongée » en fonction de la population testée .....	83
<b>Tableau 9 :</b> Concentrés EHL-rFVIII actuellement disponibles.....	83
<b>Tableau 10 :</b> Posologie ELOCTATE lors d'épisodes hémorragiques et de chirurgies.....	89
<b>Tableau 11 :</b> Principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques de FIX plasmatique.....	97
<b>Tableau 12 :</b> Principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques de FIX recombinant à demi-vie« classique » .....	98
<b>Tableau 13 :</b> Principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques de FIX recombinant à demi-vie allongée.....	99
<b>Tableau 14 :</b> Concentrés EHL -rFIX actuellement disponibles.....	99
<b>Tableau 15 :</b> Tableau pour établir la posologie d'ALPROLIX lors d'épisodes hémorragiques et de chirurgies ..	104
<b>Tableau 16 :</b> Posologies de référence en cas d'épisodes hémorragiques et de chirurgie.....	108
<b>Tableau 17 :</b> Traitement avec REFIXIA en cas d'épisodes hémorragiques.....	112
<b>Tableau 18 :</b> Traitement en chirurgie avec REFIXIA.....	112
<b>Tableau 19 :</b> Quelle méthode pour le dosage des rFIX «long acting»?Kitchen et al. ....	115
<b>Tableau 20 :</b> Tableau résumant les différents essais cliniques portant sur l'emicizumab (NA, Non available) .	124
<b>Tableau 21 :</b> Plan de développement cliniques et essais de l'emicizumab .....	126
<b>Tableau 22 :</b> Résultats des tests de coagulation modifiés ou non par Hemlibra .....	137
<b>Tableau 23 :</b> Principales caractéristiques des traitements hémostatiques non spécifiques .....	153

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Gamma-carboxylation des acides glutamiques des facteurs de la coagulation vitamine-K dépendants.....	8
<b>Figure 2 :</b> Schématisation des phases d'initiation, d'amplification et de propagation aboutissant à la formation de grandes quantités de thrombine lors de la coagulation. ....	12
<b>Figure 3 :</b> Schéma du processus de fibrinoformation.....	13
<b>Figure 4 :</b> Schéma de la régulation de la coagulation. TFPI : Tissue Factor Pathway Inhibitor. AT : Antithrombine. PCa – PSa : protéine C activée – protéine S activée. ZPI : inhibiteur dépendant de la protéine Z. PZ : protéine Z. ....	14
<b>Figure 5 :</b> Position du gène F8 sur le chromosome X.....	17
<b>Figure 6 :</b> Position du gène F9 sur le chromosome X.....	18
<b>Figure 7 :</b> Le gène F9 : localisation dans le chromosome X, structure et régulation de la séquence promotrice. AR : Récepteur à androgène. HNF4 : Hepatocyte nuclear factor 4. CfEBPa : CCAAT/enhancer – binding protein. ....	20
<b>Figure 8 :</b> Les différents domaines du facteur VIII. D'après Bowen et al. J Clin Pathol. 2002 .....	22
<b>Figure 9 :</b> Cycle de vie du facteur VIII. D'après Pipe SW. Haemophilia. 2009 .....	24
<b>Figure 10 :</b> Structure primaire du FIX, d'après Bond et al., 1998 .....	25
<b>Figure 11 :</b> Modifications post-traductionnelles dans la voie de sécrétion du FIX. Détail de la formation des complexes de N-glycosylation lors du transfert du réticulum endoplasmique rugueux à l'appareil de Golgi. D'après Kaufman, 1998 .....	26
<b>Figure 12 :</b> Structure schématique du facteurs VIII.....	32
<b>Figure 13 :</b> Représentation schématique de la structure du facteur FVIII et FVIIIa .....	33
<b>Figure 14 :</b> Activation du FIX en FIXa par clivages successifs et résidus interagissant lors de la coagulation. Gla : domaine Gla, H : zone hydrophobe, EGF : domaine EGF-like, PA : peptide d'activation, PL : phospholipides. ....	34
<b>Figure 15 :</b> Structure du FVIIIa après clivage par la thrombine et résidus impliqués dans la formation du complexe tenase intrinsèque. Les domaines A1 et A2 sont reliés par des interactions électrostatiques tandis que les domaines A1 et A3 maintiennent les chaînes lourdes et légères ensemble grâce à une liaison faisant intervenir un ion $\text{Cu}^{2+}$ . ....	37

<b>Figure 16 :</b> Evolution de la représentation des interactions FIXa/FVIIIa.....	37
<b>Figure 17 :</b> Représentation schématique de la formation du complexe tenase intrinsèque, d'après Brandstetter et al., 1995 .....	41
<b>Figure 18 :</b> La coagulation chez l'hémophile.....	43
<b>Figure 19 :</b> Mécanismes de l'inversion de l'intron 22.....	46
<b>Figure 20 :</b> Transmission de l'hémophilie .....	52
<b>Figure 21 :</b> Principe de la méthode chronométrique OSA.....	55
<b>Figure 22 :</b> Principe du dosage chromogénique du FVIII.....	56
<b>Figure 23 :</b> Principe de la méthode CSA pour le dosage du FIX.....	57
<b>Figure 24 :</b> Corrélation entre les activités FVIII mesurées par méthode chronométrique et chromogénique .....	58
<b>Figure 25 :</b> Principe de la méthode Bethesda de détection d'un inhibiteur anti-FVIII .....	60
<b>Figure 26 :</b> Principe de fonctionnement de la thromboélastométrie rotative.....	61
<b>Figure 27 :</b> Représentation d'un TEMogramme .....	61
<b>Figure 28 :</b> Thrombogrammes obtenus lors d'addition de CaCl <sub>2</sub> à des échantillons de sang total. (A) : la ligne 1 correspond à l'absence de surcharge par un agent bypassant. Les échantillons ont été surchargés par 1,4 et 2,8 µg/mL de Novoseven® (rFVIIa, lignes 2 et 3) et par 0,5 et 1,0 UI/mL de Feiba® (aPCC, lignes 2 et 3). (B) : administration préopératoire de 108 µg/kg de Novoseven®, et 63 UI/kg de Feiba® .....	64
<b>Figure 29 :</b> Représentation schématique d'un thrombogramme : temps de latence (Lag Time), hauteur du pic (Peak height), temps au pic (time to peak) et aire sous la courbe/potentiel endogène de thrombine (area under the curve/ETP)Quelle que soit la méthode de dosage, les résultats doivent être interprétés en fonction du contexte clinique, notamment un syndrome inflammatoire ou une grossesse peuvent masquer un déficit en FVIII. D'autres circonstances peuvent entraîner des variations et les tests doivent donc être répétés en cas de forte suspicion clinique.....	66
<b>Figure 30 :</b> Schéma explicatif du processus de production des produits anti-Hémophiliques disponibles.....	70
<b>Figure 31 :</b> Technique de pegylation .....	73
<b>Figure 32 :</b> Structure des molécules de polyéthylène glycol,d'après Ivens et al.....	74

<b>Figure 33 :</b> Représentation du mécanisme de recyclage pH-dépendant de l'albumine et de l'igG plasmatique par liaison au récepteur FcRn. Les protéines plasmatiques qui n'ont pas de sites de fixation au FcRn sont dégradés pas le lysosome. ....	75
<b>Figure 34 :</b> Technique de fusion.....	76
<b>Figure 35 :</b> Procédés allongeant la durée de vie du FIX.....	77
<b>Figure 36 :</b> Comparaison FVIII OSA versus FVIII CSA de concentrés en FVIII conventionnels, d'après Mikaelsson et al.....	95
<b>Figure 37 :</b> Taux de FIX d'échantillons surchargés en Benefix®ou en rFIX-Fc selon l'activateur du réactif APTT, Sommer et al.....	114
<b>Figure 38 :</b> Représentation schématique de l'emicizumab: chaîne légère incluant des fragments d'anticorps de rat anti-FIXa humain et d'anticorps murins anti-FXa humain ;chaîne lourde avec mutations d'acides aminés permettant l'hétérodimérisation.....	117
<b>Figure 39 :</b> Mécanisme d'action de l'emicizumab .....	118
<b>Figure 40 :</b> Profil pharmacocinétique de l'emicizumab, représentation de la concentration plasmatique (µg/mL) en fonction de la durée de traitement (une injection hebdomadaire).....	133
<b>Figure 41 :</b> Interférence analytique de l'emicizumab sur les tests de coagulation basés sur le TCA .....	134
<b>Figure 42 :</b> Interférence de l'emicizumab sur le dépistage et le titrage d'un inhibiteur anti- FVIII.....	136
<b>Figure 43 :</b> Représentations de l'EXTEM, NATEM et INTEM à différentes concentrations d'emicizumab .....	138
<b>Figure 44 :</b> Mécanisme d'action des anti-TFPI : anticorps dirigés contre le domaine K2 (concizumab et Pf06741085), ou contre les domaines K1 et K2 (BAY-1093884) .....	149



<b>Introduction</b> .....	1
<b>Les facteurs VIII et IX de la coagulation</b> .....	4
I. Rappel sur la physiologie de la coagulation .....	5
1. Facteurs impliqués : .....	5
1.1. Eléments cellulaires : .....	5
1.2. Eléments non cellulaires : .....	6
1.2.1. Facteurs de coagulation.....	6
1.2.2. Calcium : .....	8
1.2.3. Les inhibiteurs des facteurs de coagulation.....	8
2. Mécanisme.....	9
2.1. L'ancienne cascade de coagulation.....	9
2.1.1. Voie intrinsèque : .....	10
2.1.2. Voie extrinsèque : .....	10
2.2. La nouvelle cascade de coagulation.....	10
2.2.1. Initiation de la coagulation.....	11
2.2.2. Amplification de la coagulation .....	11
2.2.3. Propagation de la coagulation.....	12
2.2.4. La fibrinoformation .....	13
3. Régulation.....	14
3.1. L'antithrombine.....	14
3.2. La protéine C et la protéine S.....	15
3.3. Le TFPI ( <i>Tissue Factor Pathway Inhibitor</i> ).....	16
3.4. L'inhibiteur dépendant de la protéine Z (ZPI) .....	16
II. Description des gènes F8 et F9 .....	17
1. Gène F8.....	17
1.1. Position et organisation structurelle du gène F8 .....	17
1.2. Promoteur .....	17
2. Gène F9.....	18
2.1. La position et l'organisation structurelle du gène F9.....	18
2.2. La séquence promotrice du gène FIX et sa régulation.....	18
III. Description des facteurs FVIII et FIX.....	21

1. Description du Facteur FVIII .....	21
1.1. Modifications post-traductionnelles .....	22
1.1.1. Au niveau du réticulum endoplasmique .....	22
1.1.2. Au niveau de l'appareil de Golgi.....	23
2. Description du FIX .....	25
2.1. Sécrétion du FIX par les hépatocytes .....	26
2.1.1. Synthèse dans le réticulum endoplasmique rugueux et premières modifications .....	27
2.1.2. Transfert et maturation dans l'appareil de Golgi.....	28
2.1.3. Sécrétion.....	29
IV. Rôle des facteurs FVIII et FIX dans la coagulation et leurs interactions.....	32
1. Activation du FVIII.....	32
2. Activation du FIX.....	33
2.1. Activation par FVIIa-FT.....	33
2.2. Activation du FIX par le FXIa.....	35
2.3. Formation du complexe tenase intrinsèque.....	36
2.4. Activation du FX.....	40
<b>Physiopathologie de l'hémophilie A et B .....</b>	<b>42</b>
<b>Mécanismes génétiques de l'hémophilie .....</b>	<b>44</b>
I. Hémophilie A .....	45
1. Inversion de l'intron 22 .....	45
2. Inversion de l'intron 1 .....	47
3. Délétions et insertions de grande taille .....	47
4. Délétions et insertions de petite taille .....	47
5. Mutations ponctuelles .....	48
5.1. Mutations faux-sens .....	48
5.2. Mutations non-sens.....	48
5.3. Mutations des sites consensus d'épissage de l'ARN messenger .....	49
II. Hémophilie B .....	50
1. Types de mutations retrouvés.....	50
2. Le cas particulier de l'hémophilie B Leyden.....	51
III. Mode de transmission de l'hémophilie .....	51

<b>Les pratiques biologiques pour l'exploration des FVIII et FIX</b> .....	53
I. Intérêt du dosage.....	54
II. Qualité du prélèvement.....	54
III. Méthodes de dosage.....	54
A. Méthode chromométrique (OSA).....	54
B. Méthode chromogénique (CSA).....	56
C. Discordances chromogénique/chromométrique .....	58
1. Méthode antigénique.....	59
2. Recherche et titrage d'inhibiteurs anti-FVIII ou anti-FIX.....	59
3. Les tests globaux .....	60
3.1. La thromboélastométrie rotative.....	60
3.2. Le test de génération de thrombine (TGT).....	64
3.2.1. Principe de mesure .....	64
3.2.2. Paramètres étudiés.....	65
<b>Prise en charge thérapeutique</b> .....	67
I. Objectifs :.....	68
II. Outils Thérapeutiques :.....	68
A. Introduction.....	68
B. Facteurs anti-hémophiliques :.....	69
1. Evolution de la thérapie de remplacement des facteurs :.....	69
2. Technologies utilisées pour prolonger la demi-vie des facteurs de coagulation recombinants .....	71
2.1. Pegylation :.....	72
2.2. Technologie de fusion (Fc fusion et Albumine fusion).....	74
2.3. Technologie à chaîne unique .....	76
3. FVIII.....	78
3.1. FVIII plasmatiques :.....	78
3.2. FVIII Recombinants :.....	78
3.2.1. FVIII Recombinants à demi-vie « classique » :.....	78
3.2.2. FVIII Recombinants à demi-vie « allongée » :.....	80
3.2.2.1. Eloctate :.....	85

3.2.2.2. Adynovi.....	90
3.2.2.3. Jivi.....	92
3.3. Quelle surveillance biologique pour les patients hémophiles A substitués par facteur VIII recombinant à demi vie allongée .....	94
4. F IX : .....	97
4.1. F IX Plasmatiques : .....	97
4.2. F IX Recombinant : .....	98
4.2.1. F IX recombinants à demi-vie « classique » : .....	98
4.2.2. F IX recombinants à demi-vie allongée : .....	98
4.2.2.1. ALPROLIX.....	100
4.2.2.2. IDELVION .....	105
4.2.2.3. REFIXIA .....	109
4.3. Quelle surveillance biologique pour les patients hémophiles B substitués par facteur IX recombinant à demi vie allongée.....	113
V. EMICIZUMAB.....	116
1. Introduction : .....	116
2. Mécanisme d'action : .....	117
3. Pharmacocinétique .....	119
4. Voie de développement de l'émicizumab et données cliniques.....	119
5. Indications thérapeutiques : .....	131
6. Posologie : .....	131
7. Surveillance biologique des patients sous emicizumab.....	133
8. Recommandations pour le traitement des épisodes hémorragiques de l'hémophilie A compliqués par un inhibiteur du facteur VIII chez les patients traités par emicizumab.	138
9. Prise en charge d'une personne atteinte d'hémophile A traitée par emicizumab (Hemlibra®) dans un contexte d'hémorragie [262].....	140
10. Prise en charge d'une personne atteinte d'hémophile A traitée par emicizumab (Hemlibra®) dans un contexte de chirurgie [262].....	140
11. Événements indésirables lors du traitement par l'emicizumab .....	141
VI. Agents by-passants.....	142
1. Complexe prothrombique activé FEIBA®.....	142
1.1. Originalité.....	142

1.2. Indications .....	142
1.3. Posologie [263] .....	143
1.3.1. Traitement des épisodes hémorragiques .....	143
1.3.2. Prévention des épisodes hémorragiques .....	144
1.3.3. Couverture des situations chirurgicales .....	144
1.4. Surveillance du traitement .....	145
1.5. Mode d'administration .....	145
1.6. Précautions d'emploi [263] .....	146
2. Eptacog alfa (rFVIIa) (NovoSeven®) ou facteur VII activé d'origine recombinante...	147
2.1. Indications .....	147
2.2. Posologie: .....	148
2.3. Précautions d'emploi .....	148
VII. Autres thérapies non factorielles .....	149
1. Anti-TFPI .....	149
2. Fitusiran .....	150
VIII. Traitements non spécifiques .....	151
1. Acide tranexamique .....	151
2. Desmopressine .....	152
3. Hémostatiques d'appoint .....	154
4. Antalgiques .....	154
IX. Kinesithérapie .....	155
X. Thérapie génique .....	156
<b>Conclusion</b> .....	157
<b>Résumés</b> .....	161
<b>Bibliographie</b> .....	165

# ***Introduction***

L'hémophilie A et B sont des anomalies de coagulation innées monogéniques liées à l'X qui entraînent des déficiences en facteur VIII (FVIII) et en facteur IX (FIX) chez environ 1 naissance vivante de sexe masculin sur 5 000 et 1 sur 30 000, respectivement [ 1, 2, 3 ].

Le phénotype de la maladie se caractérise par des épisodes hémorragiques spontanés ou post-traumatiques récurrents impliquant principalement les articulations portantes, les muscles squelettiques et les tissus mous. Les hématomes intracrâniens et rétropéritonéaux sont des complications rares mais potentiellement mortelles de l'hémophilie sévère [ 1, 3 ]. Le phénotype hémorragique a été défini comme «sévère», «modéré» et «léger» sur la base du niveau du facteur endogène résiduel <1 UI / dL, 1-5 UI / dL et 5-40 UI / dL, respectivement [4,5 ].

Le remplacement du facteur manquant constitue le pilier du traitement de l'hémophilie. Le remplacement du facteur est administré soit sur demande pour traiter les saignements aigus, soit à titre prophylactique pour éviter les saignements [ 2 , 6 ]. Dans l'hémophilie sévère, des saignements récurrents, généralement sous forme d'hémorragies articulaires et d'hématomes des muscles squelettiques, entraînent une arthropathie post-hémophilique progressive et des contractures musculaires, qui finissent par entraîner des lésions articulaires irréversibles, une invalidité importante et une diminution de la qualité de vie à moins d'être traités par FVIII et FIX [ 4 , 5 , 6 , 7 , 8 ].

Le remplacement régulier du facteur prophylactique pour maintenir des taux de facteur circulant > 1 UI / dL (1%) a été recommandé comme traitement optimal pour les personnes atteintes d'hémophilie sévère, sur la base de preuves montrant que la prophylaxie est associée à une réduction des épisodes hémorragiques et des complications associées et par conséquent une amélioration de la qualité de vie et de l'espérance de vie [ 9 , 10 , 11 ].

L'éducation thérapeutique du patient et de sa famille avec la formation du personnel médical et paramédical constituent également les éléments clés de la prise en charge [ 12].

Au cours de la dernière décennie, de nombreuses molécules ont été mises en place pour le traitement de l'hémophilie à savoir les molécules EHL-rFVIII et EHL-rFIX, ainsi que l'émicizumab qui est le premier agent non factoriel approuvé pour l'utilisation aussi bien pour les patients hémophiles A avec et sans inhibiteurs.

Il existe plusieurs obstacles au traitement de l'hémophilie surtout dans les pays en développement , principalement le manque de centres de traitement de l'hémophilie (CTH), de concentrés de facteur de coagulation, le coût relativement élevé des facteurs de substitution et l'absence de couverture médicale, ce qui rend le traitement de l'hémophilie inaccessible pour la plupart des patients [ 13].

***Les facteurs VIII  
et IX de la coagulation***

- ❖ L'hémostase est l'ensemble des mécanismes physiologiques qui concourent à maintenir l'intégrité du système vasculaire. Le processus vise donc à :
  - Prévenir et arrêter les hémorragies
  - Empêcher les thromboses
- ❖ Elle se déroule classiquement en 3 temps :
  - **L'hémostase primaire** qui ferme la brèche vasculaire par un "thrombus blanc" ou clou plaquettaire
  - **La coagulation plasmatique** qui consolide ce 1er thrombus en formant un réseau de fibrine emprisonnant des GR (thrombus rouge)
  - **La fibrinolyse, processus** limitant, permettant la destruction des caillots, ou la limitation de leur extension.

Dans le document suivant, nous détaillerons uniquement la coagulation, car c'est au cours de cette seconde étape que les facteurs VIII et IX interviennent. L'hémostase primaire et la fibrinolyse ne seront pas développées.

## I. Rappel sur la physiologie de la coagulation

La coagulation permet la consolidation du thrombus blanc formé fragile lors de l'hémostase primaire. Cette étape est définie comme une cascade de réactions enzymatiques à la surface des plaquettes activées et aboutissant à la transformation par la thrombine, enzyme clé de la coagulation, du fibrinogène soluble en fibrine insoluble, véritable armature du caillot [14].

### 1. Facteurs impliqués :

#### 1.1. Éléments cellulaires :

- Cellules endothéliales et monocytes qui, après leur activation exprime à leur surface le **facteur tissulaire** (FT) qui est l'élément déclenchant majeur de la coagulation
- Plaquettes : servent de surface de catalyse aux réactions de coagulation
- Fibroblastes : également capables d'exprimer le **FT** et de synthétiser tout comme les **cellules musculaires** de nombreux facteurs impliqués dans la coagulation.

## 1.2. Eléments non cellulaires :

### 1.2.1. Facteurs de coagulation

Ce sont des glycoprotéines synthétisées par le foie, avec ou sans l'intervention de la vitamine K (tableau I). Les facteurs (F) de la coagulation sont indiqués en chiffres romains, accompagnés d'un "a" lorsqu'ils sont activés.

<b>Facteur</b>	<b>Nom</b>	<b>Lieu de synthèse</b>	<b>Vitamine K dépendant</b>
I	Fibrinogène	Foie	Non
II	Prothrombine	Foie	Oui
V	Proaccélérine	Foie-SRH	Non
VII	Proconvertine	Foie	Oui
VIII	Facteur anti-hémophilique A	Foie	Non
IX	Facteur anti-hémophilique B	Foie	Oui
X	Facteur Stuart	Foie	Oui
XI	Facteur Rosenthal	Foie	Non
XII	Facteur Hageman	Foie	Non
XIII	Facteur stabilisant de la fibrine	Foie	Non

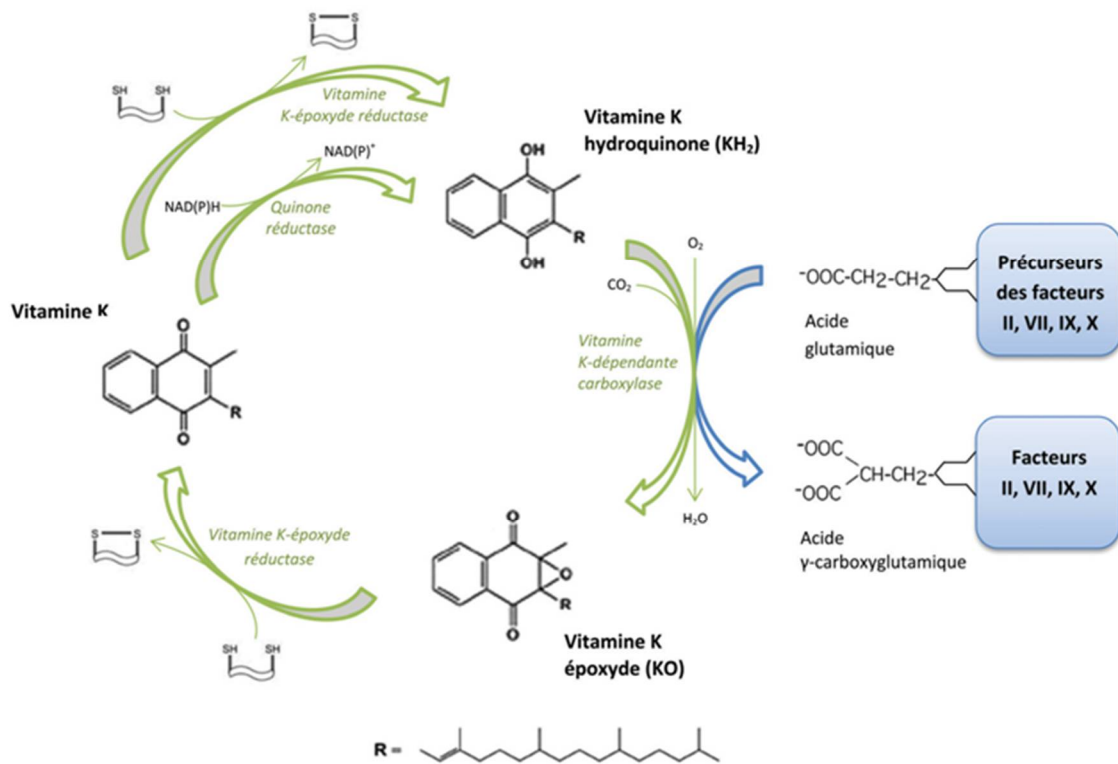
**Tableau 1** : Facteurs de la coagulation plasmatique. [15]

III: thromboplastine tissulaire; IV: calcium; VI: accélélerine ou Va (ces trois chiffres romains ne sont pas utilisés).

Facteur	Fonction après activation	Synthèse	Demi-vie	Concentration plasmatique (µg/ml)	Poids moléculaire (kDa)
<b>Fibrinogène</b>	Formation du caillot		4-6 jours	<b>3000</b>	330
<b>Prothrombine (II)</b>	Fibrinoformation Activation V, VIII, XI, XIII, protéine C, plaquettes	<b>Vitamine K (Vit K) dépendante</b>	3-4 jours	<b>90</b>	72
<b>Facteur V</b>	Cofacteur Xa		12-36 h	<b>10</b>	330
<b>Facteur VII</b>	Activation IX, X	<b>Vit K dépendante</b>	4-6 h	<b>0.5</b>	50
<b>Facteur VIII</b>	Cofacteur IXa		10-16 h	<b>0.1</b>	330
<b>Facteur IX</b>	Activation X	<b>Vit K dépendante</b>	24 h	<b>5</b>	56
<b>Facteur X</b>	Activation II	<b>Vit K dépendante</b>	1-2 jours	<b>8</b>	59
<b>Facteur XI</b>	Activation IX		1-2 jours	<b>5</b>	160
<b>Facteur XIII</b>	Fibrinoformation		3-6 jours	<b>10</b>	320
<b>Facteur XII (PK, KHPM)</b>	Activation contacte		2-3 jours	<b>30</b>	80

**Tableau 2 :** Principales caractéristiques et fonctions des facteurs de la coagulation. (PK : prékallicroïne. KHPM : kininogène de haut poids moléculaire.)

Les facteurs de coagulation (le fibrinogène, les facteurs II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII et les facteurs de la phase contact) sont essentiellement synthétisés par les hépatocytes sous forme de pro-enzymes. Les facteurs II, VII, IX et X possèdent des domaines Gla riches en résidus gamma-carboxylés, ces résidus sont indispensables à la fixation de ces facteurs à la surface des plaquettes activées. En effet, la carboxylation des acides glutamiques en acides gamma-carboxyglutamiques permet à ces résidus de se lier aux phosphatidylsérines des membranes plaquettaires. Les deux molécules étant chargées négativement, la liaison est possible par la capture d'ion  $Ca^{2+}$ . Le cofacteur de la gamma-carboxylase est la vitamine K réduite  $KH_2$  (Figure 1) [16]. La synthèse des facteurs II, VII, IX et X est ainsi vitamine K-dépendante. Cette maturation des protéines a lieu dans le réticulum endoplasmique des hépatocytes.



**Figure 1 :** Gamma-carboxylation des acides glutamiques des facteurs de la coagulation vitamine-K dépendants.

### 1.2.2. Calcium :

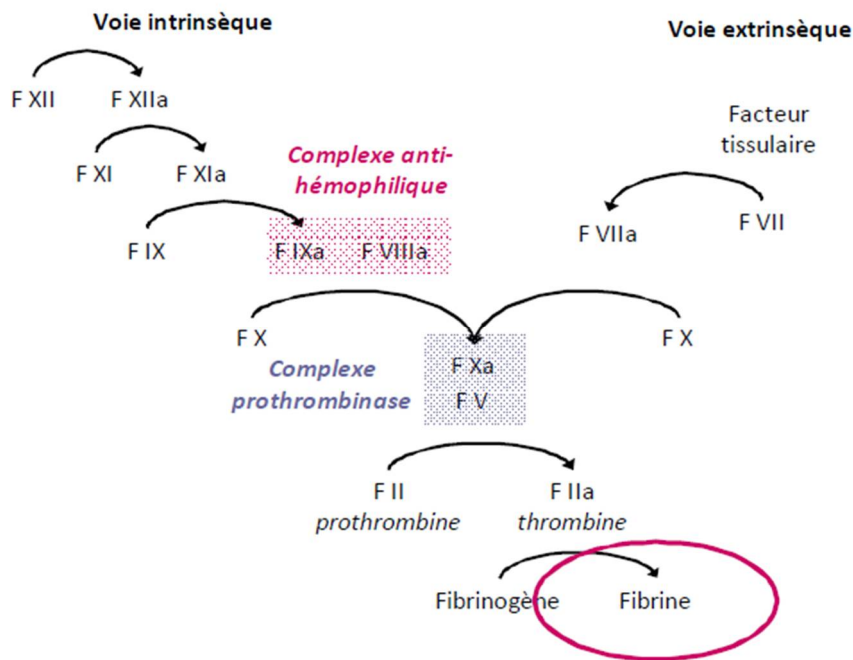
- Cet électrolyte est indispensable à la coagulation. Seule l'activation du système contact peut se faire en son absence.
- Cette propriété est utilisée lors des prélèvements sanguins. Pour éviter la coagulation du sang dans le tube, il suffit de prélever sur un chélateur du calcium (EDTA, citrate).
- Pour l'étude de l'hémostase, le prélèvement doit être effectué sur l'anticoagulant de référence: le citrate.

### 1.2.3. Les inhibiteurs des facteurs de coagulation

- Il s'agit de l'antithrombine, du système protéine C-protéine S, du TFPI(tissue factor pathway inhibitor) ainsi que ZPI

## 2. Mécanisme

### 2.1. L'ancienne cascade de coagulation



Initialement, la coagulation était décrite selon deux voies d'activation : la voie intrinsèque et la voie extrinsèque qui convergeaient en une voie commune [17]. La voie intrinsèque comprend l'ensemble des éléments nécessaires à la coagulation sans qu'il y ait d'apport extérieur à la circulation. La voie extrinsèque fait, quant à elle, intervenir le seul élément extérieur à la circulation: le FT présent à la surface des fibroblastes.

Cette conception classique a permis de rationaliser et de conceptualiser le processus de la coagulation et permet encore aujourd'hui de mieux appréhender et comprendre les réactions de la coagulation in vitro. Cependant, le déroulement physiologique de la coagulation in vivo ne suit pas réellement une cascade pure et simple d'activations et ne distingue pas strictement la voie intrinsèque de la voie extrinsèque. La conception actuellement proposée prend également en compte les surfaces cellulaires impliquées, elle reflète mieux la coagulation et permet ainsi d'expliquer plus justement certaines altérations du processus.

### 2.1.1. Voie intrinsèque :

Nécessite l'intervention d'un système de contact. Celui – ci comprend 4 facteurs qui sont: le facteur XII, le XI, la prékallikréine et le kininogène de haut poids moléculaire.

L'activation du système contact peut être déclenchée par le contact du facteur XII avec une surface chargée négativement mouillable ou certains composés biochimiques (complexes immuns par ex).

Le complexe anti – hémophilique comprend 2 facteurs, important en pathologie, le IX ou antihémophilique B et le VIII ou antihémophilique A.

Le facteur IX activé en présence de son cofacteur VIIIa, permet l'activation du X (Stuart) en facteur Xa. La phase contact reste une voie minoritaire face à la voie déclenchée par le FT

### 2.1.2. Voie extrinsèque :

Le facteur tissulaire est exprimé à la surface des cellules endothéliales, monocytes quand elles sont activées, il est aussi présent de façon constitutive dans les cellules musculaires lisses de la paroi vasculaire et des fibroblastes. En présence de ce facteur, lié aux phospholipides membranaires, le facteur VII (proconvertine) s'active et devient la convertine ou VIIa. Le complexe VIIa – FT permet aussi d'activer le facteur X ou Stuart en Xa.

**Dans les 2 cas la voie finale commune comprend l'activation du facteur X en Xa et puis la thrombinoformation et la fibrinoformation.**

## 2.2. La nouvelle cascade de coagulation

Le nouveau modèle est composé de trois phases permettant la génération de thrombine qui a un rôle central, à savoir les phases d'initiation, d'amplification et de propagation. Ce modèle est schématisé dans la Figure 5

### 2.2.1. Initiation de la coagulation

L'élément déclenchant la coagulation est la glycoprotéine transmembranaire FT qui est exprimée à la surface des cellules musculaires lisses et des fibroblastes présents dans le sous-endothélium. Ainsi, lorsque le FT entre en contact avec le plasma suite à une bèche vasculaire, il forme un complexe avec le facteur VII activé plasmatique (FVIIa) pour lequel il a une très forte affinité. Cela a pour conséquence de libérer le site actif du FVIIa. De faibles taux de FVIIa plasmatique existent naturellement dans la circulation mais la protéine, en absence de FT, présente une très faible activité enzymatique. L'interaction avec le FT permet d'augmenter fortement l'activité du FVIIa lors de la protéolyse du facteur X [18].

Le complexe FVIIa-FT exerce préférentiellement son activité sur le FX, il porte donc le nom de complexe tenase « extrinsèque ». Cependant, il peut rapidement être régulé par l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI : Tissue Factor Pathway Inhibitor) ou l'antithrombine (AT) [19]. Dans ce cas, ou en présence de faibles quantités de FT, le complexe FVIIa-FT exerce alors son action, néanmoins plus lente, sur le facteur IX .

Contrairement au FIXa qui, une fois activé, a la capacité de migrer sur une plaquette, le FXa libre est inhibé par le TFPI ou l'AT ce qui crée une limitation spatiale du phénomène. Le FXa persiste donc à la surface des cellules exprimant le FT et va alors former les premiers complexes prothrombinases avec le facteur Va (FVa) en présence de calcium. Lors de cette phase d'initiation, le FVa provient alors soit de l'activation du FV circulant par le FXa, soit il est libéré des granules a des plaquettes activées. La formation du complexe prothrombinase initial va permettre d'activer la prothrombine et de générer les premières traces de thrombine (de l'ordre du picomolaire).

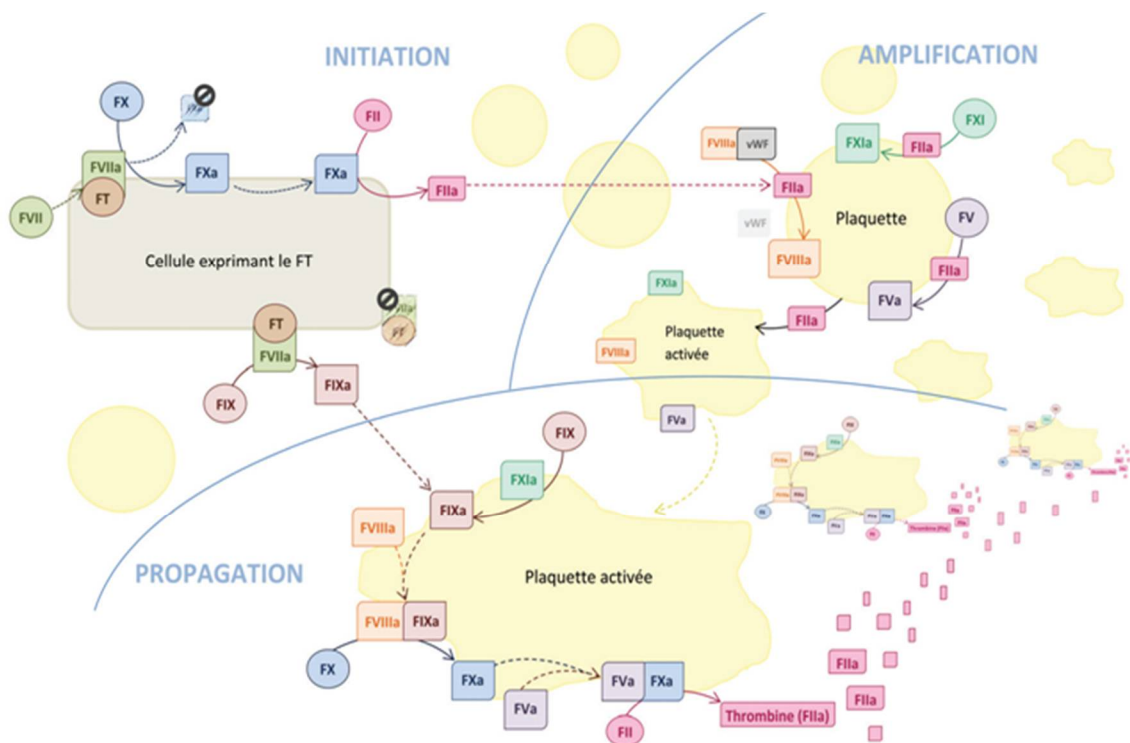
### 2.2.2. Amplification de la coagulation

La thrombine générée en surface des cellules exprimant le FT a de multiples fonctions. Elle permet l'activation des plaquettes, l'activation du FV [20], du facteur VIII [21] et du facteur XI [22,23] à la surface des plaquettes [19]. L'activation de ces facteurs permet la formation des complexes qui interviennent lors de la phase de propagation.

### 2.2.3. Propagation de la coagulation

La propagation de la coagulation a lieu à la surface des plaquettes activées. Le FIXa formé lors de la phase d'initiation lie son cofacteur : le FVIIIa généré pendant la phase d'amplification. Des molécules de FIXa supplémentaires sont alors fournies par l'activation de FXI à la surface des plaquettes. Le complexe *tenase* « intrinsèque » constitué du FIXa, du FVIIIa, du FX, de phospholipides anioniques et de calcium va alors générer du FXa directement à la surface des plaquettes. Le complexe *tenase* intrinsèque permet d'activer le FX cinquante fois plus efficacement que le complexe *tenase* extrinsèque [24].

Le FXa s'associe ensuite rapidement avec le FVa à la surface des plaquettes formant le complexe prothrombinase qui produit de grandes quantités de thrombine nécessaires à la génération de fibrine. La formation de thrombine à ce stade est jusqu'à un million de fois plus élevée que lors de la phase d'initiation.

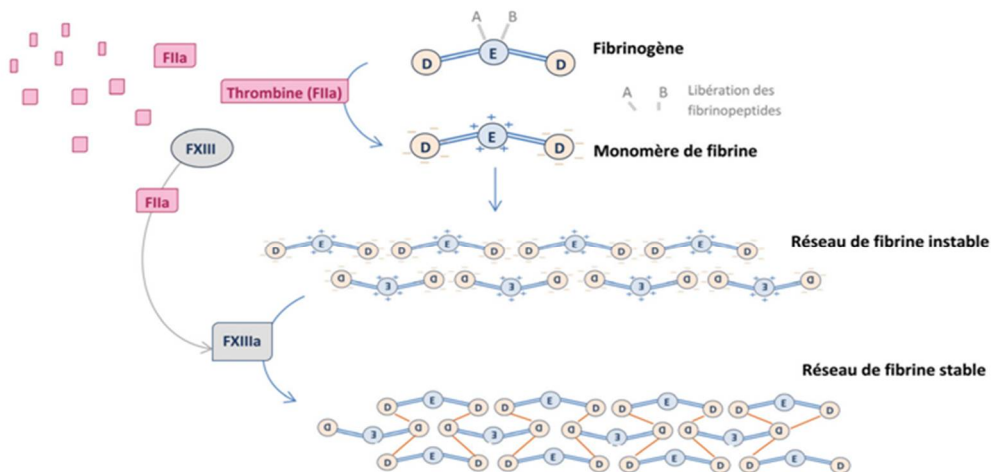


**Figure 2 :** Schématisation des phases d'initiation, d'amplification et de propagation aboutissant à la formation de grandes quantités de thrombine lors de la coagulation.

## 2.2.4. La fibrinoformation

La constitution du caillot sanguin est permise par la formation d'un réseau de fibrine. La transformation du fibrinogène soluble en réseau de fibrine insoluble est catalysée par la thrombine en présence de facteur XIII activé (FXIIIa) (Figure 3). Dans un premiers temps, la thrombine clive le fibrinogène en libérant les deux fibrinopeptides A et B du domaine E lui-même relié à deux domaines D chargés négativement. Le domaine E ainsi formé acquiert quant à lui une charge positive. Ces trois domaines forment un monomère de fibrine. La répartition des charges permet l'association des monomères en protofibrilles puis en un réseau de fibrine instable qui s'étend dans les différents plans de l'espace [25]. Le FXIIIa, activé lui aussi par la thrombine, crée des liaisons covalentes entre les monomères de fibrines spatialement voisins afin de stabiliser l'ensemble [26]. De plus, la thrombine produite temporellement après la formation du caillot active alors le *Thrombin Activable Fibrinolysis Inhibitor* (TAFI) qui protège le caillot de la fibrinolyse lors de la réparation tissulaire.

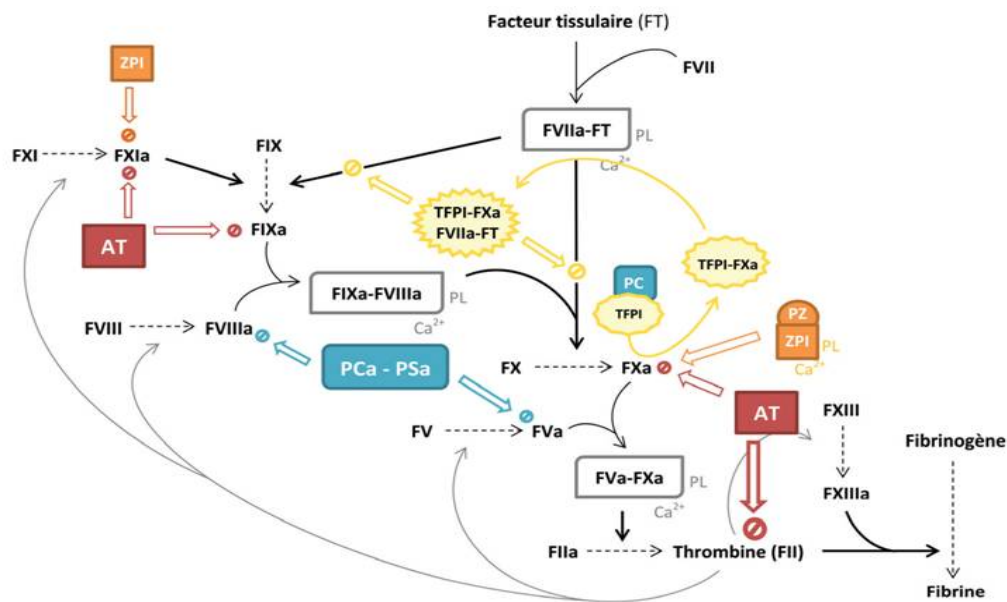
Le fibrinogène est composé de deux domaines D reliés entre eux par un domaine E, ces domaines deviennent respectivement chargés négativement et positivement après libération des fibrinopeptides A et B du domaine E par action de la thrombine (FIIa). Le FXIII activé permet ensuite la stabilisation du réseau de fibrine.



**Figure 3** : Schéma du processus de fibrinoformation.

### 3. Régulation

Il existe des processus de régulation négative qui contrôlent les mécanismes de la coagulation plasmatique permettant d'éviter une activation diffuse de la coagulation. Afin de maintenir l'équilibre, chaque zymogène de la coagulation peut être inhibé par l'un des systèmes inhibiteurs suivant : l'antithrombine, la protéine C, la protéine S, le ZPI (inhibiteur dépendant de la protéine Z) et le TFPI. L'ensemble de ces processus d'inhibition est représenté dans la Figure 4.



**Figure 4 :** Schéma de la régulation de la coagulation. TFPI : Tissue Factor Pathway Inhibitor. AT : Antithrombine. PCa – PSa : protéine C activée – protéine S activée. ZPI : inhibiteur dépendant de la protéine Z. PZ : protéine Z.

#### 3.1. L'antithrombine

L'antithrombine agit principalement sur la thrombine dont les rôles sont multiples dans le processus de la coagulation. Cependant, elle agit également sur le FXa, le FIXa et le FXIa qui s'échappent du caillot et se retrouvent dans la circulation. Enfin, l'antithrombine a la capacité d'inhiber le FVIIa au sein du complexe FVIIa-FT des surfaces cellulaires [27] et interagit avec les plaquettes via la GP Ib-IX-V [28].

L'antithrombine est une serpine synthétisée par le foie qui circule librement dans le plasma. Lorsque les sérine-protéases se retrouvent dans la circulation, l'antithrombine constitue un complexe équimoléculaire irréversible et inactif qui sera ensuite éliminé. La formation du complexe est une réaction lente mais qui est catalysée par des glycosaminoglycanes comme les héparanes sulfates ou l'héparine. Les héparanes sulfates sont naturellement présents à la surface des cellules endothéliales [29] alors que l'héparine est sécrétée par les mastocytes et souvent utilisée en thérapeutique.

L'héparine augmente la réactivité de l'antithrombine avec le FIXa via deux mécanismes : l'un étant un changement conformationnel, l'autre étant dépendant des ions  $\text{Ca}^{2+}$  [30]. Ce dernier correspond à la formation de ponts non covalents via les ions  $\text{Ca}^{2+}$  entre l'antithrombine et le FIXa en présence d'héparine de longueur suffisante, ce qui permet de réduire la constante de dissociation entre les deux molécules [31]. De plus, la liaison de l'héparine à l'hélice D de l'antithrombine induit un changement structural de la boucle RCL (*Reactive Center Loop*) permettant aux résidus 393 et 394 d'interagir avec deux boucles de la surface du FIXa. Il s'agit de la boucle dite d'autolyse au niveau du résidu Arg318 [32] et de la boucle formée par les résidus Val196 à Phe205 du FIXa [33,34], respectivement nommé *loop-148* et *loop-39* selon le système de numérotation de la chymotrypsine. En présence d'héparine, l'inhibition du FIXa par l'antithrombine est 40 fois moins efficace que celle du FXa [34].

### 3.2. La protéine C et la protéine S

Le système protéine C - protéine S est un inhibiteur très puissant des cofacteurs FVa et FVIIIa. La thrombine possède un cofacteur exprimé à la surface des cellules endothéliales : la thrombomoduline. Une fois liée à son cofacteur, la thrombine acquiert des fonctions anticoagulantes au détriment des propriétés coagulantes. La thrombine active la protéine C alors présente à la surface des cellules endothéliales grâce à une interaction avec son récepteur endothélial EPCR (*Endothelial Protein C Receptor*) et la thrombomoduline [35]. La protéine C activée (PCa) est capable d'inhiber le FV et le FVIII (activés ou non) par

protéolyse. Ces réactions d'inhibition sont catalysées par la présence de protéine S activée qui se lie au domaine protéase de la protéine C activée et qui améliore son efficacité par changement de conformation [36]. La synthèse de la protéine S et de la protéine C est vitamine K-dépendante.

La protéine S, facteur vitamine K-dépendant, a également un autre rôle de régulateur, indépendamment de la PCa mais dépendant du TFPI. En effet, la protéine S permet d'améliorer l'inhibition du FXa par le TFPI en jouant un rôle de cofacteur [37,38].

### **3.3. Le TFPI (*Tissue Factor Pathway Inhibitor*)**

Le TFPI est synthétisé par les cellules endothéliales et circule dans le plasma en faibles quantités [39]. Il inhibe quant à lui la réaction d'activation du FX par le complexe FVIIa-FT, il est l'inhibiteur physiologique de la voie du FT. Au lieu de se fixer directement sur le FVIIa et d'inhiber son activité, le TFPI se fixe d'abord au FXa, puis le complexe FXa – TFPI se lie au complexe FVIIa-FT. Le TFPI sous la forme de complexe quaternaire inhibe donc non seulement la formation de FXa mais également celle du FIXa. Cependant, le TFPI n'inhibe pas directement le FIXa. Une étude récente a montré que la résistance du FIXa à être inhibé par le TFPI était due à ses résidus dans la boucle des résidus 196 à 205 du FIXa [40]. En effet, en remplaçant cette séquence du FIXa par les résidus correspondants du FXa, l'étude a montré une sensibilité du FIXa chimérique à l'inhibition par le TFPI.

### **3.4. L'inhibiteur dépendant de la protéine Z (ZPI)**

Le ZPI (*Protein Z-dependent protease inhibitor*) est une protéine circulante qui inhibe le FXa et le FXIa. Le ZPI est une serpine dont le cofacteur est la protéine Z (PZ). En effet, l'inhibition du FXa par le ZPI en présence de phospholipides et de calcium est 1 000 fois plus efficace en présence de la protéine Z [41]. A l'inverse, l'inhibition du FXIa par ce système ne requiert pas de protéine Z, de phospholipides ou de calcium.

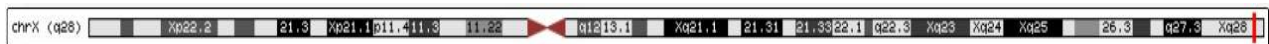
## II. Description des gènes F8 et F9

### 1. Gène F8

#### 1.1. Position et organisation structurale du gène F8

Décrit en 1984 [42], le gène codant le facteur VIII est situé à la fin du bras long du chromosome X sur la bande la plus distale en Xq28 (figure 5). C'est un des plus grands gènes connus puisqu'il s'étend sur plus de 186kb. D'après la base de données UCSC [43], il est compris entre la paire de base 154,064,064 et la paire de base 154,250,998 du chromosome X, selon le génome de référence hg19 (GRCh37).

Il est composé de 26 exons, entrecoupés de 25 introns, codants une chaîne polypeptidique de 2351 résidus d'acides aminés. Ces résidus se divisent en un peptide signal de 19 acides aminés et une protéine mature de 2332 acides aminés [44].



**Figure 5 :** Position du gène F8 sur le chromosome X

#### 1.2. Promoteur

La séquence promotrice est décrite comme une séquence d'ADN accolée au gène et contenant le site d'initiation de la transcription et des régions régulatrices. Cette séquence est indispensable à la transcription de l'ADN génomique en transcrit primaire, qui deviendra, après maturation, l'ARN messenger.

Le promoteur du gène *F8*, tel qu'il a été cloné en 1984 [42], représente environ 1175pb et est la cible de fixation de nombreux facteurs de transcription qui se fixent à différentes régions du promoteur : HNF1 et HNF4 (Hepatocyte nuclear factors), NF- $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ B), CCAAT/EBP (C/EBP) ou NF-Y. Certains de ces facteurs de transcription sont spécifiquement hépatiques. Ceci permet d'expliquer pourquoi la biosynthèse du facteur VIII est principalement hépatique. De plus, cette région promotrice contient les séquences consensus nécessaires à la fixation de l'ARN polymérase. Il semble

qu'une portion relativement courte, s'étendant entre les nucléotides c.-279 et c.-84 en amont du gène, soit essentielle à une activité promotrice maximale [45,46,47].

Cette région contient aussi, 200pb en amont du codon d'initiation (ATG), la séquence 5'- GATAAA-3', séquence typique de « TATA Box » et donc séquence consensus pour la fixation de facteurs de transcription nécessaires au recrutement de l'ARN polymérase.

## 2. Gène F9

### 2.1. La position et l'organisation structurale du gène F9

Décrit pour la première fois en 1984 [48], le gène responsable de la synthèse du facteur IX, ou gène *F9*, se situe sur le bras long du chromosome X, dans la région Xq27. Il est considérablement plus petit et structurellement plus simple que le gène *F8*. Il se compose d'environ 34 kb. D'après la base de données UCSC [43], il est compris entre la paire de base 138,612,895 et la paire de base 138,645,617 du chromosome X, selon le génome de référence hg19 (GRCh37).



**Figure 6 :** Position du gène F9 sur le chromosome X.

Le gène se compose de huit exons, séparés de sept introns, qui codent une préprotéine de 461 acides aminés et donnera ensuite naissance à une protéine mature de 415 acides aminés [44].

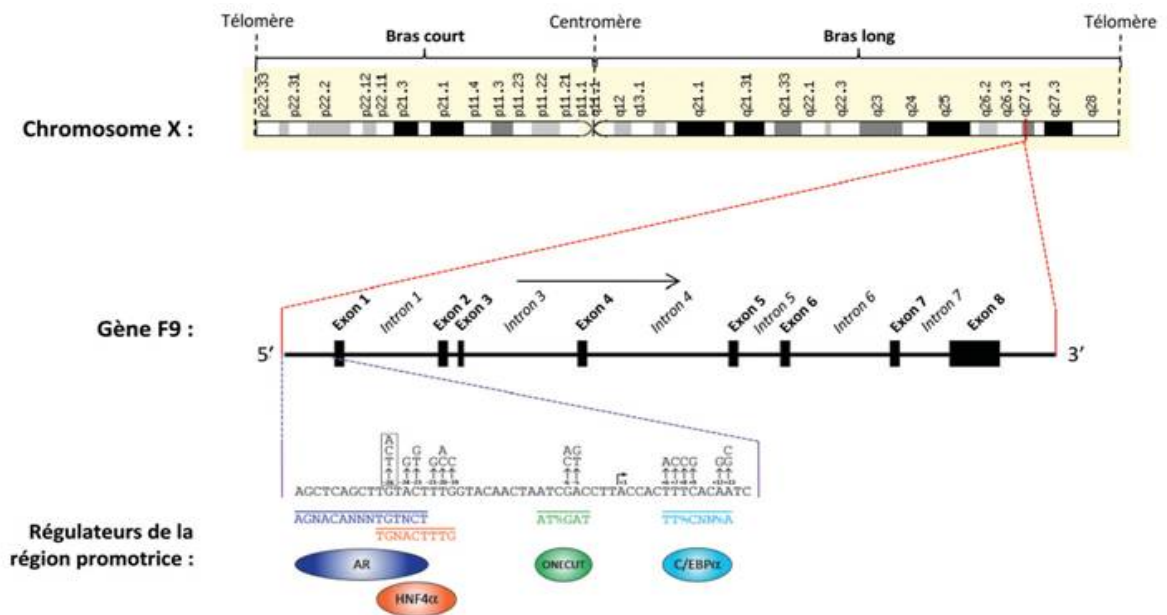
### 2.2. La séquence promotrice du gène FIX et sa régulation

Il présente une séquence promotrice, au début du gène, qui comporte une boîte TATA située 27 nucléotides en amont du premier nucléotide de l'ARN messager. Cette boîte TATA est inhabituelle puisqu'elle comporte une guanosine en deuxième position (séquence TGTA).

La plupart des processus de régulation du gène FIX a été appréhendé et découvert dans le cadre de la compréhension de l'hémophilie Leyden. L'hémophilie Leyden a la particularité d'être liée à des mutations dans la région du promoteur proximal. C'est une forme de l'hémophilie qui ne touche que les enfants pour progressivement s'estomper, avec des taux de FIX revenant progressivement à la normale à l'âge adulte. A l'heure actuelle, les 21 mutations décrites comme touchant la zone du promoteur proximal du gène FIX et influençant l'expression du FIX correspondent toutes à des séquences du promoteur permettant la fixation d'éléments essentiels dans la régulation [49]. Ainsi les éléments responsables de la régulation de la transcription du gène FIX ont été identifiés et sont représentés dans la Figure 7 :

- Le CfEBPa (*CCAAT/enhancer – binding protein*) qui est un facteur de transcription qui, une fois lié à l'ADN, recrute des co-activateurs. La région d'interaction avec le promoteur du gène FIX est située du nucléotide +1 à +18 du promoteur [50].
- Le HNF4 (*Hepatocyte nuclear factor 4*) qui se lie à la région -34 à -10 du promoteur [51]. HNF4 est un facteur de transcription essentiellement exprimé dans les hépatocytes.
- Le facteur de transcription ONECUT qui reconnaît le motif du dinucléotide CpG en position -5 sur le promoteur [52].
- Enfin, une région en -26 a été identifiée comme correspondant à un récepteur à androgène (AR) qui permet l'activation de la transcription par la testostérone [53]. Ce récepteur chevauche la région d'interaction avec le HNF4 en position -20 et permet aux patients ayant une mutation au sein du promoteur FIX (autre qu'au sein de l'AR) de retrouver une expression de FIX à la puberté. Les AR sont essentiellement non-fonctionnels, en effet, ces séquences ne sont par exemple pas conservées chez la souris et les non-hémophiles ne voient pas leur taux de FIX augmenté après la puberté, lorsque les taux hormonaux augmentent. Cependant,

les AR deviennent fonctionnels lorsque le promoteur FIX est compromis par des mutations [49].



**Figure 7 :** Le gène F9 : localisation dans le chromosome X, structure et régulation de la séquence promotrice. AR : Récepteur à androgène. HNF4 : Hepatocyte nuclear factor 4. C/EBPα : CCAAT/enhancer – binding protein.

### III. Description des facteurs FVIII et FIX

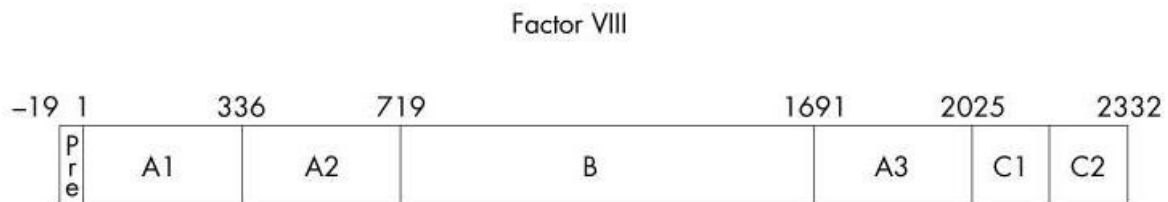
#### 1. Description du Facteur FVIII

Le facteur VIII présente une synthèse et une expression principalement hépatiques. L'ARN messager est traduit en un polypeptide de 2351 acides aminés dont les 19 premiers constituent le peptide signal qui sera clivé par la signal peptidase lors de la sécrétion. Le poids moléculaire du facteur VIII mature est d'environ 285 kDa. Des études de microscopie électronique à transmission ont permis de mettre en évidence que la protéine contenait un core central de 10 à 12 nm comprenant les chaînes lourdes et légères et une structure plus périphérique, le domaine B.

Cette protéine est organisée en domaines en suivant le motif :

*A1-a1-A2-a2-B-a3-A3-C1-C2*

Les 3 domaines A présentent une homologie de séquence entre eux d'environ 40%. Ces domaines s'organisent ensuite en 2 chaînes : les domaines A1 à B constituent la chaîne lourde et les domaines a3 à C2 la chaîne légère. Le domaine A3 appartient à la chaîne légère et présente lui une homologie d'environ 35% avec le facteur V et la céruloplasmine, protéine de transport du cuivre. Les différents domaines A sont liés entre eux par des peptides courts (*a1*, *a2*, *a3*) ou « régions acides ». Ils sont dénommés ainsi du fait de leur richesse en acides aminés (AA) acides. Ensuite, le domaine B, d'environ 900AA et codé par l'exon 14 principalement, est inséré entre le domaine A2 et le domaine A3. Pour l'heure, aucune homologie structurale n'est connue et son rôle n'est pas nécessaire à l'activité pro-coagulante du facteur VIII activé. Il aurait un rôle majeur dans la stabilité du facteur VIII [54]. Enfin, les 2 domaines C ne font qu'environ 150 résidus et sont homologues au domaine C du facteur V et à un domaine liant les phospholipides chargés négativement, la lectine discoïdine de type 1 [55,56].



**Figure 8 :** Les différents domaines du facteur VIII.

D'après Bowen et al. J Clin Pathol. 2002 [44]

## 1.1. Modifications post-traductionnelles

### 1.1.1. Au niveau du réticulum endoplasmique

Tout d'abord, le peptide signal de 19 acides aminés va être clivé par une enzyme, la signal peptidase.

Ensuite, le facteur VIII va être la cible de plusieurs N-glycosylations. En effet, il existe environ 20 résidus arginine, sites potentiels de N-glycosylation, et 5 seulement sont situés en dehors du domaine B. Le rôle de ces différentes glycosylations dans la fonction du facteur VIII mature n'est pas encore clairement compris. Cependant, il est établi que ces modifications jouent un rôle majeur dans le repliement intracellulaire de la protéine et dans son circuit intracellulaire en vue de sa sécrétion. D'abord, elles constituent des sites d'ancrage pour la fixation de protéines chaperonnes, exerçant un véritable contrôle de qualité, comme la calreticuline ou la calnexine. Ainsi, la fraction de facteur VIII mal repliée sera ensuite dégradée, après liaison à des protéines du réticulum endoplasmique, les protéines BiP. De plus, ces motifs permettent la fixation de protéines de transport telles que LMAN-1 (lectin mannose-binding protein-1) et MCFD2 (multiple coagulation factor deficiency-2). Ces deux protéines assurent le transport de la fraction correctement conformée depuis le réticulum endoplasmique jusqu'à l'appareil de Golgi [56]. En effet, elles forment un complexe calcium- dépendant qui sera orienté, grâce aux protéines COPII (coat proteins II) vers des vésicules de transport. Ces vésicules permettent le relargage du facteur VIII (et de son homologue, le facteur V) dans la lumière du Golgi, les protéines LMAN-1 et MCFD2 seront recyclées par transport antérograde médié par les protéines

COPI (coat proteins I). Ainsi, des mutations sur les gènes *LMANI* ou *MCFD2* seront responsable d'un déficit combiné en facteurs V et VIII. Il semblerait que le domaine B favorise l'efficacité de la sécrétion du facteur VIII en interagissant avec le complexe de récepteurs permettant le transport vers l'appareil de Golgi [54,57].

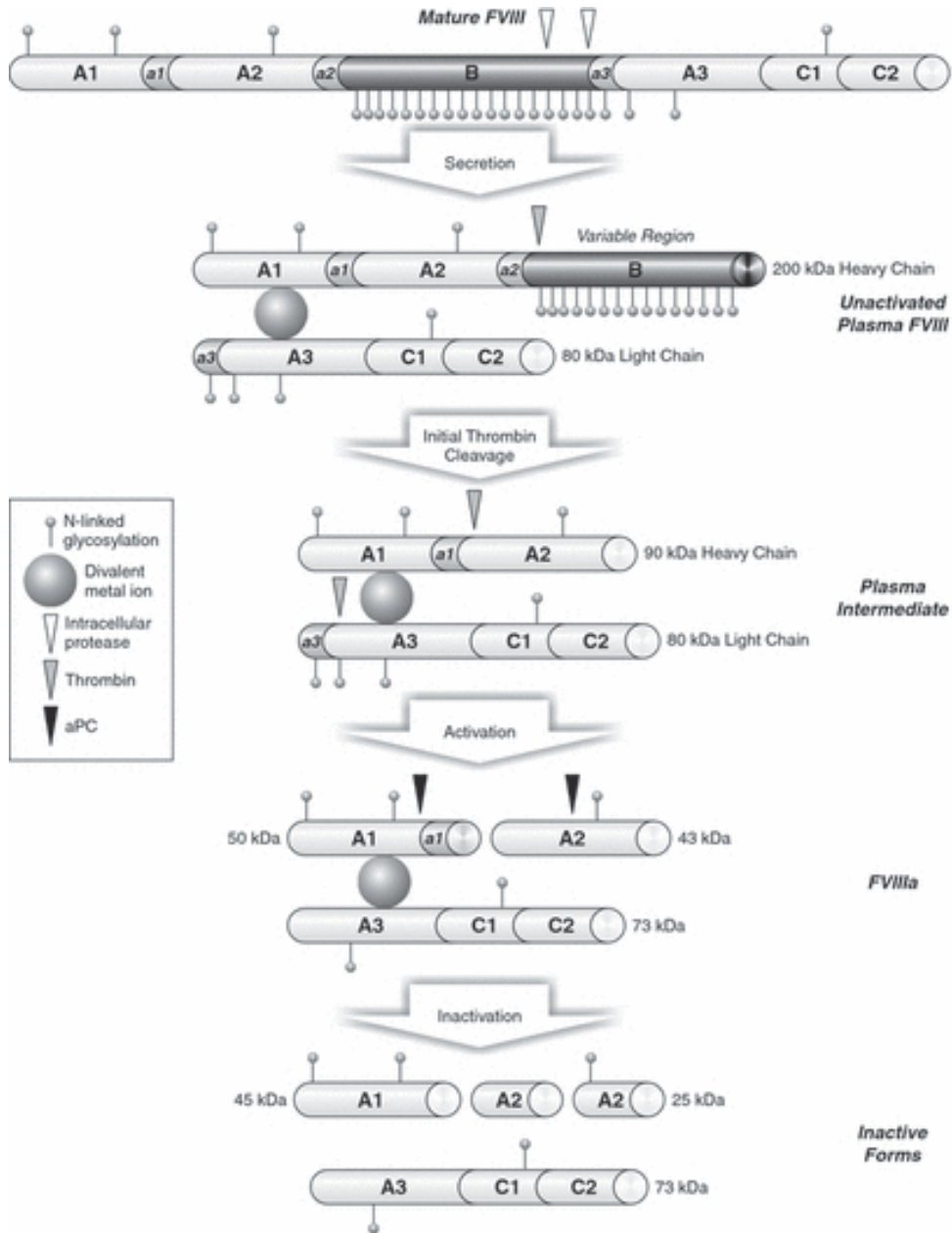
### 1.1.2. Au niveau de l'appareil de Golgi

A ce niveau, le facteur VIII va subir une modification des N-glycosylations précédemment fixées, l'ajout de nombreuses O-glycosylation, notamment sur le domaine B ainsi qu'une sulfatation de résidus tyrosine. En effet, 6 résidus tyrosines appartenant aux régions acides (peptides de liaison entre les domaines) vont être sulfatés. Ces résidus, une fois sulfatés, sont chargés négativement et jouent un rôle central sur l'activation par la thrombine et sur l'interaction avec le facteur von Willebrand .

De plus, le polypeptide du FVIII va subir l'action d'une endoprotéase dont l'identité demeure pour l'heure encore inconnue et qui appartiendrait à la famille des protéases subtilisine-like. Elle est responsable d'une protéolyse des liaisons covalentes entre la chaîne lourde et la chaîne légère au niveau des Arg1414 et Arg1648. Ainsi, la chaîne lourde comporte les domaines A1-a1-A2-a2-B et a un poids moléculaire compris entre 90 et 210 kDa, en fonction de la portion du domaine B clivé par la protéase. La chaîne légère comporte alors les domaines a3-A3-C1-C2 et a un poids moléculaire d'environ 80 kDa [56]

La structure hétérodimérique du facteur VIII n'est pas maintenue par une liaison covalente mais par une liaison médiée par un ion métallique entre les domaines A1 et A3. Connaissant la parenté structurale entre le facteur VIII et la céruléoplasmine, il n'est pas surprenant que cette liaison soit sous la responsabilité d'un ion cuivre  $\text{Cu}^{2+}$ . Le site de liaison de cet ion cuivre est composé des résidus His265, Cys310, His315 et Met320 du domaine A1 de la chaîne lourde. La fixation du cuivre permet au domaine A1 d'adopter une conformation autorisant la liaison du domaine A3 de la chaîne légère [58].

Au final, le facteur VIII est sécrété à l'état de traces dans le milieu extracellulaire puisque, chez l'homme, sa concentration plasmatique est de l'ordre de 0,1 à 0,2 µg/mL.



**Figure 9 :** Cycle de vie du facteur VIII.

D'après Pipe SW. Haemophilia. 2009 [54]

## 2. Description du FIX

Le FIX est une protéine synthétisée par le foie sous forme d'un précurseur immature de 461 acides aminés. Ce précurseur du FIX subit ensuite des modifications post-traductionnelles avant d'acquies sa structure définitive de 415 acides aminés correspondant à la forme zymogène plasmatique. La numérotation des acides aminés débute sur le premier résidu de la protéine mature, la séquence ne faisant pas partie de la protéine finale est numérotée négativement. La séquence protéique du précurseur du FIX comprend un peptide signal de 28 résidus (position -46 à -17), un propeptide de 18 résidus (-18 à -1) ainsi qu'une séquence correspondant à la protéine circulante (+1 à +415). La séquence protéique du précurseur du FIX est représentée dans la Figure 10

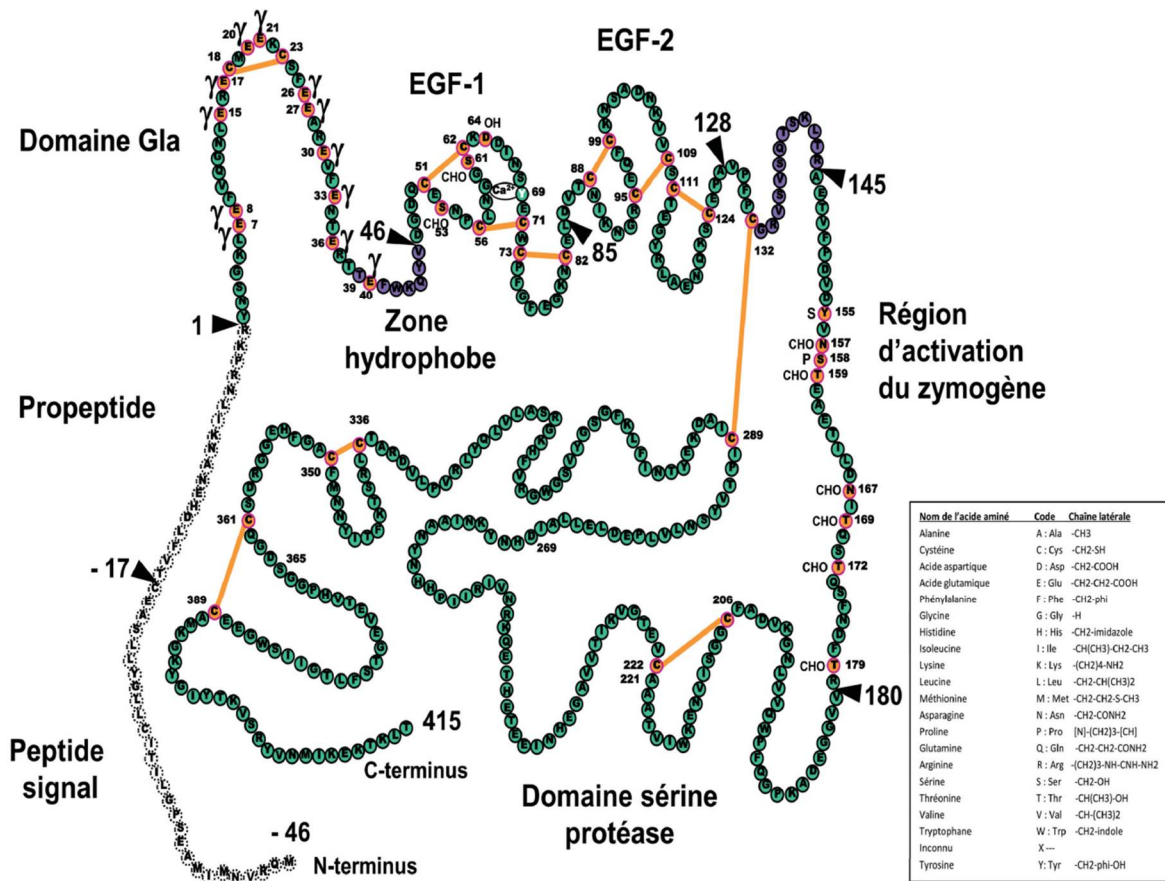
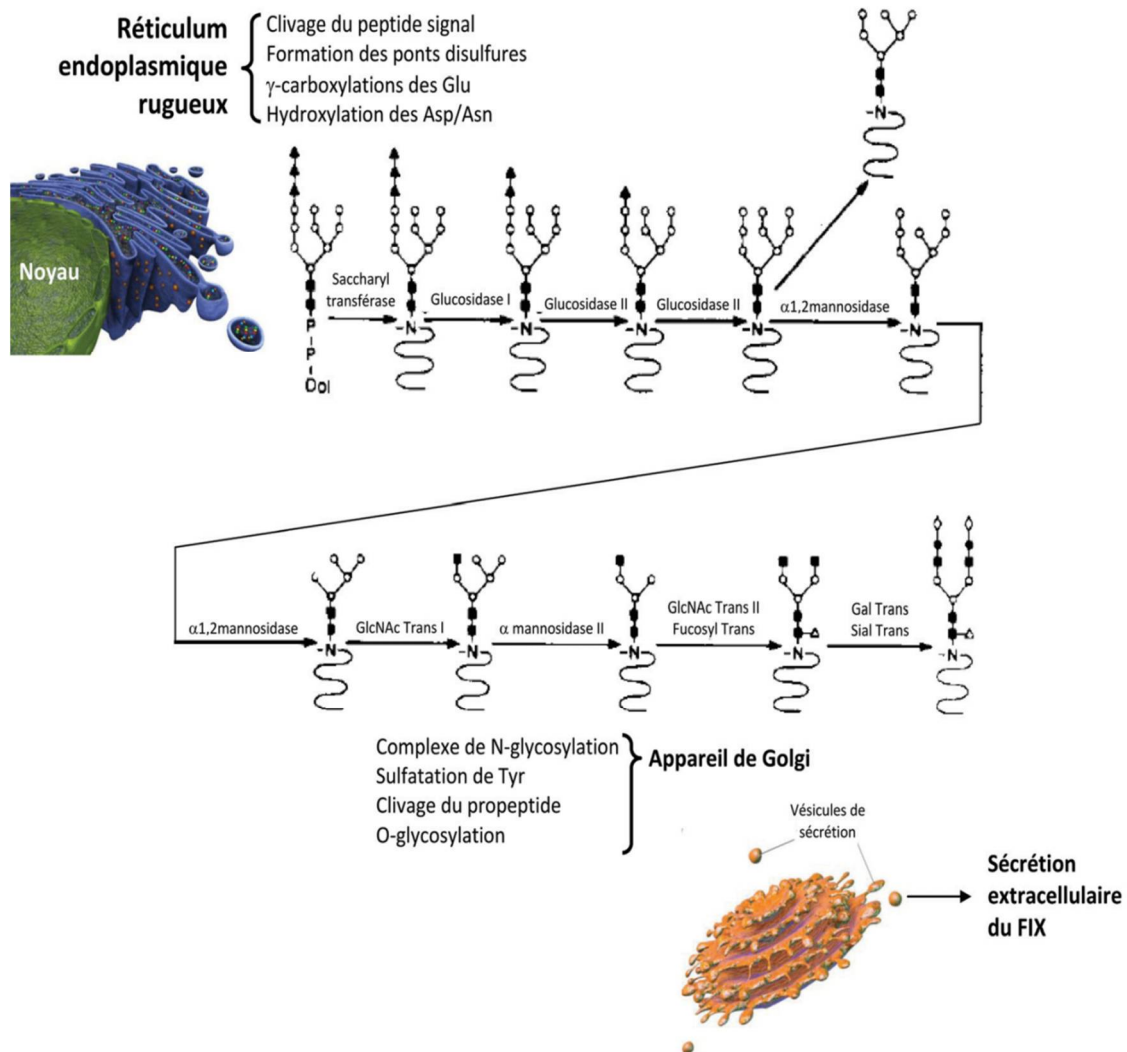


Figure 10 : Structure primaire du FIX, d'après Bond et al., 1998 [59].

## 2.1. Sécrétion du FIX par les hépatocytes

Au fur et à mesure de sa synthèse, le précurseur de FIX subit une série de modifications post-traductionnelles nécessaires au bon repliement et à la sécrétion de la protéine, ainsi qu'à son activité enzymatique. Ces modifications ont lieu dans deux compartiments des hépatocytes : le réticulum endoplasmique rugueux (RER) et l'appareil de Golgi et sont schématisées dans la Figure 11.



**Figure 11** : Modifications post-traductionnelles dans la voie de sécrétion du FIX. Détail de la formation des complexes de N-glycosylation lors du transfert du réticulum endoplasmique rugueux à l'appareil de Golgi. D'après Kaufman, 1998 [60].

### 2.1.1. Synthèse dans le réticulum endoplasmique rugueux et premières modifications

Après traduction de l'ARN messager (ARNm) du FIX par les ribosomes, la structure primaire du FIX présente un peptide signal à l'extrémité N-terminale (résidus -46 à -19) qui permet l'insertion de la protéine dans la membrane du RER par une structure boucle. Ce peptide signal est ensuite clivé entraînant la translocation du FIX dans la voie sécrétoire [60].

La protéine est stabilisée par la formation de onze ponts disulfures : un dans le domaine Gla, trois dans chaque domaine EGF-like (*Epidermal Growth Factor-like*), trois dans le domaine sérine protéase et un qui relie la partie N-terminale à la partie C-terminale du FIX [61]. Ces ponts disulfures, formés par oxydation des fonctions thiol de deux résidus cystéines, participent au bon repliement de la protéine et à sa stabilisation. De plus, l'un de ces ponts disulfures permet de relier la chaîne lourde à la chaîne légère lors du clivage du peptide d'activation.

Les douze premiers résidus d'acides glutamiques du domaine Gla sont sélectivement  $\gamma$ -carboxylés en acides  $\gamma$ -carboxyglutamiques. Ces  $\gamma$ -carboxylations font du FIX une protéine dont la synthèse est vitamine K-dépendante.

L'acide aspartique Asp64 de l'EGF-1 est  $\beta$ -hydroxylé, cette modification ne présente pas de fonction connue[62].

Les N-glycosylations sur certains résidus des glycoprotéines sont généralement nécessaires au repliement et à l'assemblage des protéines nouvellement synthétisées, elles permettent également une sécrétion efficace. Lors du transport dans l'appareil de Golgi, des complexes de N-glycosylation se forment sur les résidus asparagines Asn157 et Asn167 du FIX [63]. La première enzyme impliquée dans la formation de ce complexe est une oligosaccharyltransférase qui catalyse le transfert d'un oligosaccharide riche en mannose sur certains résidus asparagine. Les asparagines capables de recevoir de tels oligosaccharides ont été définis comme faisant partie de la séquence consensus suivante :

Asn – X – Ser/Thr (X pouvant être n'importe quel résidu excepté la proline). Le transport du polypeptide jusqu'au Golgi nécessite la modification des sucres de ce complexe. Les étapes ainsi que les enzymes impliquées dans cette voie sont détaillées dans la Figure 11. Le complexe final possède des acides sialiques terminaux dont les motifs et les liaisons ne sont pas les mêmes chez le pdFIX et le rFIX [64].

### 2.1.2. Transfert et maturation dans l'appareil de Golgi

Le résidu tyrosine Tyr155 est sulfaté à plus de 90 % pour le pdFIX alors qu'il ne l'est que de 10 à 15 % pour le rFIX [65]. Ces taux de sulfatation ont été suggérés comme pouvant expliquer les différences de pharmacocinétique entre le rFIX et le pdFIX [66]. De même, les incidences de la phosphorylation du résidu sérine Ser158 sont encore peu connues. Les molécules de rFIX non phosphorylées ont été décrites comme éliminées plus rapidement du plasma [67]. Une étude de ces modifications du peptide d'activation par spectrométrie de masse a montré que le rFIX ne possédait que 4% de sulfatations et de phosphorylations (contre 70 % pour le pdFIX) [64]. Ces deux modifications ont lieu dans le foie et pourraient jouer des rôles importants dans la sécrétion, l'activité catalytique, la pharmacocinétique ou encore l'immunogénicité du FIX [68].

Le clivage du propeptide du FIX (résidus –18 à –1) a lieu dans le trans-Golgi, juste avant la sécrétion du FIX dans la circulation plasmatique. Le clivage est assuré par une endopeptidase eucaryote, la furin/PACE qui clive le propeptide après certains résidus basiques spécifiques. Le motif de clivage pour le propeptide du facteur IX a été défini comme étant : Arg – X – (Lys/Arg) – Arg [69].

La protéine subit enfin l'addition d'oligosaccharides sur certains résidus sérine et thréonine situés au sein du peptide d'activation, la réaction d'O-glycosylation se fait par ajout d'un N-acétylgalactosamine sur les résidus concernés, contrairement aux liaisons N-glycosylées qui impliquent en premier lieu un résidu N-acétylglucosamine. Les résidus sérines et thréonines concernés sont généralement regroupés dans des régions riches en Proline. Les résidus Ser53 et Ser61 contenus dans le domaine EGF-1 sont uniformément

glycosylés tandis que les résidus thréonine Thr159, Thr169, Thr172 et Thr179 ne sont que partiellement O-glycosylés, que ce soit sur les molécules de pdFIX ou de rFIX [60].

### 2.1.3. Sécrétion

Une fois toutes ces modifications post-traductionnelles effectuées, le FIX est alors sécrété dans la circulation. L'étude de certaines mutations de patients hémophiles B a permis d'identifier le rôle essentiel de la région carboxy-terminale de la protéine dans la sécrétion cellulaire [70]. Une étude récente souligne le rôle clé du groupement phénol du résidu tyrosine Tyr404 dans la sécrétion mais aussi dans la fonction du FIX [71].

## 2.2. Structure du zymogène circulant

Suite à l'ensemble des modifications précédemment décrites et de par la composition de la séquence protéique, on définit plusieurs domaines distincts du FIX (Référence Uniprot du FIX : P00740). Les fonctions de chacun de ces domaines sont liées aux modifications post-traductionnelles qu'il porte. Chacun des domaines joue un ou plusieurs rôles dans la fonction du FIX et ses multiples interactions.

En termes de structure et de fonctionnalité, on distingue six domaines dont la plupart sont conservés chez des protéines homologues vitamine K-dépendantes (FII, FVII, FIX, FX, PC et PS) :

- Le domaine Gla (résidus 1 à 38)

Ce domaine, issu de la traduction des exons 2 et 3 est spécifique des facteurs vitamine K dépendants. Il contient douze résidus acides glutamiques (Glu). Ces derniers vont pouvoir subir une gamma-carboxylation au niveau des hépatocytes par une carboxylase vitamine K dépendante. Ce sont ces douze résidus d'acide gamma-carboxyglutamiques, ou résidus Gla, qui donnent ce nom à ce domaine.

Il est caractérisé par la présence de 12 acides  $\gamma$ -carboxyglutamiques. Hormis son implication dans les interactions avec le FVIIIa et le complexe FVIIa-FT, il a été montré

que le domaine Gla interagissait avec la surface des plaquettes, les vésicules phospholipidiques et la membrane des cellules endothéliales via le collagène de type IV.

La gamma-carboxylation des résidus Glu n'est pas la seule modification post-traductionnelle nécessaire à l'activité coagulante du FIX [72]. On retrouve par exemple :

- une  $\beta$ -hydroxylation de l'acide aspartique (Asp) 64
- des O-glycosylations des résidus 53, 61, 159, 169 et 172
- des N-glycosylations des asparagines (Asn) 157 et 167
- des sulfatations de la tyrosine (Tyr) 155
- une phosphorylation de la sérine (Ser) 158

- La zone hydrophobe (résidus 39 à 46) est une petite séquence de 8 acides aminés codée par l'exon 3. Avec le domaine EGF-1, elle aurait une importance dans le maintien de l'intégrité fonctionnelle du domaine Gla dans la liaison aux cellules endothéliales [73,74] mais aucune étude récente sur la liaison du FIX aux cellules endothéliales ne mentionne la zone hydrophobe. Cette zone est d'ailleurs souvent confondue au sein du domaine Gla.

- Les domaines EGF-*like* sont communément nommés EGF-1 et EGF-2 car ce sont des domaines en tandem qui sont homologues à la structure des facteurs de croissance épidermique EGF. Cette structure est caractérisée par la présence de trois ponts disulfures permettant une structure secondaire en feuillets  $\beta$ . De par leur liaison aux ions  $\text{Ca}^{2+}$ , les domaines EGF-*like* permettent de nombreuses interactions protéine-protéine [75]. De plus, l'intégrité des domaines EGF-1 et EGF-2 et notamment de leurs ponts disulfures étaient indispensables au transfert du FIX dans l'appareil de Golgi [76]. Ces domaines s'étendent des résidus 47 à 145 et sont issus de la traduction des exons 4 et 5 du gène F9.

- Le peptide d'activation (résidus 146 à 180) est codé par l'exon 6. Le clivage de ce peptide intervient lors de l'activation du FIX en FIXa. Cependant, ce peptide n'est pas présent dans le FIX uniquement pour être éliminé lors de l'activation. En fonction de sa

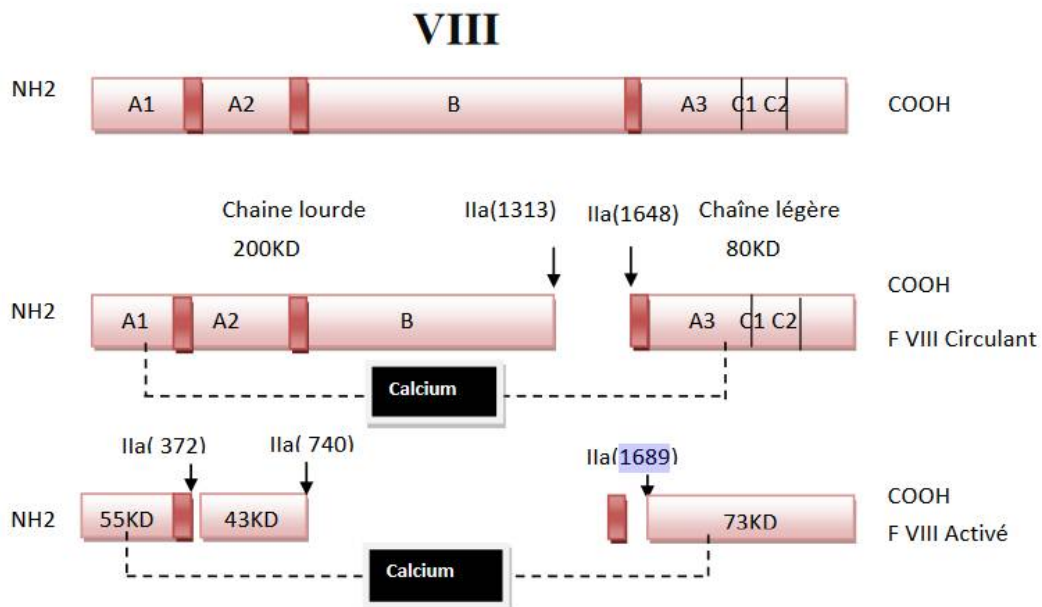
longueur et du nombre de glycosylations qu'il possède, il confère aux FVII, FIX et FX une demi-vie plus ou moins longue [77,78]. Ces glycosylations ont d'ailleurs permis de grandes avancées dans l'amélioration de la demi-vie de plusieurs facteurs de coagulation.

- Le domaine catalytique (résidu 181 à 415) résulte de la traduction des exons 7 et 8. Il assure l'activité enzymatique du FIXa grâce à la triade catalytique His221–Asp269–Ser365 et à ses nombreuses interactions lors de la formation du complexe *tenase* intrinsèque et lors de la liaison au substrat FX. Le domaine sérine protéase caractérisé par la présence de cette triade catalytique apparente le FIX à la famille des sérine-protéases.

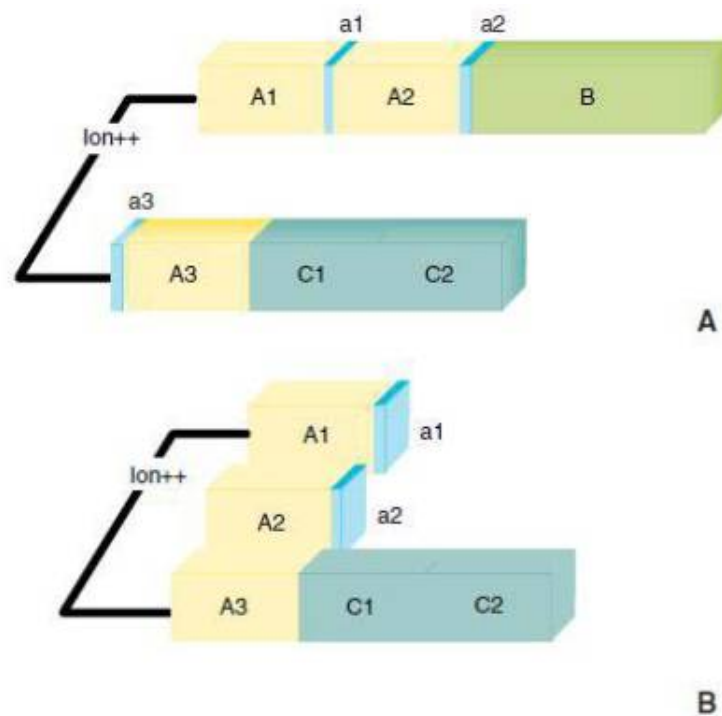
## IV. Rôle des facteurs FVIII et FIX dans la coagulation et leurs interactions

### 1. Activation du FVIII

Ce facteur circule sous forme inactive hétérodimérique. Son activation est produite essentiellement par la thrombine et accessoirement par le facteur Xa[79]. La thrombine agit d'abord sur la chaîne lourde, au niveau de l'arginine 740 et 372 pour produire deux polypeptides de 43KD (A2) et de 55KD (globalement A1), et au niveau de la chaîne légère en arginine 1689 pour donner un monomère de 73 KD (A3, C1, C2) [80 ,81] .Le clivage au niveau de ces sites entraîne une élimination du domaine B avec réalisation d'une liaison entre A1et A3 par ion de calcium[82](figure 12).



**Figure 12 :** Structure schématique du facteurs VIII

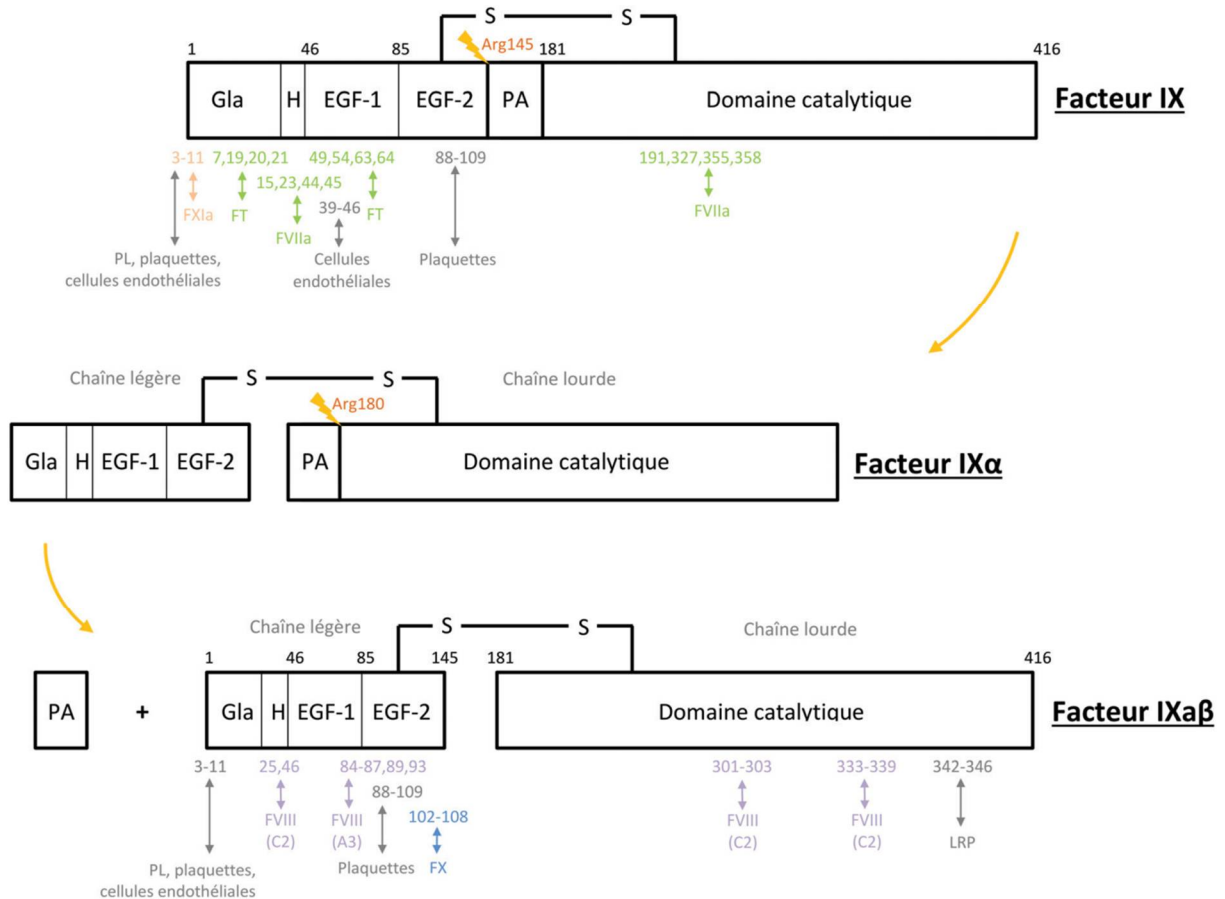


**Figure 13 :** Représentation schématique de la structure du facteur FVIII et FVIIIa [83]

## 2. Activation du FIX

### 2.1. Activation par FVIIa-FT

Lorsque le processus de la coagulation se met en place, les premiers partenaires du FIX circulant sont ses activateurs : le complexe FVIIa-FT et le FXIa. Quelle que soit l'enzyme impliquée, l'activation du FIX se déroule en deux temps. Le clivage entre les résidus Arg145 et Ala146 génère le FIXa intermédiaire constitué de deux chaînes : une chaîne légère de 18 kDa qui correspond à celle du FIXa et une chaîne lourde de 46 kDa qui comprend le domaine catalytique ainsi que le peptide d'activation. Le second clivage entre les résidus Arg180 et Val181 permet la libération du peptide d'activation de 11 kDa et ainsi la formation du FIXa $\beta$  composé d'une chaîne légère et d'une chaîne lourde, respectivement de 18 et 28 kDa, reliée entre elles par un pont disulfure [84]. Le détail de cette activation est représenté dans la Figure 14. Le FIXa intermédiaire n'est pas actif et doit obligatoirement être clivé pour devenir le FIXa $\beta$  fonctionnel.



**Figure 14 :** Activation du FIX en FIXa par clivages successifs et résidus interagissant lors de la coagulation. Gla : domaine Gla, H : zone hydrophobe, EGF : domaine EGF-like, PA : peptide d'activation, PL : phospholipides.

Le complexe *tenase* extrinsèque (ou complexe FVIIa-FT) est le complexe initiateur de la coagulation qui permet, en présence d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  et d'une surface phospholipidique riche en phosphatidylsérines, l'activation du FX et du FIX.

Le domaine EGF-1 du FIX a d'abord été décrit comme nécessaire dans l'activation du FIX par le complexe FVIIa-FT [85] puis plus précisément comme possédant un motif obligatoire dans la reconnaissance pour le FT au sein du complexe FVIIa-FT [86]. Récemment les interfaces du FIX avec chaque protéine du complexe ont été modélisées [87]. Il apparaît que les résidus D49, N54, K63 et D64 du domaine EGF-1 du FIX interagissent avec la chaîne latérale du FT.

Le domaine Gla du FIX interagit quant à lui avec la partie C-terminale du FT mais aussi avec le domaine Gla du FVIIa [88,89]. Les résidus Gla15, C23, Q44, Y45 du domaine Gla du FIX forment des ponts hydrogènes avec le FT tandis que les résidus Gla7, M19, Gla20 et Gla21 du FIX interagissent avec le domaine Gla du FVIIa [87].

Les résidus Q191, R327, E355 et R358 du domaine catalytique du FIX viennent compléter l'interaction avec le FVIIa [87]. Cependant, les domaines EGF-1 et Gla sont les premiers déterminants dans la reconnaissance avec le complexe FVIIa-FT et dans la formation du complexe ternaire qui en découle. Les séquences qui doivent être clivées se rapprochent alors du site actif du FVIIa, ce qui induit une poche oxyanionique indispensable pour une protéolyse efficace. Le premier clivage entre les résidus Arg145 et Ala146 est plus efficace que le second clivage après le résidu Arg180, cette différence d'efficacité se traduit par une accumulation de la forme FIXa lors de l'activation par FVIIa. Enfin, on notera que tous ces mécanismes de reconnaissance entre le FIX et le complexe FVIIa-TF permettent une sélectivité de l'activation du FIX parmi toutes les protéines présentes sur le lieu de la coagulation.

## 2.2. Activation du FIX par le FXIa

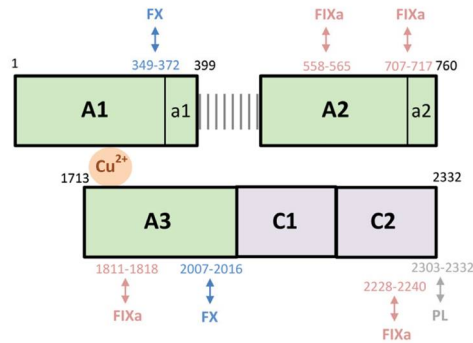
De par sa structure, le FXIa se distingue de la majorité des facteurs de la coagulation. Le FXIa est une sérine protéase qui ne possède pas de domaine Gla, elle ne présente donc pas de sites de fixation aux phospholipides via les ions  $\text{Ca}^{2+}$ . Il s'agit d'un homodimère dont chaque sous-unité présente un domaine catalytique de type *trypsin-like* et quatre domaines *apple* (A1 à A4). Au sein du FXIa, la séquence et la conformation des résidus N-terminaux et C-terminaux du domaine A3 forment un exosite de liaison pour la boucle K du FIX [90]. Cette boucle est formée par les résidus 4 à 11 au sein du domaine Gla du FIX.

Une fois le FIX fixé au domaine A3 du FXIa, le domaine catalytique du FXIa peut alors cliver dans un premier temps le FIX en FIXa qui va alors se détacher pour revenir se fixer au domaine A3 entraînant ainsi le second clivage générant le FIXa $\beta$  final [91].

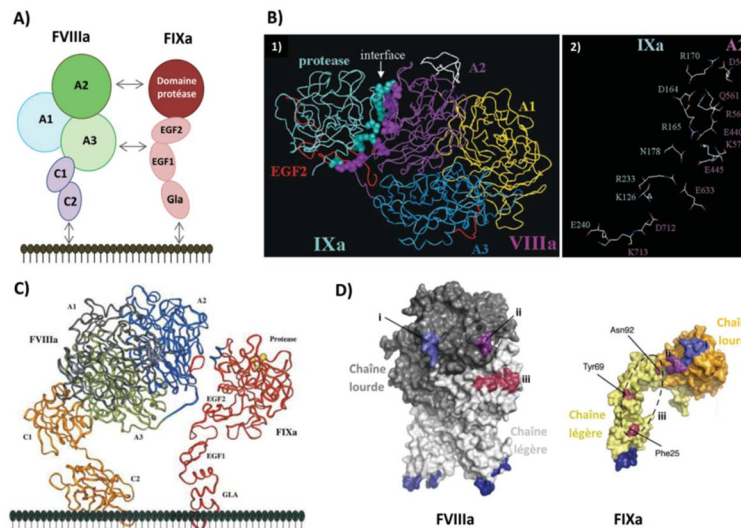
### 2.3. Formation du complexe tenase intrinsèque

Les activations du FIX en FIXa et du FVIII en FVIIIa permettent des modifications de conformation des protéines qui sont primordiales pour leur rôle dans la suite de la coagulation. Les modifications au sein du FIXa vont lui permettre dans un premier temps de se lier à son cofacteur, le FVIIIa, qui améliore la vitesse catalytique du FIXa lors de l'activation du FX dans un second temps.

La majorité de ces modifications conformationnelles du FIXa et du FVIIIa permettent une orientation optimale des protéines avec l'exposition en surface des différents sites de liaison. La description progressive des nombreux sites du FIXa et du FVIIIa impliqués dans cette interaction a été réalisée grâce à un ensemble d'études complémentaires. Des études de modélisations proposant des modèles de structure tertiaire [92,93], l'analyse des mutations lors d'hémophilies A et B, l'introduction de mutations par mutagenèse [94,95] ou enfin des expériences d'inhibition par des peptides synthétiques [96] ont permis de décrire avec précision les sites d'interaction du FIXa et du FVIIIa au cours de ces trois dernières décennies. Ces études définissent les domaines A2, A3 et C2 du FVIIIa comme étant impliqués dans la fixation à divers sites du FIXa. Le FVIII, lorsqu'il est activé par la thrombine, perd son domaine B et présente une chaîne légère composée des domaines C1 et C2 et une chaîne lourde formée des domaines A1, A2 et A3. La structure primaire du FVIIIa est présentée dans la Figure 15. L'évolution de la description des interactions au sein du complexe au cours de ces dernières années est présentée dans la Figure 16.



**Figure 15 :** Structure du FVIIIa après clivage par la thrombine et résidus impliqués dans la formation du complexe tenase intrinsèque. Les domaines A1 et A2 sont reliés par des interactions électrostatiques tandis que les domaines A1 et A3 maintiennent les chaînes lourdes et légères ensemble grâce à une liaison faisant intervenir un ion  $\text{Cu}^{2+}$ .



**Figure 16 :** Evolution de la représentation des interactions FIXa/FVIIIa.

A: Représentation des interactions FIXa/FVIIIa d'après Mertens et al., 1999 [142].

B : Modèle de l'interface entre le domaine protéase du FIXa et le domaine A2 du FVIIIa, d'après Bajaj et al., 2001 [136], B1 : Représentation schématique en rubans du modèle de l'interface ; B2 : interface détaillée avec les résidus impliqués ; le système de numérotation de la chymotrypsine a été utilisé pour le FIXa, les résidus correspondant sont les suivants : R338(c170), D332(c164), R333(c165), N346(c178), R403(c233), K293(c126) et E410(c240).

C : Représentation du FIXa et du FVIIIa, d'après Fay, 2004 [20]. Le FVIIIa et le FIXa sont représentés en format rubans comme associés aux phospholipides.

D : Modèle de l'interface d'après Ngo et al., 2008 [137].

La formation du complexe *tenase* intrinsèque inclut la fixation du FIXa au FVIIIa sur une surface membranaire riche en phosphatidylsérines chargées négativement et en présence d'ions  $\text{Ca}^{2+}$ . Les interactions des protéines avec les phospholipides permettent de regrouper les protéines de la coagulation augmentant ainsi leur chance d'interagir entre elles. Les résidus 3 à 11 du domaine Gla du FIXa lient les phospholipides membranaires de façon non covalente [97] tandis que le domaine C2 du FVIIIa réalise la même liaison mais avec une plus grande affinité [98,99].

Avant de considérer la liaison FIXa/FVIIIa proprement dite, il est important de noter que certaines interactions au sein de chaque protéine sont nécessaires à l'assemblage du complexe. Ainsi, il a été démontré, par la création de mutants, que la liaison du domaine EGF-2 et du domaine catalytique via des ponts hydrogène entre les résidus Asp92/Tyr295 et Phe98/Phe299 était non seulement indispensable à l'activité enzymatique mais aussi à l'assemblage du complexe [95]. De plus, le pont  $\text{Na}^+$  entre les résidus Arg94 et Glu78 au sein du domaine EGF-1 participe au maintien de la structure du FIXa et a été décrit comme critique pour la liaison au FVIIIa [100]. Au sein de la structure tertiaire, ce pont  $\text{Na}^+$  est lui-même soutenu par le *linker* E84-T87 situé entre les domaines EGF-1 et EGF-2 [94]

L'interaction FIXa/FVIIIa la plus proche de la surface phospholipidique fait intervenir le domaine Gla du FIXa et le domaine C2 du FVIIIa, les sites de liaison concernés étant respectivement les résidus Val46 et Phe25 d'une part [101] et la séquence 2228-2240 d'autre part [102]. Chacun des sites est connu pour être impliqué dans l'interaction entre les protéines mais aucune étude ne montre directement une liaison entre les résidus. Cependant, l'implication de ces deux domaines dans la fixation aux phospholipides leur conférant une proximité spatiale permet d'émettre une hypothèse solide quant à leur interaction. Le rôle principal impliqué ici n'est pas tant la fixation des protéines entre elles mais surtout une propagation générale de la coagulation accompagnée de l'expansion physiologique du caillot [103].

Légèrement plus éloignées de la membrane phospholipidique, les interactions entre les domaines EGF-1/EGF-2 et le domaine A3 jouent un rôle principal dans la fixation FIXa/FVIIIa. C'est la liaison qui présente la plus forte affinité dans la formation du complexe, et les interactions impliquées y sont complexes. Le *linker* E84-T87 des domaines EGF-1 et EGF-2 y joue un rôle direct de par la fixation au domaine A3 mais aussi un rôle indirect en maintenant la structure et l'orientation des domaines Gla et EGF-1 [94]. Une étude utilisant une méthode de criblage des mutations dans la première boucle du domaine EGF-2 (résidus 89 à 94) a permis d'identifier le rôle majeur du résidu Asn89 qui interagit directement avec le domaine A3 par la formation de ponts hydrogène [104]. L'étude des différentes mutations a souligné le rôle important de résidus proches dans le soutien sous-jacent du résidu Asn89. Parmi ces résidus, on trouve Asn92 qui forme des ponts hydrogènes avec Glu97 (en plus de son interaction avec Tyr295 du domaine catalytique), le résidu Gly93 et le résidu Val107. Ce dernier résidu est compris dans la boucle 102-108 impliquée dans la liaison au FX, le résidu Val107 se distingue de par sa position proximale à la zone hydrophobe entre les domaines EGF-1 et EGF-2 et en renforçant le soutien de cette structure. Des mutations au niveau des résidus Asn92, Gly93 et Glu97 ont été décrites chez 47 patients hémophiles B avec une grande proportion d'hémophiles B sévères, montrant ainsi l'importance de ces trois résidus. Enfin, les résidus du domaine A3 connus pour être impliqués dans cette liaison font partie de la séquence 1811-1818 du FVIIIa et sont responsables de la forte affinité [96].

Enfin, la liaison entre le domaine protéasique du FIXa et le domaine A2 du FVIIIa est la plus distante des phospholipides. C'est également celle qui présente le moins d'affinité mais elle n'en demeure pas moins importante. En effet, cette liaison permet de moduler le site actif du domaine catalytique du FIXa, c'est elle qui définit vraiment l'activité de cofacteur du FVIIIa [105]

La complexité et la variabilité de toutes ces interactions font qu'il n'existe pas actuellement de modèle d'interface qui soit absolument complet même si de très nets

progrès ont été faits, comme l'attestent les modèles présentés dans la [Figure 16](#). De nouveaux sites de fixation sur le FIXa ou sur le FVIIIa pourraient encore être découverts et un des intérêts se porte maintenant sur les forces électrostatiques entre les résidus dans les régions adjacentes à l'interface FIXa/FVIIIa et qui pourraient y jouer un rôle important [92].

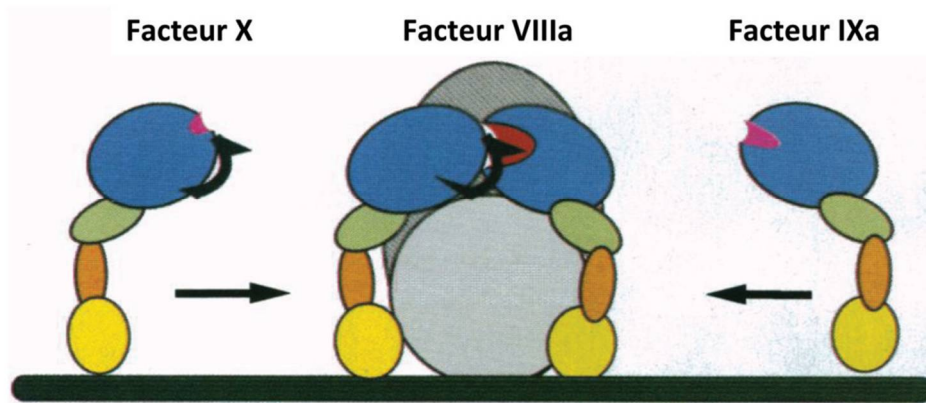
#### 2.4. Activation du FX

Même si le FIXa est capable d'activer le FX sans être complexé au FVIIIa, la formation du complexe *tenase intrinsèque* permet d'accélérer très significativement la vitesse catalytique de l'enzyme FIXa pour son substrat FX..

Le FVIIIa possède un site de réception qui lui permet de présenter le FX au FIXa sur la membrane des plaquettes activées [106]. Cette interaction fait intervenir le domaine catalytique du FX et le domaine A1 du FVIIIa au niveau des résidus 349–372 [107]. Une étude plus récente montre qu'il existe également un site de fixation au FX dans la région 2007–2016 du domaine A3 du FVIIIa [108]. Les résidus Thr2012 et Phe2014 y sont décrits comme participants à la liaison au FX.

Une étude a décrit une activation physiologique en deux temps du FIXa lors de la formation du complexe *tenase* intrinsèque [109]. En effet, avant la liaison du FIXa au FVIIIa et au FX, la boucle dite *loop-99* du FIXa (comprenant les résidus Tyr259 à Tyr266) se trouve dans une conformation inadéquate pour une interaction avec le substrat FX. Cette boucle est stabilisée par un pont hydrogène entre le groupement carboxyle du résidu Lys265 et le groupement hydroxyle du résidu Tyr259. De plus, le résidu Tyr345 stabilise et bloque la *loop-99* dans sa conformation inactive par une interaction entre Asn264 et Asn267. Lorsque le FVIIIa se lie à la région 333–339 du FIXa qui est proche du Tyr345, il y aurait libération de la boucle maintenue inactive par ce résidu. Le FX serait alors ensuite capable de réarranger la boucle afin de se lier au site actif du FIXa.

Une fois le FX fixé au sein du complexe *tenase* intrinsèque, le FIXa peut alors cliver le FX entre les résidus Arg194 et Ile195 [110].

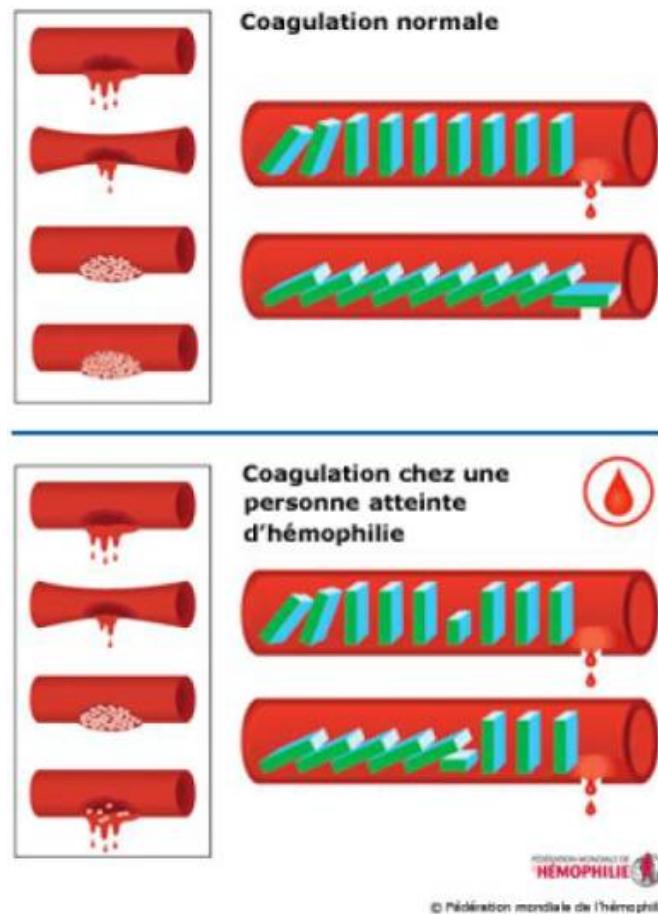


**Figure 17** : Représentation schématique de la formation du complexe tenase intrinsèque, d'après Brandstetter et al., 1995 [110].

***Physiopathologie  
de l'hémophilie A et B***

Chez les patients hémophiles, l'hémostase primaire se déroule normalement tout comme la production de FXa et l'obtention d'une faible quantité de thrombine lors de la phase d'initiation de la coagulation. Toutefois, le déficit congénital en FVIII ou FIX induit une absence du pic de thrombine à la suite du fait que l'activation du FXa à la surface des plaquettes activées, par le complexe FIXa-FVIIIa est abolie.

Les traces de thrombine générée par le complexe FT-FVIIa sont insuffisantes pour permettre une transformation de fibrinogène en fibrine suffisante en périphérie du thrombus et par conséquent le clou plaquettaire demeure instable, et l'hémorragie se poursuit provoquant un saignement prolongé.



**Figure 18 :** La coagulation chez l'hémophile.

# *Mécanismes génétiques de l'hémophilie*

L'hémophilie est une maladie hémorragique génétique récessive et lié à l'X qui toucherait environ 500 000 personnes à travers le monde. Elle est caractérisée par un déficit total ou partiel en FVIII de la coagulation pour l'hémophilie A et en FIX pour l'hémophilie B. L'absence ou le dysfonctionnement de l'un de ces facteurs empêche la formation du complexe tenase intrinsèque, indispensable dans le processus de coagulation. Avec 6200 patients hémophiles A et B en France [51], l'hémophilie A est six fois plus fréquente que l'hémophilie B.

## I. Hémophilie A

Le développement des techniques de biologie moléculaire au cours des années 1990 et 2000 telles que la PCR, les techniques de screening de mutations ou encore les techniques de séquençage et leurs automatisations, ont permis l'analyse des gènes *F8* et *F9* en routine dans les laboratoires de nombreux pays.

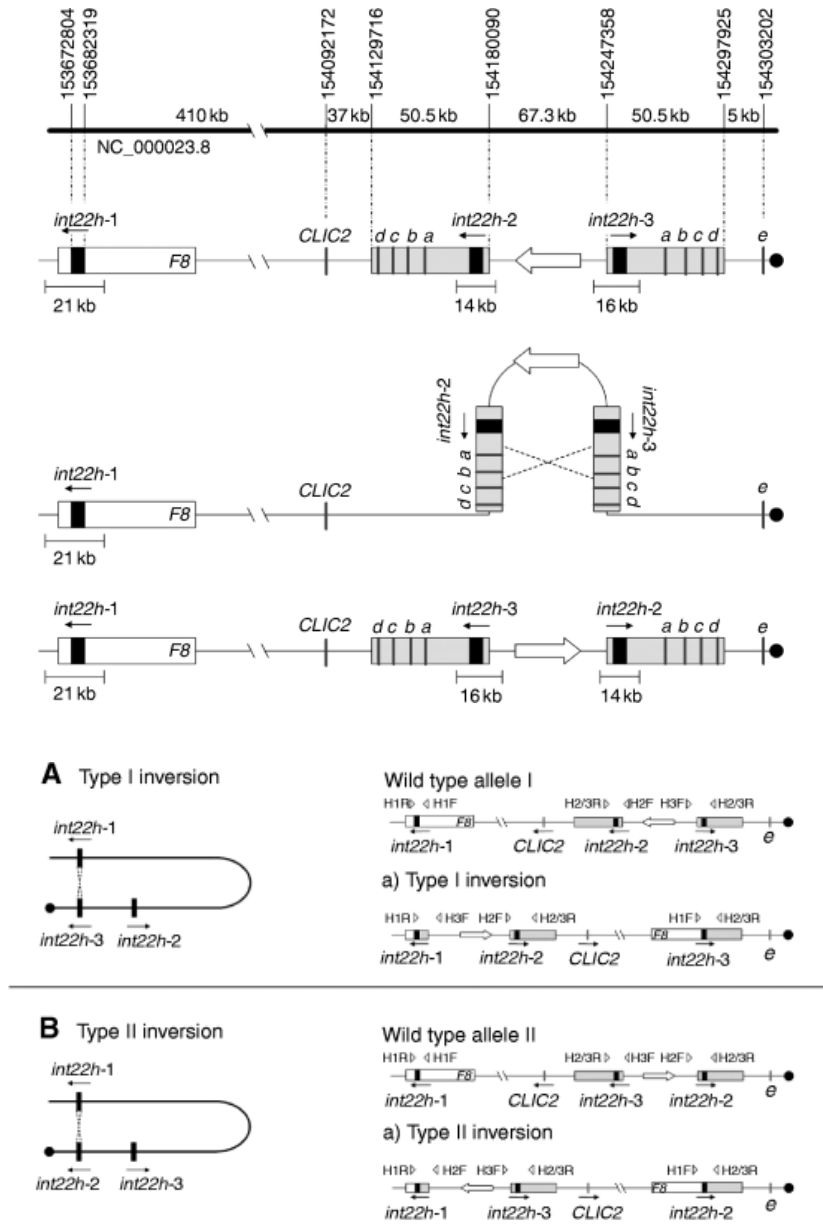
L'identification des mutations responsables d'hémophilie A a très rapidement conduit à un besoin de recensement de ces dernières. Ainsi, les variations du gène *F8* sont répertoriées à la fois dans la base de données des mutations du génome humain, HGMD (Human Gene Mutation Disease) [112] et dans une base de données spécialisées, anciennement connue sous le nom de HADB (Hemophilia A DataBase) et devenue en 2015, factor VIII variant database [113]. En 2015, plus de 2000 mutations sont actuellement référencées dans la base de données précédemment citée.

### 1. Inversion de l'intron 22

L'inversion de l'intron 22 a été décrite en 1993 [114]. Cette inversion est la cause moléculaire de 45% environ des cas d'hémophilie A sévère [115].

Le mécanisme à l'origine de cette inversion est une recombinaison homologue (Figure 13) lors de la méiose entre deux séquences d'ADN répétées : un segment de l'intron 22 (*int22h-1*) de 9,5 kb et deux séquences homologues plus télomériques, situées 400 à 500 kb, *int22h-2* et *int22h-3* [116].

Après alignement, la recombinaison induit la juxtaposition de la portion 5' du gène vers l'ADN télomérique. La conséquence de cette recombinaison est l'obtention d'un gène *F8* interrompu et une inversion de la séquence comprise entre *int22h-1* et *int22h-2* ou *int22h-3*. Ainsi, le phénomène d'inversion de l'intron 22 est toujours associé avec un phénotype d'hémophilie A sévère [44].



**Figure 19 : Mécanismes de l'inversion de l'intron 22.**

D'après Bagnall et al. 2006 [117]

En haut : mécanisme à l'origine de l'inversion des séquences *int22h-2* et *int22h3*

En bas, A : inversion de type 1 : recombinaison entre *int22h-1* et *int22h-3*

En bas, B : inversion de type 2 : recombinaison entre *int22h-1* et *int22h-2*

## 2. Inversion de l'intron 1

La deuxième mutation la plus fréquente chez les hémophiles A sévères est l'inversion de l'intron 1, elle est retrouvée chez environ 3 à 5% des cas [116].

Là aussi, le mécanisme à la base de ce réarrangement est une recombinaison homologue pendant la méiose entre la séquence *int1h-1* et sa séquence répétée homologue *int1h-2* située à 140 kb environ de façon plus télomérique.

## 3. Délétions et insertions de grande taille

Des délétions de grande taille (> 50 nucléotides) concernent environ 5% des patients hémophiles A. Sur la base de données, en 2015, il a été recensé 116 grandes délétions différentes. La très grande majorité de ces mutations conduit à des cas d'hémophilies sévères, seuls quelques cas d'hémophilies modérées voire mineures ont été décrits [113].

Il a été mis en évidence seulement 2 types d'insertion de grande taille et correspondant à des rétrotransposons d'origine non-virale. Ce sont des séquences LINE (*Long Intersped Nuclear Elements*) de 2,1 et 3,8 kb insérées dans l'exon 14 conduisant à des phénotypes sévères [113,118].

## 4. Délétions et insertions de petite taille

Généralement, les délétions et insertions de petite taille responsables d'un décalage du cadre de lecture sont à l'origine d'une hémophilie A sévère.

Il a été décrit, selon la base de données, plus de 350 délétions de petite taille dont près de 200 sont responsables d'un phénotype sévère. Parmi les délétions responsables d'hémophilie sévère, 45% environ sont situées dans l'exon 14.

De la même façon, il a été répertorié près de 80 insertions de petite taille, dont la taille est comprise entre 1 et 41 pb, associées à des cas d'hémophilie sévère. De plus, près de 50% de ces mutations sont situées dans l'exon 14.

L'exon 14 est donc un point sensible pour les délétions et insertions de petite taille puisqu'il contient des séquences répétées de A (appelées « A-runs » ou « homopolymères»). Ainsi, l'insertion ou la délétion d'un nucléotide parmi ces répétitions provoque un décalage du cadre de lecture avec l'apparition d'un codon stop et donc un phénotype sévère.

## 5. Mutations ponctuelles

Les mutations ponctuelles sont très fréquentes et sont responsables de près de la moitié des cas d'hémophilie A sévères et de 95% des cas d'hémophilie modérées ou mineures.

On distingue 3 types de mutations ponctuelles :

- les mutations faux-sens : la mutation induit le changement d'un acide aminé par un autre
- les mutations non-sens : la mutation induit la création d'un codon stop
- les mutations d'épissage : la mutation touche un des sites consensus d'épissage de l'ARN message et induit sa création ou son annulation

### 5.1. Mutations faux-sens

Dans la plupart des cas, elles sont responsables d'une hémophilie A non sévère. Le phénotype modéré ou mineur sera fortement dépendant de l'acide aminé muté, plus particulièrement de sa nature et de sa localisation.

Les substitutions semi-conservatrices, c'est-à-dire lorsque l'acide aminé muté est similaire à l'acide aminé sauvage avec respect de la charge, de polarité, de l'encombrement et du caractère hydrophobe, sont plutôt associées à un phénotype mineur ou modéré sauf si elles surviennent dans des régions clés pour la structure ou la fonction du FVIII.

A l'inverse, les substitutions non-conservatrices d'acide aminé sont plutôt associées à des hémophiles modérées ou sévères, quelle que soit la localisation du dit acide aminé [44].

### 5.2. Mutations non-sens

La conséquence attendue d'une mutation non-sens est une protéine tronquée, du fait de l'apparition précoce d'un codon stop. Il peut aussi exister des cas de sauts d'exons fortement pathogènes [119]. Généralement, les mutations non-sens sont associées à un phénotype sévère de la maladie [44].

### 5.3. Mutations des sites consensus d'épissage de l'ARN messenger

Les mutations annulant ou créant un site consensus d'épissage sont associées à une très forte variabilité dans le phénotype de la maladie. Ce dernier dépend principalement du fait que la transcription puisse s'effectuer correctement et donc donner une proportion plus ou moins importante d'ARN messenger normal. Dans ce cas là, on retrouvera un phénotype mineur à modéré. Cependant, dans certains cas, la transcription ne peut s'effectuer normalement et aucun ARN messenger normal ne peut être obtenu. On obtient alors un phénotype sévère.

Enfin, ces mutations d'épissage peuvent aussi conduire à un saut d'un ou de plusieurs exons. Les conséquences d'une telle mutation résideront principalement dans le fait que ce saut respectera ou non le cadre de lecture [44,120].

Type de mutations	Patients hémophiles A (n = 845)	
	n =	%
<b>Inversion de l'intron 22</b>	302	35,7
<b>Type 1</b>	260	30,7
<b>Type 2</b>	37	4,4
<b>Autres</b>	5	0,6
<b>Inversion de l'intron 1</b>	8	1,0
<b>Mutations ponctuelles</b>	402	47,5
<b>Faux-sens</b>	323	38,2
<b>Non-sens</b>	79	9,3
<b>Délétions ou insertions de petite taille</b>	86	10,2
<b>Petites délétions</b>	63	7,5
<b>Petites insertions</b>	22	2,6
<b>Combinaisons</b>	1	0,1
<b>Larges délétions</b>	25	3,0
<b>Mutations de sites consensus d'épissage</b>	22	2,6

**Tableau 3 :** Types de mutations retrouvées dans une cohorte de 845 familles d'hémophiles A.

D'après Graw et al. 2005 [121]

## II. Hémophilie B

De la même façon que pour l'hémophilie A, l'analyse en routine du gène *F9* a conduit à l'identification des mutations responsables de la pathologie. Ainsi, les variations du gène *F9* sont elles aussi répertoriées dans des bases de données spécialisées, tel que factor IX variant database ou factorix.org [122].

En 2015, plus de 1090 variants ont été référencés dans cette base de données.

### 1. Types de mutations retrouvés

Les différents types de mutations retrouvés sont proches de ceux décrits pour l'hémophilie A.

En 2013, une étude canadienne (tableau 4 ) a regroupé 390 individus : 267 hommes hémophiles et 123 femmes conductrices qui ont été génotypés afin de connaître la prévalence de chacun des types de mutations [123].

Type de mutations	Familles d'hémophiles B (n = 267)	
	n =	%
<b>Mutations ponctuelles</b>	198	74,2
<b>Faux-sens</b>	174	65,2
<b>Non-sens</b>	24	9,0
<b>Délétions ou insertions de petite taille</b>	15	5,6
<b>Larges délétions</b>	4	1,5
<b>Mutations de sites consensus d'épissage</b>	17	6,4
<b>&gt; 2 mutations</b>	2	0,7
<b>Hémophilie B Leyden</b>	13	4,9
<b>Pas de mutations identifiées</b>	18	6,7

**Tableau 4 :** Types de mutations retrouvées dans une cohorte de 267 familles d'hémophiles B dont 39% sont sévères. D'après Natalia et al. 2013 [123]

## 2. Le cas particulier de l'hémophilie B Leyden

L'hémophilie B Leyden désigne des cas rares d'hémophilie B décrits pour la première fois dans les années 1970. La description biologique et clinique de l'époque soulignait 2 faits principaux [124] :

- une activité du facteur IX conservée, associée à une diminution de la quantité de protéine. Ceci est donc corrélé à l'absence de mutations dans les régions codantes
- une croissance de la concentration plasmatique du facteur IX avec l'âge. La concentration est très faible voire nulle chez le jeune garçon et croît, en moyenne, de 4 à 5% par an à la puberté, probablement sous l'influence des androgènes tels que la testostérone, pour finalement se stabiliser à un taux de 30 à 70% selon les individus à l'âge adulte. Parallèlement, les signes classiques d'hémophilie disparaissent chez l'adulte.

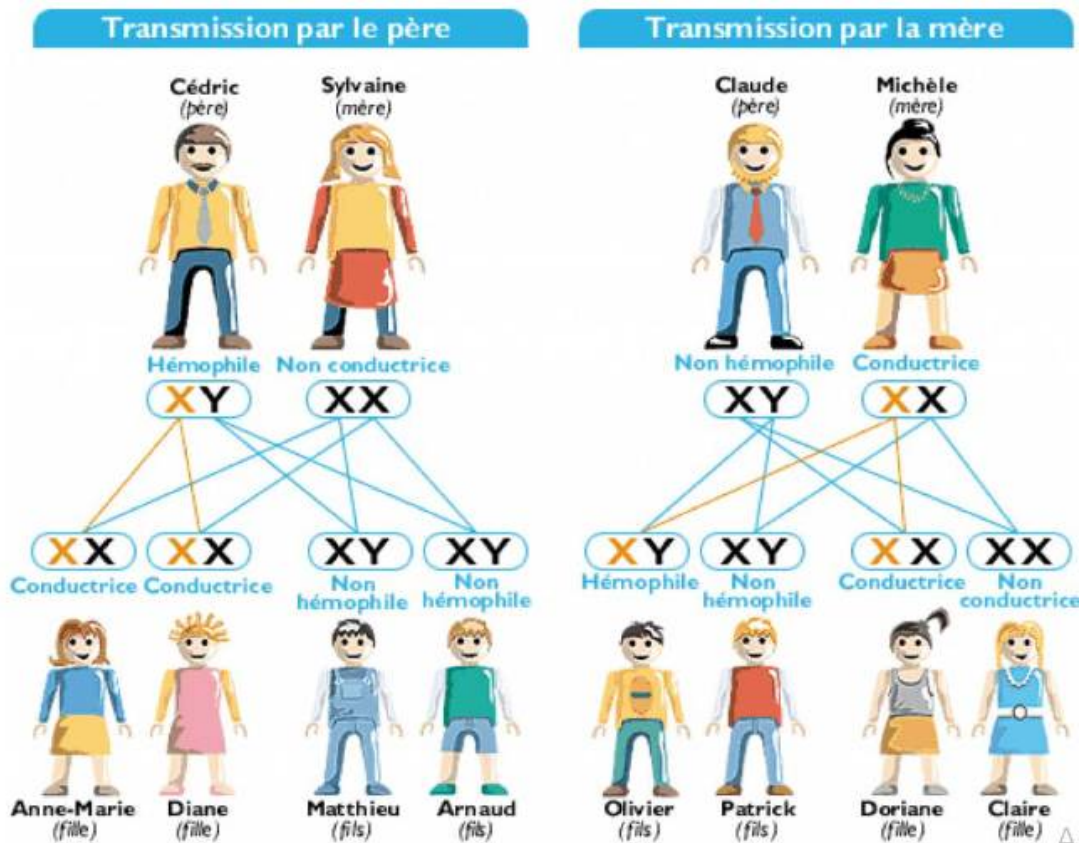
Ainsi, dès 1985, il est admis que, dans l'hémophilie B Leyden, une mutation du gène *F9* affecte la régulation de son expression et non ses régions codantes.

La cinétique d'évolution de la concentration de facteur IX dans le plasma des patients est expliquée par l'abolition d'un site de liaison d'un facteur de transcription hépatique HNF4 (Hepatocyte Nuclear Factor) mais le respect d'un site de liaison aux androgènes (ARE pour Androgene Response Element). Ainsi, la puberté et donc l'augmentation de la sécrétion d'androgènes testiculaires tels que la testostérone, induit de nouveau la transcription du gène *F9* et donc la production de facteur IX mature et fonctionnel.

## III. Mode de transmission de l'hémophilie

L'hémophilie est une maladie récessive liée à l'X, avec une probabilité de transmission du gène muté de 50%. Un garçon né d'une mère conductrice aura ainsi une chance sur deux d'être atteint de la maladie. Concernant les filles, il existe deux cas différents en fonction du parent porteur de la mutation. Une fille née d'un père hémophile sera forcément conductrice de l'hémophilie, mais en héritant tout de même du chromosome X normal de la mère, sa

production de FVIII sera assurée la majorité du temps. En revanche, une fille née d'une mère conductrice aura 50% de chance d'être conductrice à son tour. On distingue ainsi les filles conductrices obligatoires (fille née d'un père hémophile) des filles conductrices possibles (fille née d'une mère conductrice) par généalogie. Distinction importante pour le diagnostic du statut de porteuse de la maladie, établi notamment pour les couples désireux d'enfants lors d'antécédents familiaux d'hémophilie [125].



**Figure 20 :** Transmission de l'hémophilie [126]

Pourtant, la notion d'hérédité n'est pas retrouvée chez tous les hémophiles. Dans environ 1/3 des cas, il s'agit d'une mutation spontanée du gène au niveau d'un chromosome X. cette néo-mutation peut avoir lieu dans l'ovule de la mère ou le spermatozoïdes du père, ou plus tard chez le fœtus lui-même. Cependant, cette mutation, bien que spontanée, va se transmettre de façon héréditaire à la descendance du patient.

***Les pratiques biologiques  
pour l'exploration  
des FVIII et FIX***

## **I. Intérêt du dosage**

Le dosage des facteurs VIII ou IX intervient pour

- Poser le diagnostic d'hémophilie et en déterminer le degré de sévérité.
- doser le taux du facteur après injection afin de vérifier que le pic de concentration est atteint, lors d'une chirurgie ou lors de la prise en charge d'un accident hémorragique
- déterminer les taux résiduels lors d'une prophylaxie.

## **II. Qualité du prélèvement**

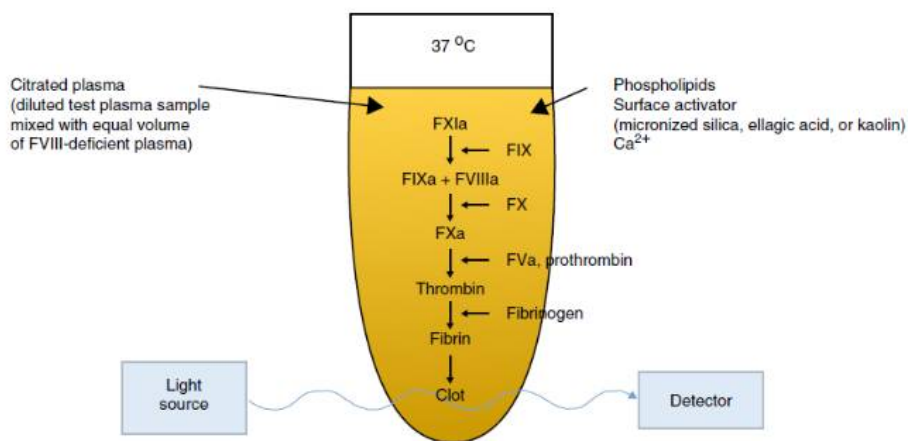
Certaines conditions sont indispensables pour un dosage interprétable. Le biologiste est responsable du respect des paramètres pré-analytiques. Un bon prélèvement en hémostase doit être effectué sur un tube citraté (0,109M), transporté à température ambiante (entre 15 et 25°C) et analysé dans un délai de quatre heures. La centrifugation est réalisée à température ambiante entre 2000g et 2500g. A l'issue d'une double centrifugation le plasma peut être congelé quinze jours à -20°C ou 18 mois à -80°C. La décongélation doit être rapide dans un bain-marie à 37°.

## **III. Méthodes de dosage**

### **A. Méthode chromométrique (OSA)**

Cette technique, développée dans les années 1950 est la plus répandue. Elle est basée sur le TCA. Cette méthode simple est la plus fréquemment utilisée. Son principe est basé sur la correction d'un plasma déficient en facteur VIII ou IX par le plasma du patient à tester. La correction de l'allongement du TCA est ainsi proportionnelle au facteur d'intérêt qui est apporté uniquement par le plasma du patient. Le résultat est exprimé en pourcentage à partir d'une droite d'étalonnage obtenue lors de l'étape de calibration grâce aux dilutions successives d'un plasma standard dont la concentration en facteur est connue et servant de calibrateur. Cette méthode est effectuée en un temps, et repose sur le principe du TCA : les résultats sont donc influencés par la présence d'héparine, ainsi que d'un anticoagulant circulant de type lupique.

Il existe une grande variété de réactifs et d'automates disponibles pour réaliser le dosage des facteurs selon la méthode OSA ce qui peut influencer de manière significative les résultats obtenus. Les sources de variabilité liées à cette technique sont: l'activateur de la phase contact de type particulaire ou soluble (kaolin, silice micronisée ou colloïdale, acide ellagique), la concentration et la nature en phospholipides (synthétique, animale ou végétale), le diluant pour les échantillons (tampon ou plasma d'hémophile sévère) et le déficient (selon son origine plasmatique ou lyophilisée et le fait qu'il contienne ou non du facteur Willebrand. Le choix des réactifs est donc primordial. Le plasma déficient, le plus souvent immunodéplété par des anticorps monoclonaux ou polyclonaux, doit être dépourvu du facteur à doser (FVIII ou FIX strictement inférieur à 1%) mais contenir l'ensemble des autres facteurs en excès. Le taux en facteur Willebrand contenu dans le plasma déficient en FVIII n'est également pas anodin car s'il est en quantité insuffisante cela va affecter les résultats obtenus (Barrowcliffe publié en 1993). Pour le TCA, la variabilité de phospholipides commercialisés ne facilite pas la tâche du biologiste quant au choix du réactif qu'il va utiliser. D'autant plus que peu d'études comparatives sont disponibles et que des discordances ont déjà été rapportées. La discordance est définie par certains auteurs comme une différence de taux supérieure ou inférieure à 30% par rapport à la valeur attendue [127] alors que d'autres retiennent un ratio OSA/CSA inférieur à 0,6–0,7 ou supérieur à 1,5 [128]



**Figure 21 :** Principe de la méthode chromométrique OSA

## B. Méthode chromogénique (CSA)

Cette méthode est effectuée en deux temps :

- Incubation des réactifs, permettant la formation du complexe tenase et la génération de FXa proportionnelle à la quantité de la molécule d'intérêt, à savoir le FVIII ou le FIX contenu dans l'échantillon FVIII ou de FIX du patient
- Ajout d'un inhibiteur de thrombine, afin de stopper la réaction, ainsi qu'un substrat chromogène du FXa permettant la libération de para-nitroaniline : la coloration du milieu réactionnel est alors proportionnelle au taux de FVIII ou de FIX , et est mesurée à 405nm.

Pour le dosage du FVIII, la méthode est représentée de manière simplifiée par la figure suivante. La thrombine (FIIa) va activer le FVIII en FVIIIa qui va à son tour activer le FX présent en excès en FXa en présence de FIXa lui aussi en excès, de phospholipides et de calcium. Le FVIII à doser est donc bien le facteur limitant dont dépendra la génération de FXa.

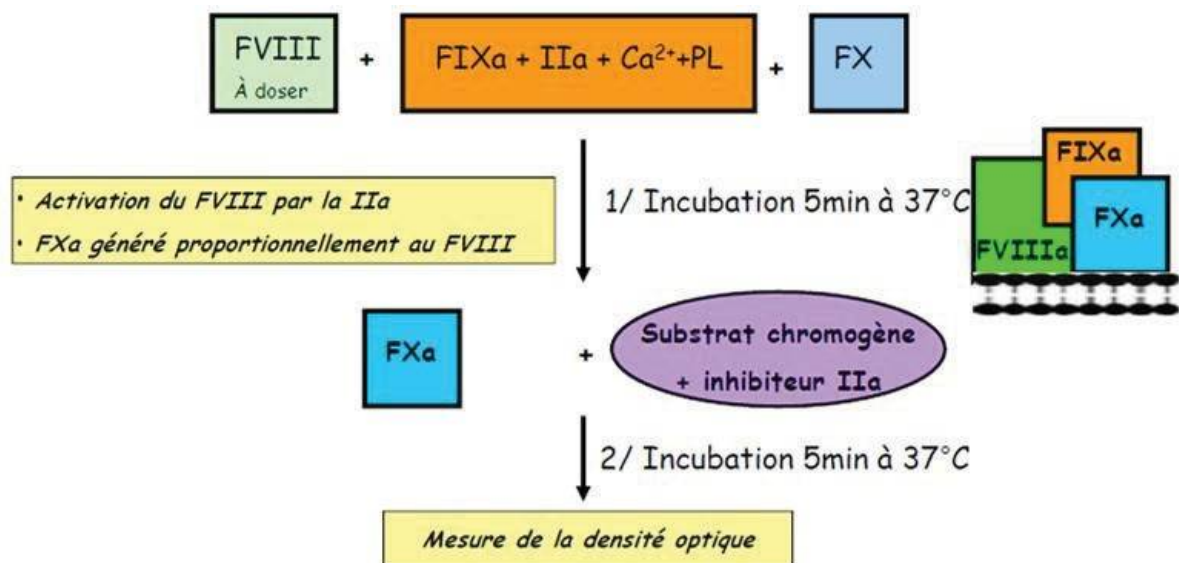
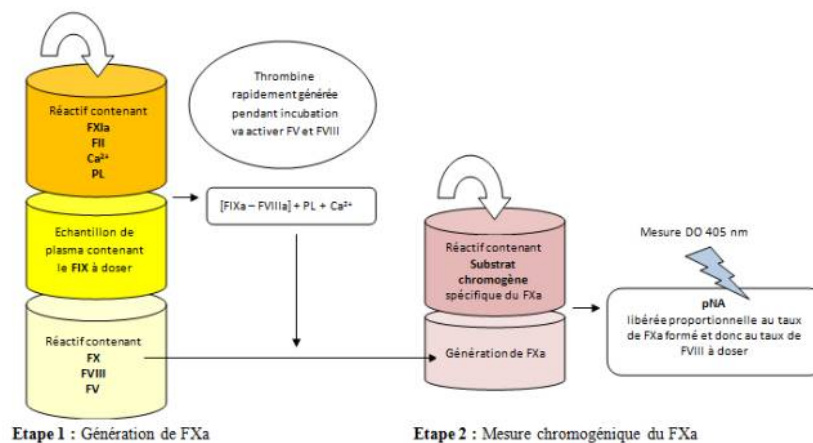


Figure 22 : Principe du dosage chromogénique du FVIII

Il existe différents kits commercialisés pour la détection chromogénique du facteur VIII:

- ❖ Réactifs d'origine humaine :
  - Biophen FVIII:C<sup>®</sup> (Hyphen BioMed) : anciennement utilisé en activité de routine au Centre de Biologie Est du CHU de Lyon
- ❖ Réactifs d'origine bovine :
  - Coamatic<sup>®</sup> (Chromogenix) : actuellement utilisé à Lyon
  - Coatest<sup>®</sup> (Chromogenix)
  - Factor VIII chromogenic<sup>®</sup> (Siemens)
  - Electrachrome FVIII<sup>®</sup> (Werfen)
  - Trinichrom FVIII<sup>®</sup> (Stago)
- ❖ Réactifs d'origine mixte (humaine/bovine) :
  - Technochrom FVIII:C<sup>®</sup> (Technoclone)

Pour le dosage du FIX(Figure 23), le facteur XIa humain va activer le FIX en FIXa. Ce FIXa va à son tour activer le FX en FXa en présence de FVIII, de phospholipides et de calcium. Le FVIII et le FV sont activés par la thrombine générée pendant l'incubation.

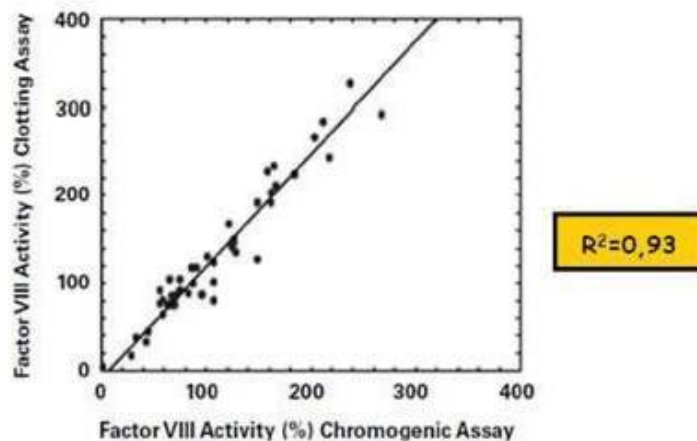


**Figure 23 :** Principe de la méthode CSA pour le dosage du FIX.

Les avantages de la méthode CSA par rapport à la méthode OSA sont qu'elle n'est pas influencée par le plasma déficient, le type de phospholipides utilisés ou la présence d'un éventuel anticoagulant de type lupique. Elle est également meilleure dans les valeurs basses et subit moins de variations analytiques.

### C. Discordances chromogénique/chronométrique

Les dosages chronométriques et chromogéniques présentent une bonne corrélation et sont comparables dans la majorité des cas .



**Figure 24 :** Corrélation entre les activités FVIII mesurées par méthode chronométrique et chromogénique [129]

Cependant il peut exister des discordances :

- ❖ Présence d'héparine
- ❖ Anticoagulant circulant de type lupique
- ❖ Chez environ un tiers des hémophiles A mineures [130] :
  - En raison de mutation dans les domaines A1, A2 ou A3, entraînant une instabilité du FVIIIa par dissociation spontanée : FVIII:C > FVIII:Chr
  - En raison de mutation au niveau des sites de clivage par la thrombine (régions acides) : FVIII:C < FVIII:Chr
- ❖ Traitement par molécules recombinantes (Refacto<sup>®</sup> notamment) et thérapeutiques long-acting.

## 1. Méthode antigénique

Le dosage antigénique du FVIII ou du FIX est réalisé par méthode ELISA (Enzyme-Linked immunosorbent Assay) de type sandwich.

Ce dosage est utilisé en particulier pour différencier les hémophiles A en deux catégories :

-CRM<sup>-</sup> (Cross-reacting material negative) : anomalie de repliement, de stabilité ou de sécrétion du FVIII entraînant une baisse parallèle de l'activité et de l'antigène du FVIII

-CRM<sup>+</sup> (Cross-reacting material positive) : dysfonction protéique entraînant une baisse isolée de l'activité du FVIII.

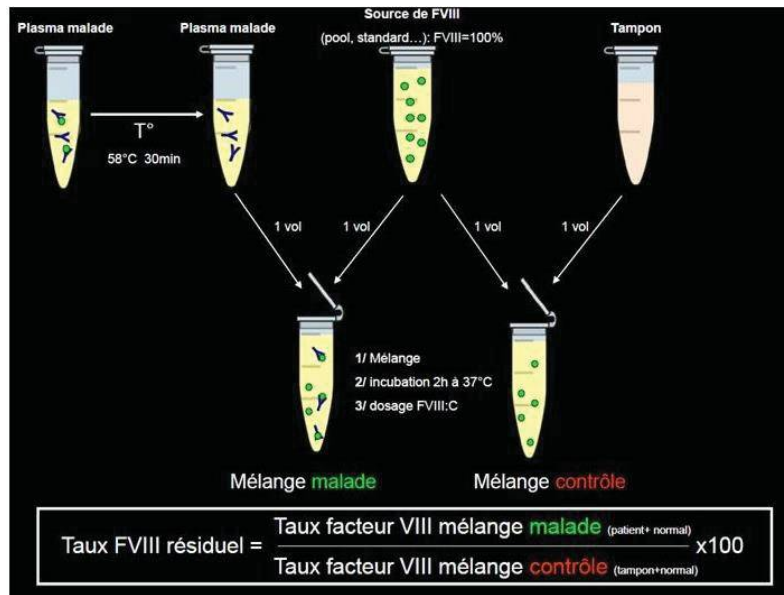
## 2. Recherche et titrage d'inhibiteurs anti-FVIII ou anti-FIX

La recherche d'un inhibiteur anti-FVIII est réalisée par la méthode Bethesda. Cette technique consiste à mélanger volume à volume un plasma patient chauffé au préalable à 58°C pendant 30 minutes d'une part et un tampon d'autre part avec une source de facteur VIII témoin.

Après deux heures d'incubation à 37°C, le facteur VIII dans chacun des mélanges est dosé et le facteur VIII résiduel est déterminé par le rapport des deux valeurs obtenues :

$$\text{VIII résiduel (\%)} = \frac{\text{VIII:C (MELANGE MALADE)} \times 100}{\text{VIII:C (MELANGE TEMOIN)}}$$

La recherche est considérée positive en cas de FVIII résiduel < 66% (seuil de positivité à 0.6 UB/mL). Le titrage de l'inhibiteur s'effectue alors par détermination du FVIII résiduel dans des dilutions successives du plasma à étudier par du tampon imidazole, jusqu'à obtention d'un FVIII résiduel à 50% : le titre en unité Bethesda de l'éventuel inhibiteur est alors défini comme la quantité d'inhibiteur contenu dans 1mL de plasma entraînant la neutralisation de 50% du FVIII dans 1mL de plasma de référence.



**Figure 25 :** Principe de la méthode Bethesda de détection d'un inhibiteur anti-FVIII

Cette méthode peut être utilisée également à la recherche des inhibiteurs anti FIX

### 3. Les tests globaux

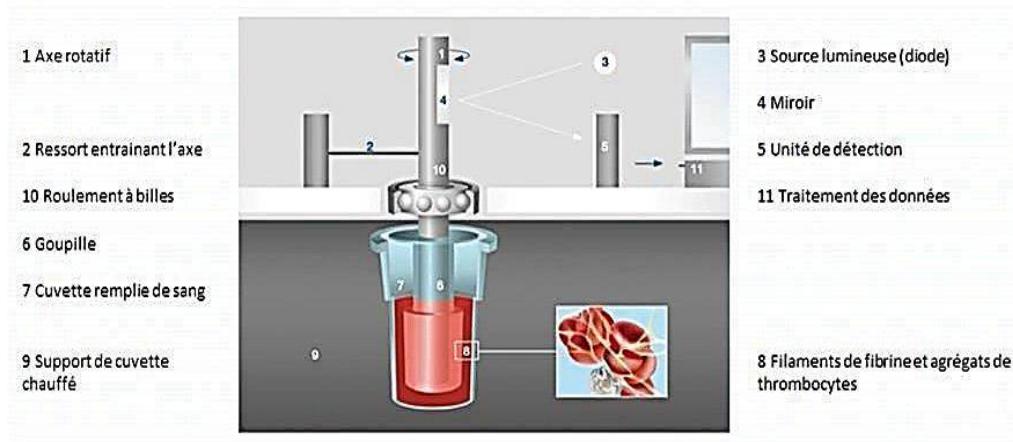
#### 3.1. La thromboélastométrie rotative

La thromboélastométrie rotative est la représentation graphique des modifications viscoélastiques induites par le processus global de fibrinogenèse. Le test est réalisé à partir d'un échantillon de sang veineux citraté, et repose sur une mesure dynamique de la formation et de la lyse du caillot.

##### a- Principe de mesure

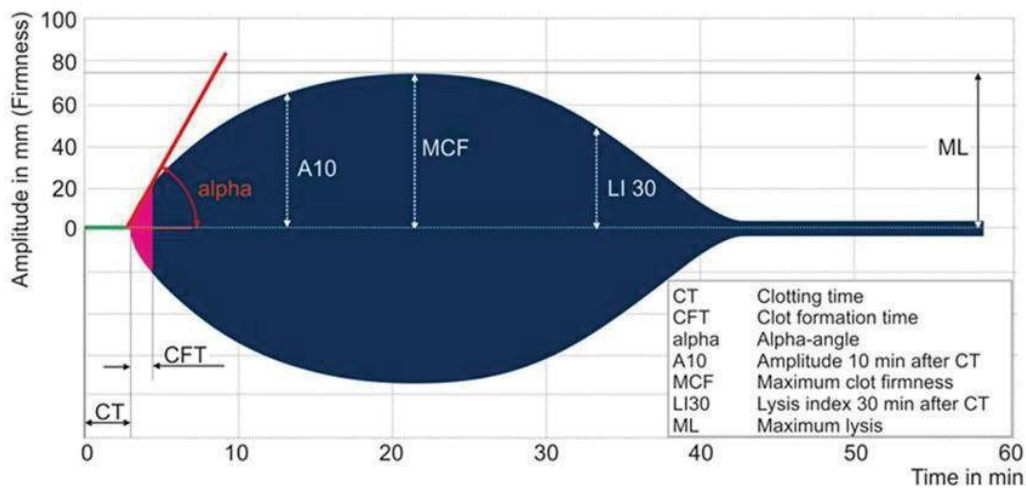
Le ROTEM<sup>®</sup> *delta* est un appareil de mesure dont la miniaturisation permet une utilisation centralisée au laboratoire ou délocalisée dans les services cliniques. L'appareil comporte 4 canaux de mesure dans lesquels sont introduits du sang total veineux citraté, du chlorure de calcium CaCl<sub>2</sub>, ainsi qu'un activateur. L'ajout d'un activateur spécifique permet une meilleure standardisation, une diminution des temps de coagulation ainsi que la réalisation de diagnostics différentiels par exploration de diverses voies de formation du caillot [131,132].

Chaque canal est indépendant et comporte un arbre rotatif qui oscille de façon longitudinale et continue, suivant un angle de  $4,75^\circ$ . Le mouvement est détecté optiquement par un miroir placé sur la partie supérieure de l'axe. Quand le sang commence à coaguler, après adjonction d'un réactif activateur de la coagulation, les filaments de fibrine et les agrégats plaquettaires se fixent à la goupille et à la cuvette en ralentissant l'oscillation de l'axe. Le logiciel du ROTEM<sup>®</sup> convertit l'amplitude de l'oscillation de l'axe en amplitude de fermeté du caillot. Cela permet l'obtention d'un graphe appelé Temogramme.



**Figure 26 :** Principe de fonctionnement de la thromboélastométrie rotative

### b .Le Temogramme



**Figure 27 :** Représentation d'un TEMogramme

Le Temogramme est la représentation graphique de la variation d'amplitude en millimètres (mm) du mouvement de l'axe rotatif, proportionnel à la viscosité du milieu augmentée par la formation du caillot, en fonction du temps. De nombreux paramètres d'interprétation peuvent être déterminés sur le Temogramme :

- Le temps de coagulation (Clotting time (CT)) : exprimé en secondes, il correspond au temps nécessaire pour atteindre une amplitude de 2 mm. Il correspond à la phase d'initiation de la coagulation (apparition des premiers filaments de fibrine et de plaquettes activées)
- Le temps de formation du caillot (Clot Formation Time (CFT)) : exprimé en secondes, il mesure le temps entre la fin du CT et l'obtention d'une amplitude de 20 mm. Il estime la rapidité d'apparition d'un caillot stable via les plaquettes activées et la fibrine.
- A5, A10, A20, A30 : exprimées en mm, ces paramètres correspondent aux valeurs d'amplitudes respectivement 5, 10, 20 et 30 minutes après le CT.
- L'angle alpha (exprimé en degré) est défini comme l'angle formé par la tangente à la courbe de coagulation au point 2 mm et la ligne de base. Cette valeur décrit la cinétique de formation du caillot (information similaire à celle du CFT).
- La fermeté maximale du caillot (Maximal Clot Firmness (MCF)) exprimée en millimètres représente l'amplitude maximale avant dissolution du caillot. Elle mesure la solidité du caillot et dépend du fibrinogène et des plaquettes principalement mais aussi de la fibrinolyse.
- L'index de lyse (Lysis Index (LI30)) exprimé en pourcentage est un index de lyse 30 mn après CT. Il représente le rapport entre la valeur de l'amplitude du caillot mesurée 30 min après CT et celle du MCF (si le MCF est atteint avant 30 min) et décrit la progression de la fibrinolyse.
- La lyse maximale (Maximum Lysis (ML)) mesure la fibrinolyse maximale détectée pendant l'analyse.

### c-Tests disponibles

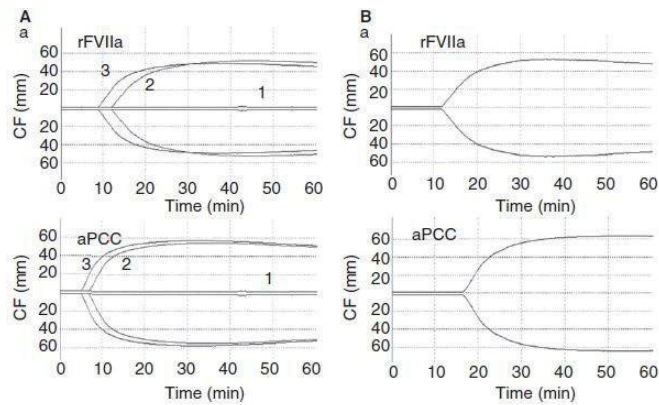
En fonction de la nature de l'activateur ajouté au milieu réactionnel, le ROTEM<sup>®</sup> permet d'explorer différentes voies de formation du caillot :

- EXTEM : ajout de facteur tissulaire recombinant, exploration de la voie extrinsèque
- FIBTEM : ajout de facteur tissulaire recombinant et de cytochalasine D (inhibiteur des plaquettes), exploration du fibrinogène
- INTEM : ajout d'acide ellagique, exploration de la voie intrinsèque
- HEPTEM : ajout d'acide ellagique et d'héparinase, permettant par la correction des temps par comparaison à l'INTEM en présence d'héparine
- APTTEM : ajout de facteur tissulaire et d'aprotinine (antifibrinolytique), permettant la détection des troubles de la fibrinolyse par comparaison avec l'EXTEM.

### d - Le NATEM

Le NATEM (Non-Activated ROTEM) est une utilisation de la thromboélastométrie rotative sans ajout d'activateur spécifique de la coagulation. Le processus de formation du caillot est ainsi initié par le remplacement du citrate présent dans le prélèvement par du CaCl<sub>2</sub>. L'objectif de cette méthode est d'approcher les conditions physiologiques de formation du caillot, et ainsi l'appréciation du processus hémostatique dans sa globalité.

Cette méthode a été étudiée par *Fukurawa et al* en 2015 dans le cadre du suivi de l'état hémostatique des patients atteints d'hémophilie A avec inhibiteurs afin de guider l'administration d'agents by passants [96]. Les résultats ont alors montré un raccourcissement significatif des CT ainsi que des CFT de manière dose-dépendante lors d'administration in vitro de Novoseven<sup>®</sup> ou de Feiba<sup>®</sup>.



**Figure 28 :** Thrombogrammes obtenus lors d'addition de  $\text{CaCl}_2$  à des échantillons de sang total. (A) : la ligne 1 correspond à l'absence de surcharge par un agent bypassant. Les échantillons ont été surchargés par 1,4 et 2,8  $\mu\text{g/mL}$  de Novoseven® (rFVIIa, lignes 2 et 3) et par 0,5 et 1,0 UI/mL de Feiba® (aPCC, lignes 2 et 3). (B) : administration préopératoire de 108  $\mu\text{g/kg}$  de Novoseven®, et 63 UI/kg de Feiba®. [133]

### 3.2. Le test de génération de thrombine (TGT)

Le TGT est un test permettant l'étude globale du processus d'hémostase, par évaluation de la formation de thrombine et donc de l'activité prothrombinase au cours des réactions de coagulation. Il repose sur l'élaboration d'un système se rapprochant le plus possible du processus physiologique. Sa réalisation est possible sur plasma pauvre en plaquettes (PPP) ou plasma riche en plaquettes (PRP).

#### 3.2.1. Principe de mesure

Le TGT utilise une méthode de détection fluorogénique de la thrombine. Développée par Hemker et Béguin, la méthode CAT (Calibrated Automated Thrombin Generation Test) est la plus utilisée [134].

Le test est basé sur deux paramètres dont la somme représente l'activité prothrombinase physiologique : la vitesse de génération de thrombine par le complexe prothrombinique (activation de la prothrombine), et la vitesse d'inactivation de la thrombine générée par les systèmes inhibiteurs physiologiques (antithrombine, alpha 2-macroglobuline,...).

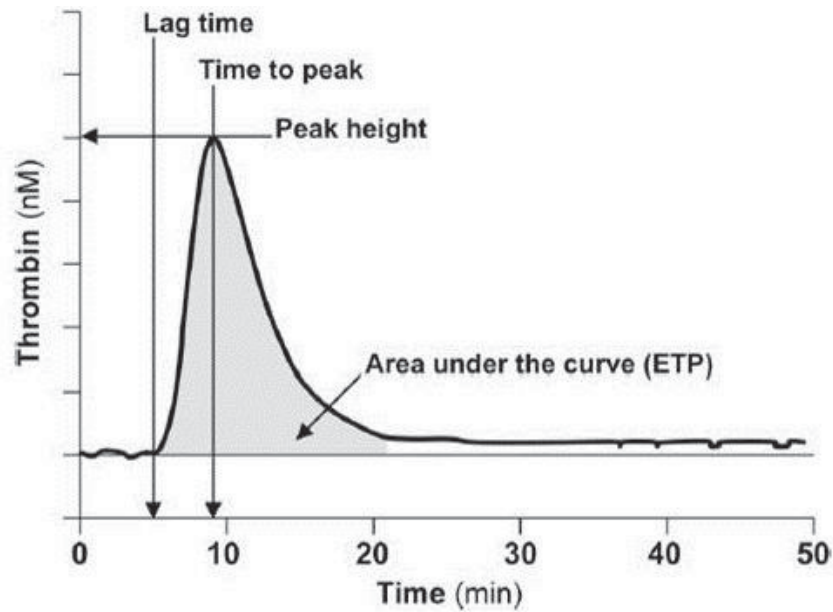
La coagulation est activée à l'aide d'apport de phospholipides, dont la provenance est variable : avec du PRP, ils sont apportés par les plaquettes du patient ; avec du PPP, ils sont apportés à l'aide de vésicules synthétiques de phospholipides anioniques. Du facteur tissulaire en concentration variable est également ajouté au milieu réactionnel pour l'activation de la coagulation : en excès ( $>1$  nM) pour l'étude de la voie extrinsèque, en quantité diminuée pour l'étude de la voie intrinsèque.

Pour mesurer la quantité de thrombine générée lors de la coagulation, un substrat fluorogène permet un enregistrement continu de la mesure : une conversion en concentration de thrombine est ensuite effectuée à partir de la vélocité de changement d'intensité de la fluorescence dans le temps. Cette activité de thrombine générée obtenue par intensité du signal fluorescent est ensuite comparée à l'intensité du signal produit par un calibrant, contenant une concentration connue et stable de thrombine.

### 3.2.2. Paramètres étudiés

Différents paramètres peuvent être déterminés à partir du thrombogramme (courbe de génération de thrombine en fonction du temps) :

- Le temps de latence (LT) : ce temps correspond à la durée précédant la production explosive de thrombine lors de la phase d'amplification : c'est le reflet de la phase d'initiation, il est donc conservé chez le patient hémophile [135]. Il correspond au temps nécessaire à la production de 5 nM de thrombine. C'est au-delà de cette concentration que le thrombus se forme [136].
- Le pic de thrombine : il correspond à la hauteur du pic, c'est-à-dire la quantité maximale de thrombine générée au cours de la coagulation. Il est le reflet de la phase d'amplification, et est ainsi diminué chez le patient hémophile : la hauteur du pic est corrélée au degré de sévérité de l'hémophilie [137].
- Le potentiel endogène de thrombine (ETP) : il est représenté par l'aire sous la courbe (en Nm/min). C'est le reflet de l'activité enzymatique de la thrombine et de sa demi-vie dans le milieu réactionnel. Ce paramètre est diminué dans l'hémophilie, et a montré la meilleure corrélation clinico-biologique au risque hémorragique chez les patient[138,139]



**Figure 29 :** Représentation schématique d'un thrombogramme : temps de latence (Lag Time), hauteur du pic (Peak height), temps au pic (time to peak) et aire sous la courbe/potentiel endogène de thrombine (area under the curve/ETP) Quelle que soit la méthode de dosage, les résultats doivent être interprétés en fonction du contexte clinique, notamment un syndrome inflammatoire ou une grossesse peuvent masquer un déficit en FVIII. D'autres circonstances peuvent entraîner des variations et les tests doivent donc être répétés en cas de forte suspicion clinique.

***Prise en charge  
thérapeutique***

## **I. Objectifs :**

Les objectifs de la prise en charge thérapeutique sont fondés sur une amélioration constante de la qualité de vie de la personne :

- Identifier les situations à risques hémorragiques et traiter précocement les saignements, en particulier les hémarthroses,
- Discuter des modalités thérapeutiques adaptées au type et à la sévérité de l'hémophilie,
- Prévenir, dépister et traiter précocement l'arthropathie hémophilique,
- Prévenir, dépister et traiter la douleur,
- Prévenir, dépister et traiter les complications du traitement,
- Organiser la prise en charge des gestes invasifs,
- Proposer un accompagnement éducatif au patient et/ou aux parents,
- Proposer un accompagnement psychologique.

## **II. Outils Thérapeutiques :**

### **A. Introduction**

Parmi les outils thérapeutiques utilisés dans la prise en charge de l'hémophilie, on distingue, les facteurs anti-hémophiliques (FAH), FVIII, FIX employés à visée substitutive de la protéine déficitaire, et les médicaments contournant ou mimant l'action de la protéine déficitaire, on parle alors d'agents « by- passant » et d'emicizumab.

Des traitements hémostatiques dits non spécifiques sont également utilisés tels que l'acide tranexamique, la desmopressine.

Enfin, la kinésithérapie fait également partie de l'arsenal thérapeutique de ces pathologies hémorragiques constitutionnelles.

## **B. Facteurs anti-hémophiliques :**

### **1. Evolution de la thérapie de remplacement des facteurs :**

La prise en charge de l'hémophilie dépend principalement du remplacement du facteur de coagulation manquant pour arrêter ou pour prévenir les épisodes hémorragiques [ 4 , 5 ]. Le concept de prophylaxie est basé sur des expériences précoces chez des patients atteints d'hémophilie légère à modérée (taux de facteur > 1%) qui saignaient moins fréquemment et développaient rarement une arthropathie [ 7 ]. La prophylaxie a été considérée comme l'étalon-or pour la prise en charge de l'hémophilie, car elle prévient les saignements et retarde le développement de lésions articulaires en fournissant des niveaux suffisants du facteur manquant. Plusieurs études prospectives ont définitivement montré la supériorité de la prophylaxie par rapport au traitement à la demande pour réduire la fréquence des hémorragies articulaires et des arthropathies hémophiles, ainsi que pour améliorer la qualité de vie [140,141,142,143,144]. Depuis 1994, la prophylaxie avec des facteurs de coagulation est considérée comme la norme de soins pour la prise en charge de l'hémophilie. La mise en œuvre précoce de la prophylaxie pourrait empêcher le développement de l'arthropathie chez les enfants et pourrait ralentir la progression de l'arthropathie déjà installée chez les adultes [ 5 , 145,146 ].

Parmi les facteurs anti-hémophiliques disponibles on distingue :

- Les produits d'origine plasmatique, qui sont de très haute pureté depuis la fin des années 1980, subissent au cours de leur processus de leur fabrication deux étapes de réduction virale afin de limiter au maximum les risques de transmission d'agents infectieux dérivés du sang humain. Cette sécurisation des produits, associée à une meilleure maîtrise des dons, a augmenté de façon considérable la sécurité à l'égard des virus et à titre d'exemple aucune transmission de virus enveloppé potentiellement dangereux (VIH, hépatites B et C) n'a été relevée depuis que ces critères réglementaires de fabrication ont été mis en œuvre. [147]

- Les produits recombinants : Les produits recombinants sont apparus vers la fin des années 1980. Ces Produits sont fabriqués sur cellules de mammifères (lignées CHO ou BHK). L'utilisation de cellules de mammifères est essentielle pour assurer les modifications post-traductionnelles nécessaires à l'activité coagulante de la molécule. A l'heure actuelle, des produits recombinants de deuxième et de troisième génération existent. Ces générations successives s'accompagnent d'une Elimination progressive des différents composants humains ou animaux du processus de fabrication industrielle. [147]



**Figure 30 :** Schéma explicatif du processus de production des produits anti-Hémophiliques disponibles.[148]

Le FVIII et le FIX sont de grandes protéines complexes avec des demi-vies relativement courtes, nécessitant des doses fréquentes pour maintenir les niveaux thérapeutiques. Les facteurs de coagulation EHL sont conçus pour avoir des demi-vies prolongées par certaines modifications structurelles, telles que des altérations chimiques ou la fusion de la protéine du facteur à une autre molécule avec une demi-vie plus longue. En théorie, un produit à demi-vie prolongée devrait entraîner une meilleure observance du traitement et une amélioration des résultats prophylactiques en permettant des injections moins fréquentes [ 149 ], d'où l'intérêt du développement des facteurs de coagulation à demi vie prolongé.

La méthode optimale d'allongement de la demi-vie ne devrait entraîner aucune modification de l'activité biologique et de la sécurité du facteur de coagulation [ 149 ]. La définition d'une prolongation cliniquement pertinente de la demi-vie est généralement basée sur certains critères pratiques tels que le schéma posologique et l'application clinique prévue (par exemple, à la demande ou prophylaxie) [ 149 ]. Le taux de clairance plus faible des facteurs EHL offre un potentiel de réduction de la charge de traitement avec des injections moins fréquentes et une efficacité égale ou améliorée sans augmenter la consommation globale de facteurs. Cela permet une plus grande flexibilité pour personnaliser la prophylaxie en fonction des besoins du patient, conduisant à une meilleure observance et, par conséquent, à une amélioration du niveau de soins dans l'hémophilie.

## **2. Technologies utilisées pour prolonger la demi-vie des facteurs de coagulation recombinants**

Les stratégies pour prolonger la demi-vie des facteurs de coagulation recombinants comprennent :

- l'attachement covalent du facteur de coagulation au polyéthylène glycol (PEG; Pegylation) pour réduire l'interaction avec les récepteurs de clairance
- Intégrer le facteur de coagulation avec la partie cristallisable fragmentée (Fc) de la molécule d'immunoglobuline G1 (IgG1) pour détourner la molécule de la

dégradation lysosomale afin retarder sa clairance.

- combiner le facteur de coagulation et l'albumine recombinante
- une technologie à chaîne unique pour augmenter la stabilité de la molécule [ 4 , 144,145,146 ].

### **2.1. Pegylation :**

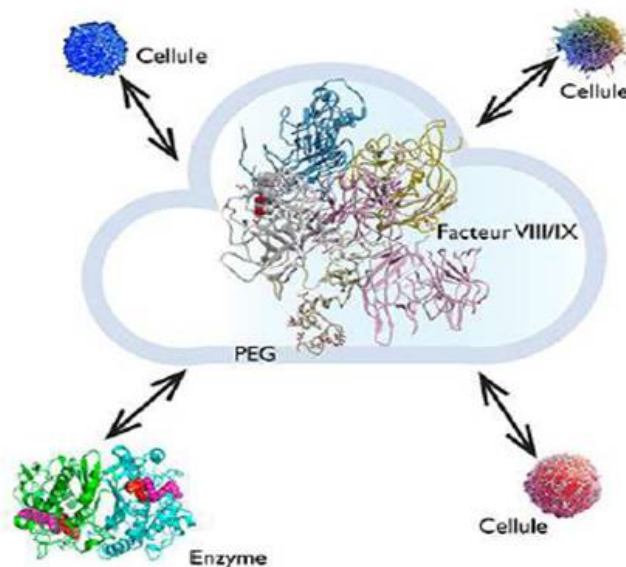
La Pegylation consiste à lier des molécules de polyéthylène glycol (PEG) de façon covalente à une protéine et vise à améliorer ses propriétés pharmacocinétiques. Les molécules de PEG sont des polyéthers hydrosolubles de tailles et de poids moléculaires très variables qui permettent d'augmenter significativement la taille de la protéine sur laquelle elles sont fixées. La fixation de PEG présente deux effets intéressants : la réduction de la clairance totale et de l'immunogénicité de la protéine. La réduction de la clairance totale est due à une diminution de la clairance rénale et de la diffusion transmembranaire résultant d'une taille plus importante de la protéine. Elle est également liée au fait que les PEG créent un encombrement stérique qui protège la protéine des dégradations protéolytiques. Les protéines pegylées n'entraînent généralement pas de réaction immunogène et les PEG permettent même de masquer certains épitopes de la protéine et ainsi de réduire son immunogénicité [150].

La première protéine pegylée à avoir été commercialisée est la PEG–adénosine désaminase dans le cadre du traitement du déficit immunitaire combiné sévère (DICS). Sa commercialisation par la société Enzon fut autorisée en 1990.

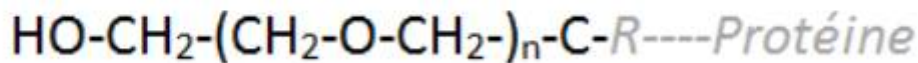
Les premières techniques de pegylation consistaient en la fixation aléatoire de molécules de PEG de petite taille (inférieure à 5kDa) qui entraînait la production de protéines pegylées aléatoirement. Néanmoins, cette stratégie pouvait causer la fixation de PEG sur les sites de reconnaissance des cofacteurs ou les sites actifs des protéines et ainsi diminuer leur activité. Une nouvelle approche consiste maintenant à fixer de plus longues molécules de PEG en ciblant un ou deux sites de fixations spécifiques afin de ne pas gêner l'activité des protéines [150].

Dans l'ensemble, la pegylation des molécules thérapeutiques a généralement été associée à un faible risque d'immunogénicité [ 151]. Les résultats de l'étude préclinique du produit à demi-vie prolongée BAY 94-9027 ont suggéré que ce composé était significativement moins immunogène chez les souris hémophiles A, les rats normaux et les lapins normaux par rapport au rFVIII non pegylé. Cependant, les données humaines font défaut [152].

Il a été rapporté que les facteurs pegylés ont un allongement de demi-vie d'environ 1,5 fois par rapport aux facteurs de demi-vie standard (SHL). D'excellentes données d'innocuité et d'efficacité chez des adultes et des enfants atteints d'hémophilie A sévère précédemment traités ont été rapportées avec les facteurs EHL. Aucun anticorps inhibiteur n'a été identifié contre le FVIII, le produit pegylé, ou contre le PEG [4 , 153, 154, 155, 156, 157]. Le développement d'anticorps anti-PEG chez des patients traités avec d'autres produits protéiques pegylés a été rapporté, ce qui a conduit la FDA à recommander le dépistage d'anticorps anti-PEG chez tous les sujets recevant des thérapies expérimentales Pegylées, ainsi que l'évaluation des rôles potentiels de ces anticorps sur l'efficacité et la sécurité [158, 159, 160].



**Figure 31 :** Technique de pegylation



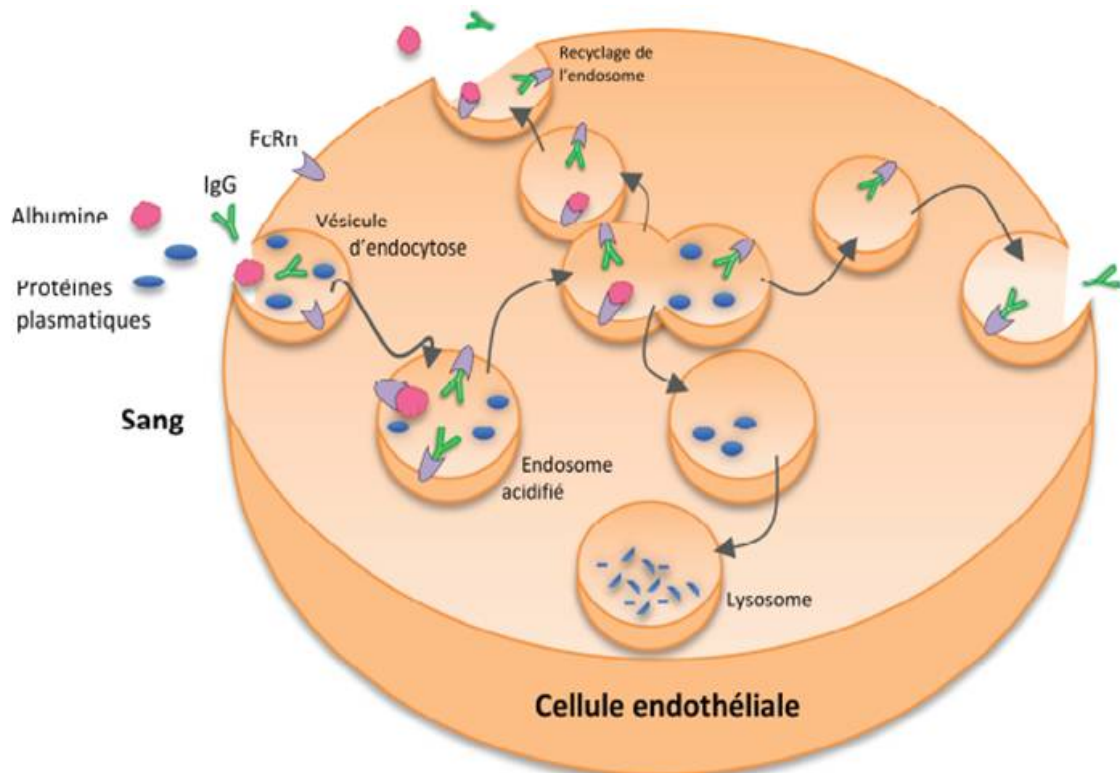
**Figure 32 :** Structure des molécules de polyéthylène glycol, d'après Ivens et al.

## 2.2. Technologie de fusion (Fc fusion et Albumine fusion)

La technologie de fusion implique une fusion génétique avec une protéine qui a une demi-vie particulièrement longue, comme les immunoglobulines (fusion Fc) ou l'albumine. L'albumine et les IgG sont des protéines naturelles à longue demi-vie (dépassant 20 jours) et représentent environ 80% des protéines plasmatiques, ce qui en fait des outils utiles pour les technologies des protéines de fusion.

La longue demi-vie des molécules sériques telles que les IgG (Immunoglobulines G) et leur aptitude à traverser la barrière materno-fœtale a été attribuée à un récepteur spécifique de la portion Fc, appelé FcRn (*Neonatal Fc Receptor*). La résolution de sa structure a permis de l'identifier comme une molécule apparentée au complexe majeur d'histocompatibilité de classe I, capable de prendre en charge les IgG et l'albumine grâce à des liaisons dépendantes du pH. Le FcRn assure à la fois des fonctions de recyclage permettant aux IgG et à l'albumine d'échapper au catabolisme endothélial, de transcytose favorisant la bio-distribution des IgG dans l'organisme et sans doute de coopération lors de la phagocytose. Le mécanisme permettant le recyclage des IgG et de l'albumine est représenté dans la Figure 32. Les cellules endothéliales captent les protéines du sang par un processus d'internalisation, la pinocytose qui permet le transport non spécifique des protéines dans les cellules. Les endosomes formés lors de la pinocytose s'acidifient puis transmettent les protéines à dégrader aux lysosomes. L'acidification de l'endosome permet la liaison de l'albumine ou du fragment Fc aux récepteurs FcRn, cette liaison étant impossible à pH neutre. Ces protéines ne passent donc pas dans le lysosome et sont protégées de la protéolyse. Elles sont ensuite externalisées dans la circulation à pH physiologique. Ce mécanisme explique ainsi la plus grande demi-vie des IgG par rapport à d'autres anticorps [161,162].

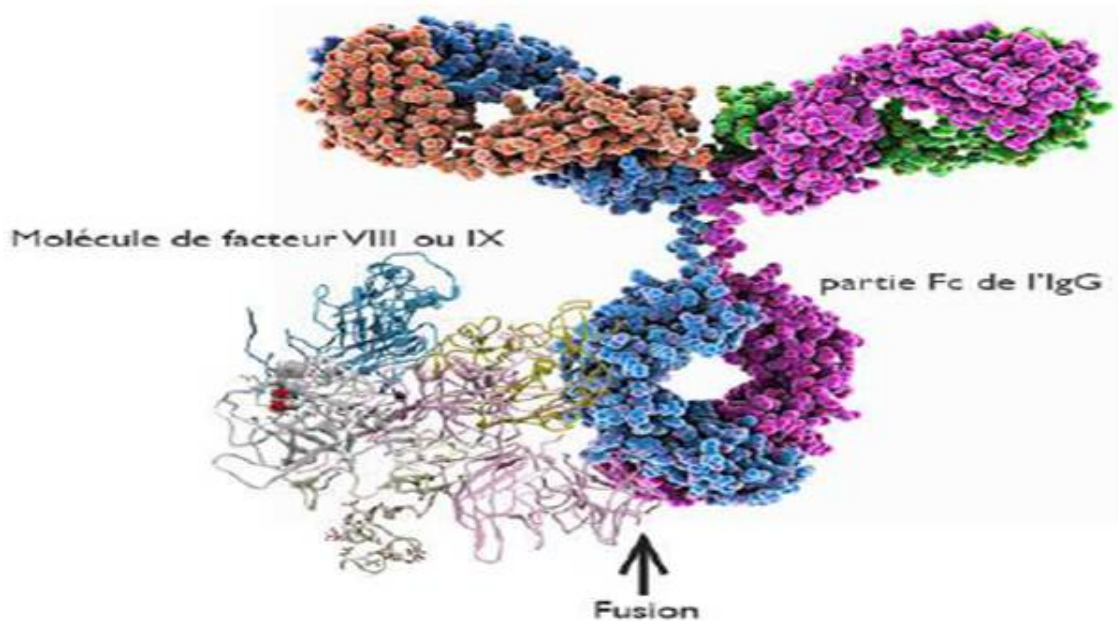
La connaissance de ce mécanisme a entraîné le développement de nouvelles protéines de fusion dans le but d'allonger leur demi-vie.



**Figure 33 :** Représentation du mécanisme de recyclage ph-dépendant de l'albumine et de l'IgG plasmatisque par liaison au récepteur FcRn. Les protéines plasmatiques qui n'ont pas de sites de fixation au FcRn sont dégradés pas le lysosome.

La technologie de fusion d'albumine a récemment été utilisée pour prolonger la demi-vie de rFIX . L'extension moyenne de la demi-vie du rFVIII-Fc est environ 1,5 fois supérieure à celle du SHL-FVIII [ 4 , 153]. La modeste augmentation de la demi-vie du FVIII lorsqu'il est attaché à l'albumine par rapport à la prolongation de cinq fois de la demi-vie observée avec FIX lorsqu'il est fusionné avec Fc a été considérée comme étant principalement due à l'interaction du FVIII avec le facteur von Willebrand (VWF) comme le principal régulateur de la clairance du FVIII [ 155 , 163 ].

L'efficacité et l'innocuité à long terme du rFVIII-Fc dans la prise en charge des saignements et la prophylaxie des patients précédemment traités (PTP) atteints d'hémophilie A sévère ont été confirmées par plusieurs études, y compris des essais pivots de phase III (A-LONG) réalisés chez des adultes et adolescents âgés de plus de 12 ans, l'essai Kids A-LONG réalisé chez des enfants âgés de  $\leq 12$  ans et ASPIRE, une étude d'extension récemment achevée [ 4 , 164 , 165 , 166 ].



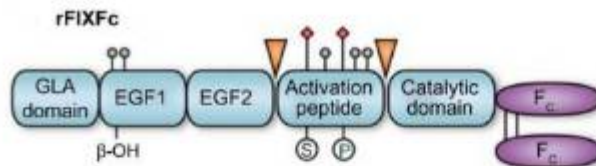
**Figure 34 :** Technique de fusion

### 2.3. Technologie à chaîne unique

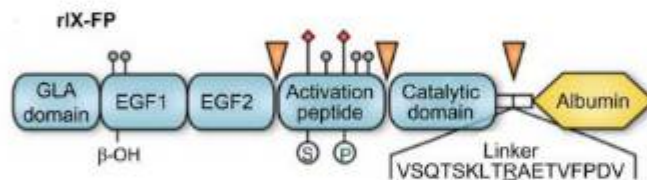
Le FVIII humain est une structure hétérodimérique constituée d'une chaîne lourde (domaines A1-A2-B) et d'une chaîne légère (domaines A3-C1-C2) attachées l'une à l'autre par des liaisons non covalentes, ce qui le rend relativement instable et facilement dissociable [ 4 , 149 ]. Un nouveau FVIII monocaténaire recombinant (rVIII-SingleChain) a été conçu, dans lequel les chaînes lourdes et légères sont liées de manière covalente à travers un domaine B tronqué [ 4 , 167, 168 ]. Il a été rapporté que cette conception à chaîne unique donne un produit plus stable et homogène, avec une affinité de liaison accrue pour le VWF

et une pharmacocinétique améliorée par rapport au rFVIII complet, prolongeant potentiellement la demi-vie du FVIII [ 4, 153 ]. Bien que le rVIII-SingleChain ait été bien toléré dans les études cliniques et n'ait pas conduit au développement d'anticorps inhibiteurs, l'allongement de la demi-vie à l'aide de cette technologie était modeste, soit 1,1 à 1,4 fois la demi-vie initiale du FVIII [ 167 , 168 , 169 ].

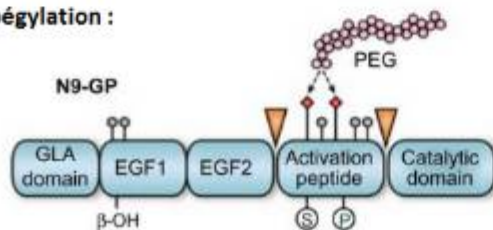
**A La fusion au fragment Fc de l'IgG :**



**B La fusion à l'albumine :**



**C La pégylation :**



- Key**
- Ⓢ Sulfation
  - Ⓟ Phosphosphorylation
  - Ⓝ N-glycosylation
  - Ⓞ O-glycosylation
  - β-OH β-hydroxylation
  - ▽ Cleavage sites

**Figure 35 :** Procédés allongeant la durée de vie du FIX

### 3. FVIII

Les FVIII utilisés dans le cadre d'une thérapeutique substitutive sont soit d'origine plasmatique, (FAH plasmatique) soit produit par biotechnologique (FAH recombinant). Les principales caractéristiques de ces médicaments sont présentées dans les tableaux n° 5 et n° 6.

#### 3.1. FVIII plasmatiques :

Deux spécialités de FVIII disposent d'une AMM en France, ces derniers sont disponibles au Maroc

Spécialité (DCI)	Étapes spécifiques de sécurisation	Volume (ml)	Quantité/ flacon (UI)	Forme	Solvant et nécessaire fourni	Laboratoire
<b>FACTAN E® (FVIII humain)</b>	Traitement	2,5	250	Poudre	EPPI	LFB Biomédicaments
	Solvant	5	500		Dispositif de reconstitution sans	
	Détergent	5	1 000		aiguille (Mix2Vial™)	
	Nanofiltration	10	2 000			
<b>OCTANA TE® (FVIII humain)</b>	Traitement	5	250	Poudre	EPPI	Octapharma
	Solvant	10	500		Dispositif de reconstitution sans	
	Détergent	10	1 000		aiguille (Mix2Vial™)	
	Chauffage à sec					

**Tableau 5 :** Principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques de FVIII plasmatique [170]

#### 3.2. FVIII Recombinants :

Parmi les FVIII recombinants, on distingue ceux dit à demi vie « classique » et ceux à demi vie « allongée ».

##### 3.2.1. FVIII Recombinants à demi-vie « classique » :

Les différentes spécialités pharmaceutiques de FVIII recombinants se distinguent en fonction du type de lignée cellulaire de production (CHO/BHK/HEK), et des caractéristiques de la protéine (FVIII pleine longueur, simple chaîne, tronqué ou délété du domaine B).

Spécialité (DCI)	Caractéristiques	Étapes Spécifiques d'inactivation virale	Volume (ml)	Quantité/ Flacon (UI)	Forme	Solvant et nécessaire fourni	Laboratoire
<b>ADVATE®</b> ( <b>Octocog alfa</b> )	Cellule CHO rFVIII pleine longueur	Traitement Solvant Détergent	2	250	Poudre	EPPI Dispositif de reconstitution sans aiguille (Baxject II)	Takeda
				500			
				1 000			
				1 500			
				2 000			
5	3 000						
<b>AFSTYLA®</b> ( <b>Lonoctocog alfa</b> )	Cellule CHO rFVIII simple chaîne	Traitement Solvant Détergent Filtration 20 nm	2,5	250	Poudre	EPPI Dispositif de reconstitution sans aiguille (Mix2Vial™)	CSL Behring
				500			
				1 000			
			5	1 500			
				2 000			
				3 000			
<b>KOVALTR Y®</b> ( <b>Octocog alfa</b> )	Cellule BHK rFVIII pleine longueur	Filtration 20 nm	2,5	250	Poudre	EPPI Seringue pré-remplie de solvant Dispositif de reconstitution sans aiguille	Bayer Healthcare
				500			
				1 000			
			5	2 000			
				3 000			
<b>NOVOEIG HT®</b> ( <b>Turoctocog alfa</b> )	Cellule CHO rFVIII Tronqué/déléte	Traitement Solvant Détergent Filtration 20 nm	4	250	Poudre	EPPI Seringue pré-remplie de solvant Dispositif de reconstitution sans aiguille	Novo Nordisk
				500			
				1 000			
				1 500			
				2 000			
				3 000			
<b>NUWIQ®</b> ( <b>Simoctocog alfa</b> )	Cellule HEK 293 rFVIII Tronqué/déléte	Traitement Solvant Détergent Filtration 20 nm	2,5	250	Poudre	EPPI Dispositif de reconstitution sans aiguille (Mix2Vial™)	Octa pharma
				500			
				1 000			
				2 000			
				2 500			
				3 000			
				4 000			
<b>REFACTO AF®</b> ( <b>Moroctocog alfa</b> )	Cellule CHO rFVIII Tronqué/déléte	Traitement Solvant Détergent Filtration 35 nm	4	250	Poudre	NaCl Solvant en seringue pré-remplie (FuseNGo)	Pfizer
				500			
				1 000			
				2 000			
				3 000			

**Tableau 6 :** Principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques de FVIII recombinant à demi-vie classique [170]

### 3.2.2. FVIII Recombinants à demi-vie « allongée » :

Une première approche a consisté à développer un facteur VIII sous une forme liposomale pégylée, où une molécule de facteur VIII recombinante était liée de façon non covalente à la surface d'un liposome pégylé. Les concepteurs pensaient que le PEG fixé au liposome augmenterait la demi-vie du facteur VIII et que les liposomes pourraient apporter le facteur VIII à la surface pro coagulante des plaquettes. Mais ni la demi-vie ni l'efficacité n'ont été augmentées et cette voie de développement a été abandonnée [171].

Une deuxième approche a consisté à pégyliser directement le facteur VIII de façon dirigée. Les méthodes de pégylation aléatoire (non dirigée) de protéines peuvent altérer leur fonction par encombrement stérique en gênant les interactions avec leurs ligands naturels. La « pégylation dirigée » consiste à introduire des cystéines dans la séquence du facteur VIII au niveau de zone n'interagissant pas avec les ligands physiologiques (facteur Willebrand, facteur IX, facteur X, thrombine) : ces cystéines, réduites, sont ensuite pégylées. Cette méthode augmente la probabilité de ne pas altérer les propriétés naturelles du facteur VIII. Elle a été utilisée pour lier de façon covalente le PEG à un facteur VIII dépourvu du domaine B (rBDD-FVIII). [172]

Une troisième approche pour augmenter la demi-vie du facteur VIII consiste à fusionner le facteur VIII avec le fragment Fc des immunoglobulines humaines IgG. Cette protéine hybride a été produite de façon recombinante. Le fragment Fc des IgG1 se fixe aux récepteurs FcRn qui protègent les protéines d'une dégradation catalytique. La fusion Fc n'affecte pas l'activité du facteur VIII qui est comparable à celle du facteur VIII lors de tests de section de queue réalisés chez des souris. La demi-vie en modèle murin est doublée. La protéine FVIII-Fc a également été bien tolérée lors d'essais en modèle canin [173].

La lourdeur du traitement substitutif par FAH est liée aux recours aux injections intraveineuses itératives du médicament. Une des voies d'amélioration de ces thérapeutiques est de proposer un allongement de la demi-vie permettant d'espacer les injections. Il existe différentes technologies <sup>[174]</sup> telles que la fusion à un fragment Fc d'immunoglobuline, pégylation par liaison à un Poly Ethylène Glycol (PEG). Les caractéristiques sont présentées dans le tableau n° 7.

Il existe quatre produits EHL-rFVIII qui ont terminé des études cliniques de phase 3.

- Le rFVIII<sub>FC</sub> (Elocta, Sobi, Stockholm, Suède; Eloctate, Bioverativ, Waltham, MA, États-Unis d'Amérique) [ 164 ]
- l'octocog alfa pegol (Adynovate, BAX 855, Baxalta, Vienne, Autriche) [ 154 ] sont autorisés dans certains pays.
- Turoctocog alfa pegol (N8-GP, Novo Nordisk A / S, Bagsværd, Danemark) [ 175 ] a terminé une étude de phase 3 et les données de phase 2/3 ont été publiées pour BAY 94-9027 (Jivi, Bayer Healthcare AG, Leverkusen, Allemagne ) [ 157].
- Enfin, un concentré de rFVIII à chaîne unique tronquée dans le domaine B, ScrFVIII (Afstyla), a récemment été autorisé par CSL Behring dans certains pays [ 176]. Cependant, ce produit affiche une extension modeste de la demi-vie et n'est pas considéré comme un concentré à demi-vie prolongée.

Spécialité (DCI)	Caractéristiques	Étapes Spécifiques d'inactivation virale	Volume (ml)	Quantité/ Flaçon (UI)	Forme	Solvant et nécessaire fourni	Laboratoire
<b>ADYNOVI®</b> (Rurioctocog alfa pégol)	Cellule CHO rFVIII pleine Longueur  <b>PEG 20 kDa</b>	Traitement Solvant Détergent	2	250	Poudre	EPPI Dispositif de reconstitution	Takeda
				500			
				750			
				1 000			
				1 500			
5	2 000						
<b>JIVI®</b> (Damactocog alfa pégol)	Cellule BHK rFVIII délété du domaine B PEG ramifié 60 KDa	Traitement Solvant Détergent Nano filtration (20 nm)	2,5	250	Poudre	Eau PPI Seringue pré remplie de solvant	Bayer
				500			
				1 000			
				2 000			
				3 000			
<b>ELOCTA®</b> (Efmoroctocog alfa)	Cellule HEK 293 rFVIII pleine Longueur <b>Fusion</b>  <b>Fragment</b>  <b>Fc d'Ig</b>	Traitement Solvant Détergent Filtration  15 nm	3	250	Poudre	EPPI Dispositif de reconstitution sans aiguille	Sobi
				500			
				750			
				1 000			
				1 500			
				2 000			
				3 000			

**Tableau 7 :** Principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques de FVIII recombinant à demi-vie allongée

Les paramètres pharmacocinétiques tels que la demi-vie ont été évalués lors des études cliniques dans différentes populations de patients, de différentes catégories d'âge et chez des patients prétraités ou « *previously treated patient* » (PTP). En effet, ces données peuvent varier en fonction de l'âge (un métabolisme plus important est noté dans la population pédiatrique) et selon la méthode de dosage employée.

Typologie de population testée	Demi-vie (h) PTP 0 à 6 ans	Demi-vie (h) PTP 6 à < 12 ans	Demi-vie (h) PTP ≥ 12 ans	Ratio allongement de la 1/2 vie
<b>ADYNOVI®*</b> (Rurioctocog alfa pégol) <sup>38</sup>	11,8 ± 2,43 Dosage <b>chromométrique</b> 13,0 ± 8,74 Dosage <b>chromogénique</b>	12,1 ± 2,03 Dosage <b>chromométrique</b> 12,4 ± 6,07 Dosage <b>chromogénique</b>	14,3 ± 3,8 (avant prophylaxie) 16,0 ± 4,9 (après 6 mois de prophylaxie) Dosage <b>chromométrique</b>	1,4 à 1,5 Comparaison 1/2 vie ADYNOVI versus ADVATE
<b>JIVI®*</b> (Damoctocog alfa pégol) <sup>39</sup>	15,0 ± 4.14 Dosage <b>chromogénique</b>	16,0 ± 3.48 Dosage <b>chromogénique</b>	17,6 ± 4,26 Dosage <b>chromogénique</b> 17,4 Dosage <b>chromométrique</b>	1,3 Comparaison 1/2 vie JIVI versus KOGENATE BAYER
<b>ELOCTA®</b> (Efmorococog alfa) <b>40</b>	12,3 (11,0–13,7) Dosage <b>chromométrique</b> 14,3 (12,6–16,2) Dosage <b>chromogénique</b>	13,5 (11,4–15,8) Dosage <b>chromométrique</b> 15,9 (13,8–18,2) Dosage <b>chromogénique</b>	19.0 (17.0–21.1) Dosage <b>chromométrique</b> 20.9 (18.2–23.9) Dosage <b>chromogénique</b>	1,5 Comparaison 1/2 vie ELOCTA versus ADVATE

**Tableau 8 :** Présentation comparative des demi-vies des spécialités pharmaceutiques de FVIII recombinant à demi-vie « allongée » en fonction de la population testée [170]

	Generic name	Company	Mechanism	Half-life (h)	Current status	Reference
<b>Factor VIII - extended half-life concentrates</b>						
Elocta/eloctate (rFVIII-Fc)	Efralococog alfa	Bioverativ/ Sobi	Fc (IgG1) fusion to B-domain-deleted FVIII	19.0	Licensed	[34]
Adynovate (BAX 855)	Octocog alfa pegol	Shire	PEGylated to full-length FVIII, porcine sequence	14.3	Licensed	[33]
N8-GP	Turoctocog alfa pegol	Novo Nordisk	PEGylated (40 kDa) B-domain-truncated FVIII	19.0	In phase 3 trials	[35]
Jivi (BAY 94-9027)	Damococog alfa pegol	Bayer	PEGylated (60 kDa) B-domain-deleted FVIII	18.7	Licensed	[36]

**Tableau 9 :** Concentrés EHL-rFVIII actuellement disponibles [ 177 ].

L'extension de demi-vie des produits EHL-rFVIII est de l'ordre de 1,4 à 1,6 fois et les taux de saignement annualisés (ABR) étaient inférieurs à 4, allant de 1,3 à 3,6. Les hémorragies ont été traitées avec succès avec EHL-rFVIII, résolvant avec une ou deux injections dans plus de 96% des épisodes. L'efficacité hémostatique a été jugée bonne ou excellente dans plus de 90% des épisodes hémorragiques. Aucun développement d'inhibiteur n'a été rapporté dans les essais cliniques avec les produits EHL-FVIII .

Les données sur l'utilisation des produits EHL dans la tranche d'âge pédiatrique [ 166 , 178 , 179 , 180 ] ont révélé des ABR médians faibles allant de 1 à 3 saignements, sans différence majeure entre les produits et sans développement d'inhibiteurs . La modeste prolongation obtenue dans la demi-vie des produits FVIII obtenue grâce aux techniques d'extension ne pouvait réduire la fréquence de traitement qu'à deux fois par semaine.

La sécurité et l'efficacité ainsi que le profil pharmacocinétique de rVIII-SingleChain ont été étudiés dans le cadre d'un programme d'essais cliniques appelé AFFINITY, consistant en une série d'études de phase I / III [ 153 , 168 , 181 ]. Les données préliminaires de ce programme ont montré une excellente / bonne efficacité hémostatique dans le traitement prophylactique et épisodique avec un bon profil de sécurité. Aucun développement d'inhibiteur n'a été rapporté à ce jour avec rVIII-SingleChain [ 181 ]. L'analyse pharmacocinétique a montré un profil pharmacocinétique favorable pour le rVIII-SingleChain par rapport au rFVIII complet, bien que la demi-vie ait été relativement plus courte et la clairance relativement plus élevée dans le groupe pédiatrique [ 182 ].

### 3.2.2.1. ELOCTATE :

rFVIII<sub>h</sub> ou émolocog alfa ou éralocog alfa est une nouvelle protéine recombinante conçue issue du génie génétique qui résulte de la fusion au niveau génomique du gène FVIII avec le fragment Fc de l'IgG1. Le rFVIII<sub>h</sub> est constitué d'une seule molécule de rFVIII à domaine B délété lié de manière covalente par son extrémité carboxy à l'extrémité N du monomère Fc de l'IgG1 humain, qui forme une liaison disulfure avec un second monomère Fc pendant la synthèse et la sécrétion des cellules. Le rFVIII<sub>h</sub> est produit dans des cellules de rein embryonnaire humain 293 (HEK-293) [ 183].

#### a. Données cliniques :

L'essai de phase I / IIa ( NCT01027377 ) a impliqué 16 sujets atteints d'hémophilie A sévère et a montré une demi-vie moyenne 1,6 fois plus longue que celle du rFVIII standard, sans différence dans la récupération incrémentale in vivo. Le rFVIII<sub>h</sub> a été bien toléré sans événements indésirables graves liés au médicament [ 184 ]. Aucun des sujets n'a développé d'inhibiteurs anti-FVIII ou d'anticorps anti-rFVIII<sub>h</sub> [ 184 ]. L'essai pivot de phase III était une étude ouverte, multicentrique et partiellement randomisée qui évaluait la pharmacocinétique comparative du rFVIII<sub>h</sub> et du rFVIII ainsi que l'innocuité, la tolérabilité et l'efficacité d'un dosage répété de rFVIII<sub>h</sub> pour la prophylaxie et le traitement des hémorragies aiguës chez 165 adultes précédemment traités et adolescents ( $\geq 12$  ans) atteints d'hémophilie A sévère (NCT01181128 ; A-LONG) [ 185 ]. L'étude comportait trois groupes de traitement :

- groupe 1, prophylaxie individualisée avec 25 à 65 UI / kg de rFVIII<sub>h</sub> tous les 3 à 5 jours sur la base des résultats pharmacocinétiques pour maintenir un niveau résiduel cible entre 1 et 3 UI / dL ( n = 118)
- groupe 2, prophylaxie hebdomadaire avec une dose fixe de 65 UI / kg de rFVIII<sub>h</sub> ( n = 24)
- groupe 3, traitement épisodique avec 10 à 50 UI / kg de rFVIII<sub>h</sub> en fonction de la gravité des saignements ( n = 23). Tous les sujets qui étaient déjà sous

prophylaxie avant l'entrée dans l'étude ont été inclus dans le bras 1, tandis que ceux sous traitement épisodique avaient la possibilité d'entrer dans le bras 1 ou d'être randomisés pour entrer dans le bras 2 ou 3 [ 185]. Les critères d'évaluation principaux de l'étude comprenaient le taux de saignement annualisé (ABR), le développement d'inhibiteurs et d'autres événements indésirables. La demi-vie terminale du rFVIII<sub>Fc</sub> était de 19 h, soit 1,5 fois plus longue que celle du rFVIII. Les taux de saignements médians observés dans les trois bras de traitement étaient de 1,6 , 3,6 et 33,6, respectivement, et au cours des trois derniers mois de l'étude, environ 30 % des sujets du groupe 1 ont respecté un intervalle de cinq jours entre les doses[ 185 ]. Dans tous les bras de traitement, 87% des épisodes hémorragiques ont été contrôlés par une seule injection. Le rFVIII<sub>Fc</sub> a été bien toléré et aucun sujet n'a développé d'inhibiteurs [ 185 ].

L'essai ouvert de phase III évaluant l'innocuité, l'efficacité et la pharmacocinétique du rFVIII<sub>Fc</sub> chez les enfants précédemment traités âgés de <12 ans atteints d'hémophilie A sévère ( NCT01458106 ; Kids A-LONG) a été réalisé chez 71 sujets, 36 (51%) âgés de <6 ans [ 186 ]. L'étude comportait un seul bras de traitement prophylactique bihebdomadaire avec 25 UI/kg et 50 UI/kg de rFVIII<sub>Fc</sub> aux jours 1 et 4, respectivement. La dose (jusqu'à 80 UI / kg) et l'intervalle d'administration (jusqu'à un jour sur deux) ont été ajustés en fonction des données pharmacocinétiques et du phénotype hémorragique [ 186]. Le développement d'inhibiteurs était le principal critère d'évaluation; aucun sujet n'a développé d'anticorps neutralisants. La demi-vie terminale moyenne du rFVIII<sub>Fc</sub> était de 12,7 et 14,9 h chez les enfants âgés de <6 et 6 à 11 ans, respectivement, avec une récupération progressive cohérente entre les deux groupes et une diminution de la clairance en fonction de l'âge chez les enfants plus âgés comme déjà observé avec des produits rFVIII standard [ 186 ]. Dans l'ensemble, le taux médian d'hémorragies spontanées était de 1,96 et de 0,00 ; 93 % des hémorragies ont été maîtrisées par une ou deux injections, et 46 % des enfants n'ont signalé

aucune hémorragie au cours de l'étude. À la fin de l'étude, 90 % des sujets suivaient un régime bihebdomadaire à une dose hebdomadaire médiane de 88 UI/kg qui consistait en une réduction de la fréquence d'administration par rapport au régime précédant l'étude chez 74 % des enfants [186].

L'innocuité et l'efficacité à long terme du rFVIII<sup>FC</sup> ont été évaluées de manière plus approfondie dans le cadre d'un essai d'extension ( NCT01454739 ; ASPIRE) qui comprenait 150 et 61 sujets issus des études A-LONG et Kids A-LONG, respectivement, et qui ont reçu plus de 100 jours d'exposition cumulée au rFVIII<sup>FC</sup> [ 187]. Les résultats d'efficacité et de tolérance ont confirmé ceux obtenus dans les essais pivots avec un meilleur ABR chez les patients traités selon un schéma individualisé. La grande majorité des patients (c'est-à-dire 64% des adultes et 79% des enfants) n'ont pas modifié la fréquence de perfusion ni la dose prophylactique hebdomadaire totale, tandis que 20% et 12% des adultes et des enfants ont réduit leur dose hebdomadaire totale pendant la phase d'extension [187].

Les études A-LONG, Kids A-LONG et ASPIRE ont permis des chirurgies et une analyse combinée des données sur ces procédures a été récemment publiée [188]. Dans toutes les études, 23 chirurgies majeures et 52 mineures ont été réalisées chez 21 et 41 sujets, respectivement. Sur les 54 procédures (22 majeures, 41%) toutes ont été jugées excellentes ou bonnes sur le plan hémostatique [ 188 ]. Les interventions chirurgicales ont été gérées avec succès en utilisant une dose médiane de rFVIII<sup>FC</sup> de 58 UI / kg / perfusion avec une moyenne de 1 à 2 perfusions / jour.

#### **b. Indications thérapeutiques :**

Traitement et prophylaxie des épisodes hémorragiques chez les patients atteints d'hémophilie A.

ELOCTA est indiqué dans toutes les tranches d'âge.

### **c. Posologie et mode d'administration :**

Le traitement doit être instauré sous la surveillance d'un médecin expérimenté dans le traitement de l'hémophilie.

ELOCTATE doit être injecté par voie intraveineuse pendant plusieurs minutes. Le débit d'administration devra être déterminé en fonction du niveau de confort du patient et ne devra pas dépasser 10 ml/min au maximum.

La dose et la durée du traitement substitutif dépendent de la sévérité du déficit en facteur VIII, de la localisation et de l'intensité de l'épisode hémorragique, ainsi que de l'état clinique du patient.

Le nombre d'unités de rFVIII<sub>FC</sub> administrées est exprimé en Unités Internationales (UI), conformément au standard actuel de l'OMS pour les produits contenant du facteur VIII. L'activité coagulante du facteur VIII dans le plasma est exprimée soit en pourcentage (par rapport au plasma humain normal), soit en Unités Internationales (par rapport au Standard International du facteur VIII plasmatique).

Une UI d'activité du rFVIII<sub>FC</sub> correspond à la quantité de facteur VIII contenue dans un ml de plasma humain normal.

### **d. Traitement à la demande**

Le calcul de la dose nécessaire du rFVIII<sub>FC</sub> est basé sur des données empiriques selon lesquelles 1 Unité Internationale (UI) de facteur VIII par kg de poids corporel augmente l'activité plasmatique du facteur VIII de 2 UI/dL. La dose nécessaire est déterminée à l'aide de la formule suivante :

Nombre d'Unités (UI) nécessaires = poids corporel (kg) × augmentation souhaitée du taux de facteur VIII (%) (UI/dL) × 0,5 (UI/kg par UI/dL)

La quantité administrée et la fréquence d'administration doivent toujours être adaptées selon l'efficacité clinique au cas par cas. On ne devrait pas observer de retard dans le délai d'obtention du pic d'activité.

En cas de survenue de l'un des évènements hémorragiques suivants, l'activité du facteur VIII ne doit pas être inférieure à l'activité plasmatique indiquée (en % de la normale ou en UI/dL) pendant la période correspondante. Le tableau 9 peut être utilisé pour établir la posologie lors d'épisodes hémorragiques et lors de chirurgies :

**Tableau 1 : tableau pour établir la posologie d'ELOCTA lors d'épisodes hémorragiques et de chirurgies**

Degré d'hémorragie / type d'intervention chirurgicale	Taux de facteur VIII nécessaire (%) (UI/dL)	Fréquence d'administration (heures) / durée du traitement (jours)
<b>Hémorragie</b>		
Début d'hémarthrose, de saignement musculaire ou buccal	20 – 40	Renouveler l'injection toutes les 12 à 24 heures pendant au moins 1 jour, jusqu'à la fin de l'épisode hémorragique, indiquée par la disparition de la douleur, ou l'obtention d'une cicatrisation. <sup>1</sup>
Hémarthrose plus étendue, hémorragie musculaire ou hématome	30 – 60	Renouveler l'injection toutes les 12 à 24 heures pendant 3 à 4 jours ou plus jusqu'à la disparition de la douleur et de l'invalidité aiguë. <sup>1</sup>
Hémorragie engageant le pronostic vital	60 – 100	Renouveler l'injection toutes les 8 à 24 heures jusqu'à disparition du risque vital.
<b>Chirurgie</b>		
Chirurgie mineure, dont extraction dentaire	30 – 60	Renouveler l'injection toutes les 24 heures, pendant au moins 1 jour, jusqu'à cicatrisation.
Chirurgie majeure	80 – 100 (pré et postopératoire)	Renouveler l'injection toutes les 8 à 24 heures, selon les besoins, jusqu'à cicatrisation satisfaisante de la plaie, puis poursuivre le traitement pendant au moins 7 jours supplémentaires afin de maintenir une activité coagulante du facteur VIII plasmatique de 30 % à 60 % (UI/dL).

<sup>1</sup> Chez certains patients et dans certaines circonstances, l'intervalle entre les doses peut être prolongé jusqu'à 36 heures. Voir la rubrique 5.2 pour les données pharmacocinétiques.

**Tableau 10 : Posologie ELOCTATE lors d'épisodes hémorragiques et de chirurgies**

### **e. Prophylaxie**

Pour la prophylaxie à long terme, la dose recommandée est de 50 UI/kg tous les 3 à 5 jours. La dose peut être ajustée dans un intervalle de 25 à 65 UI/kg selon la réponse du patient. Dans certains cas, en particulier chez les jeunes patients, il peut être nécessaire de raccourcir les intervalles entre les injections ou d'administrer des doses plus élevées.

#### **3.2.2.2. ADYNOVI**

BAX 855 ou rurioctocog alfa pegol est une molécule pégylée au hasard de rFVIII pleine longueur produite dans des cellules d'ovaire de hamster chinois (CHO). BAX 855 est fabriqué en liant de manière covalente un fragment PEG ramifié de 20 kDa à Advate et il est produit par PEGylation contrôlée dans laquelle environ 60% des chaînes PEG sont localisées dans le domaine B [189].

#### **a. Données cliniques :**

Un essai de phase I dans lequel l'innocuité et le profil pharmacocinétique du BAX 855 ont été évalués chez 19 sujets atteints d'hémophilie A sévère a été suivi d'un essai pivot de phase II / III mené chez 137 sujets atteints d'hémophilie A sévère précédemment traités et âgés de 12 à 65 ans pour évaluer l'efficacité, pharmacocinétique et sécurité du BAX 855 administré à titre prophylactique deux fois par semaine ou en traitement épisodique ( NCT01599819 et NCT01736475 ; PROLONG-ATE) [190]. La demi-vie moyenne du BAX 855 variait entre 14,3 et 16,0 h, soit 1,4 fois plus longue que celle d'Advate. L'ABR médian sous prophylaxie était de 1,9 avec environ 40% de patients sans saignement, tandis que 96% des épisodes hémorragiques ont été traités avec succès par 1 ou 2 perfusions [190]. Aucun anticorps inhibiteur n'a été détecté.

L'essai pédiatrique de phase III avec BAX 855 ( NCT02210091 ) a inclus 66 enfants précédemment traités atteints d'hémophilie A sévère âgés de moins de 12 ans (32, 48% <6 ans) et a évalué l'immunogénicité, le profil pharmacocinétique, l'efficacité, la sécurité et la qualité de vie pendant le traitement prophylactique avec le BAX 855 dans cette population

de patients [191]. Les enfants ont reçu des perfusions bihebdomadaires de  $50 \pm 10$  UI/kg de BAX 855 sur une période de six mois pour maintenir un niveau minimal supérieur à 1 % et la dose pouvait être augmentée jusqu'à 80 UI/kg selon des critères prédéfinis [ 191]. La demi-vie terminale variait entre 12,7 et 13,9 h confirmant l'allongement de 1,5 fois par rapport à Advate. Le taux moyen total d'hémorragie aiguë était de 3,04 avec un taux moyen d'hémorragie articulaire aiguë de 1,10 et les saignements liés aux blessures étaient les principaux facteurs contribuant au taux total d'hémorragie aiguë [ 191]. Dans l'ensemble, 38% des sujets inscrits n'ont eu aucun saignement pendant l'étude et jusqu'à 83% de tous les saignements ont été traités avec succès par une seule injection. Sur les 14 sujets qui avaient des articulations cibles à l'entrée de l'étude, 10 (71%) avaient une résolution de l'articulation cible. Aucun inhibiteur n'a été détecté au cours de l'étude et une amélioration significative de la qualité de vie au travail , une réduction de la douleur et une augmentation de l'activité physique ont également été observées [ 191 ].

Une étude chirurgicale de phase III avec BAX 855 ( NCT01913405 ) initiée en décembre 2013 et une analyse intermédiaire a été publiée [ 192 ]. Cette première analyse fait état de 15 procédures (11 majeures) chez 15 sujets pour lesquels l'efficacité hémostatique globale intra et périopératoire a été jugée «excellente» et aucun événement indésirable lié n'a été observé [ 192 ]. Les interventions chirurgicales ont été couvertes en moyenne avec 30 à 35 UI / kg deux fois par jour en maintenant un niveau minimal moyen bien au-dessus de 50% jusqu'au 7e jour postopératoire [ 192 ].

### **b. Indications thérapeutiques**

Traitement et prophylaxie des épisodes hémorragiques chez les patients âgés de 12 ans et plus atteints d'hémophilie A (déficit congénital en facteur VIII).

### **c. Posologie :**

#### **❖ Traitement à la demande**

Idem que l'éloctate

## ❖ Prophylaxie

La dose recommandée pour une prophylaxie à long terme est de 40 à 50 UI d'ADYNOVI par kg de poids corporel deux fois par semaine, à 3 ou 4 jours d'intervalle. Des ajustements posologiques et des intervalles d'administration différents peuvent être envisagés en fonction des taux de FVIII obtenus et du syndrome hémorragique de chaque patient.

### 3.2.2.3. JIVI

JIVI a pour principe actif le damoctocog alfa pégol. Il s'agit d'un facteur VIII recombinant délété du domaine B, conjugué par liaison covalente à une molécule de polyéthylène glycol (PEG) de 60 kDa non linéaire (2 chaînes de 30 kDa). La pégylation du FVIII permet de diminuer sa clairance et ainsi d'augmenter sa demi-vie.

#### a. données cliniques

Une étude de phase I ( NCT01184820 ) chez 14 sujets atteints d'hémophilie A sévère a démontré une demi-vie terminale d'environ 19 h pour BAY 94-9027, 50% plus longue que le rFVIII formulé au saccharose avec une récupération comparable [ 193 ]. Sur la base des résultats pharmacocinétiques , une étude de phase II / III ( NCT01580293 ; PROTECT FVIII), multicentrique, ouverte et partiellement randomisée a été conçue et réalisée pour évaluer l'efficacité et l'innocuité de BAY 94-9027 chez 134 patients atteints d'hémophilie A sévère précédemment traités âgés de 12 à 65 ans [ 194]. Les patients traités en prophylaxie avant l'entrée dans l'étude n'étaient éligibles à la prophylaxie qu'avec BAY 94-9027, tandis que ceux précédemment traités à la demande pouvaient choisir de poursuivre le traitement épisodique ou d'entrer dans le bras prophylaxie. Les patients qui sont entrés dans le bras prophylaxie ( n = 114) ont reçu 25 UI / kg de BAY 94-9027 deux fois par semaine pendant une période initiale de 10 semaines. Pendant les 26 semaines suivantes, 86 sur 97 qui avaient une hémorragie intermittente  $\leq 1$  ont ensuite été randomisés 1: 1 pour recevoir BAY 94-9027 toutes les 5 jours ( n = 43; 45 UI / kg comme dose initiale) ou 7 jours ( n = 43 ; 60

UI / kg de dose fixe), tandis que les 11 autres plus les 13 qui ont présenté une hémorragie aigue > ont continué avec BAY 94-9027 30–40 UI / kg deux fois par semaine [ 194]. Environ 25% des patients traités tous les sept jours ont présenté  $\geq 1$  saignement et leur fréquence d'administration a été augmentée à tous les cinq jours ou deux fois par semaine; en revanche, aucun des patients traités tous les cinq jours n'a augmenté sa fréquence d'administration [ 194]. L'ABR médian sous prophylaxie était de 4,1 chez les patients traités deux fois par semaine, de 1,9 chez ceux traités tous les cinq jours et de 0,96 chez ceux qui pouvaient maintenir un intervalle de traitement de sept jours [ 194 ]. Jusqu'à 91% des épisodes hémorragiques ont été contrôlés avec une ou deux perfusions. Aucun patient n'a développé d'anticorps neutralisants anti-FVIII [ 194 ]. Un essai de phase 3 multicentrique, ouvert et non randomisé est actuellement en cours pour étudier l'efficacité et l'innocuité de BAY 94-9027 chez des enfants atteints d'hémophilie A sévère âgés de moins de 12 ans précédemment traités (NCT01775618 ; PROTECT VIII Kids) [ 195]. L'étude a été récemment achevée mais les résultats définitifs n'ont pas encore été publiés dans leur intégralité. Les enfants ont commencé la prophylaxie avec BAY 94-9027 soit 25 UI / kg deux fois par semaine ou 45 UI / kg tous les cinq jours ou 60 UI / kg une fois par semaine à la discrétion de l'investigateur [ 195 ]. Selon le dernier rapport, 61 enfants ont été traités (32, 52% âgés de <6 ans) et 8/15 (53%) de ceux qui ont commencé une fois par semaine ont dû augmenter la fréquence d'administration soit tous les cinq jours ( n = 6) ou deux fois par semaine ( n = 2). L'ABR médian dans tous les bras de traitement était de 2,87 pour tous les saignements, 0 pour les saignements spontanés et 0 pour les saignements articulaires. Presque tous les saignements (92%) ont été traités avec succès avec 1 à 2 perfusions et 25% des enfants n'ont eu aucun saignement pendant la période d'étude [ 195]. Trois enfants qui ont présenté des symptômes d'hypersensibilité et cinq qui ont montré une perte d'efficacité de BAY 94-9026 ont été retirés de l'étude. Aucun inhibiteur anti-FVIII n'a été détecté [195].

### **b. Indications thérapeutiques**

Traitement et prophylaxie des épisodes hémorragiques chez les patients présentant une hémophilie A (déficit congénital en facteur VIII), à partir de 12 ans et préalablement traités.

### **c. Posologie**

#### **❖ Traitement à la demande :**

idem que l'électate.

#### **❖ Prophylaxie :**

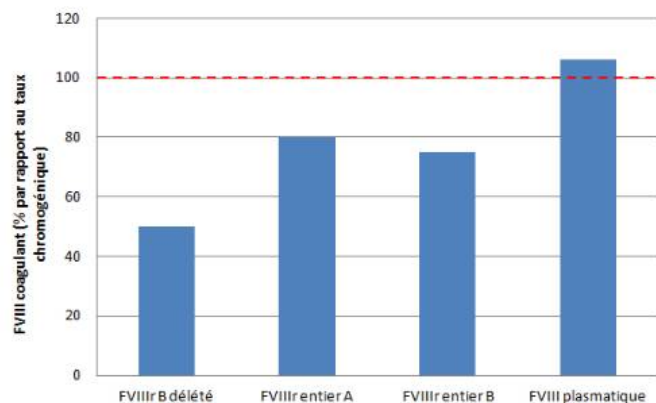
Toutes les décisions de traitement pour déterminer les schémas thérapeutiques prophylactiques appropriés doivent s'appuyer sur le jugement clinique en tenant compte des caractéristiques spécifiques du patient et de la réponse au traitement. Pour le traitement prophylactique, la dose est de 45 à 60 UI/kg tous les 5 jours. Selon les caractéristiques cliniques du patient, la dose pourrait également être de 60 UI/kg tous les 7 jours ou 30 à 40 UI/kg deux fois par semaine. Pour les patients en surpoids, la dose maximale par injection pour le traitement prophylactique ne doit pas dépasser 6000 UI environ.

### **3.3. Quelle surveillance biologique pour les patients hémophiles A substitués par facteur VIII recombinant à demi vie allongée**

- l'intérêt de la surveillance :
  - Au cours du traitement, il est conseillé d'effectuer un dosage approprié du taux de facteur VIII plasmatique afin de confirmer que les taux de FVIII ont été atteints, puisque la réponse au traitement peut varier d'une personne à une autre.
  - Dans le cas particulier d'interventions chirurgicales ou d'hémorragie, la surveillance précise du traitement de substitution par une mesure de l'activité coagulante plasmatique du facteur VIII de la coagulation est indispensable.
- La problématique de la surveillance :

Il existe deux principales méthodes pour déterminer l'activité coagulante plasmatique du FVIII substitué à savoir - la méthode chromométrique basée sur le temps de céphaline activateur, les résultats de cette méthode peuvent être significativement influencés par le type de réactif de TCA et par l'étalon de référence utilisés pour le test. Ce point est particulièrement important lors d'un changement de laboratoire et/ou de réactif utilisé pour le test. - la méthode chromogénique

Il est à noter qu'il peut exister des écarts significatifs entre les résultats avec un test chromogénique et ceux obtenus avec certains tests chromométrique selon le type de réactifs utilisés .En effet ce point a été rapporté en 1998 par Mikaelsson et al. Les taux obtenus avec la méthode chromométrique(OSA) étaient de 20%à 50% plus bas qu'avec la méthode chromogénique (CSA) avec les produits recombinants et plus particulièrement le FVIII recombinant dont le domaine B est délété[196]. En revanche aucune différence n'était retrouvée entre les deux méthodes de dosage avec les concentrés d'origine plasmatiche (Figure 35). cette différence pourrait être due à la composition et à la concentration en phospholipides du réactif utilisé pour le TCA dans la méthode OSA car il existe une sensibilité accrue du dosage du rFVIII B délété aux phospholipides présents dans les réactifs APTT du commerce. Cette influence de la composition et de la concentration en phospholipides a bien été démontrée par Mikaelsson puisque lorsqu'il dilue les phospholipides ou lorsqu'il travaille avec des concentrations en phospholipides dites physiologiques c'est-à-dire avec des concentrations en phosphatidylserine inférieures à10% (faible ratio phosphatidylserine/phosphatidylcholine), les discordances OSA/CSA se gomme. Les phospholipides dans le réactif apparaîtraient comme un déterminant de la variabilité du test mais probablement pas le seul.



Moyenne du taux de FVIII obtenu par méthode OSA (à partir de 12 réactifs APTT différents) en pourcentage de l'activité obtenue par méthode CSA.

**Figure 36 :** Comparaison FVIII OSA versus FVIII CSA de concentrés en FVIII conventionnels, d'après Mikaelsson et al.[196].

**rFVIII-Fc (Elocta®) :** Une étude de 2018 sur l'Elocta® a montré des résultats obtenus par la méthode chromométrique 22 à 23% inférieurs en comparaison à la méthode chromogénique pour des échantillons plasmatiques de patients traités. L'impact potentiel de l'utilisation d'une technique sous-estimant l'activité de la molécule injectée est le sur-traitement des patients ; une technique sur-estimant l'activité peut quant à elle entraîner le sous-traitement des patients, avec les risques associés [197]. Ainsi, une étude de 2019 menée par le Groupe Français d'Etude de l'Hémostase et de la Thrombose montre qu'il est recommandé pour la majorité des molécules recombinantes utilisées pour le traitement de l'hémophilie A d'utiliser le dosage chromogénique pour le suivi des patients [198].

**BAX 855 (Adynovate®):** Deux études s'opposent: une étude menée dans 8 laboratoires suisses [199] a testé des échantillons surchargés in vitro à cinq concentrations différentes selon les méthodes OSA et CSA, successivement avec un standard local puis avec un standard spécifique. Les résultats montraient une surestimation des concentrations cibles attendues à la fois avec la méthode OSA(activateurs utilisés: silice, kaolin et acide ellagique) et CSA lorsque le standard local était utilisé. L'utilisation d'un standard spécifique permettait une meilleure précision du taux de FVIII chez les patients substitués par BAX 855, notamment avec la méthode CSA. A l'inverse, une étude multicentrique internationale publiée par Turecek et al.[200]utilisant l'Advate®comme comparateur ne retrouvait pas les mêmes résultats. Des échantillons surchargés in vitro à trois concentrations différentes ont été dosés par méthodes OSA avec plusieurs réactifs APTT et par méthode CSA. Les auteurs validaient l'utilisation aussi bien de la méthode OSA que de la méthode CSA.

**rFVIII pégylé (BAY94-9027):** les auteurs de cette étude multicentrique avec pour comparateur le standard international (WHO-8)concluent que les réactifs à base d'acide ellagique (SynthAFax, Dade Actin) sont à privilégier pour le suivi des patients substitués par BAY94-9027. Certains réactif sà base de silice(APTT-SP, STA PTT 5) sous-estiment les taux en facteur VIII et sont à éviter(probable interférence in vitro du groupement PEG de 60 kDa avec la surface d'activation produite par la silice).Par contre avec certains réactifs, par exemple les activateurs à base de kaolin, il existe un risque de surestimation.La méthode CSA peut être

utilisée[201].L'effet clinique du facteur VIII est l'élément le plus important pour l'évaluation de l'efficacité du traitement. Il peut être nécessaire d'ajuster la posologie au cas par cas pour chaque patient afin d'atteindre des résultats cliniques satisfaisants. Si la dose calculée ne permet pas d'atteindre les taux de facteur VIII attendus ou si le saignement n'est pas contrôlé après administration de la dose calculée, la présence d'un inhibiteur circulant du facteur VIII ou d'anticorps anti-PEG chez le patient doit être envisagée.

#### 4. F I X :

Les FIX utilisés dans le cadre d'une thérapeutique substitutive peuvent être soit d'origine plasmatique (FIX plasmatique), soit d'origine biotechnologique (FIX recombinant). Leurs principales caractéristiques sont présentées dans les tableaux n° 11 et n° 12.

##### 4.1. FIX Plasmatiques :

Trois spécialités pharmaceutiques de FIX disposent d'une AMM en France.

Betafact et octafix sont disponibles au Maroc

Spécialité (DCI)	Etales Spécifiques	Volume (ml)	Quantité/ Flaçon (UI)	Forme	Solvant et nécessaire fourni	Laboratoire
<b>BETAFACT</b> ® (FIX humain)	Traitement SD Nanofiltration 15 nm	5	250	poudre	EPPI Dispositif de reconstitution sans aiguille (Mix2Vial™)	LFB Biomédicaments
		5	500			
		10	1000			
<b>MONONINE</b> ® (FIX humain)	Thiocyanate de sodium Nanofiltration 20 nm	10	1 000			CSL Behring
<b>OCTAFIX</b> ® (FIX humain)	Traitement SD Nanofiltration 20 nm	5	500			Octapharma
		10	1 000			

**Tableau 11** : Principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques de FIX plasmatique[170]

## 4.2. F IX Recombinant :

Parmi les FIX recombinants, on distingue ceux dits à demi vie « classique » et ceux à demi vie allongée. Tous sont issus de lignées cellulaires de production CHO.

### 4.2.1. F IX recombinants à demi-vie « classique » :

Les principales caractéristiques sont présentées dans le tableau n° 12.

Spécialité (DCI)	Caractéristique	Étapes Spécifiques d'activation virale	Volume (ml)	Quantité/Flacon (UI)	Forme	Solvant et nécessaire fourni	Laboratoire
<b>BENEFIX</b> ® (Nonacog alfa)	rFIX pleine longueur Cellule CHO	Traitement SD Nanofiltration 20 nm	5	250	Poudre	NaCl (0.234%) Seringue préremplie (FuseNGO)	Pfizer
				500			
				1 000			
				2 000			
				3 000			
<b>RIXUBIS</b> ® (Nonacog gamma)	rFIX pleine longueur Cellule CHO	Traitement SD Nanofiltration 15 nm	5	250	Poudre	EPPI Dispositif de reconstruction sans aiguille (Baxject II)	Shire / Takeda
				500			
				1 000			
				2 000			
				3 000			

**Tableau 12 :** Principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques de FIX recombinant à demi-vie« classique » [170]

### 4.2.2. F IX recombinants à demi-vie allongée :

La lourdeur du traitement substitutif en FAH est liée à la nécessité du recours aux injections intraveineuses itératives du médicament. Une des voies d'amélioration de ces thérapeutiques est de proposer un allongement de la demi-vie permettant d'espacer au cours du temps les injections. Différentes technologies ont été proposées telles que la fusion à un fragment Fc d'immunoglobuline, à l'albumine, ou par pégylation . Les principales caractéristiques sont présentées dans le tableau n° 13.

Ainsi trois produits EHL-rFIX ont achevé des études cliniques de phase 3 et sont homologués pour les patients adolescents et adultes [ 202 , 203 ], dont rFIXFc (Alprolix, Sobi, Stockholm, Suède; Bioverativ, une société Sanofi, Waltham, MA, États-Unis) [ 172 ], nonacog beta pegol (N9-GP, Novo Nordisk A / S, Bagsværd, Danemark) [ 204] et rFIX-FP (Idelvion, CSL Behring, King of Prussia, PA, USA) [ 205 ] (Tableau 14)

Spécialité (DCI)	Caractéristique	Étapes Spécifiques d'inactivation virale	Volume (ml)	Quantité/ Flacon (UI)	Forme	Solvant et nécessaire fourni	Laboratoire
<b>ALPROLI X®</b> (eftrénonacog alfa)	Fusion de rFIX pleine longueur avec le fragments Fc d'Ig Cellule CHO	Nanofiltration 15 nm	5	250	Poudre	EPPI Dispositif de reconstruction sans aiguille	Sobi
				500			
				1 000			
				2 000			
				3 000			
<b>REFIXIA®</b> * (nonacog bêta pégol)	rFIX pleine longueur PEG (40 kDa) Cellule CHO	Chromatographie d'échange d'anion Ultra et diafiltration	4	500	Poudre	Solvant (Eau PPI/ Histidine) Seringue pré remplie et adaptateur	Novonordisk
				1 000			
				2 000			
<b>IDELVION®</b> * (albutrepenonacog alfa)	Fusion rFIX pleine longueur avec l' albumine Cellule CHO	Traitement SD Nanofiltration 20 nm	2,5	250	Poudre	EPPI Dispositif de reconstruction sans aiguille (Mix2VialTM)	CSL Behring
				500			
			5	1 000			
				2 000			

**Tableau 13 :** Principales caractéristiques des spécialités pharmaceutiques de FIX recombinant à demi-vie allongée[170]

Factor IX - extended half-life concentrates						
Alprolix	rFIX-Fc	Bioverativ/ Sobi	Fc fusion to FIX	82.1	Licensed	[37]
Idelvion	rFIX-FP	CSL Behring	Albumin fusion to FIX	102	Licensed	[38]
Rebimyn/refixia (N9-GP)	Nonacog beta pegol	Novo Nordisk	PEGylation of FIX	96.3	Licensed	[39]
EHL-rFVIII: Extended half-life recombinant factor VIII, FP: fusion protein, PEG: polyethylene glycol.						

**Tableau 14 :** Concentrés EHL -rFIX actuellement disponibles [ 203 ].

#### 4.2.2.1. ALPROLIX

rFIXFc ou eftrenonacog alfa, est une nouvelle protéine recombinante conçue qui résulte de la fusion au niveau génomique du gène FIX avec le fragment Fc d'IgG1. rFIXFc est constitué d'une seule molécule de FIX fusionnée par son extrémité carboxy-terminale à l'extrémité N-terminale d'un monomère Fc de l'IgG1 Fc humain, qui forme une liaison disulfure avec un second monomère Fc pendant la synthèse et la sécrétion des cellules. L'activation de FIX est obtenue sans la nécessité d'un linker clivable entre FIX et Fc, contrairement avec d'autres protéines de fusion . rFIXFc est produit dans des cellules HEK-293 [ 206 ].

##### a. données cliniques :

L'essai de phase I / IIa ( NCT00716716 ) a porté sur 14 sujets atteints d'hémophilie B sévère et a montré une demi-vie moyenne 3 fois plus longue que celle de la molécule FIX non modifiée [ 207]. La récupération incrémentielle in vivo était similaire à celle du FIX dérivé du plasma. rFIXFc a été bien toléré sans effets indésirables graves. Aucun des sujets n'a développé d'inhibiteurs anti-FIX ou d'anticorps anti-rFIXFc [ 207 ]. L'essai pivot de phase III était une étude ouverte, multicentrique et non randomisée qui évaluait la pharmacocinétique comparative du rFIXFc et du rFIX ainsi que l'innocuité, la tolérabilité et l'efficacité de l'administration répétée de rFIXFc pour la prophylaxie et le traitement des saignements aigus chez 123 adultes précédemment traités et adolescents ( $\geq 12$  ans) atteints d'hémophilie B sévère ou modérément sévère ( $\text{FIX} \leq 2 \text{ UI / dL}$ ) (NCT01027364 ; B-LONG) [ 208]. Les patients inclus dans l'étude ont été affectés à l'un des trois groupes de traitement et 114/123 (93%) ont finalement été inclus dans l'analyse d'efficacité:

- groupe 1, prophylaxie hebdomadaire avec 50 UI / kg de rFIXFc comme dose initiale, éventuellement ajustée en fonction des résultats pharmacocinétiques pour maintenir un niveau minimum cible entre 1 et 3 UI / dL ( n= 61)
- groupe 2, prophylaxie avec 100 UI/kg de rFIXFc administrée tous les 10 jours pour commencer et avec un intervalle ajusté en fonction des résultats pharmacocinétiques pour maintenir un niveau minimum cible entre 1 et 3 UI/dL ( n = 26)

-groupe 3, traitement épisodique avec 12 à 100 UI / kg de rFVIII<sub>IFc</sub> en fonction de la gravité des saignements (n = 27). Tous les sujets qui étaient déjà sous prophylaxie avant l'entrée dans l'étude ont été inscrits dans le groupe 1 ou 2 à la discrétion de l'investigateur alors que ceux sous traitement épisodique avaient la possibilité d'entrer dans l'un des trois groupes de traitement [ 208 ]. Un quatrième groupe de traitement concernait les patients candidats à la chirurgie, qui sont entrés dans la sous-étude chirurgicale soit directement, soit en provenance des groupes 1, 2 ou 3 [ 208]. Les critères d'évaluation principaux de l'étude comprenaient l'ABR, le développement d'inhibiteurs et d'autres événements indésirables. La demi-vie terminale du rFIX<sub>IFc</sub> était de 82 h, soit environ 4 fois plus longue que celle du rFIX et le temps nécessaire pour atteindre un niveau minimal de 1 UI / dL était de 11,2 jours contre 5,1 jours avec le rFIX. Les ABR médians observés dans les 3 bras de traitement étaient respectivement de 3.1 , 2.4 et 18.7. Dans le groupe 1, la dose médiane de prophylaxie hebdomadaire était de 45 UI / kg et dans le groupe 2, l'intervalle posologique médian était de 12,5 jours [ 208]. Parmi les sujets du groupe 2 qui étaient à l'étude pendant  $\geq$  six mois, 54% ont atteint un intervalle d'administration  $\geq$  14 jours au cours des trois derniers mois de l'étude [ 208]. Dans tous les bras de traitement, 90% des épisodes hémorragiques ont été contrôlés par une seule injection. Le rFIX<sub>IFc</sub> a été bien toléré et aucun sujet n'a développé d'anticorps neutralisants anti-FIX [208 ].

L'essai ouvert de phase III évaluant l'innocuité, l'efficacité et la pharmacocinétique du rFIX<sub>IFc</sub> chez des enfants précédemment traités âgés moins de 12 ans atteints d'hémophilie B sévère ou modérément sévère ( $\text{FIX} \leq 2 \text{ UI / dL}$ ) ( NCT01440946 ; Kids B-LONG) a inclus 30 sujets [ 209 ]. Au début de l'étude, tous les enfants ont reçu une prophylaxie à une dose initiale de 50 à 60 UI / kg de rFIX<sub>IFc</sub> une fois par semaine avec une dose et un intervalle de dosage ajustés en fonction des résultats pharmacocinétiques et de la tendance hémorragique [ 209 ]. La dose prophylactique médiane était de 58,6 UI / kg de rFIX<sub>IFc</sub> administrée une fois par semaine. Dans l'ensemble, l'ABR médian était de 2,0 pour tous les saignements et de 0,0 pour les saignements articulaires spontanés. Dix patients (33%) n'ont rapporté aucun saignement au cours de l'étude [ 209 ].

L'innocuité et l'efficacité à long terme du rFIXFc ont été évaluées de manière plus approfondie dans le cadre d'un essai d'extension ( NCT01425723 ; B-YOND) à partir duquel une analyse intermédiaire a été récemment publiée [ 210 ]. Au moment de l'analyse intermédiaire, l'étude comprenait 93 et 23 sujets issus des études B-LONG et Kids B-LONG, respectivement, et avaient  $\geq 100$  ED à rFIXFc. Les résultats d'efficacité et d'innocuité ont confirmé ceux obtenus dans les essais pivots avec des ABR faibles avec tous les schémas prophylactiques et la grande majorité des patients ont maintenu le même schéma prophylactique suivi dans l'essai pivot [ 210].

Une sous-étude chirurgicale a été réalisée dans le cadre de l'étude B-LONG comme quatrième groupe de traitement et les résultats ont été publiés séparément de l'essai pivot . Au total, 14 procédures majeures ont été réalisées chez 12 sujets (aucune chirurgie mineure n'a été autorisée par le protocole), la chirurgie orthopédique était le type le plus courant (n = 11/14, 79%). Toutes les procédures ont été jugées excellentes, mais l'une d'entre elles a été jugée bonne . La dose médiane du bolus préopératoire était de 91 UI/kg ; la plupart des sujets ont reçu 2 à 3 perfusions au cours des jours post-opératoires 1 à 3 et aucun sujet n'a reçu de dose quotidienne pendant toute la période péri-opératoire [211]

#### **b. Indication thérapeutique :**

- Traitement et prophylaxie des épisodes hémorragiques chez les patients atteints d'hémophilie B (déficit congénital en facteur IX).

#### **c. Posologie :**

Le traitement doit se faire sous la surveillance d'un médecin expérimenté dans le traitement de l'hémophilie.

Patients non préalablement traités : La sécurité et l'efficacité d'ALPROLIX chez les patients non préalablement traités n'ont pas encore été établies. Aucune donnée n'est disponible.

### Posologie :

La dose et la durée du traitement substitutif dépendent de la sévérité du déficit en facteur IX, de la localisation et de l'intensité de l'épisode hémorragique, ainsi que de l'état clinique du patient.

Le nombre d'unités de facteur IX Fc recombinant administrées est exprimé en Unités Internationales (UI), conformément au standard actuel de l'OMS pour les produits contenant du facteur IX.

L'activité coagulante du facteur IX dans le plasma est exprimée soit en pourcentage (par rapport au plasma humain normal), soit en Unités Internationales (par rapport au Standard International du facteur IX plasmatique). Une Unité Internationale (UI) d'activité du facteur IX recombinant correspond à la quantité de facteur IX contenue dans un mL de plasma humain normal.

#### ❖ Traitement à la demande :

Le calcul de la dose nécessaire de facteur IX recombinant est basé sur des données empiriques selon lesquelles 1 Unité Internationale (UI) de facteur IX par kg de poids corporel augmente l'activité plasmatique du facteur IX de 1 % de l'activité normale (UI/dL).

La dose nécessaire est déterminée à l'aide de la formule suivante : Nombre d'Unités (UI) nécessaires = poids corporel (kg) × augmentation souhaitée du taux de facteur IX (%) (UI/dL) × l'inverse de la récupération observée (UI/kg par UI/dL)}

La quantité administrée et la fréquence d'administration doivent toujours être adaptées selon l'efficacité clinique au cas par cas. Si une administration répétée est nécessaire pour contrôler le saignement, la demi-vie prolongée d'ALPROLIX doit être prise en compte . On ne devrait pas observer de retard dans le délai d'obtention du pic d'activité.

En cas de survenue de l'un des événements hémorragiques suivants, l'activité du facteur IX ne doit pas être inférieure à l'activité plasmatique indiquée (en % de la normale ou en UI/dL) pendant la période correspondante. Le tableau suivant peut être utilisé pour établir la posologie lors d'épisodes hémorragiques et lors de chirurgies :

Degré d'hémorragie / type d'intervention chirurgicale	Taux de facteur IX nécessaire (%) (UI/dL)	Fréquence d'administration (heures) / durée du traitement (jours)
<u>Hémorragie</u> Début d'hémarthrose, de saignement musculaire ou buccal	20 – 40	Renouveler l'injection toutes les 48 heures, jusqu'à la fin de l'épisode hémorragique, indiquée par la disparition de la douleur, ou l'obtention d'une cicatrisation.
Hémarthrose plus étendue, hémorragie musculaire ou hématome	30 – 60	Renouveler l'injection toutes les 24 à 48 heures jusqu'à la disparition de la douleur et de l'invalidité aiguë.
Hémorragie engageant le pronostic vital	60 – 100	Renouveler l'injection toutes les 8 à 24 heures jusqu'à disparition du risque vital.
<u>Chirurgie</u> Chirurgie mineure, dont extraction dentaire	30 – 60	Renouveler l'injection au bout de 24 heures, selon les besoins, jusqu'à cicatrisation. <sup>1</sup>
<u>Chirurgie majeure</u>	80 – 100 (pré et postopératoire)	Renouveler l'injection toutes les 8 à 24 heures, selon les besoins, jusqu'à cicatrisation satisfaisante de la plaie, puis poursuivre le traitement pendant au moins 7 jours supplémentaires afin de maintenir une activité coagulante du facteur IX plasmatique de 30 % à 60 % (UI/dL).

<sup>1</sup> Chez certains patients et dans certaines circonstances, l'intervalle entre les doses peut être prolongé jusqu'à 48 heures.

**Tableau 15 :** Tableau pour établir la posologie d'ALPROLIX lors d'épisodes hémorragiques et de chirurgies

#### ❖ Prophylaxie

Pour la prophylaxie à long terme contre les saignements, la posologie initiale recommandée est de :

- 50 UI/kg une fois par semaine, en ajustant la dose en fonction de la réponse du patient,

ou

- 100 UI/kg une fois tous les 10 jours, en ajustant l'intervalle en fonction de la réponse du patient.

La dose maximale recommandée pour la prophylaxie est de 100 UI/kg.

Population gériatrique : L'expérience chez les patients âgés de  $\geq 65$  ans est limitée.

Population pédiatrique : Chez les enfants âgés de moins de 12 ans, des doses plus

élevées ou une administration plus fréquente peuvent être nécessaire, et la dose initiale recommandée est de 50 - 60 UI/kg tous les 7 jours. Chez les adolescents âgés de 12 ans et plus, les posologies recommandées sont les mêmes que chez l'adulte. La dose maximale recommandée pour la prophylaxie est de 100 UI/kg.

#### 4.2.2.2. IDELVION

rIX-FP est une protéine à chaîne unique recombinante obtenue par fusion de FIX humain recombinant avec de l'albumine humaine recombinante. Le rIX-FP est produit dans des cellules CHO et aucun excipient d'origine animale ou humaine n'est inclus dans le processus de fabrication ni dans la formulation finale. Puisque l'albumine est protégée contre la dégradation par une liaison dépendant du pH au récepteur Fc néonatal, rIX-FP a une demi-vie circulante augmentée par rapport au rFIX.

##### a. Données cliniques :

La pharmacocinétique, l'efficacité et l'innocuité du rIX-FP ont été évaluées dans le cadre d'un vaste programme d'essais cliniques appelé PROLONG-9FP qui comprenait des essais de phase I / II / III et une étude chirurgicale.

Les essais de phase I (NCT01233440 ; NCT01361126) ont inclus 40 sujets ayant subi une pharmacocinétique comparative avec les produits FIX standard [212, 213 ]. La demi-vie moyenne après une dose unique de rIX-FP était de 92 à 95 h et la récupération progressive in vivo était de 1,4 à 1,5, ces deux paramètres étant supérieurs à ceux des produits FIX non modifiés. Après une dose unique de 25 UI / kg de rIX-FP, le taux résiduel de FIX à sept et 14 jours après la perfusion était d'environ 5–7 et 2–3 UI / dL, respectivement [212, 213].

L'essai de phase III était un essai multinational, ouvert, croisé à séquence unique, non randomisé, dans lequel la pharmacocinétique, l'efficacité et l'innocuité du rIX-FP utilisé pour le traitement et la prévention des épisodes hémorragiques ont été évaluées chez 63 adultes et adolescents atteints d'hémophilie B sévère ou modérément sévère ( $\text{FIX} \leq 2 \text{ UI / dL}$ )

précédemment traités (âgés de 12 à 61 ans) (NCT0101496274) [ 214]. Dans l'étude, l'efficacité des schémas prophylactiques de sept jours et de 14 jours a été également évaluée. À leur entrée dans l'étude, les patients ont été affectés soit à un traitement prophylactique (groupe 1) , soit à un traitement à la demande (groupe 2) , en fonction du schéma thérapeutique précédent. Le groupe 1 a reçu chaque semaine 35 à 50 UI / kg de rIX-FP pendant 26 semaines, après quoi il a été autorisé à passer à une prophylaxie de 10 ou 14 jours avec respectivement 50 ou 75 UI / kg de rIX-FP [214]. Le groupe 2 a reçu un traitement à la demande pendant les 26 premières semaines, suivi d'une prophylaxie de 7 jours au cours de la période d'étude suivante. La demi-vie terminale moyenne du rIX-FP était de 102 h, soit 4,3 fois plus longue que celle des produits FIX précédemment utilisés par les patients. Avec rIX-FP 40 UI / kg par semaine et 75 UI / kg toutes les deux semaines, les taux minimaux moyens de 20 et 12 UI / dL ont été maintenus [ 214 ]. Chez les sujets qui sont passés du régime à la demande au régime prophylactique, un taux de résolution de 100% des articulations cibles a été observé et l'ABR spontané médian était de 0 dans tous les régimes prophylactiques [214]. Dans l'ensemble, 94% des épisodes hémorragiques ont été traités avec succès par une seule injection. Aucun patient n'a développé d'inhibiteurs et aucun problème de sécurité n'a été observé.

Un essai pédiatrique de phase III a évalué la pharmacocinétique, l'efficacité et l'innocuité du rIX-FP chez 27 enfants âgés de 1 à 11 ans ayant déjà été traités pour une hémophilie B sévère et modérément sévère ( $\text{FIX} \leq 2 \text{ UI / dL}$ ) ( NCT01662531 ) [ 215]. Tous les enfants ont reçu une prophylaxie avec 35 à 50 UI / kg de rIX-FP une fois par semaine. La demi-vie terminale moyenne du rIX-FP était de 91,4 h, soit 4,3 fois plus longue que celle du précédent produit FIX, confirmant les résultats de l'essai pivot. Le taux médian d'ABR était de 0 avec une dose prophylactique médiane de 46 UI / kg et un niveau résiduel minimal médian de 13,4 UI / dL. Tous les résultats étaient similaires chez les enfants âgés de  $< \text{et} \geq 6$  ans [ 215 ]. Environ 89% des saignements ont été gérés avec succès avec une seule injection. Aucun patient n'a développé d'inhibiteurs anti-FIX et aucun problème de sécurité n'a été observé.

L'efficacité et la tolérance de rIX-FP en milieu chirurgical ont été évaluées à l'occasion de 21 interventions réalisées chez 19 patients (dont neuf chirurgies orthopédiques majeures chez huit sujets) dans le cadre des deux essais de phase III susmentionnés et publiés séparément [ 216] . L'efficacité hémostatique a été jugée excellente ou bonne pour toutes les interventions orthopédiques: 8/9 d'entre elles ont été prises en charge avec une seule dose préopératoire de rIX-FP et 7/9 ont reçu la première dose postopératoire plus de 24 h après la chirurgie [ 216 ]. Le nombre médian de perfusions administrées au cours des 14 jours postopératoires était de sept avec une consommation médiane globale de concentré de 375 UI / kg et des concentrations résiduelles bien supérieures à 50 UI / dL [216].

### **b. Indication thérapeutique**

Traitement et prophylaxie des hémorragies chez les patients atteints d'hémophilie B .

IDELVION est indiqué chez les patients dans toutes les tranches d'âge .

### **c. Posologie**

Patients non préalablement traités La sécurité et l'efficacité d'IDELVION chez les patients non préalablement traités n'ont pas encore été établies.

#### ❖ Traitement à la demande :

Le calcul de la dose requise de facteur IX repose sur le fait qu'une UI de facteur IX par kg de poids corporel augmente l'activité plasmatique du facteur IX de 1,3 UI/dl (1,3 % de l'activité normale) chez les patients âgés de 12 ans et plus et de 1,0 UI/dl (1,0 % de l'activité normale) chez les patients de moins de 12 ans. La dose requise est calculée à l'aide de la formule suivante :

Dose requise (UI) = poids corporel (kg) x augmentation de facteur IX souhaité (% de la normale ou UI/ dl) x Inverse de la récupération observée (UI/ kg par UI/ dl)

Augmentation attendue du taux de facteur IX (UI/ dl ou % de la normale) = Dose (UI) x récupération (UI/ dl par UI/ kg)/ poids corporel (kg)

La quantité administrée et la fréquence d'administration doivent toujours être adaptées à l'efficacité clinique au cas par cas.

a-Patients de moins de 12 ans :

Pour une récupération progressive d'1 UI/ dl par 1 UI/kg, la dose est calculée comme suit : Dose (UI) = poids corporel (kg) x augmentation de facteur IX souhaité (UI/dl) x 1 dl/kg

b-Patients de plus de 12 ans :

Pour une récupération progressive de 1,3 UI/dl par 1 UI/kg, la dose est calculée comme suit : Dose (UI) = poids corporel (kg) x augmentation de facteur IX souhaité (UI/dl) x 0,77 dl/kg. En cas de survenue des événements hémorragiques suivants, l'activité du facteur IX ne doit pas diminuer en dessous du taux d'activité plasmatique donné (en % de l'activité normale ou en UI/dl) pour la période correspondante. Le Tableau suivant peut être utilisé comme référence pour la posologie en cas d'épisodes hémorragiques et de chirurgie.

Degré d'hémorragie/ Type de procédure chirurgicale	Taux de facteur IX requis (%) ou (UI/dl)	Fréquence des doses (heures)/ Durée du traitement (jours)
<u>Hémorragie</u> Hémarthrose mineure ou modérée, hémorragie musculaire (excepté l'ilio-psoas) ou buccale	30 – 60	Une dose unique doit être suffisante pour la majorité des épisodes hémorragiques. Une dose d'entretien après 24– 72 heures en cas d'épisode hémorragie.
<u>Hémorragie majeure</u> Hémorragie mettant en jeu le pronostic vital, hémorragie musculaire profonde, y compris ilio-psoas	60 – 100	Répéter la perfusion toutes les 24 – 72 heures la 1 <sup>ère</sup> semaine et perfusion d'une dose d'entretien jusqu'à résolution des épisodes s et cicatrisation.
<u>Chirurgie mineure</u> incluant une extraction dentaire	50 – 80 (niveau initial)	Une dose unique doit être suffisante pour la majorité des chirurgies mineures. Une dose d'entretien après 24 – 72 heures jusqu'à résolution des épisodes hémorragiques et cicatrisation.
<u>Chirurgie majeure</u>	60 – 100 (niveau initial)	Répéter la perfusion toutes les 24 – 72 heures la 1 <sup>ère</sup> semaine et perfusion d'une à 2 doses d'entretien par semaine jusqu'à résolution des épisodes hémorragiques et cicatrisation.

**Tableau 16 :** Posologies de référence en cas d'épisodes hémorragiques et de chirurgie

## ❖ Prophylaxie

Pour la prophylaxie à long terme des hémorragies chez les patients atteints d'hémophilie B sévère, les doses usuelles sont de 35 à 50 UI / kg une fois par semaine. Certains patients bien contrôlés par un traitement d'une dose une fois par semaine peuvent être traités avec un maximum de 75 UI / kg sur un intervalle de 10 ou 14 jours. Dans certains cas, en particulier chez les patients plus jeunes, des intervalles d'injection plus courts ou des doses plus élevées peuvent être nécessaires. Après un épisode hémorragique lors de la prophylaxie, les patients doivent maintenir leur traitement prophylactique en prenant en compte que les administrations d'IDELVION pour le traitement de l'hémorragie et pour la prophylaxie doivent être espacées d'au moins 24h, voire plus en fonction du patient

Population pédiatrique : Pour la prophylaxie de routine la posologie recommandée pour les sujets pédiatriques est de 35 à 50 UI / kg une fois par semaine.

### 4.2.2.3. REFIXIA

Le nonacog bêta pegol ou N9-GP est une molécule FIX recombinante avec une demi-vie prolongée obtenue par glycopegylation dirigée de sorte qu'un fragment PEG ramifié de 40 kDa est attaché au peptide d'activation de FIX sur deux sites possibles (Asn157 ou Asn167). La glycopegylation est obtenue par voie enzymatique et les acides sialiques terminaux sur les structures N-glycanes de rFIX sont remplacés par de l'acide sialique conjugué au PEG. Lors de l'activation physiologique, le peptide d'activation (avec le PEG qui lui est attaché) est clivé pour donner le FIX activé de type sauvage. La partie rFIX de N9-GP est synthétisée dans des cellules CHO et la séquence d'acides aminés est identique à celle des produits rFIX non modifiés [ 217 ].

Les incertitudes liées à l'accumulation de PEG détecté dans les plexus choroïdes et les cellules épithéliales au cours des études chez l'animal, et l'absence d'expérience sur l'administration chronique des médicaments pégylés en pédiatrie ont conduit l'EMA à octroyer l'AMM uniquement chez les patients d'au moins 12 ans. Il s'agit actuellement du seul FIX dont l'AMM a été restreinte à cette population.

### **a. données cliniques :**

Les données de l'essai de phase I ( NCT00956345 ; Paradigm <sup>TM</sup> 1) obtenues auprès de 16 sujets précédemment traités ayant reçu une dose de leur produit FIX habituel suivie de la même dose unique de N9-GP ont montré une prolongation de cinq fois de la demi-vie avec ce dernier permettant une prophylaxie hebdomadaire [ 218]. En outre , la récupération incrémentielle in vivo du N9-GP était supérieure de 94% et de 20% respectivement par rapport aux produits recombinants et aux produits plasmatiques dérivés du FIX [ 218]. Le N9-GP a été bien toléré par tous les sujets sauf un, qui a montré une réaction d'hypersensibilité peu de temps après l'injection de N9-GP ce qui entraîné son retrait de l'essai. Aucun des sujets (y compris ce dernier) n'a développé d'inhibiteurs. L'essai de phase III mené chez des patients adultes et adolescents était une étude multinationale, randomisée et en simple aveugle, visant à étudier la pharmacocinétique, l'innocuité et l'efficacité du N9-GP chez 74 patients atteints d'hémophilie B précédemment traités ( $\text{FIX} \leq 2 \text{ UI / dL}$ ) ( NCT01333111 ; Paradigm <sup>TM</sup> 2) [ 219]. Les patients ont reçu un traitement épisodique ou prophylactique basé sur leur schéma précédent et sur leurs préférences; ceux qui étaient sous prophylaxie ont été répartis au hasard 1: 1 en aveugle pour recevoir soit 10 UI / kg, soit 40 UI / kg de N9-GP une fois par semaine pendant 52 semaines [ 219]. Les taux médians d'ABR étaient respectivement de 2,9, 1,0 et 15,6 dans le bras 10 UI / kg, 40 UI / kg et à la demande [ 219 ]. Dans le groupe de traitement prophylactique à 40 UI / kg, 67% des patients avaient une résolution des saignements des articulations cibles variable , contre seulement 7% dans le groupe de traitement à 10 UI / kg. Aucun patient n'a développé d'inhibiteurs et aucun problème de sécurité n'a été identifié. Un autre essai de phase III a examiné l'innocuité, l'efficacité et la pharmacocinétique du N9-GP chez 25 garçons atteints d'hémophilie B ( $\text{FIX} \leq 2 \text{ UI / dL}$ ) âgés de  $\leq 12$  ans ( NCT01467427 ; Paradigm <sup>TM</sup> 5) . Tous les enfants ont reçu une prophylaxie avec 40 UI / kg de N9-GP une fois par semaine pendant 50 semaines . Les ABR médians étaient de 1,0 dans la population totale, de 0,0 dans le groupe de 0 à 6 ans et de 2,0 dans le groupe de 7 à 12 ans avec des taux minimaux de FIX à l'état d'équilibre estimés de 15,3 et 19,0 UI / dL dans les 2 groupes d'âge, respectivement [ 220]. Pour les enfants qui étaient déjà sous prophylaxie avant l'entrée dans

l'étude, l'ABR a été réduit par rapport à l'historique (1,38 contre 2,51, respectivement). Dans l'ensemble, 86% des saignements ont été résolus après une seule injection. Aucun patient n'a développé d'inhibiteurs et aucun problème de sécurité n'a été identifié [220].

L'efficacité et l'innocuité du N9-GP en période périopératoire et postopératoire ont été évaluées dans le cadre d'un essai multicentrique en ouvert qui comprenait 13 procédures majeures chez 13 patients (NCT01386528 ; Paradigm™ 3) [221]. Tous les patients ont reçu un bolus préopératoire de 80 UI / kg N9-GP suivi de doses fixes de 40 UI / kg répétées à la discrétion de l'investigateur. L'efficacité peropératoire a été jugée excellente (10/13, 77%) ou bonne; aucun des patients n'a reçu une deuxième injection de N9-GP le jour de la chirurgie et le nombre médian de doses postopératoires était de 2,0 aux jours 1 à 6 et de 1,5 aux jours 7 à 13 avec une consommation médiane totale de 126,1 UI / kg sur deux semaines. Aucun événement indésirable grave, y compris le développement d'inhibiteurs, n'a été observé [221]. Deux patients ont développé des hématomes de plaie qui n'ont pas nécessité d'évacuation chirurgicale et pour lesquels un seul patient a reçu une dose supplémentaire de N9-GP.

#### **b. Indications thérapeutiques :**

Traitement et prophylaxie des épisodes hémorragiques chez les patients atteints d'une hémophilie B à partir de 12 ans.

#### **c. Posologie :**

##### Patients non préalablement traités

La sécurité et l'efficacité de REFIXIA chez les patients non préalablement traités n'ont pas encore été établies.

##### ❖ Traitement à la demande :

La dose et la durée du traitement de substitution dépendent de la localisation et de la sévérité de l'épisode hémorragique, voir le tableau suivant pour la posologie recommandée lors des épisodes hémorragiques.

Intensité de l'hémorragie	Dose recommandée de Refixia en UI/kg	Recommandations posologiques
Début d'hémarthrose, d'hémorragie musculaire ou buccale. Hémarthrose, hémorragie musculaire ou hématome plus étendus.	40	Une dose unique est recommandée.
Hémorragies sévères ou mettant en jeu le pronostic vital.	80	Des doses supplémentaires de 40 UI/kg peuvent être administrées.

**Tableau 17 :** Traitement avec REFIXIA en cas d' épisodes hémorragiques

❖ Chirurgie :

La posologie et les intervalles d'administration en cas de chirurgie varient selon l'intervention et le protocole de l'établissement. Des recommandations générales sont fournies dans le tableau

Type d'intervention chirurgicale	Dose recommandée en UI/kg de poids corporel	Recommandations posologiques
Chirurgie mineure dont extraction dentaire.	40	Des doses supplémentaires peuvent être administrées si besoin.
Chirurgie majeure.	80	Dose préopératoire.
	40	Envisager deux doses répétées de 40 UI/kg (de 1 à 3 jours d'intervalle) pendant la première semaine suivant l'intervention. Après la première semaine, en raison de la longue demi-vie de REFIXIA, la fréquence d'administration en post-opératoire peut passer à une fois par semaine jusqu'à l'arrêt de l'hémorragie et cicatrisation.

**Tableau 18 :** Traitement en chirurgie avec REFIXIA

❖ Prophylaxie

40 UI/kg de poids corporel une fois par semaine. Des ajustements de la dose et des intervalles d'administration peuvent être envisagés en fonction des taux de FIX atteints et des tendances hémorragiques individuelles. Les patients en prophylaxie qui oublient une dose doivent administrer leur dose dès qu'ils constatent cet oubli, puis continuer la posologie habituelle à une fois par semaine. Ils ne doivent pas prendre une double dose.

Population pédiatrique : Les doses recommandées chez les adolescents (12-18 ans) sont identiques à celles de l'adulte : 40 UI/kg de poids corporel. La sécurité à long-terme de REFIXIA chez les enfants de moins de 12 ans n'a pas encore été établie.

### 4.3. Quelle surveillance biologique pour les patients hémophiles B substitués par facteur IX recombinant à demi vie allongée

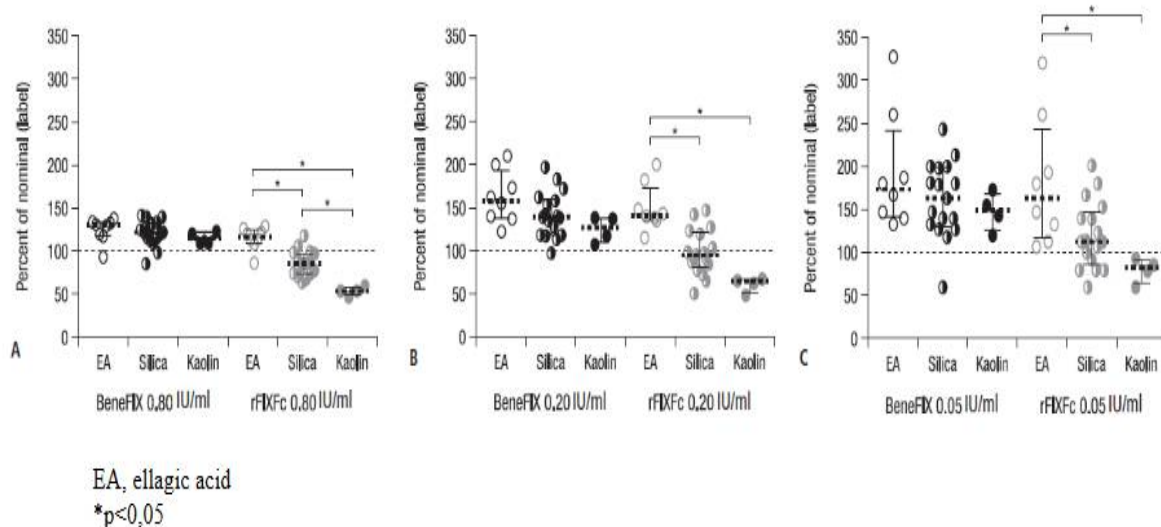
#### ▪ l'intérêt de la surveillance :

- Au cours du traitement, il est conseillé d'effectuer un dosage approprié du taux de facteur IX plasmatique afin de confirmer que les taux de FIX ont été atteints, puisque la réponse au traitement peut varier d'une personne à une autre.
- Dans le cas particulier d'interventions chirurgicales ou d'hémorragie, la surveillance précise du traitement de substitution par une mesure de l'activité coagulante plasmatique du facteur IX de la coagulation est indispensable.

#### ▪ Problématique de la surveillance

La même problématique de discordance entre les méthodes chronométrique et chromogénique, se pose également pour les molécules de longue durée d'action car des variations importantes des taux de FIX ont été constatées selon le réactif APTT utilisé. En effet les résultats concernant l'activité plasmatique du facteur IX peuvent être significativement influencés par le type de réactif de TCA et par l'étalon de référence utilisés pour le test. Ce point est particulièrement important lors d'un changement de laboratoire et/ou de réactif utilisé pour le test.

rFIX-Fc (Alprolix®): une étude multicentrique a été réalisée dans 30 laboratoires de sept pays [222] sur des échantillons surchargés in vitro avec comme comparateur le traitement Benefix®. On observe (Figure 36) que l'activité du rFIX-Fc était dépendante du réactif utilisé avec : - une nette sous-estimation de près de 50% par rapport à la valeur attendue lors de l'utilisation du kaolin comme activateur. - des résultats acceptables avec les réactifs APTT contenant d'autres activateurs (acide ellagique et silice). - des résultats acceptables avec la méthode CSA.



**Figure 37 :** Taux de FIX d'échantillons surchargés en Benefix® ou en rFIX-Fc selon l'activateur du réactif APTT, Sommer et al.[222]

-rIX-FP(Idelvion®): l'étude multicentrique réalisée a fait l'objet d'un poster présenté à l'EAHAD (European Association for Haemophilia and Allied Disorders) en 2016 par St Ledger et al. Elle montrait une sous-estimation d'environ 50% lorsque le dosage par méthode OSA était réalisé avec le réactif Actin®FS ou avec un réactif APTT utilisant le kaolin comme activateur. Les autres réactifs APTT peuvent être utilisés par méthode OSA.

rFIX péglylé (N9-GP): une étude réalisée dans deux centres a testé des plasmas d'hémophiles B surchargés in vitro par méthode OSA (huit réactifs APTT) et par méthode CSA (deux kits Rossix et Biophen). Les comparateurs étaient les traitements recombinant Benefix® et plasmatisé Mononine®. En conclusion, les résultats de l'étude [223] montraient: -une surestimation avec certains réactifs APTT ayant pour activateur la silice (surestimation de plus de 300% avec l'APTT SP et de plus de 500% avec le Pathromtin®SL). -une sous-estimation de 28% à 69% avec les réactifs SynthASil® (activateur silice) et Actin®FS (activateur acide ellagique). -une bonne précision avec le SynthAFaxet avec la méthode chromogénique aussi bien avec le kit

Hyphen ou Rossix. Ces résultats retrouvés sur des échantillons surchargés in vitro ont été confirmés in vivo sur des plasmas de patients substitués [224]. Une étude publiée par Rosen et al. [225] explique les raisons de cette surestimation pour les réactifs APTT contenant de la silice: le groupement PEG interfère avec la surface d'activation produite par la silice et entraîne l'activation prématurée du N9-GP par le FXI activé et la kallibréine. Il en résulte une accumulation prématurée de FIX activé au cours de la phase contact.

Cette problématique de dosage est bien représenté par kitchen et al dans le tableau suivant.

	« long acting »		
	N9-GP	rFIX-Fc	rIX-FP
FIX chromogénique	Oui	Oui	?
Réactifs TCA :			
STA-PTT A	Non	Oui	Oui
STA-C.K. Prest	Non	Non	Non
Actin	Non	?	?
Actin FS	Non	Oui	Non
Actin FSL	Non	Oui	?
Pathromtin SL	Non	Oui	Oui
SynthASil	Non	Oui	Oui
SynthAFax	Oui	?	?
DG Synth	Oui	?	?
Cephascreen	Oui	Oui	?
APTT SP	Non	?	?
Auto APTT	?	Oui	?
Platelin L	?	Oui	?
DAPTIN	Oui	?	?

« Non » signifie que les résultats présentent une discordance supérieure à 30% par rapport à la valeur attendue.

**Tableau 19 :** Quelle méthode pour le dosage des rFIX «long acting»?Kitchen et al. [226]

## V. EMICIZUMAB

### 1. Introduction :

L'hémophilie A (HA) est un trouble de la coagulation congénital lié à X entraînant une perte totale ou partielle de l'activité de coagulation du facteur VIII. Elle touche une naissance masculine sur 5000. Les patients atteints d'HA sévère présentent généralement des saignements intra-articulaires et/ou intramusculaires spontanés. Ce saignement musculo-squelettique peut mener à la maladie chronique débilante d'articulation appelée arthropathie hémophilique.

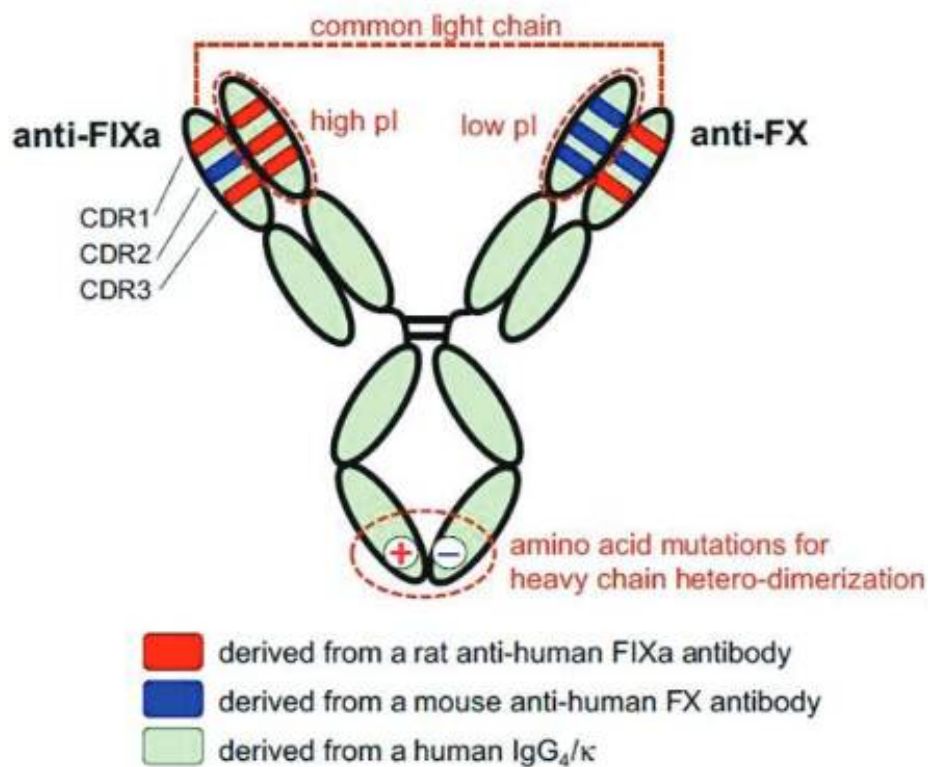
La base du traitement pour les patients atteints d'HA est le remplacement de FVIII à l'aide de concentrés FVIII recombinants ou dérivés du plasma. Pour les patients atteints d'HA sévère, une prophylaxie composée de perfusions intraveineuses régulières de concentrés FVIII représente le traitement de référence pour réduire la fréquence des saignements et prévenir les dommages articulaires. Cependant, en dépit de décennies d'utilisation et d'efficacité élevée prouvée, la prophylaxie de FVIII n'est pas en mesure de fournir une protection à 100% contre tous les saignements chez tous les patients ; par conséquent, le risque de saignements ainsi que de développement de l'arthropathie au cours d'une vie demeure présent [227].

En outre, il y a plusieurs défis avec l'utilisation des produits FVIII actuellement disponibles, y compris les perfusions fréquentes, la voie d'administration intraveineuse, le développement potentiel d'anticorps inhibiteurs dirigés contre FVIII (inhibiteur) ainsi le coût élevé. Bien que les produits demi-vie prolongées (EHL) aient fourni une certaine avancée dans les soins avec une fréquence de perfusion réduite et une meilleure protection contre les saignements, il n'y a toujours aucun régime de prophylaxie qui convient à tous. Dans cette optique, la nécessité d'adapter les traitements et d'individualisation pour maximiser les résultats continue de rendre la prophylaxie FVIII, même avec les produits EHL, lourde à la fois pour les patients et les médecins traitants.

Par conséquent, il est nécessaire d'avoir des agents de traitement à forte efficacité qui contournent les défis associés aux produits de remplacement FVIII. Émicizumab est le premier nouvel agent disponible pour la prévention des saignements dans l'HA. Ce médicament a été initialement approuvé pour une utilisation chez les patients atteints d'HA présentant des inhibiteurs, et en octobre 2018, la Federal Drug Administration l'a approuvé pour le traitement des patients atteints d'HA sans inhibiteurs.

## 2. Mécanisme d'action :

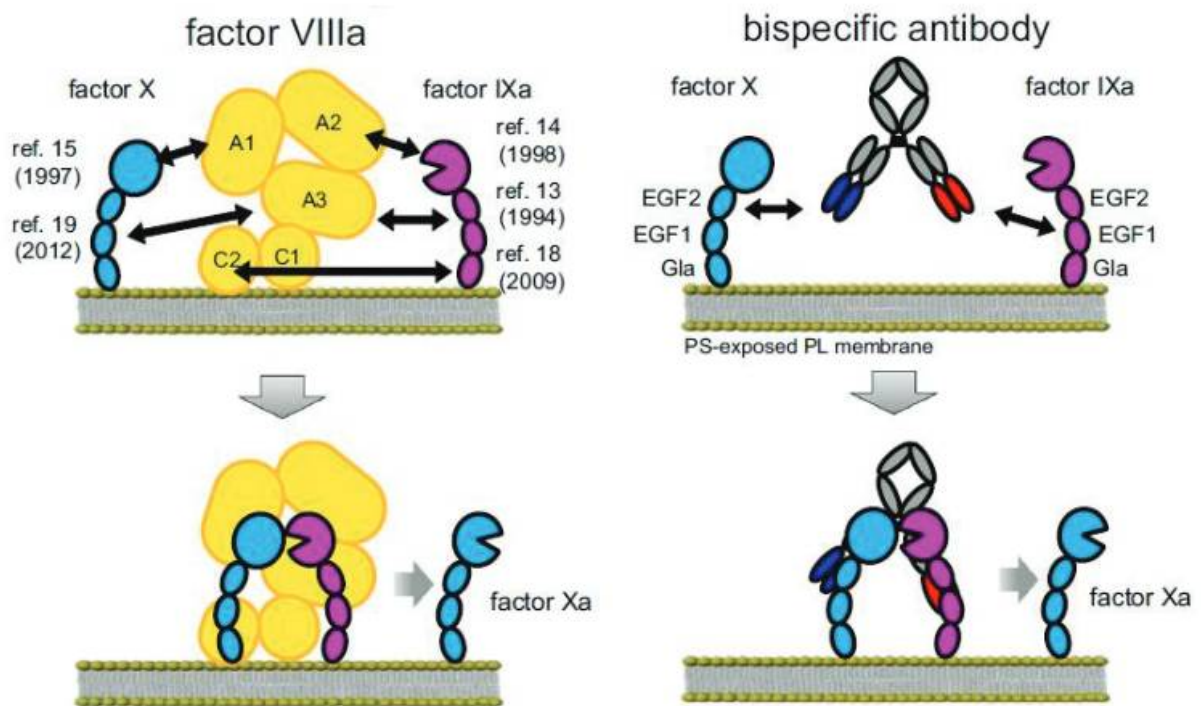
L'emicizumab, ou ACE910, commercialisé par le laboratoire Roche® sous le nom Hemlibra® est un anticorps monoclonal humanisé recombinant bispécifique.



**Figure 38 :** Représentation schématique de l'emicizumab: chaîne légère incluant des fragments d'anticorps de rat anti-FIXa humain et d'anticorps murins anti-FXa humain ;chaîne lourde avec mutations d'acides aminés permettant l'hétérodimérisation[228]

Appartenant à la classe des IgG4, sa liaison s'effectue à la fois au domaine epidermal growth factor (EGF)-like 1 des facteurs IX et IXa, et au domaine EGF-like 2 des facteurs X et Xa. Cela permet de restaurer l'action cofacteur du facteur VIII manquant sur le facteur IXa, ce qui permet la restauration d'un complexe tenase actif pour l'activation du facteur X[229,230].

Étant semblables uniquement à la fonction FVIII, mais avec une structure moléculaire entièrement différente, les anticorps anti-FVIII existants ne se lient pas à l'emicizumab. Par conséquent, l'emicizumab est efficace même en présence d'inhibiteurs anti-FVIII neutralisants et ne peut pas induire le développement de nouveaux inhibiteurs anti-FVIII [231].



**Figure 39 :** Mécanisme d'action de l'emicizumab[228]

### 3. Pharmacocinétique

La contribution la plus importante de l'émicizumab est sa pharmacocinétique améliorée [232]. L'émicizumab a présenté une pharmacocinétique proportionnelle à la dose sur une plage de doses allant de 0,3 mg / kg (0,1 fois la dose initiale recommandée approuvée) à 3 mg / kg une fois par semaine après administration sous-cutanée. Après plusieurs administrations sous-cutanées de 3 mg / kg une fois par semaine pendant les 4 premières semaines chez des patients atteints d'hémophilie A, les concentrations plasmatiques minimales moyennes ( $\pm$  ET) d'emicizumab ont augmenté pour atteindre  $54,6 \pm 14,3$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  à la semaine 5.

Des Concentrations plasmatiques minimales supérieures 50  $\mu\text{g} / \text{mL}$  ont été maintenus par la suite avec la dose hebdomadaire recommandée de 1,5 mg / kg; les concentrations plasmatiques minimales moyennes ( $\pm$  ET) d'emicizumab à l'état d'équilibre étaient de  $52,8 \pm 13,5$   $\mu\text{g} / \text{mL}$ . Après administration sous-cutanée, la demi-vie d'absorption moyenne ( $\pm$  ET) était de  $1,7 \pm 1$  jour. La biodisponibilité absolue après administration sous-cutanée de 1 mg / kg était comprise entre 80,4% et 93,1%. Des profils pharmacocinétiques similaires ont été observés après administration sous-cutanée dans l'abdomen, le haut du bras et la cuisse. Le volume de distribution apparent moyen était de 11,4 L (intervalle de confiance (IC) à 95%). La clairance apparente moyenne (IC à 95%) était de 0,24 L / j (0,22, 0,26) et la demi-vie d'élimination apparente moyenne ( $\pm$  ET)) était de  $27,8 \pm 8,1$  jours [232].

### 4. Voie de développement de l'émicizumab et données cliniques

- Des études précliniques in vitro et des études sur des modèles primates d'hémophilie ont démontré des effets hémostatiques. [233, 234]. Dans un modèle primate non humain d'hémophilie A acquise, une seule injection d'emicizumab a démontré à la fois une activité hémostatique et un bénéfice thérapeutique prolongé avec une demi-vie d'environ 3 semaines en raison d'une biodisponibilité élevée lorsqu'il est administré par voie sous-cutanée. Dans une deuxième expérience utilisant un modèle primate à long terme d'hémophilie A acquise, l'administration sous-cutanée hebdomadaire d'emicizumab a permis de prévenir les manifestations cliniques d'hémorragie chez les animaux.

- L'étude de phase 1, première chez l'humain, ([www.clinicaltrials.jp](http://www.clinicaltrials.jp), # JapicCTI-121934) a été menée dans un seul centre japonais dans le cadre d'une étude interindividuelle en double aveugle, randomisée et contrôlée contre placebo avec une augmentation progressive de la dose d'émicizumab reçue par les participants. Cette étude a inclus 40 hommes japonais adultes en bonne santé qui ont été randomisés pour recevoir 0,001, 0,01, 0,1, 0,3 ou 1 mg / kg de poids corporel d'émicizumab et 24 hommes adultes de race blanche en bonne santé qui ont été randomisés pour recevoir 0,1, 0,3 ou 1 mg / kg d'émicizumab sous forme d'une seule injection sous cutanée (n = 6) ou placebo (n = 2; [www.clinicaltrials.jp](http://www.clinicaltrials.jp), # JapicCTI - 121934). Sur la base des données précliniques, la dose de 1 mg / kg équivalait à 0,10 UI / mL (10% de la normale) d'activité du FVIII évaluée à l'aide d'un test générateur de thrombine. Chez ces adultes en bonne santé, l'émicizumab a démontré un profil pharmacocinétique linéaire dose-dépendant sans différence observée dans les deux groupes de patients. L'émicizumab a été efficacement absorbé et est apparu dans le plasma avec des concentrations maximales observées 1 à 2 semaines après l'administration et a démontré une plage de demi-vie de 28 à 34 jours. Surtout, la molécule n'a eu aucun effet sur les concentrations de facteur IX ou de facteur X ou de leurs formes actives. Il y avait un raccourcissement dose-dépendant du temps de thromboplastine partielle activée qui a été accentué lorsque l'activité du FVIII a été neutralisée pour la première fois ex vivo. Les paramètres évalués par le test de génération de thrombine ont également été positivement affectés de manière dose-dépendante après l'administration d'émicizumab, démontrant des réponses similaires chez des volontaires japonais et caucasiens. L'émicizumab a été bien toléré car aucun événement clinique ou biologique significatif n'a été rapporté après 24 semaines d'observation. Deux des 48 participants (1 japonais et 1 caucasien) avaient des anticorps antidrogue (émicizumab) (ADA), dont un homme qui était positif pour les ADA avant et après la première exposition à l'émicizumab, tandis que l'autre a développé une positivité après l'exposition à l'émicizumab. Dans l'étude de phase 1/2, les participants ont connu une réduction de la fréquence des saignements dans les trois cohortes de doses (0,3, 1 et 3 mg / kg de poids corporel administré chaque semaine)

par rapport à leur traitement antérieur, et certains n'ont présenté aucun saignement, dont 3 sur 6 dans les cohortes à 1 mg / kg et 4 sur 6 dans les cohortes à 3 mg / kg[235,236]. La sécurité, la pharmacocinétique et l'efficacité de l'émicizumab administré à titre prophylactique ont été confirmées dans cette étude.

- En 2017, Shima et al ont rapporté une extension en ouvert à long terme de l'étude de phase 1 de 12 semaines publiée précédemment, dans laquelle 16 des 18 patients ont continué à recevoir de l'émicizumab pendant jusqu'à 33,3 mois. L'administration d'émicizumab à long terme a été bien tolérée, aucun épisode thromboembolique n'a été détecté et aucun anticorps anti-émicizumab neutralisant n'est apparu au cours de l'enquête. Les concentrations plasmatiques d'émicizumab ont augmenté de manière proportionnelle à la dose, avec un raccourcissement des temps de céphaline activateur. Dans les groupes 1, 2 et 3, respectivement, les taux de saignement annuels médians étaient faibles à 1.4, 0.2 et 0 par rapport à 4.4, 0 et 0 au cours de la période d'enquête initiale de 12 semaines [237]. Dans l'ensemble, 8 patients n'ont pas eu d'épisodes hémorragiques (6 patients avec et 2 patients sans inhibiteurs du FVIII); l'augmentation de la dose a entraîné une diminution des taux de saignement annuels chez les patients dont le contrôle des saignements n'était pas optimal à des doses plus faibles; de plus, l'utilisation épisodique de facteurs de coagulation pour contrôler les saignements a été réduite[237] .

- Le programme de développement clinique de l'émicizumab comprenait les cinq essais de phase 3 (HAVEN - 1, HAVEN - 2, HAVEN - 3, HAVEN - 4, HAVEN - 5 et STASEY) résumés dans les tableaux 20 [233,238,239,240,241,244] et 21[233,242,243].

Auteur	An	Type de l'étude	Type de patients	Sommaire
Nogami[245]	2016	Revoir l'article	NA	Cet article résume l'efficacité d'une injection sous-cutanée d'ACE910 une fois par semaine à trois doses pendant 12 semaines consécutives dans l'hémophilie A sans ou avec inhibiteur.
Shima[246]	2016	Clinical study	<p>Patients avec et sans inhibiteurs</p> <p>18 patients japonais atteints d'hémophilie A sévère (avec ou sans inhibiteurs du facteur VIII) ont été recrutés dans une étude ouverte, non randomisée et interindividuelle avec une augmentation progressive de la dose d'emicizumab. Les patients ont reçu de l'emicizumab sous-cutané une fois par semaine pendant 12 semaines à une dose de 0,3, 1,0 ou 3,0 mg / kg de poids corporel (cohortes 1, 2 et 3, respectivement). Les critères d'évaluation étaient la sécurité et les profils pharmacocinétiques et pharmacodynamiques. Un autre critère d'évaluation était le taux de saignement annualisé par rapport aux 6 mois précédant le recrutement.</p>	L'emicizumab n'a été associé ni à des complications graves ni à des anomalies de la coagulation cliniquement pertinentes. L'administration sous-cutanée d'emicizumab une fois par semaine a considérablement réduit le taux de saignement chez les patients atteints d'hémophilie A avec ou sans inhibiteurs du facteur VIII.
Shima[240]	2016	Revoir l'article	NA	Le principal avantage de l'emicizumab est son administration sous-cutanée et son efficacité indépendamment de la présence d'inhibiteurs
Shima[247]	2016	Revoir l'article	NA	La demi-vie de l'emicizumab serait de 4 à 5 semaines et des taux de saignement annuels remarquablement réduits ont été obtenus avec des injections sous-cutanées hebdomadaires dans le cadre de l'essai clinique de phase 1
Klamroth[248]	2017	Revoir l'article	NA	L'emicizumab est sûr et efficace

Kitazawa <sup>[244]</sup>	2017	Etude du laboratoire	NA	L'émicizumab lie FIX / FIXa et FX / FXa avec des affinités micromolaires via leurs domaines de type EGF. La simulation basée sur KD a prédit que le complexe ternaire pontant l'antigène formé dans le plasma circulant serait en corrélation avec l'activité du cofacteur de l'émicizumab, et la majorité des FIX et FX seraient libres et disponibles pour d'autres réactions de coagulation.
Oldenburg	2017	Etude clinique	<p>Patients avec inhibiteurs</p> <p>Ces auteurs ont recruté des participants âgés de 12 ans ou plus. Ceux qui avaient précédemment reçu un traitement épisodique avec des agents de contournement ont été assignés au hasard dans un rapport de 2: 1 à une prophylaxie par émicizumab (groupe A) ou aucune prophylaxie (groupe B). Le critère d'évaluation principal était la différence des taux de saignement entre le groupe A et le groupe B. Les participants qui avaient précédemment reçu un traitement prophylactique avec des agents de contournement ont reçu une prophylaxie par émicizumab dans le groupe C. Un total de 109 hommes atteints d'hémophilie A avec inhibiteurs ont été recrutés</p>	La prophylaxie par emicizumab a entraîné un taux de saignement inférieur de 79% par rapport au taux observé avec une prophylaxie antérieure par un agent de contournement. Dans l'ensemble, 198 événements indésirables ont été signalés chez 103 participants.
Fontana <sup>[249]</sup>	2017	revoir l'article	NA	Emicizumab, pourrait potentiellement ouvrir une nouvelle ère dans la prise en charge des personnes atteintes d'hémophilie A

Mahlangu [238]	2018	Etude clinique	<p>Patients sans inhibiteurs</p> <p>Étude de phase 3 chez 152 patients atteints d'hémophilie A sévère (&lt;1 UI / dL) âgés de ≥ 12 ans sans inhibiteur actuel du FVIII qui ont été randomisés 2: 2: 1 pour recevoir 1,5 mg / kg de poids corporel d'emicizumab par semaine (groupe A) ou 3,0 mg / kg toutes les 2 semaines (groupe B) après 4 doses hebdomadaires de 3 mg / kg ou pour continuer la prophylaxie FVIII (groupe C). Un 4e groupe (groupe D) comprenait des sujets qui faisaient également partie d'un essai non Interventionnel</p>	<p>Le nombre annualisé d'événements hémorragiques traités (intervalle de confiance à 95%) était de: 1,5 (0,9- 2,5), 1,3 (0,8-2,3), 38,2 (22,9-63,8) et 1,6 (1,1-2,4) pour les groupes A, B, C et D, respectivement. Dans les groupes A, B et D, 56%, 60% et 56% des participants, respectivement, étaient sans événements hémorragiques traités pendant la période d'observation. Aucun inhibiteur du FVIII, événements thromboemboliques ou microangiopathie thrombotique n'ont été observés. Des réactions au site d'injection sont survenues chez 25% des participants</p>
Collin[250]	2018		<p>Patients avec inhibiteurs</p> <p>Malgré la protection contre les saignements, certains hémorragies intermittentes sont inévitables et peuvent nécessiter un traitement hémostatique supplémentaire. L'emicizumab a été associé à des effets indésirables graves lorsqu'il était coadministré avec un concentré de complexe prothrombique active</p>	<p>Afin de minimiser le risque d'événements indésirables, la UK Hemophilia Center Doctors 'Organization publie les mises à jour des directives provisoires sur les inhibiteurs pour la prise en charge des patients recevant de l'emicizumab en fonction de la limite des informations publiées disponibles en février 2018.</p>
Young [241]	2018	Revoir l'article	NA	<p>L'emicizumab représente une nouvelle classe de médicaments pour le traitement de l'hémophilie A qui, dans le passé, reposait sur un traitement par facteur de remplacement et un traitement par agent de contournement (facteur alternatif). L'emicizumab répond à deux besoins majeurs non satisfaits chez les patients hémophiles porteurs d'inhibiteurs du FVIII. Premièrement, il fournit une thérapie beaucoup plus efficace pour la prévention des saignements et deuxièmement, il réduit considérablement le fardeau du traitement.</p>

**Tableau 20 :** Tableau résumant les différents essais cliniques portant sur l'emicizumab (NA, Non available)

Type of patients and title	Acronym	Status	Phase	Enrolment	Study designs (level of evidence)	Start Date	Completion date
Patients with inhibitor [242,251] A Study to evaluate the efficacy, safety, and pharmacokinetics of prophylactic emicizumab vs no prophylaxis in hemophilia A participants with inhibitors	HAVEN 1	Active, not Recruiting	Phase 3	109	Randomized, open label, treatment	18 Nov 2015	31 Dec 2019
Patients with inhibitor <sup>[251,252]</sup> A study of emicizumab administered subcutaneously (SC) in pediatric participants with hemophilia A and factor VIII (FVIII) Inhibitors	HAVEN 2	Active, not Recruiting	Phase 3	88	Non-randomized, open label, treatment	22 Jul 2016	1 Feb 2019
Patients without inhibitor <sup>[238]</sup> A clinical trial to evaluate prophylactic emicizumab vs no Prophylaxis in Hemophilia A participants without Inhibitors	HAVEN 3	Active, not Recruiting	Phase 3	152	Randomized, open label, treatment	27 Sep 2016	30 Sep 2019
Patients with haemophilia A <sup>[243]</sup> A study to evaluate the efficacy, safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of emicizumab given every 4 wk in participants with hemophilia A	HAVEN 4	Active, not Recruiting	Phase 3	48	Non-randomized, open label, prevention	30 Jan 2017	31 Dec 2020
Patients with inhibitor A study to evaluate the safety and tolerability of prophylactic emicizumab in hemophilia A patients with Inhibitors	STASEY	Recruiting	Phase 3	200	Single group, open label, treatment	5 Sep 2017	4 Sep 2020
Healthy individuals A study to investigate the pharmacokinetics, safety, and		Active, not Recruiting	Phase 1	16	Single group, open label, treatment	12 Mar 2018	15 Sep 2018

tolerability of emicizumab in healthy Chinese volunteers		ing					
Patients with haemophilia A	HAVEN 5	Recruit ing	Phase 3	70	Randomized, open label, prevention	26 Apr 2018	18 Feb 2020
Efficacy, safety, and pharmacokinetic study of prophylactic emicizumab vs no prophylaxis in hemophilia A Participants							
Patients with inhibitor		Recruit ing	Phase 4	30	Single group, open label, treatment	30 Jun 2018	28 June 2019
Study of emicizumab prophylaxis in participants with hemophilia A and inhibitors undergoing minor surgical Procedures							
Patients with inhibitor		Approv ed for Market ing		na		na	Na
An expanded access program of emicizumab in partici- pants with hemophilia A with inhibitors							

**Tableau 21** : Plan de developpement cliniques et essais de l'emicizumab

- Les données de l'étude de phase 1-1/2 ainsi que la pharmacocinétique de la population et une modélisation répétée du temps de parcours (RTTE) ont été réalisées par Yoneyama et al<sup>45</sup> pour délimiter quantitativement l'interrelation entre la pharmacométrie de l'emicizumab et la diminution de l'incidence des hémorragies. Des simulations ont ensuite été effectuées pour examiner l'exposition minimale prévue pour obtenir aucun épisodes d'hémorragie pendant 1 an chez au moins 50% des patients et de décider du dosage à examiner dans le cadre des études de la phase 3. Le modèle RTTE a prédit avec précision les taux de saignement au fil du temps en fonction de la concentration plasmatique d'emicizumab. Les simulations suggèrent que des concentrations plasmatiques d'emicizumab  $\geq 45 \mu\text{g} / \text{mL}$  ne devraient entraîner aucun épisode hémorragique pendant 1 an chez au moins 50% des patients. Cette concentration a ensuite été utilisée pour concevoir les schémas posologiques de 1,5 mg / kg une fois par semaine, 3 mg / kg toutes les 2 semaines et 6 mg / kg toutes les 4 semaines pour les investigations de phase 3 sans procéder à un essai traditionnel de dosage.

- HAVEN-1 (NCT02622321) était un essai randomisé et ouvert de doses prophylactiques hebdomadaires d'emicizumab administrées à 1,5 mg/kg de poids corporel à 109 participants âgés de 12 ans et plus porteurs d'hémophilie A avec inhibiteurs du FVIII. Dans cet essai, une dose de charge de L'emicizumab (3 mg/kg de poids corporel) a été administré chaque semaine pendant 4 semaines suivies de doses hebdomadaires de 1,5 mg/kg. La Prophylaxie par l'émicizumab a entraîné : - une réduction de 87 % des saignements annualisés (ABR ; 23,3 vs 2,9) chez les patients qui ont été traités auparavant de façon épisodique(en cas d'hémorragie aiguë) avec des agents de contournement -une réduction de 79% de la ABR (15,7 vs 3,3) par rapport aux patients préalablement traités avec une prophylaxie par agent de contournement. Dans les deux groupes, 63 % et 71 % des patients recevant une prophylaxie à l'émicizumab n'ont pas saigné, contre 5 % et 12,5 % avec leur régime de contournement des agents administrés à la demande et à titre prophylactique respectivement. Les taux de saignement au cours des semaines 24 à 48 et 48 à 72 étaient inférieurs aux 24 semaines initiales, ce qui suggère une stabilisation des articulations avec une prophylaxie prolongée par emicizumab[253].

- HAVEN-2 (NCT02795767) était un essai ouvert non randomisé portant sur trois schémas posologiques (1,5 mg / kg de poids corporel administré chaque semaine, 3 mg / kg toutes les 2 semaines et 6 mg / kg toutes les 4 semaines) auprès de 88 enfants l'âge de 12 ans. les résultats de cet essai était en faveur d'une réduction marquée des événements hémorragiques traités en comparaison avec leur schéma thérapeutique antérieur. Les jeunes ont rapporté une réduction globale de 99% du nombre annualisé d'événements hémorragiques traités par rapport au régime de contournement antérieur [241].

- Au cours des études HAVEN-1 et HAVEN-2, 29 chirurgies (13 procédures d'accès veineux central, 6 extractions dentaires et 10 autres) ont été réalisées. Parmi les 19 procédures réalisées avec emicizumab seul comme prévention des saignements, 14 ont été réalisées sans saignement intra ou postopératoire tandis que 2 procédures présentaient des saignements postopératoires nécessitant un traitement et 3 ont connu des saignements postopératoires qui n'ont pas nécessité de traitement supplémentaire.

- HAVEN 3 (NCT02847637) était une étude randomisée en ouvert chez des patients atteints d'hémophilie A sévère (<1% d'activité du FVIII au départ) âgés de 12 ans et plus sans inhibiteurs a (<0,6 UB / mL)[238]. Les patients (n = 152) ont reçu 4 doses hebdomadaires d'emicizumab de 3 mg / kg de poids corporel suivies soit de 1,5 mg / kg de poids corporel par semaine (groupe A), soit de 3 mg / kg toutes les 2 semaines (groupe B) à long terme prophylaxie ou pas de prophylaxie (groupe C). L'emicizumab hebdomadaire (groupe A) et bihebdomadaire (groupe B) a réduit le nombre annualisé d'événements hémorragiques traités de 96% et 97% par rapport à l'absence de prophylaxie: 1,5 (intervalle de confiance à 95%, 0,9-2,5), 1,3 (0,8-2,3 ) et 38,2 (22,9 à 63,8) respectivement. Parmi les participants des groupes A et B, 56% et 60% n'ont présenté aucun événement hémorragique traité pendant la période d'observation, respectivement contre 0% dans le groupe C.[238] Des réactions au point d'injection ont été observées dans un quart de ceux qui participent à HAVEN-3[203]. Une microangiopathie thrombotique (TMA) a été signalée chez trois patients recevant de l'emicizumab avec des agents de contournement simultanés, le

concentré de complexe prothrombique activé (aPCC) seul dans 2 et aPCC et rFVIIa dans 1. deux cas résolus, 1 avec soins de soutien seul et l'autre avec la plasmaphérèse et le troisième connaissait une amélioration lorsqu'il a souffert d'une hémorragie rectale fatale. Le patient qui a reçu des soins de soutien est retourné à la prophylaxie par l'émicizumab sans aucun autre incident. Deux cas de thrombose ont également été rapportés chez des patients présentant des inhibiteurs du FVIII qui recevaient de façon concomitante aPCC pour des ménorragies. À la suite de ces événements, le fabricant a publié des directives pour éviter ou au moins réduire les doses d'aPCC utilisées pour traiter les ménorragies. Six décès sont survenus lors de l'utilisation d'emicizumab : 1 chez le patient qui a souffert de l'hémorragie rectale et 4 étaient dans un cadre d'usage compassionnel / d'utilisation élargie, dont 1 hémorragie intracrânienne. Il y a eu 1 événement cardiaque soudain chez un patient âgé recevant de l'émicizumab pour traiter des saignements associés à l'hémophilie acquise A. Aucun décès, aucune microangiopathie thrombotique ou événement thrombotique n'est survenu chez les 150 participants ayant reçu de l'émicizumab dans le cadre de l'étude HAVEN-3.[238]

- HAVEN-4 (NCT03020160) était une étude ouverte non randomisée examinant les avantages de l'administration mensuelle d'emicizumab (6 mg / kg de poids corporel après 4 doses hebdomadaires à 3 mg / kg de poids corporel) chez 48 participants âgés de 12 ans avec et sans anticorps inhibiteurs dirigés contre le FVIII. Les données au 15 décembre 2017 pour 41 patients ont montré que le nombre d'événements hémorragiques traités et tous les événements hémorragiques étaient de 2,4 et 4,5 respectivement, et que 56% et 29% ont été indemnes de tout saignement et ceci a été mis à jour dans une présentation au 2018 Congrès mondial de la Fédération mondiale de l'hémophilie, Glasgow, Royaume-Uni, 20-24 mai 2018. En totalité l'émicizumab administré une fois toutes les 4 semaines a montré un contrôle des saignements cliniquement significatif tout en étant bien toléré. l'événement indésirable lié au traitement le plus fréquent était la réaction au site d'injection (neuf des 41 patients) et aucun événement thrombotique ni développement d'anticorps antidrogue de

novo à potentiel neutralisant ou d'inhibiteurs du FVIII n'a été observé. Ce régime pourrait améliorer les soins aux patients en diminuant la charge de traitement et en augmentant l'adhésion à une prophylaxie efficace, ce qui pourrait réduire le développement de complications secondaires chez les personnes atteintes d'hémophilie A

- STASEY (NCT03191799) est une étude ouverte à un seul groupe visant à recruter 200 patients pour évaluer l'innocuité et la tolérabilité de l'émicizumab prophylactique chez les patients hémophiles A avec inhibiteurs du FVIII. Les résultats renforcent le profil de sécurité de l'émicizumab observé dans l'étude pivot HAVEN 1. Au cours de cette étude : - Aucun cas de MAT n'a été signalé - Trente-trois (17,1%) personnes ont signalé un événement indésirable. - Les EI les plus fréquents, survenant chez 10 % ou plus des personnes, étaient (nasopharyngite : 12,4 %), les céphalées (11,9 %) et la réaction au point d'injection (11,4 %). - Deux EI non liés à l'EMICIZUMAB ont été signalés. L'un était un infarctus du myocarde avec élévation du ST chez une personne présentant des facteurs de risque préexistants, que le médecin traitant a estimé sans rapport avec l'EMICIZUMAB. Le second était un caillot hypertrophique à l'endroit d'une extraction dentaire, une complication connue de la procédure. Les taux d'hémorragie annualisés dans la population "en intention de traitement" étaient également conformes aux observations précédemment rapportées dans les études HAVEN de phase III : - 85,6 % (167/195) des personnes atteintes d'hémophilie A avec inhibiteurs du facteur VIII recevant l'Emlibra n'ont eu aucune hémorragie traitée. Les données évaluant l'utilisation de l'Emlibra dans les interventions chirurgicales mineures et majeures non planifiées montrent que la majorité des interventions chirurgicales mineures (n=31) ont été réalisées sans utilisation de facteur de coagulation préventif (n=20 ; 64,5%), et parmi celles-ci, 85% (n=17) n'ont pas entraîné de saignements postopératoires traités. 89% (n=8) des interventions chirurgicales majeures non planifiées (n=9) ont été gérées avec un facteur de coagulation prophylactique.[254]

- HOHOEMI (JapicCTI - 173710) est un essai lancé au Japon pour étudier l'émicizumab chez 13 enfants de moins de 12 ans, y compris des patients non traités auparavant sans inhibiteurs du FVIII. L'émicizumab sera administré à des doses de 3 mg / kg toutes les 2 semaines ou de 6 mg / kg par mois. En conclusion l'émicizumab administré toutes les 2 semaines ou toutes les 4 semaines s'est avéré efficace et sûr chez les patients pédiatriques atteints d'hémophilie A sévère sans inhibiteur. cette étude a été enregistrée sur <http://www.clinicaltrials.jp> ( JapicCTI-173710).[255]

### 5. Indications thérapeutiques :

- En prophylaxie pour prévenir les épisodes hémorragiques chez les patients atteints d'hémophilie A ayant développé un inhibiteur anti FVIII. Peut être utilisé dans toutes les tranches d'âges. Absence de données pour les patients < 1 an.
- En octobre 2018, la Federal Drug Administration l'a approuvé pour le traitement des patients atteints d'HA sans inhibiteurs.

### 6. Posologie :

Le traitement (incluant la prophylaxie) par des agents by-passants (ex : CCPa et rFVIIa) doit être interrompu la veille de l'instauration du traitement par HEMLIBRA.

**La posologie recommandée** est de 3 mg/kg une fois par semaine au cours des quatre premières semaines (dose de charge), suivie de 1,5 mg/kg une fois par semaine (dose d'entretien), administrée par injection sous-cutanée.

Des flacons de différentes concentrations d'HEMLIBRA (30 mg/mL et 150 mg/mL) ne doivent pas être combinés lors de la préparation du volume total à administrer.

Ne pas administrer un volume supérieur à 2 mL par injection. **Durée du traitement :** HEMLIBRA est destiné à un traitement prophylactique à long terme.

**Ajustements posologiques au cours du traitement:** Aucun ajustement posologique n'est recommandé pour HEMLIBRA.

**Oubli ou retard de doses** Si un patient oublie une injection sous-cutanée hebdomadaire programmée d'HEMLIBRA, il doit être indiqué au patient de s'injecter la dose oubliée dès que possible, au plus tard la veille de la dose suivante initialement programmée. Le patient devra s'injecter la dose suivante le jour initialement programmé. Le patient ne doit pas s'injecter une double dose pour compenser une dose oubliée.

**Populations particulières:**

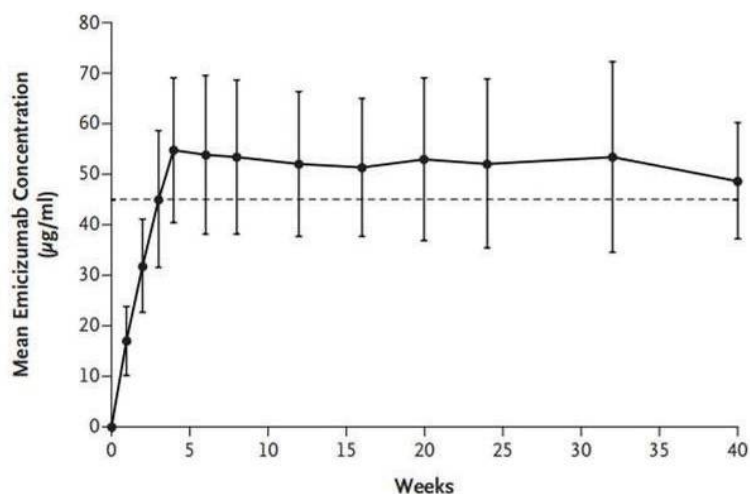
- Population pédiatrique: Aucun ajustement posologique n'est recommandé chez les enfants. Il n'y a pas de données disponibles chez les patients de moins de 1 an.
- Patients âgés : Aucun ajustement posologique n'est recommandé chez les patients âgés de  $\geq 65$  ans. Il n'y a pas de données disponibles chez les patients de plus de 75 ans.
- Insuffisance rénale et hépatique: Aucun ajustement posologique n'est recommandé chez les patients présentant une insuffisance rénale légère, ni chez les patients présentant une insuffisance hépatique légère à modérée. Emicizumab n'a pas été étudié chez les patients présentant une insuffisance rénale modérée à sévère, ni chez les patients présentant une insuffisance hépatique sévère.
- Prise en charge dans le cadre périopératoire : La sécurité et l'efficacité d'emicizumab n'ont pas été formellement évaluées lors de chirurgies. Si des agents by-passants (ex : CCPa et rFVIIa) sont nécessaires pendant la période périopératoire, il faut se référer aux recommandations posologiques relatives à l'utilisation des agents by-passants.
- Induction de la tolérance immune (ITI) La sécurité et l'efficacité d'emicizumab chez les patients recevant une induction de tolérance immune en cours n'ont pas encore été établies. Aucune donnée n'est disponible.

## 7. Surveillance biologique des patients sous emicizumab

La mise sur le marché de l'emicizumab tend à avoir un impact majeur sur la prise en charge de l'hémophilie A, avec ou sans inhibiteur : injection sous-cutanée, demi-vie allongée de 28-30 jours permettant des injections espacées, utilisation possible chez les patients allo- immunisés, et bonne tolérance générale avec réduction significative des accidents hémorragiques.

Cependant, du fait de son mode d'action innovant, la question de la surveillance biologique des patients traités reste à élucider.

Les résultats des études de pharmacocinétique, et notamment HAVEN-1 ont montré une concentration plasmatique stable, avec l'observation d'un plateau à la 10<sup>ème</sup> semaine. Cette concentration, en cas de bonne observance, est dose dépendante, et observée à l'équilibre entre 30 et 80 µg/mL.

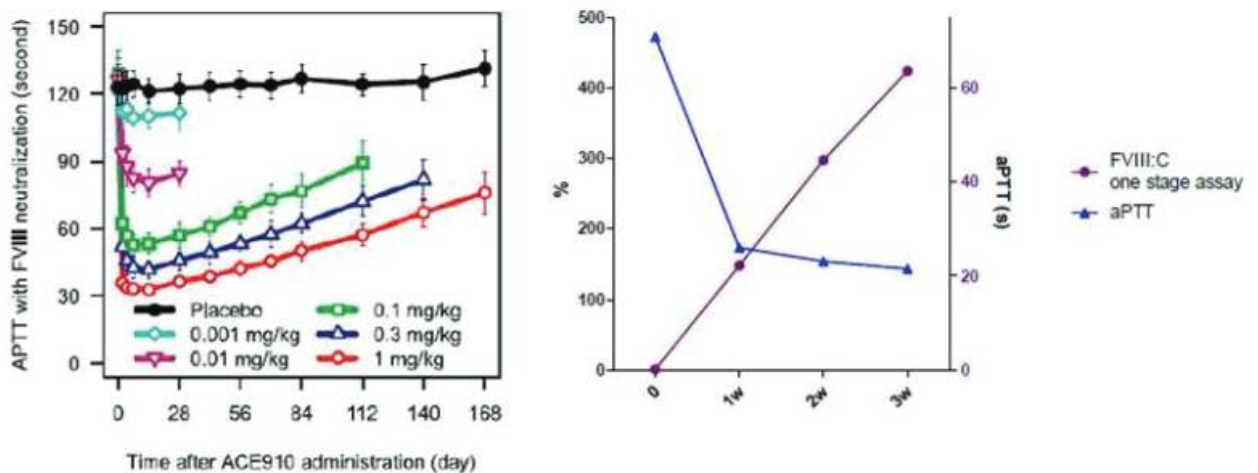


**Figure 40 :** Profil pharmacocinétique de l'emicizumab, représentation de la concentration plasmatique (µg/mL) en fonction de la durée de traitement (une injection hebdomadaire) [256]

Ces résultats suggèrent qu'en l'absence de manifestation clinique hémorragique ou de contexte chirurgical, il n'est pas recommandé d'effectuer un suivi biologique des patients : le suivi est clinique.

Cependant, lors de situations d'urgence telles qu'une chirurgie invasive ou une hémorragie aiguë, la prise en charge peut être adaptée à l'aide d'outils biologiques disponibles au laboratoire. Dans de telles situations, le recours à l'administration de thérapeutiques pro-coagulantes supplémentaires à l'emicizumab peut s'avérer nécessaire, la plus adaptée étant la substitution en FVIII. Pour cela, il est primordial de disposer d'une méthode fiable de dépistage et de titrage d'un éventuel inhibiteur anti-FVIII, ainsi que d'un dosage permettant le cas échéant le suivi du FVIII injecté.

Hemlibra affecte les tests pour le temps de céphaline avec activateur (type TCA) et toutes les analyses basées sur le TCA, notamment l'activité du facteur VIII en un temps. Par conséquent, chez les patients traités en prophylaxie par Hemlibra, les résultats des tests de laboratoire basés sur la voie intrinsèque de la coagulation ne doivent pas être utilisés pour surveiller l'activité d'emicizumab, ni pour déterminer le dosage du facteur de substitution ou du facteur anticoagulant ni pour titrer les inhibiteurs anti-facteur VIII.



**Figure 41 :** Interférence analytique de l'emicizumab sur les tests de coagulation basés sur le TCA[257]

La technique chromométrique HemosIL est quant à elle soumise à une importante interférence en présence d'emicizumab, entraînant des résultats de FVIII aberrants (166 à 449%). Cela a été décrit dans la littérature (130,258), et s'explique par le fait que l'activation du FVIII *in vitro* est une étape limitante dans la réalisation d'un TCA. L'emicizumab étant directement actif, sa présence dès de faibles concentrations plasmatiques entraîne une normalisation rapide des temps et impacte le dosage chromométrique du FVIII.

Cependant les autres tests de dosage des facteurs de coagulation utilisant des méthodes chromogéniques ou immunologiques ne sont pas perturbés par emicizumab, du coup ils peuvent donc être utilisés pour surveiller les paramètres de la coagulation pendant le traitement, avec une attention particulière pour les tests de mesure chromogénique de l'activité du FVIII les réactifs des kits utilisant des réactifs d'origine bovine ne sont pas reconnus par l'emicizumab. Le dosage de FVIII sur le plasma pur avec ces kits correspond donc au seul FVIII du patient, à savoir des taux inférieurs à 1%.

Le kit Biophen<sup>®</sup>, utilisant des réactifs humains, permet d'obtenir un taux de FVIII sous forme d'activité « pseudo-FVIII » par une reconnaissance par l'emicizumab (1 à 32%). La corrélation de cette activité à une éventuelle réponse clinique n'est pas bien définie, ce qui ne justifie pas son utilisation dans la surveillance de l'équilibre du traitement.

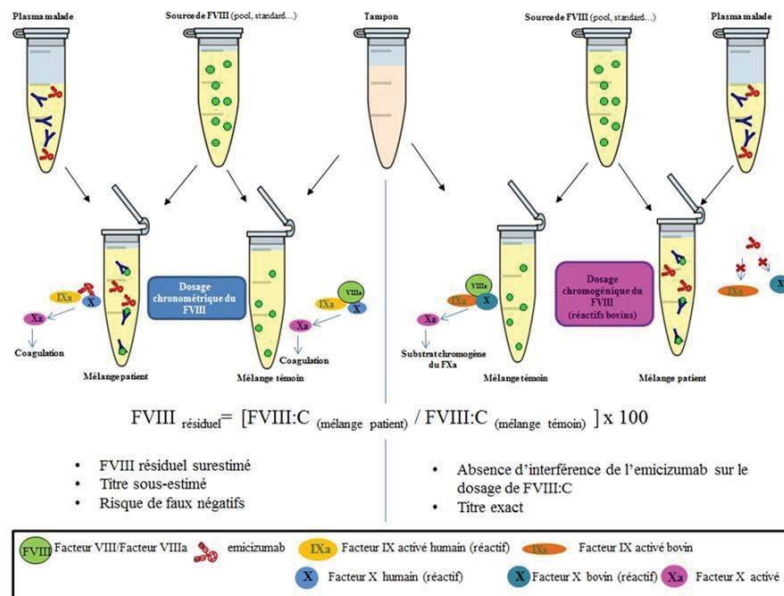
les résultats des tests de dépistages réalisés par méthode Bethesda sur des patients traités sans inhibiteurs ont montré que la technique Coamatic<sup>®</sup> semble dépister correctement un inhibiteur, en obtenant des taux de FVIII résiduels significativement inférieurs à ceux obtenus par les autres techniques, pour lesquelles le risque de faux négatif est élevé par surestimation du taux.

Il a été démontré une sous-estimation significative du titre d'inhibiteur anti-FVIII avec la technique chromogénique Biophen FVIII:C<sup>®</sup>, avec un impact possible sur la prise en charge du patient. Ainsi, un titrage avec réactifs humains peut permettre de conclure à tort quant au caractère saturable de l'inhibiteur (<5 UB/mL). En effet, le seuil de 5 UB/mL est couramment utilisé par les cliniciens pour classer l'inhibiteur en faible répondeur (<5 UB/mL) et fort répondeur (>5 UB/mL), orientant la prise en charge avec notamment le

recours à l'induction de tolérance immune ou la saturation de l'anticorps pour les patients faibles répondeurs et le recours aux agents by-passants pour les forts répondeurs [259,260].

En effet, le traitement prophylactique par emicizumab semble prévenir de manière efficace la survenue d'épisodes hémorragiques chez les patients. Cependant, lors d'un contexte d'urgence, tel qu'une chirurgie ou un traumatisme important au cours duquel les capacités prophylactiques sont dépassées, l'administration de thérapeutiques procoagulantes peut être guidée par le titrage d'inhibiteur :

- Dépistage négatif ou titre en inhibiteur < 5 UB/mL : l'administration de concentrés de FVIII est possible. La surveillance des doses injectées est possible sur le plasma du patient en utilisant le dosage chromogénique du FVIII avec des réactifs bovins : sans interférence de l'emicizumab, la seule activité FVIII détectée correspond au FVIII exogène injecté.
- Titre en inhibiteur > 5 UB/mL : la saturation de l'inhibiteur n'est pas possible. La prise en charge pendant la période à risque hémorragique doit reposer sur d'autres molécules procoagulantes, telles que les agents by-passants (Novoseven<sup>®</sup>, Feiba<sup>®</sup>).



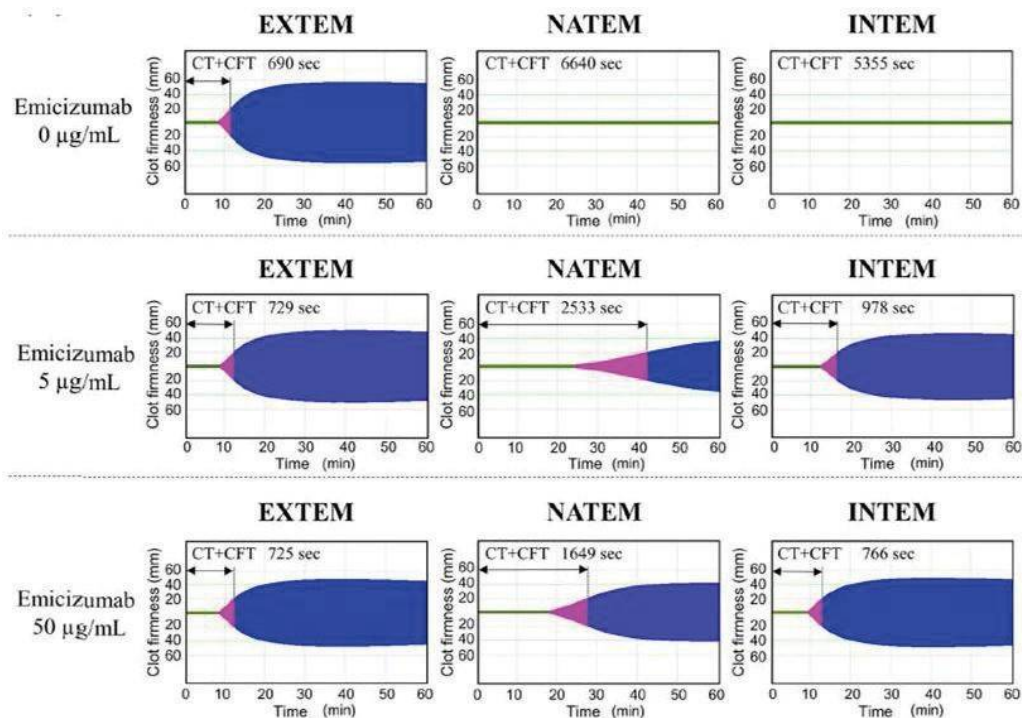
**Figure 42 :** Interférence de l'emicizumab sur le dépistage et le titrage d'un inhibiteur anti- FVIII

- Les tests biologiques non modifiés par Hemlibra sont également présentés dans le Tableau ci-dessous.
- Etant donné la demi-vie prolongée d'Hemlibra, les effets sur les tests de coagulation peuvent persister jusqu'à 6 mois après l'arrêt du traitement avec Hemlibra.

<b>Résultats modifiés par Hemlibra</b>	<b>Résultats non modifiés par Hemlibra</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Temps de céphaline avec activateur (TCA)</li> <li>- Temps de coagulation activé (ACT)</li> <li>- Dosages chronométriques des facteurs de coagulation en un temps basé sur le TCA</li> <li>- Résistance à la protéine C activée (RPCa) basée sur le TCA</li> <li>- Recherche et titrage de l'inhibiteur anti FVIII par la méthode Bethesda (basée sur la mesure du FVIII : C en 1 temps)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Temps de thrombine (TT)</li> <li>- Dosages chronométriques des facteurs de coagulation en un temps basé sur le taux de prothrombine</li> <li>- Dosages chromogéniques d'un seul facteur, autre que le FVIII<sup>1</sup></li> <li>- Dosages immunologiques (ex : ELISA, méthodes immunoturbidimétriques)</li> <li>- Recherche et titrage de l'inhibiteur anti FVIII par la méthode de Bethesda chromogénique utilisant un réactif d'origine bovine</li> <li>- Analyse moléculaire des facteurs de coagulation (exemple : Facteur V Leiden, Prothrombin G20210A)</li> </ul>

**Tableau 22 :** Résultats des tests de coagulation modifiés ou non par Hemlibra

*Yada et al* ont étudié la corrélation entre les paramètres du NATEM et la concentration en emicizumab chez des patients traités . Les résultats ont montré une normalisation rapide de l'INTEM (correspondant au TCA) à l'augmentation des concentrations en emicizumab, ainsi qu'une corrélation entre la concentration et les paramètres du NATEM. Cela suggère une utilisation potentiellement intéressante du NATEM dans le suivi de l'état hémostatique des patients traités [261].



**Figure 43 :** Représentations de l'EXTEM, NATEM et INTEM à différentes concentrations d'emicizumab [261]

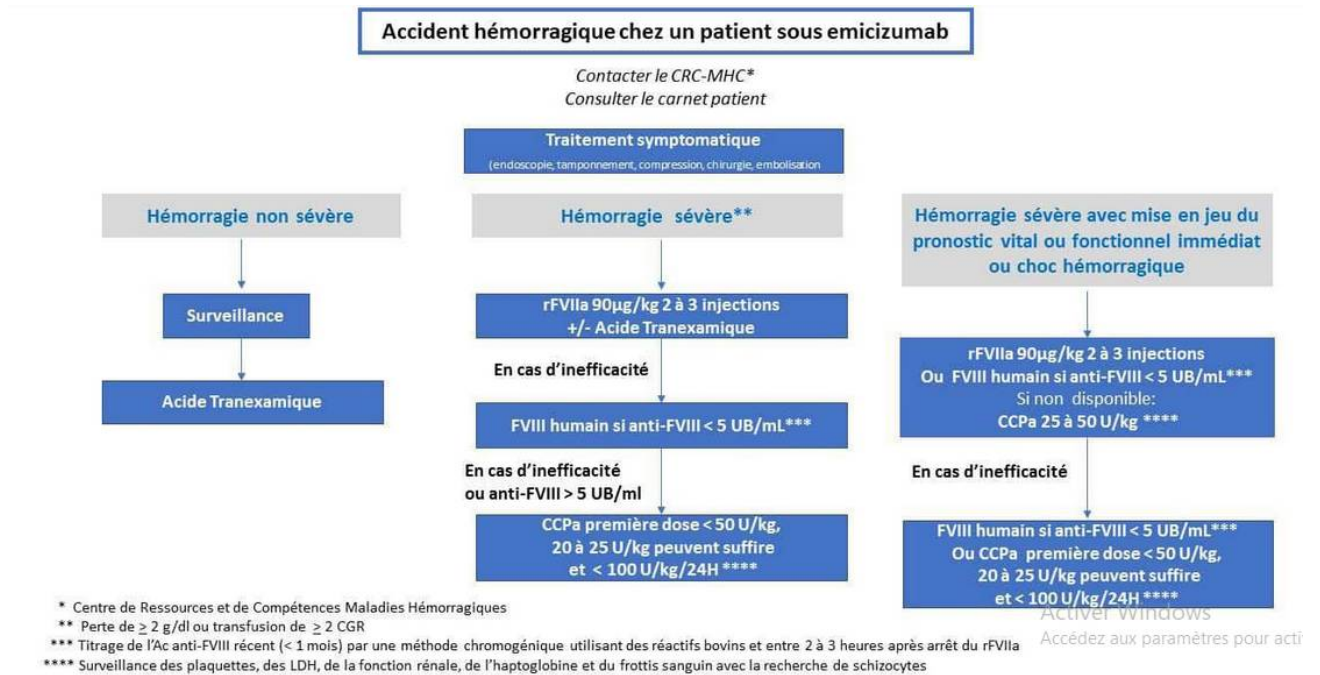
## 8. Recommandations pour le traitement des épisodes hémorragiques de l'hémophilie A compliqués par un inhibiteur du facteur VIII chez les patients traités par emicizumab

Dans un rapport récent, Collins et al ont formulé des recommandations pour le traitement des épisodes hémorragiques de l'hémophilie A compliqués par un inhibiteur du facteur VIII chez les patients traités par emicizumab. [250]

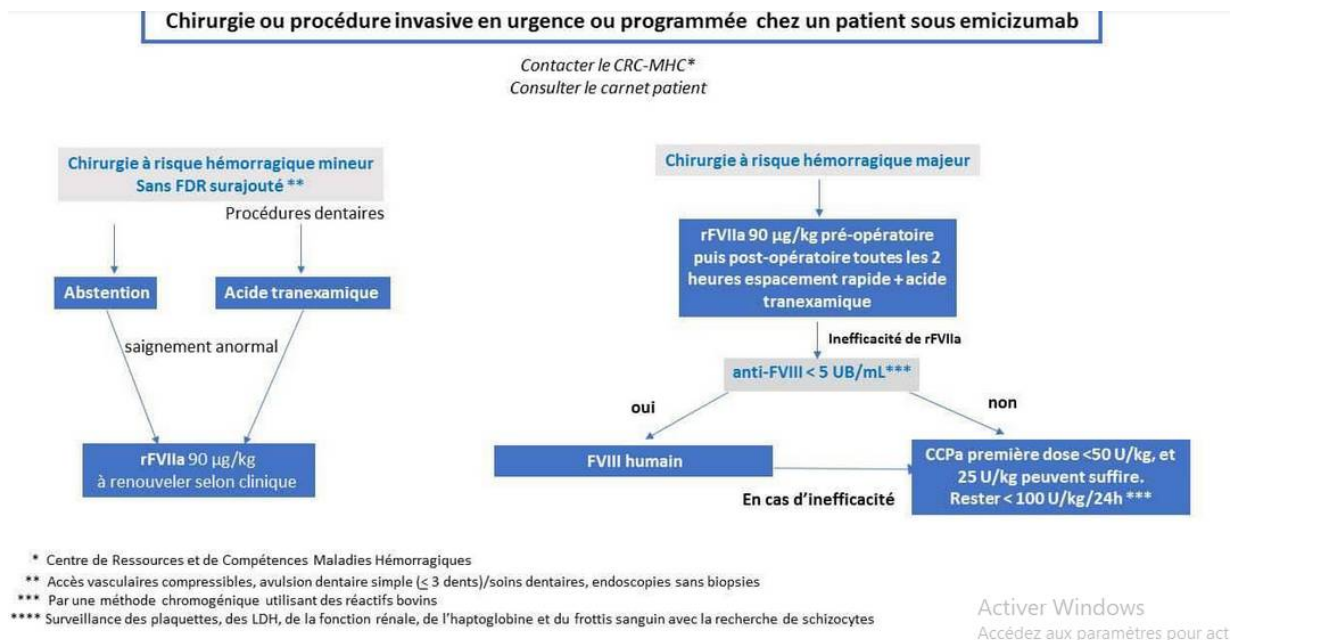
- L'emicizumab ne doit être utilisé que dans les centres experts de soins complets de l'hémophilie.
- Les patients devraient avoir accès 24 heures sur 24 à des médecins ayant une expertise dans la gestion de l'hémophilie avec un inhibiteur.

- Les médicaments de contournement doivent être arrêtés 24 heures avant le début de l'émicizumab et toutes les fournitures à domicile d'aPCC doivent être retirées.
- Un titre d'inhibiteur anti-humain et antiporcine du FVIII doit être mesuré avant l'instauration de l'émicizumab.
- Le traitement de première intention des saignements doit être le rFVIIa.
- Le FVIII humain ou le FVIII porcine recombinant peuvent être des alternatives si le saignement ne s'arrête pas avec le rFVIIa et si les titres d'inhibiteurs humains ou porcins sont faibles.
- Les épisodes hémorragiques ne doivent pas être gérés avec l'aPCC à moins qu'aucune autre alternative ne soit disponible.
- S'il est utilisé, la dose initiale d'aPCC ne doit pas dépasser 50 µ / kg
- Si une deuxième dose d'aPCC est nécessaire, le patient doit être admis à l'hôpital pour la surveillance de la microangiopathie thrombotique.
- L'hémostase au cours de la chirurgie chez les patients recevant de l'émicizumab est imprévisible.
- Les interventions chirurgicales majeures non urgentes devraient être reportées jusqu'à ce que davantage de connaissances soient disponibles.
- En raison de la longue demi-vie de l'émicizumab, ces recommandations de traitement doivent être suivies pendant 6 mois après l'arrêt du médicament.
- Une fois que l'émicizumab a été lancé, un test chromogène utilisant des réactifs contenant des facteurs de coagulation bovins doit être utilisé pour surveiller le remplacement du FVIII.
- Le test Bethesda utilisant un test chromogène du FVIII à base de réactif bovin doit être utilisé.[251]

## 9. Prise en charge d'une personne atteinte d'hémophilie A traitée par emicizumab (Hemlibra®) dans un contexte d'hémorragie [262]



## 10. Prise en charge d'une personne atteinte d'hémophilie A traitée par emicizumab (Hemlibra®) dans un contexte de chirurgie [262]



## 11. Événements indésirables lors du traitement par l'emicizumab

Les événements indésirables les plus importants sont les suivants: réactions au site d'injection (19%), fièvre (7%), céphalées (15%), diarrhée (6%), arthralgie (10%) et myalgie (5%) [66]. Oldenburg et al ont rapporté un taux de 15% de réactions au site d'injection [251]. Cependant, toutes les réactions au site d'injection ont été signalées comme d'intensité légère à modérée et 93% ont disparu. [238,251]

## **VI. Agents by-passants**

La présence d'un inhibiteur chez un patient hémophile complique la prise en charge ne permettant plus la possibilité d'un traitement substitutif par FVIII/FIX. En effet, au-delà de 5 UB/ml, il est souvent nécessaire de recourir à d'autres stratégies thérapeutiques qui court-circuitent l'effet de l'inhibiteur, tels que les « agents by-passant ».

Les « agents by-passant » induisent la formation d'une activité coagulante court-circuitant l'action des FVIII et FIX. Les deux médicaments concernés sont:

- Le Complexe Prothrombique Activé ou CCPa (FEIBA®) d'origine plasmatique,
- eptacog alfa (rFVIIa) (NovoSeven®) ou facteur VII activé d'origine recombinante.

### **1. Complexe prothrombique activé FEIBA®**

#### **1.1. Originalité**

FEIBA est un concentré de facteurs du complexe prothrombique activé qui apporte les facteurs de coagulation II, VII, IX, X activés et non activés. Il s'agit d'un mélange d'origine plasmatique.

#### **1.2. Indications**

Ce médicament est indiqué[263] :

- dans le traitement des hémorragies et en situation chirurgicale dans le déficit constitutionnel en facteur VIII (hémophilie A), chez les patients « forts répondeurs » ayant développé un inhibiteur dirigé contre le facteur VIII ;
- en cas d'échec par le facteur VIIa, dans le traitement des hémorragies et en situation chirurgicale dans le déficit constitutionnel en facteur IX (hémophilie B), chez les patients « forts répondeurs » ayant développé un inhibiteur dirigé contre le facteur IX ;

- en fonction de l'évaluation médicale, en prophylaxie pour prévenir ou réduire la fréquence des hémorragies chez les patients présentant des épisodes hémorragiques très fréquents et hémophiles A « forts répondeurs » ayant développé un inhibiteur dirigé contre le facteur VIII ou hémophiles B « forts répondeurs » ayant développé un inhibiteur dirigé contre le facteur IX, après échec par le facteur VIIa.
- dans le traitement des hémorragies et en situation chirurgicale chez les patients avec hémophilie acquise par auto-anticorps anti-facteur VIII.

### 1.3. Posologie [263]

Le traitement substitutif d'un hémophile avec inhibiteur doit être pris en charge et/ou surveillé par un médecin ayant l'expérience du traitement de l'hémophilie. Une dose unique de 100 U/kg de poids corporel et une dose quotidienne de 200 U/kg de poids corporel ne devrait pas être dépassée à moins que la sévérité des saignements nécessite et justifie l'utilisation de doses plus élevées. Posologie chez l'enfant : L'expérience chez les enfants de moins de 6 ans est limitée. Le schéma posologique utilisé chez l'enfant pourrait être le même que chez l'adulte.

#### 1.3.1. Traitement des épisodes hémorragiques

La posologie est indépendante du titre de l'anticorps du patient.

La posologie recommandée sera de 50 à 100 U/kg de poids corporel en fonction du type et de la sévérité des saignements sans dépasser 200 U/kg par jour. L'intervalle entre les injections sera de 12 heures à moins que la situation clinique ne requière des intervalles plus courts.

La durée du traitement et la fréquence des injections doivent être guidées par le tableau clinique. Le traitement sera maintenu jusqu'à l'arrêt du saignement et/ou l'apparition de signes cliniques évidents d'amélioration tels qu'une réduction de la douleur, une diminution de l'œdème, ou une augmentation de la mobilité articulaire.

Dans le cas des hémorragies graves :

- le traitement nécessite une surveillance clinique et biologique attentive du patient avec en particulier, pour les hémorragies non extériorisées, un contrôle régulier de la NFS.

### **1.3.2. Prévention des épisodes hémorragiques**

La posologie recommandée est de 50 à 100 U/kg de poids corporel 3 fois par semaine en fonction du phénotype hémorragique et de la réponse individuelle du patient.

La durée du traitement et la fréquence des injections doivent être adaptées au tableau clinique hémorragique.

La dose par injection ne devra pas dépasser 100 U/kg de poids corporel.

Les données disponibles suggèrent que la posologie de FEIBA pour la prophylaxie des épisodes hémorragiques chez le patient hémophile A avec inhibiteur fort répondeur, en induction de tolérance immune est semblable à celle du patient hémophile A, avec inhibiteur, fort répondeur sans induction de tolérance immune.

### **1.3.3. Couverture des situations chirurgicales**

La première administration sera faite juste avant l'intervention puis, en fonction du type de chirurgie ou du geste invasif, FEIBA pourra être administré toutes les 8 à 12 heures en fonction du type de chirurgie et de l'évolution clinique.

La dose initiale recommandée est de 80 U/kg de poids corporel sans dépasser 100 U/kg de poids corporel par injection.

Les doses suivantes seront adaptées à la situation chirurgicale et seront comprises entre 50 et 100 U/kg de poids corporel.

La posologie journalière ne devra pas dépasser 200 U/kg de poids corporel.

En cas de chirurgie majeure, les patients peuvent être traités pendant plusieurs semaines avec augmentation de l'intervalle entre les injections.

L'expérience avec FEIBA chez les patients présentant une hémophilie acquise par auto-anticorps anti-facteur VIII est limitée aux interventions chirurgicales mineures.

#### **1.4. Surveillance du traitement**

En raison de la complexité du mécanisme d'action, il n'existe pas de test biologique permettant d'évaluer directement l'activité de la substance active.

Les résultats des tests de coagulation (temps de céphaline activateur et temps de Quick) montrent généralement uniquement un léger raccourcissement et ne sont pas corrélés avec les résultats cliniques, et par conséquent, ne peuvent être utilisés que de façon limitée pour la surveillance du traitement. Toutefois, le raccourcissement du temps de Quick est un bon indicateur de l'effet biologique sur la coagulation.

Pour un temps de Quick basal normal, celui obtenu après injection ne doit pas être inférieur à 8 secondes.

En cas de réponse inadéquate au traitement avec le produit, il est recommandé qu'une numération plaquettaire soit prélevée parce que l'on considère qu'un taux suffisant de plaquettes fonctionnellement intactes est nécessaire pour l'efficacité du produit. [263]

#### **1.5. Mode d'administration**

FEIBA doit être exclusivement injecté par voie intraveineuse lente sans dépasser un débit de 2 U/kg/min.

Chaque fois que FEIBA est administré à un patient, le nom et le numéro du lot du produit doivent être enregistrés afin de garantir la traçabilité entre le lot et le patient.

La solution reconstituée est claire ou légèrement opalescente. Ne pas utiliser de solutions présentant un aspect non homogène ou contenant un dépôt.

Des données recueillies chez 67 hémophiles congénitaux, dont 65 hémophiles A et 2 hémophiles B, pour 1143 épisodes hémorragiques ou évènements traités par FEIBA lors de 1079 séquences thérapeutiques, dont 720 (67 %) effectués à domicile, ont montré la possibilité d'utiliser FEIBA à domicile avec une efficacité et une tolérance comparables aux traitements effectués en milieu hospitalier. Le traitement à domicile permet de traiter précocement les épisodes hémorragiques et augmente donc les chances d'une résolution plus rapide et de séquelles moins importantes. La possibilité d'utiliser FEIBA à domicile peut être envisagée pour le traitement d'hémorragies mineures à modérées (hémarthroses, hématomes ou saignements cutanéomuqueux) ou les traitements préventifs, en accord avec le Centre de Traitement de l'Hémophilie (CTH) qui assure le suivi du patient et dans les conditions suivantes : • Une formation à l'auto-traitement doit avoir été dispensée au patient par l'équipe soignante d'un CTH ;

- Le patient doit avoir été jugé apte par cette équipe à se traiter ou à se faire traiter à domicile ;
- Le traitement à domicile doit être réalisé en étroite collaboration avec le CTH au sein duquel le patient est suivi ;
- Au-delà de la 4<sup>e</sup> injection ou de 3 jours de traitement, le patient doit contacter le CTH qui le suit ;
  - Toutes les injections de FEIBA doivent être notées dans le carnet de l'hémophile et rapportées au médecin du CTH.

## 1.6. Précautions d'emploi [263]

### **Evènements thromboemboliques**

Des événements thromboemboliques de type coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), thrombose veineuse, embolie pulmonaire, infarctus du myocarde et accident vasculaire cérébral peuvent survenir en particulier chez les patients recevant des doses élevées de FEIBA®. Le CCPa est contre-indiqué en cas de signes biologiques et/ou

cliniques de CIVD, de signes biologiques, histologiques et/ou cliniques d'insuffisance hépatique (risque majoré en raison de la clairance diminuée des facteurs activés) et de risque thrombotique, notamment cardiovasculaires.

Dès les premiers signes ou symptômes d'événements thromboemboliques, l'injection doit immédiatement être arrêtée et un diagnostic et des mesures thérapeutiques appropriés doivent être instaurés.

### **Réactions allergiques du type hypersensibilité**

Comme pour tout médicament dérivé du plasma administré en IV, des réactions d'hypersensibilité de type allergiques peuvent survenir. Les patients doivent être informés des premiers signes de réactions d'hypersensibilité incluant des démangeaisons, une urticaire généralisée, un angio-œdème, des manifestations gastro-intestinales, des bronchospasmes, des râles, une chute de tension, un choc anaphylactique et un choc circulatoire. D'autres réactions ont également été rapportées telles que frissons, fièvre et hypertension. Si ces symptômes surviennent, les patients doivent arrêter le traitement.

## **2. Eptacog alfa (rFVIIa) (NovoSeven®) ou facteur VII activé d'origine recombinante**

### **2.1. Indications**

- Traitement et prévention des accidents hémorragiques survenant lors d'interventions chirurgicales ou de procédures invasives pour :
- Patients ayant une hémophilie congénitale avec inhibiteur dirigé contre le FVIII ou le FIX de titre > 5 UB.
- Patients ayant une hémophilie congénitale chez lesquels une forte réponse anamnétique à l'administration de FVIII ou de FIX est prévisible.

RTU (recommandation temporaire d'utilisation) pour le traitement prophylactique chez l'hémophile A ou B avec inhibiteur hors situations d'interventions chirurgicales et/ou procédures invasives et lorsqu'il n'y a aucune alternative thérapeutique

## 2.2. Posologie:

90 µg/kg en bolus IV à répéter toutes les 2-3 heures jusqu'à hémostase puis espacer les doses.

Episodes hémorragiques mineurs à modérés : possibilité d'injection unique 270 µg/kg.

\*RTU prophylaxie : dose initiale 90 µg/kg/j. en cas d'inefficacité augmentation de la dose par palier. Max 270 µg/kg /J.

## 2.3. Précautions d'emploi

Dans les conditions pathologiques où le facteur tissulaire peut être libéré de façon plus importante que la normale, il peut y avoir un risque potentiel de développement d'un événement thrombotique ou d'induction d'une CIVD. En raison du risque de complications thromboemboliques, il faudra être prudent lors de l'administration de Novoseven® chez les nouveaux nés, chez les patients avec antécédent de maladie coronaire, maladie hépatique, en situation post opératoire, ou présentant un risque thromboembolique ou de CIVD. Ce médicament est contre-indiqué en cas d'hypersensibilité aux protéines de hamster ou bovines<sup>[264]</sup>.

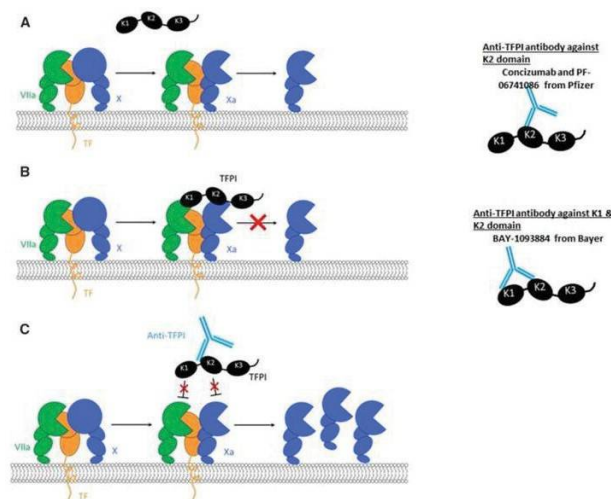
## VII. Autres thérapies non factorielles

### 1. Anti-TFPI

Le TFPI est l'inhibiteur physiologique de la voie du facteur tissulaire, qui permet après formation d'un complexe avec le FVIIa, l'activation du FX en FXa. L'inhibition du TFPI par un anticorps monoclonal spécifique est actuellement à l'essai pour les patients atteints d'hémophilie A ou B sévère avec inhibiteurs. Trois molécules sont à l'étude :

- ❖ Concizumab (mAb-2021, Novo Nordisk), dirigé contre la sous-unité Kunitz-2 (K2) du TFPI liant et inhibant spécifiquement le FXa
- ❖ Marstacimab (PF-06741086, Pfizer), dirigé contre la sous-unité K2
- ❖ BAY-1093884 (Bayer), dirigé à la fois contre les sous-unités K2 et K1 responsable de l'inhibition du FVIIa. Les essais cliniques de phase III pour cette molécule ont été stoppés en août 2019.

Les données expérimentales pour le concizumab ont montré une restauration de la génération de thrombine sur des plasmas déficients en FVIII, ainsi qu'une réduction significative des pertes sanguines sur un modèle animal d'hémophilie A sévère [265].



**Figure 44 :** Mécanisme d'action des anti-TFPI : anticorps dirigés contre le domaine K2 (concizumab et Pf06741085), ou contre les domaines K1 et K2 (BAY-1093884)

## 2. Fitusiran

L'antithrombine est un anticoagulant endogène dont le rôle physiologique est l'inhibition des sérine protéases, en particulier les facteurs IIa et Xa. Un déficit en antithrombine entraîne ainsi un état d'hypercoagulabilité.

Le fitusiran (ALN-AT3, Alynlam/Sanofi) est un small-interfering RNA (si-RNA), inhibant l'expression hépatique post-transcriptionnelle du gène SERPINC1. Il en résulte une diminution plasmatique dose-dépendante du taux d'antithrombine. Une injection sous-cutanée hebdomadaire à des patients volontaires sains ou atteints d'hémophilie A ou B a montré une diminution de 70 à 80% des taux circulants d'antithrombine. Il a été montré lors d'essais cliniques une restauration de la génération de thrombine des patients hémophiles A traités par cette molécule, jusqu'à atteindre des valeurs comparables aux volontaires sains [266 ,267]. Cette molécule est actuellement en essais cliniques de phase III.

## VIII. Traitements non spécifiques

### 1. Acide tranexamique

L'acide tranexamique inhibe l'activité fibrinolytique de la plasmine. Cela permet de renforcer la stabilité du caillot ce qui peut avoir un intérêt pour prévenir ou traiter les manifestations hémorragiques localisées aux tissus riches en activité fibrinolytique c'est-à-dire principalement les muqueuses : sphères ORL et buccale (épistaxis, adénoïdectomie, amygdalectomie, chirurgie buccodentaire), gynécologique (ménorragies, chirurgie).

Les caractéristiques ainsi que les schémas posologiques sont présentés dans le tableau n° 23

Ce médicament est habituellement bien toléré mais on peut rarement observer des troubles digestifs. Une augmentation du risque thrombotique longtemps suspectée dans les premières études n'a pas été confirmée par les larges séries et les méta-analyses plus récentes, notamment dans les populations à risque (pontage coronaire et chirurgie prothétique du membre inférieur). Il n'y a pas de contre-indication absolue en dehors des antécédents de convulsions, à prendre en compte lors de l'utilisation de fortes doses par exemple en chirurgie cardiaque. Des précautions sont à prendre en cas d'hématurie, en raison du risque obstructif des voies excrétrices, risque connu avec tous les traitements hémostatiques (Schultz,1995) (Tengborn, 2015). La déclaration de cas consécutifs d'insuffisance rénale aiguë chez des patientes présentant une pré-éclampsie (Jonard, 2014) a conduit l'ANSM en janvier 2018 à une mise en garde sur l'utilisation de l'acide tranexamique à des doses supérieures à 2 grammes chez des patientes traitées pour une hémorragie du post-partum en raison d'un risque potentiellement accru d'atteinte rénale aiguë, notamment de type nécrose corticale ([www.ansm.fr](http://www.ansm.fr)) .

## 2. Desmopressine

La desmopressine ou dDAVP est un analogue synthétique de l'hormone antidiurétique qui libère le FVIII et VWF stocké dans les cellules endothéliales. Après administration, le taux de FVIII et de VWF s'élève de 2 à 5 fois en 30 à 60 minutes et retourne à son taux de base en 6 à 9 heures. Ce médicament est indiqué chez les patients porteurs d'une hémophilie A mineure (FVIII > 5 %) ou chez les conductrices d'hémophilie A présentant un risque hémorragique. Son effet pharmacologique peut s'épuiser lorsque les administrations sont répétées sur une courte période, on parle de tachyphylaxie. La réponse à la desmopressine est reproductible pour un même individu, mais varie d'un individu à l'autre, y compris au sein d'une même famille et peut être de courte durée. C'est la raison pour laquelle, Il est indispensable de réaliser un test thérapeutique à la desmopressine avant la première utilisation clinique. En pratique, ce test est réalisé après la connaissance du diagnostic, en milieu hospitalier, dans un centre disposant d'un laboratoire d'hémostase pouvant effectuer les dosages nécessaires. Les caractéristiques ainsi que les schémas posologiques sont présentés dans le tableau n° 23

Pour la forme intranasale, elle peut être utilisée à domicile par le patient mais le traitement doit être pris en charge et surveillé par un médecin expérimenté. Son utilisation nécessite de bien évaluer les capacités de compréhension du patient, notamment le respect de la restriction hydrique. La surveillance de la natrémie est indiquée en cas d'administrations répétées (risque d'hyponatrémie et de convulsions).

Spécialité (DCI)	Dosage	Forme galénique	Posologie
<b>EXACYL®</b> Acide Tranexamique	0,5 g/5 ml	Ampoule IV	<b>Traitement préventif ou curatif :</b> <b>Adulte</b> : 0,5 à 1 g en IVL (1ml/mn) 2 à 3 fois/j en cas de fibrinolyse locale ; 1 g en IVL (1ml/mn) toutes les 6 à 8 h en cas de fibrinolyse généralisée. <b>Enfant</b> : 20 mg/kg/j à partir de 1 an (données limitées) ; adaptation des doses en cas d'insuffisance rénale (IR), CI en cas d'IR grave.
<b>EXACYL®</b> / <b>SPOTOF®</b> Acide Tranexamique	1 g/ 10 ml	Ampoule buvable	<b>Traitement préventif ou curatif :</b> <b>Adulte</b> : 2 à 4 g par 24 heures à répartir en 2 ou 3 prises (2 à 4 amp/j). <b>Enfant</b> : 20 mg/kg/j à partir de 1 an, répartie en 2 à 3 prises (données limitées) ; adaptation des doses en cas d'insuffisance rénale. En cas de saignements buccaux, une administration en bains de bouche durant 2-3 minutes est préférable, en avalant dans un deuxième temps, le contenu pour cumuler l'effet local et l'effet systémique. Chez le tout petit enfant le contenu de l'ampoule peut être versé sur une compresse et tamponné sur le site du saignement.
	500 mg	Comprimé	
<b>MINIRIN®</b> desmopressine Trihydrate acetate	4 µg/1 ml	Ampoule IV	<b>Traitement préventif ou curatif :</b> <b>Adulte</b> : 0,3 µg/kg dilué dans 50 à 100 ml de NaCl 0,9 % et administré en 15 à 30 mn ; si l'augmentation du FVIII est jugée suffisante, l'administration peut être répétée toutes les 12 h jusqu'à arrêt de la prophylaxie. <b>Enfant, sujet âgé ou présentant des troubles cardiovasculaires</b> : 0,2 µg/kg dilué dans 50 à 100 ml de NaCl 0,9 % et administré en 15 à 30 mn. Une restriction hydrique doit être observée lors de l'utilisation de la desmopressine pendant les 24 h post administration (750 ml chez l'adulte et 500 ml chez l'enfant), son usage chez l'enfant de moins de 2 ans n'est pas recommandé.
<b>OCTIM®</b> desmopressine Trihydrate acetate	150 µg/ 1 ml	Spray nasal	Dès le début du saignement ou 1 heure avant une chirurgie : <b>Patient moins de 50 kg</b> : 1 pulvérisation nasale soit 150 µg dans une narine. <b>Patient de plus de 50 kg</b> : 2 pulvérisations nasales soit 300 µg dans chaque narine. Respect d'un intervalle de 2 à 3 jours avant le traitement de deux épisodes hémorragiques. L'administration doit être précoce et ne doit pas se prolonger au-delà de 48 h.

**Tableau 23** : Principales caractéristiques des traitements hémostatiques non spécifiques[170]

### **3. Hémostatiques d'appoint**

En cas d'épistaxis, les tampons imbibés d'alginate de calcium (type Coalgan® ou Algosteril®) ou la pommade HEC® sont conseillés en première intention. Dans les cas plus difficiles l'utilisation de mèches de cellulose oxydée (type Surgicel® fibrillaire) est possible exclusivement en milieu hospitalier puisque non disponible en pharmacie d'officine. Les plaies superficielles sont traitées par application de compresses imbibées d'alginate de calcium (Algosteril®). Les ecchymoses peuvent être atténuées par application de pommade type Hemoclar® ou contenant de l'arnica. Le froid ou cryothérapie doit être employé dans ce contexte.

### **4. Antalgiques**

La douleur doit être systématiquement évaluée, prise en compte et traitée avec les antalgiques de palier adapté à son intensité. Cependant, le choix des médicaments nécessite de façon systématique la vérification de l'absence d'interférence avec l'hémostase et d'interactions avec les autres médicaments. L'utilisation des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) hors Coxib doit être évitée car elle est susceptible d'aggraver la symptomatologie hémorragique.

## **IX. Kinesithérapie**

Les objectifs De la kinesithérapie sont :

- Aider le patient à rester actif et à maintenir un poids de forme permettant de diminuer les pressions articulaires ,
- Détecter les premiers signes de lésion articulaire, dans le but de prévenir d'autres dysfonctionnements musculo-squelettiques,
- Veiller à ce que les patients choisissent des formes d'activité physique et de sport adapté. Pour être efficace, la rééducation doit être adaptée au cas par cas en fonction de l'état clinique, radiologique et des risques de récives hémorragiques
- Préserver le fonctionnel en maintenant l'amplitude des mouvements,
- Maintenir l'articulation saine, en évitant les déformations,
- Récupérer des amplitudes articulaires suite à un accident hémorragique,
- Réduire la douleur,
- Augmenter la force musculaire pour minimiser les saignements,
- Améliorer l'équilibre et la proprioception qui aident à éviter les chutes,

On distingue la kinesithérapie preventive et la kinesithérapie curative.

## X. Thérapie génique

Les progrès réalisés dans le domaine de la thérapie génique permettent maintenant d'obtenir une expression ciblée de certaines protéines dans des organes, des cellules ou des compartiments cellulaires précis. La thérapie génique consiste en l'introduction d'un transgène dans les cellules ou les tissus d'un patient afin d'y faire synthétiser une protéine d'intérêt. La thérapie génique permet alors de remplacer un gène défectueux ou de surexprimer une protéine dont l'activité a un impact thérapeutique. Cette stratégie peut être pratiquée *ex vivo* en introduisant le gène fonctionnel dans les cellules cibles prélevées puis réintroduites chez le patient, ou *in vivo*, un vecteur contenant le transgène est alors introduit dans l'organisme du patient où il ciblera certaines cellules ou tissus dans lesquels le transgène s'intégrera au génome. L'efficacité de la thérapie génique dépend du type cellulaire ciblé, de la longueur de la séquence du transgène, du promoteur, des facteurs régulant le transgène et enfin de la nature du vecteur.

La thérapie génique devient rapidement une nouvelle stratégie thérapeutique pour le traitement de l'hémophilie A et B. Dans les années 1990, des études sur des modèles animaux ont montré que les vecteurs adéno-associés (AAV) présentaient une expression efficace du facteur IX. Dans le premier essai clinique chez des patients atteints d'hémophilie B, les niveaux thérapeutiques de FIX ont été documentés mais l'expression n'est restée que pendant quelques semaines. Par la suite, des améliorations dans la conception des vecteurs, telles que l'utilisation de différents sérotypes d'AAV, le développement du vecteur auto-complémentaire, l'ingénierie du transgène avec optimisation des codons et cassette d'expression spécifique du foie ont abouti à un taux de FIX circulant entre 2 % et 5% pour une période de longue durée. Récemment, un gain naturel de fonction FIX variant inséré dans l'ADNc F9 a amélioré l'expression de FIX en atteignant un niveau de 30%. Des progrès cliniques encourageants ont également été obtenus à partir d'essais de thérapie génique pour l'hémophilie A. L'expression du transgène a persisté pendant trois ans avec des taux d'activité du FVIII circulant de 52.3% chez des patients traités avec un vecteur AAV contenant un ADNc F8 optimisé pour les codons. Une complication rapportée dans les deux essais cliniques pour l'hémophilie A et B, était l'élévation des enzymes hépatiques qui s'est résolu avec un traitement aux stéroïdes chez un grand groupe de patients. Cependant à ce jour, le mécanisme physiopathologique de la toxicité hépatique reste encore incertain. [268]

# ***Conclusion***

L'hémophilie est une maladie constitutionnelle de transmission héréditaire selon un mode récessif lié à l'X, due à un déficit en Facteur VIII (Hémophilie A) ou en Facteur IX (Hémophilie B).

Le diagnostic positif de l'hémophilie repose sur deux types de tests :

- Le bilan biologique d'orientation permet de suspecter devant :
  - Une hémostase primaire, explorée par le Temps de Saignement normal (avec une numération plaquettaire normale).
  - Un temps de Quick normal.
  - Un temps de cephaline activateur allongé
- Il sera affirmé par le dosage des facteurs VIII et IX qui permet de préciser
  - le type de l'hémophilie A (déficit en F.VIII) ou B (déficit en F.IX).
  - le degré ou la sévérité de l'hémophilie :
    - ✓ hémophilie majeure : F VIII ou IX < 1 %
    - ✓ hémophilie modérée : F VIII ou IX compris en 1 et 5 %
    - ✓ hémophilie mineure : F VIII ou IX > 5 %

Les saignements les plus fréquents sont articulaires (hémarthroses pathognomoniques de l'hémophilie A) et musculaires (hématomes). L'évolution de l'hémophilie sévère non traitée est mortelle dans l'enfance ou l'adolescence. Peu ou insuffisamment traitée, la survenue répétée d'hémarthroses au sein d'une même articulation peut conduire à une arthropathie hémophilique, source d'un handicap moteur très invalidant. Quelle que soit la sévérité de l'hémophilie, le pronostic vital peut être mis en jeu en cas de saignement interne, après traumatisme ou chirurgie.

L'objectif de la prise en charge thérapeutique de l'hémophilie est de contrôler précocement et/ou de prévenir les épisodes hémorragiques et leurs complications à court et long terme et plus particulièrement l'arthropathie hémophilique.

Le remplacement du facteur manquant constitue le pilier du traitement de l'hémophilie. Le remplacement du facteur est administré soit sur demande pour traiter les saignements aigus, soit à titre prophylactique pour éviter les saignements. Le remplacement régulier prophylactique du facteur pour maintenir des taux de facteur circulant  $> 1 \text{ UI} / \text{dL}$  (1%) a été recommandé comme traitement optimal pour les personnes atteintes d'hémophilie sévère.

Dans le cadre prophylactique, les personnes atteintes d'hémophilie A sévère ont généralement besoin d'injections intraveineuses trois fois par semaine, tandis que celles atteintes d'hémophilie B sévère sont généralement traitées deux fois par semaine, en raison de la demi-vie plus longue du FIX par rapport au FVIII.

L'exigence des administrations intraveineuses fréquentes constitue un obstacle à l'observance thérapeutique du patient et donc à l'adoption de la prophylaxie. Ainsi de nombreux efforts ont été consacrés à l'optimisation de la pharmacocinétique (PK) des facteurs recombinants par des modifications moléculaires pour obtenir des produits FVIII et FIX à demi-vie prolongée (EHL), ce qui facilitera la mise en œuvre d'une prophylaxie et va permettre une amélioration de la qualité de vie.

Depuis la forte réduction du risque de transmission de maladies infectieuses avec l'utilisation des facteurs de coagulation recombinants, le développement d'anticorps inhibiteurs dirigés contre le FVIII ou FIX est la complication la plus sévère du traitement. Elle se manifeste par une réponse clinique insuffisante. Cette complication est plus fréquente dans les formes sévères que dans les formes non sévères, avec un taux de 25 à 30% chez les enfants hémophiles A sévères et de 1,5 à 10% pour les patients hémophiles B. Cette complication a un impact important en termes de pronostic vital, fonctionnel et complique la prise en charge ne permettant plus la possibilité d'un traitement substitutif par FVIII/FIX. En effet, au-delà de 5 UB/ml, il est souvent nécessaire de recourir à d'autres stratégies thérapeutiques qui court-circuitent l'effet de l'inhibiteur, tels que les « agents by-passant » qui sont :

- Le Complexe Prothrombique Activé ou CCPa (FEIBA®) d'origine plasmatique,
- eptacog alfa (rFVIIa) (NovoSeven®) ou facteur VII activé d'origine recombinante.

L'emicizumab est un anticorps bispécifique asymétrique recombinant humanisé imitant la fonction cofacteur du FVIIIa, son principal avantage est son administration sous cutané et son efficacité indépendamment de la présence des inhibiteurs. Ce médicament a été initialement approuvé pour une utilisation prophylactique chez les patients atteints d'HA présentant des inhibiteurs, et en octobre 2018, la Federal Drug Administration l'a approuvé pour le traitement des patients atteints d'HA sans inhibiteurs.

Malgré les nombreuses avancées scientifiques, plusieurs obstacles au traitement de l'hémophilie persistent dans les pays en voie de développement à savoir : le manque de centres de traitement de l'hémophilie (CTH), de concentrés de facteur de coagulation, le coût relativement élevé des facteurs de substitution et l'absence de couverture médicale, impliquant ainsi une difficulté d'accès des patients hémophiles aux soins.

# ***Résumés***

## **RESUME**

**Titre :** les nouveaux médicaments dans l'hémophilie

**AUTEUR :** HABBOUBAT IKRAM

**Mots clés :** Emicizumab , pegylation, Technologie de fusion, FVIII Recombinants à demi-vie allongée, FIX recombinants à demi-vie allongée.

L'hémophilie est une maladie constitutionnelle de transmission héréditaire selon un mode récessif lié à l'X, due à un déficit en Facteur VIII (Hémophilie A) ou en Facteur IX (Hémophilie B) qui se manifeste par des épisodes hémorragiques spontanés ou post-traumatiques récurrents impliquant principalement les articulations portantes, les muscles squelettiques et les tissus mous. la survenue répétée d'hémarthroses au sein d'une même articulation peut conduire à une arthropathie hémophilique, source d'un handicap moteur très invalidant.

L'objectif de la prise en charge thérapeutique de l'hémophilie par le remplacement du facteur manquant est de contrôler précocement et/ou de prévenir les épisodes hémorragiques et leurs complications à court et long terme et plus particulièrement l'arthropathie hémophilique.

Le FVIII et le FIX sont de grandes protéines complexes avec des demi-vies relativement courtes, nécessitant des doses fréquentes pour maintenir les niveaux thérapeutiques suffisants ,par conséquent de nombreuses molécules à demi vie allongée ont été mises en place pour le traitement de l'hémophilie à savoir les molécules EHL-rFVIII et EHL-rFIX, ainsi que l'émicizumab qui est le premier agent non factoriel approuvé pour l'utilisation aussi bien pour les patients hémophiles A avec et sans inhibiteurs. Ces molécules permettent une meilleure observance du traitement , une amélioration des résultats prophylactiques en permettant des injections moins fréquentes et une bonne qualité de vie.

## **SUMMARY**

**Title:** New drugs in hemophilia

**AUTHOR :** HABBOUBAT IKRAM

**Keywords:** emicizumab, pegylation, Fusion technology, FVIII Recombinant extended half-life, FIX recombinant extended half-life.

Hemophilia is a constitutional disease of X-linked recessive inheritance due to a deficiency of Factor VIII (Hemophilia A) or Factor IX (Hemophilia B) that manifests itself as recurrent spontaneous or post-traumatic bleeding episodes involving mainly weight-bearing joints, skeletal muscles and soft tissues. The repeated occurrence of hemarthrosis within the same joint can lead to hemophilic arthropathy, a source of a very disabling motor handicap.

The objective of therapeutic management of hemophilia through replacement of the missing factor is to early control and/or prevent bleeding episodes and their short and long-term complications, particularly hemophilic arthropathy.

FVIII and FIX are large complex proteins with relatively short half-lives, requiring frequent dosing to maintain adequate therapeutic levels, therefore many molecules with extended half-lives have been developed for the treatment of hemophilia namely EHL-rFVIII and EHL-rFIX, as well as emicizumab which is the first non-factorial agent approved for use in both inhibitor and non-inhibitor hemophilia A patients. These molecules enable better treatment compliance, improved prophylactic results by allowing less frequent injections and a good quality of life.

## ملخص

**العنوان :** الأدوية الجديدة للهيموفيليا

**الكاتبة:** إكرام حبوبات

**الكلمات الأساسية:** إيميسيزوماب ، تقنيات الربط، تكنولوجيا احادية السلسلة، العامل التاسع المصنع نو العمر الطويل، العامل الثامن المصنع نو نصف العمر الطويل

الهيموفيليا مرض متحي مرتبط بالجنس بسبب نقص في العامل الثامن (الهيموفيليا أ) أو العامل التاسع (الهيموفيليا ب) و التي تتجلى اعراضها في نوبات نزيف أساسا على مستوى المفاصل والعضلات الهيكلية والأنسجة . يمكن أن يؤدي تكرار النزيف المفصلي إلى اعتلال مفصلي هيموفلي .

الهدف من علاج الهيموفيليا عن طريق استبدال العامل المفقود هو السيطرة المبكرة و / أو الوقاية من النوبات النزفية ومضاعفاتها القصيرة والطويلة الأمد ، وبشكل خاص اعتلال المفاصل الناجم عن الهيموفيلي.

العاملين الثامن و التاسع عبارة عن بروتينات كبيرة ومعقدة ذات عمر نصفي قصير نسبياً ، وتتطلب جرعات متكررة للحفاظ على مستويات علاجية كافية ، لذلك تم إدخال العديد من الجزيئات ذات فترات نصف العمر الطويلة لعلاج الهيموفيليا ، و هي جزيئات Ehl-rFVIII ، Ehl-rFIX و بالإضافة إلى emicizumab وهو أول جزيئة غير عاملية معتمدة للاستخدام لكل من مرضى الهيموفيليا إمع أو بدون مضاضات. تسمح هذه الجزيئات بامتنال أفضل للعلاج، ونتائج وقاتية محسنة من خلال السماح بحقن أقل تكراراً ونوعية حياة جيدة.

# ***Bibliographie***

- [1]. Mannucci PM, Tuddenham EG. Les hémophilies - des gènes royaux à la thérapie génique. *N Engl J Med*. 2001; 344 : 1773–1779. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [2]. Bolton-Maggs PH, Pasi KJ. Hémophilies A et B. *Lancet*. 2003; 361 : 1801-1809. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [3]. Arruda VR, Doshi BS, Samelson-Jones BJ. Thérapies émergentes pour l'hémophilie: controverses et questions sans réponse. *F1000Res*. 2018; 7. [ [Article gratuit PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [4]. Balkaransingh P, Young G. Nouvelles thérapies et progrès clinique actuel de l'hémophilie A. *Ther Adv Hematol*. 2018; 9 : 49–61. [ [Article gratuit PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [5]. Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, Key NS, Kitchen S, Llinas A, Ludlam CA, Mahlangu JN, Mulder K, Poon MC, Street A; Groupe de travail sur les directives de traitement au nom de la Fédération mondiale de l'hémophilie. Lignes directrices pour la gestion de l'hémophilie. *Hémophilie*. 2013; 19 : 1–47. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [6]. Castaman G, Linari S. Évaluation des médicaments pharmacocinétiques du facteur VIII recombinant pour le traitement de l'hémophilie A. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2018; 14 : 143-151. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [7]. Ar MC, Vaide I, Berntorp E, Björkman S. Méthodes pour individualiser le dosage du facteur VIII en prophylaxie. *Eur J Haematol Suppl*. 2014; 76 : 16–20. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [8]. Klamroth R, Pollmann H, Hermans C, Faradji A, Yarlak AS, Epstein JD, Ewenstein BM. Le fardeau relatif de l'hémophilie A et l'impact du développement conjoint cible sur la qualité de vie liée à la santé: résultats de l'étude ADVATE Post-Authorization Safety Surveillance (PASS). *Hémophilie*. 2011; 17 : 412–421. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]

- [9]. Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, Riske B, Hacker MR, Kilcoyne R, Ingram JD, Manco-Johnson ML, Funk S, Jacobson L, Valentino LA, Hoots WK, Buchanan GR, DiMichele D, Recht M, Brown D, Leissinger C, Bleak S, Cohen A, Mathew P, Matsunaga A, Medeiros D, Nugent D, Thomas GA, Thompson AA, McRedmond K, Soucie JM, Austin H, Evatt BL. Prophylaxie versus traitement épisodique pour prévenir les maladies articulaires chez les garçons atteints d'hémophilie sévère. *N Engl J Med.* 2007; 357 : 535–544. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [10]. Darby SC, Kan SW, Spooner RJ, Giangrande PL, Hill FG, Hay CR, Lee CA, Ludlam CA, Williams M. Taux de mortalité, espérance de vie et causes de décès chez les personnes atteintes d'hémophilie A ou B au Royaume-Uni qui n'étaient pas infectés par le VIH. *Du sang.* 2007; 110 : 815–825. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [11]. Löfqvist T, Nilsson IM, Berntorp E, Pettersson H. Prophylaxie de l'hémophilie chez les jeunes patients - un suivi à long terme. *J Intern Med.* 1997; 241 : 395–400. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [12]. Théron A, Schved J-F. Hémophilie. *AKOS - Hématologie.* 2018;13(4):1-4.
- [13]. Goga Y, Boukari R, Bensadok M, El Khorassani M, Khelif A, Al Rawas A, et al. REACH: A programme for improving care in haemophilia. *Haemophilia.* 2019;25(3):e211-5.
- [14]. Horellou M-H, Flaujac C, Gouin Thibault I. Hémostase : physiologie et principaux tests d'exploration. *EMC - Traité Médecine AKOS.* 2012 Apr;7(2):1–4.
- [15]. Elalamy I., Samama M.M. Physiologie de l'hémostase. *EMC – Angéiologie.* 19-0100. 2001:1-6.
- [16]. Presnell SR, Stafford DW. The vitamin K-dependent carboxylase. *Thromb Haemost* **2002**; 87: 937–46.
- [17]. Davie EW, Fujikawa K, Kisiel W. The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. *Biochemistry (Mosc)* **1991**; 30: 10363–70.

- [18]. Higashi S, Matsumoto N, Iwanaga S. Molecular Mechanism of Tissue Factor-mediated Acceleration of Factor VIIa Activity. *J Biol Chem* **1996**; 271: 26569–74.
- [19]. Monroe DM, Hoffman M. What Does It Take to Make the Perfect Clot? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2006**; 26: 41–8.
- [20]. Suzuki H, Shima M, Nogami K, Sakurai Y, Nishiya K, Saenko EL, Tanaka I, Yoshioka A. Factor V C2 domain contains a major thrombin-binding site responsible for thrombin-catalyzed factor V activation. *J Thromb Haemost* **2006**; 4: 1354–60.
- [21]. Fay PJ. Activation of factor VIII and mechanisms of cofactor action. *Blood Rev* **2004**; 18: 1–15.
- [22]. Baglia FA, Walsh PN. Prothrombin Is a Cofactor for the Binding of Factor XI to the Platelet Surface and for Platelet-Mediated Factor XI Activation by Thrombin†. *Biochemistry (Mosc)* **1998**; 37: 2271–81.
- [23]. Matafonov A, Sarilla S, Sun M, Sheehan JP, Serebrov V, Verhamme IM, Gailani D. Activation of factor XI by products of prothrombin activation. *Blood* **2011**; 118: 437–45.
- [24]. Mann KG, Butenas S, Brummel K. The Dynamics of Thrombin Formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2003**; 23: 17–25.
- [25]. Mosesson MW. Fibrinogen and fibrin structure and functions. *J Thromb Haemost* **2005**; 3: 1894–904.
- [26]. Ariens RAS. Role of factor XIII in fibrin clot formation and effects of genetic polymorphisms. *Blood* **2002**; 100: 743–54.
- [27]. Rao LV, Nordfang O, Hoang AD, Pendurthi UR. Mechanism of antithrombin III inhibition of factor VIIa/tissue factor activity on cell surfaces. *Blood* **1995**; 85: 121–9.

- [28]. Doi T, Tokuda H, Matsushima–Nishiwaki R, The Cuong N, Kageyama Y, Iida Y, Kondo A, Akamatsu S, Otsuka T, Iida H, Kozawa O, Ogura S. Effect of antithrombin III on glycoprotein Ib/IX/fV activation in human platelets: Suppression of thromboxane A<sub>2</sub> generation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **2012**; 87: 57–62.
- [29]. Mertens G, Cassiman JJ, Berghe HV den, Vermeylen J, David G. Cell surface heparan sulfate proteoglycans from human vascular endothelial cells. Core protein characterization and antithrombin III binding properties. *J Biol Chem* **1992**; 267: 20435–43
- [30]. Bedsted T, Swanson R, Chuang Y–J, Bock PE, Björk I, Olson ST. Heparin and Calcium Ions Dramatically Enhance Antithrombin Reactivity with Factor IXa by Generating New Interaction Exosites†. *Biochemistry (Mosc)* **2003**; 42: 8143–52.
- [31]. Yang L, Manithody C, Rezaie AR. Localization of the Heparin Binding Exosite of Factor IXa. *J Biol Chem* **2002**; 277: 50756–60.
- [32]. Yang L, Manithody C, Olson ST, Rezaie AR. Contribution of Basic Residues of the Autolysis Loop to the Substrate and Inhibitor Specificity of Factor IXa. *J Biol Chem* **2003**; 278: 25032–8.
- [33]. Johnson DJD, Langdown J, Huntington JA. Molecular basis of factor IXa recognition by heparin– activated antithrombin revealed by a 1.7–Å structure of the ternary complex. *Proc Natl Acad Sci* **2010**; 107: 645–50.
- [34]. Yang L, Manithody C, Qureshi SH, Rezaie AR. Role of the Residues of the 39–Loop in Determining the Substrate and Inhibitor Specificity of Factor IXa. *J Biol Chem* **2010**; 285: 28488–95.
- [35]. Stavenuiter F, Bouwens EAM, Mosnier LO. Down–regulation of the clotting cascade by the protein C pathway. *Hematol Educ Congr Eur Hematol Assoc Eur Hematol Assoc Congr Educ Program* **2013**; 7: 365.

- [36]. Wildhagen KCAA, Lutgens E, Loubele STGB, ten Cate H, Nicolaes GAF. The structure–function relationship of activated protein C. Lessons from natural and engineered mutations. *Thromb Haemost* **2011**; 106: 1034–45.
- [37]. Hackeng TM, Seré KM, Tans G, Rosing J. Protein S stimulates inhibition of the tissue factor pathway by tissue factor pathway inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2006**; 103: 3106–11.
- [38]. Reglinska–Matveyev N, Andersson HM, Rezende SM, Dahlbäck B, Crawley JTB, Lane DA, Ahnström J. TFPI cofactor function of protein S: essential role of the protein S SHBG–like domain. *Blood [Internet]* **2014** [cited **2014 Sep 25**]; . Available from: <http://www.bloodjournal.org/content/early/2014/04/16/blood-2014-01-551812>
- [39]. Trzeciak MC, Denninger MH. L’hémostase en question. *Biomérieux*. **2003**.
- [40]. Yang L, Rezaie AR. Residues of the 39–Loop Restrict the Plasma Inhibitor Specificity of Factor IXa. *J Biol Chem* **2013**; 288: 12692–8.
- [41]. Broze GJ, Jr. Protein Z–Dependent Regulation of Coagulation. *Thromb Haemost* **2001**; 86: 8–13.
- [42]. Gitschier J, Wood WI, Goralka TM, Wion KL, Chen EY, Eaton DH, et al. Characterization of the human factor VIII gene. *Nature*. 1984 Nov 22;312(5992):326–30.
- [43]. Kent WJ, Sugnet CW, Furey TS, Roskin KM, Pringle TH, Zahler AM, et al. The human genome browser at UCSC. *Genome Res*. 2002 Jun;12(6):996–1006.
- [44]. Bowen DJ. Haemophilia A and haemophilia B: molecular insights. *Mol Pathol MP*. 2002 Apr;55(2):127–44.
- [45]. McGlynn LK, Mueller CR, Begbie M, Notley CR, Lillicrap D. Role of the liver-enriched transcription factor hepatocyte nuclear factor 1 in transcriptional regulation of the factor V111 gene. *Mol Cell Biol*. 1996 May;16(5):1936–45.

- [46]. Figueiredo MS, Brownlee GG. cis-acting elements and transcription factors involved in the promoter activity of the human factor VIII gene. *J Biol Chem*. 1995 May 19;270(20):11828–38.
- [47]. Nougier C, Roualdes O, Fretigny M, d' Oiron R, Costa C, Negrier C, et al. Characterization of four novel molecular changes in the promoter region of the factor VIII gene. *Haemoph Off J World Fed Hemoph*. 2014 Mar;20(2):e149–156.
- [48]. Anson DS, Choo KH, Rees DJ, Giannelli F, Gould K, Huddleston JA, et al. The gene structure of human anti-haemophilic factor IX. *EMBO J*. 1984 May;3(5):1053–60.
- [49]. Funnell APW, Crossley M. Hemophilia B Leyden and once mysterious cis-regulatory mutations. *Trends Genet TIG* **2014**; 30: 18–23.
- [50]. Davies N, Austen DEG, Wilde MD, Darlington GJ, Brownlee GG. Clotting factor IX levels in CfEBPa knockout mice. *Br J Haematol* **1997**; 99:578–9
- [51]. Reijnen MJ, Sladek FM, Bertina RM, Reitsma PH. Disruption of a binding site for hepatocyte nuclear factor 4 results in hemophilia B Leyden. *Proc Natl Acad Sci* **1992**; 89: 6300–3.
- [52]. Funnell APW, Wilson MD, Ballester B, Mak KS, Burdach J, Magan N, Pearson RCM, Lemaigre FP, Stowell KM, Odom DT, Flicek P, Crossley M. A CpG Mutational Hotspot in a ONECUT Binding Site Accounts for the Prevalent Variant of Hemophilia B Leyden. *Am J Hum Genet* **2013**; 92: 460–7.
- [53]. Crossley M, Ludwig M, Stowell KM, Vos PD, Olek K, Brownlee GG. Recovery from hemophilia B Leyden: an androgen-responsive element in the factor IX promoter. *Science* **1992**; 257: 377–9.
- [54]. Pipe SW. Functional roles of the factor VIII B domain. *Haemoph Off J World Fed Hemoph*. 2009 Nov;15(6):1187–96.
- [55]. Hoyer LW. Hemophilia A. *N Engl J Med*. 1994 Jan 6;330(1):38–47.

- [56]. Lenting PJ, Christophe OD, Guéguen P. The disappearing act of factor VIII. *Haemoph Off J World Fed Hemoph*. 2010 May;16(102):6–15.
- [57]. Vinciguerra C, Durand B, Rugeri L. Déficit combiné en facteurs V et VIII de la coagulation: ou quand la génétique nous explique les déficits combinés de facteurs de la coagulation. *Immuno-Anal Biol Spéc*. 2007 Feb;22(1):41–7.
- [58]. Lenting PJ, van Mourik JA, Mertens K. The life cycle of coagulation factor VIII in view of its structure and function. *Blood*. 1998 Dec 1;92(11):3983–96.
- [59]. Bond M, Jankowski M, Patel H, Karnik S, Strang A, Xu B, Rouse J, Koza S, Letwin B, Steckert J, Amphlett G, Scoble H. Biochemical characterization of recombinant factor IX. *Semin Hematol* **1998**; 35: 11–7.
- [60]. Kaufman RJ. Post-translational Modifications Required for Coagulation Factor Secretion and Function. *Thromb Haemost* **1998**; 79: 1068–79.
- [61]. Bond M, Jankowski M, Patel H, Karnik S, Strang A, Xu B, Rouse J, Koza S, Letwin B, Steckert J, Amphlett G, Scoble H. Biochemical characterization of recombinant factor IX. *Semin Hematol* **1998**; 35: 11–7.
- [62]. Stenflo J, Holme E, Lindstedt S, Chandramouli N, Huang LH, Tam JP, Merrifield RB. Hydroxylation of aspartic acid in domains homologous to the epidermal growth factor precursor is catalyzed by a 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase. *Proc Natl Acad Sci* **1989**; 86: 444–7.
- [63]. Kurachi K, Davie EW. Isolation and characterization of a cDNA coding for human factor IX. *Proc Natl Acad Sci* **1982**; 79: 6461–4.
- [64]. Chevreux G, Faid V, Andre M-H, Tellier Z, Bihoreau N. Differential investigations from plasma-derived and recombinant Factor IX revealed major differences in post-translational modifications of activation peptides. *Vox Sang* **2012**; 104: 171–4.
- [65]. White I, Gilbert C, Pickens EM, Liles DK, Roberts HR. Mammalian Recombinant Coagulation Proteins: Structure and Function. *Transfus Sci* **1998**; 19: 177–89.

- [66]. Griffith MJ, Monroe DM, van Cott KE, Walker A, Waugh S, Kumar A, Drohan WN. N-glycan sialylation is important for in vivo recovery of recombinant factor IX. **2007**.
- [67]. Atoda H, Yokota E, Morita T. Characterization of a Monoclonal Antibody B1 That Recognizes Phosphorylated Ser-158 in the Activation Peptide Region of Human Coagulation Factor IX. *J Biol Chem* **2006**; 281: 9314–20.
- [68]. Arruda VR, Hagstrom JN, Deitch J, Heiman-Patterson T, Camire RM, Chu K, Fields PA, Herzog RW, Couto LB, Larson PJ, High KA. Posttranslational modifications of recombinant myotube-synthesized human factor IX. *Blood* **2001**; 97: 130–8.
- [69]. Bristol JA, Furie BC, Furie B. Propeptide processing during factor IX biosynthesis. Effect of point mutations adjacent to the propeptide cleavage site. *J Biol Chem* **1993**; 268: 7577–84.
- [70]. Kurachi S, Pantazatos DP, Kurachi K. The Carboxyl-Terminal Region of Factor IX Is Essential for Its Secretion†. *Biochemistry (Mosc)* **1997**; 36: 4337–44.
- [71]. Branchini A, Campioni M, Mazzucconi MG, Biondo F, Mari R, Bicocchi MP, Bernardi F, Pinotti M. Replacement of the Y450 (c234) phenyl ring in the carboxyl-terminal region of coagulation factor IX causes pleiotropic effects on secretion and enzyme activity. *FEBS Lett* **2013**; 587: 3249–53.
- [72]. Mannucci PM, Tuddenham EG. The hemophilias--from royal genes to gene therapy. *N Engl J Med*. 2001 Jun 7;344(23):1773–9.
- [73]. Cheung WF, Straight DL, Smith KJ, Lin SW, Roberts HR, Stafford DW. The role of the epidermal growth factor-1 and hydrophobic stack domains of human factor IX in binding to endothelial cells. *J Biol Chem* **1991**; 266: 8797–800.
- [74]. Mayhew M, Handford P, Brownlee GG. The binding of natural variants of human factor IX to endothelial cells. *FEBS Lett* **1994**; 341: 74–8.

- [75]. Stenflo J, Stenberg Y, Muranyi A. Calcium-binding EGF-like modules in coagulation proteinases: function of the calcium ion in module interactions. *Biochim Biophys Acta BBA – Protein Struct Mol Enzymol* **2000**; 1477: 51–63.
- [76]. Enjolras N, Plantier J-L, Rodriguez M-H, Rea M, Attali O, Vinciguerra C, Negrier C. Two novel mutations in EGF-like domains of human factor IX dramatically impair intracellular processing and secretion. *J Thromb Haemost* **2004**; 2: 1143–54.
- [77]. Johansson L, Karpf DM, Hansen L, Pelzer H, Persson E. Activation peptides prolong the murine plasma half-life of human factor VII. *Blood* **2011**; 117: 3445–52.
- [78]. Guéguen P, Cherel G, Badirou I, Denis CV, Christophe OD. Two residues in the activation peptide domain contribute to the half-life of factor X in vivo. *J Thromb Haemost* **2010**; 8: 1651–3.
- [79]. **Guillin M. C.**  
Déficits constitutionnels des facteurs II, V, VII ou X.  
Encycl.Med.Chir. (Paris- France), Sang, 13021C10, 7-1988,6p
- [80]. **GIRODONE, GAZENGEL C ET GOOSSENS M.**  
Aspects moléculaires des hémophilies. Encycl Med Chir (Paris-France), Hématologie, F.a.13-021-B-10, 1995,8p.
- [81]. **Micheline Moussalli, Steven W. Pipe, Hans-Peter Haurii, William C. Nichols, David Ginsburg and Randal J. Kaufman**  
Mannose-dependent Endoplasmic Reticulum(ER)-Golgi Intermediate  
Compartment-53-mediated ER to Golgi Trafficking of Coagulation Factors V and VIII The journal of biological chemistry Vol. 274, N° 46, 1999.

- [82]. **Timothy Myles, Thomas H. Yun, and Lawrence L. K. Leung.**  
Structural requirements for the activation of human factor VIII by thrombin.  
Blood, 2002 vol 100, N° 8.
- [83]. Schved J-F. Hémophilie : physiopathologie et bases moléculaires. EMC - Hématologie. 2008;3(2):1-14.
- [84]. Di Scipio RG, Kurachi K, Davie EW. Activation of human factor IX (Christmas factor). *J Clin Invest* **1978**; 61: 1528–38.
- [85]. Zhong D, Smith KJ, Birktoft JJ, Bajaj SP. First epidermal growth factor–like domain of human blood coagulation factor IX is required for its activation by factor VIIa/tissue factor but not by factor XIa. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1994**; 91: 3574–8.
- [86]. Zhong D, Bajaj MS, Schmidt AE, Bajaj SP. The N–terminal Epidermal Growth Factor–like Domain in Factor IX and Factor X Represents an Important Recognition Motif for Binding to Tissue Factor. *J Biol Chem* **2002**; 277: 3622–31.
- [87]. Vadivel K, Bajaj SP. Structural biology of factor VIIa/tissue factor initiated coagulation. *Front Biosci Landmark Ed* **2012**; 17: 2476–94.
- [88]. Ndonwi M, Broze GJ, Agah S, Schmidt AE, Bajaj SP. Substitution of the Gla Domain in Factor X with That of Protein C Impairs Its Interaction with Factor VIIa/Tissue Factor LACK OF COMPARABLE EFFECT BY SIMILAR SUBSTITUTION IN FACTOR IX. *J Biol Chem* **2007**; 282: 15632– 44.
- [89]. Chen SW, Pellequer J–L, Schved J–F, Giansily–Blaizot M. Model of a ternary complex between activated factor VII, tissue factor and factor IX. *Thromb Haemost* **2002**; 88: 74–82.
- [90]. Geng Y, Verhamme IM, Sun MF, Bajaj SP, Emsley J, Gailani D. Analysis of the factor XI variant Arg184Gly suggests a structural basis for factor IX binding to factor XIa. *J Thromb Haemost* **2013**; 11: 1374–84.

- [91]. Geng Y, Verhamme IM, Messer A, Sun M, Smith SB, Bajaj SP, Gailani D. A Sequential Mechanism for Exosite-mediated Factor IX Activation by Factor XIa. *J Biol Chem* **2012**; 287: 38200–9.
- [92]. Bajaj SP, Schmidt AE, Mathur A, Padmanabhan K, Zhong D, Mastro M, Fay PJ. Factor IXa:Factor VIIIa Interaction HELIX 330–338 OF FACTOR IXa INTERACTS WITH RESIDUES 558–565 AND SPATIALLY ADJACENT REGIONS OF THE A2 SUBUNIT OF FACTOR VIIIa. *J Biol Chem* **2001**; 276: 16302–9.
- [93]. Ngo JCK, Huang M, Roth DA, Furie BC, Furie B. Crystal Structure of Human Factor VIII: Implications for the Formation of the Factor IXa–Factor VIIIa Complex. *Structure* **2008**; 16: 597– 606.
- [94]. Celie PHN, Stempvoort G van, Fribourg C, Schurgers LJ, Lenting PJ, Mertens K. The Connecting Segment between Both Epidermal Growth Factor-like Domains in Blood Coagulation Factor IX Contributes to Stimulation by Factor VIIIa and Its Isolated A2 Domain. *J Biol Chem* **2002**; 277: 20214–20.
- [95]. Fribourg C, Meijer AB, Mertens K. The Interface between the EGF2 Domain and the Protease Domain in Blood Coagulation Factor IX Contributes to Factor VIII Binding and Factor X Activation. *Biochemistry (Mosc)* **2006**; 45: 10777–85.
- [96]. Lenting PJ, Loo J–WHP van de, Donath M–JSH, Mourik JA van, Mertens K. The Sequence GluLys of Human Blood Coagulation Factor VIII Comprises a Binding Site for Activated Factor IX. *J Biol Chem* **1996**; 271: 1935–40.
- [97]. Freedman SJ, Blostein MD, Baleja JD, Jacobs M, Furie BC, Furie B. Identification of the Phospholipid Binding Site in the Vitamin K-dependent Blood Coagulation Protein Factor IX. *J Biol Chem* **1996**; 271: 16227–36
- [98]. Foster PA, Fulcher CA, Houghten RA, Zimmerman TS. Synthetic factor VIII peptides with amino acid sequences contained within the C2 domain of factor VIII inhibit factor VIII binding to phosphatidylserine. *Blood* **1990**; 75: 1999–2004.

- [99]. Pratt KP, Shen BW, Takeshima K, Davie EW, Fujikawa K, Stoddard BL. Structure of the C2 domain of human factor VIII at 1.5 [[angst]] resolution. *Nature* **1999**; 402: 439–42.
- [100]. Christophe OD, Lenting PJ, Kolkman JA, Brownlee GG, Mertens K. Blood Coagulation Factor IX Residues Glu78 and Arg94 Provide a Link between Both Epidermal Growth Factor–like Domains That Is Crucial in the Interaction with Factor VIII Light Chain. *J Biol Chem* **1998**; 273: 222–7.
- [101]. Blostein MD, Furie BC, Rajotte I, Furie B. The Gla Domain of Factor IXa Binds to Factor VIIIa in the Tenase Complex. *J Biol Chem* **2003**; 278: 31297–302.
- [102]. Soeda T, Nogami K, Nishiya K, Takeyama M, Ogiwara K, Sakata Y, Yoshioka A, Shima M. The Factor VIIIa C2 Domain (Residues 2228–2240) Interacts with the Factor IXa Gla Domain in the Factor Xase Complex. *J Biol Chem* **2009**; 284: 3379–88.
- [103]. Soeda T, Nogami K, Ogiwara K, Shima M. Interactions between residues 2228–2240 within factor VIIIa C2 domain and factor IXa Gla domain contribute to propagation of clot formation: *Thromb Haemost* **2011**; 106: 893–900.
- [104]. Chang Y–J, Wu H–L, Hamaguchi N, Hsu Y–C, Lin S–W. Identification of Functionally Important Residues of the Epidermal Growth Factor–2 Domain of Factor IX by Alanine–scanning Mutagenesis RESIDUES ASN89–GLY93 ARE CRITICAL FOR BINDING FACTOR VIIIa. *J Biol Chem* **2002**; 277: 25393–9.
- [105]. Fay PJ, Koshiyama K. The A2 Subunit of Factor VIIIa Modulates the Active Site of Factor IXa. *J Biol Chem* **1998**; 273: 19049–54.
- [106]. Ahmad SS, London FS, Walsh PN. Binding studies of the enzyme (factor IXa) with the cofactor (factor VIIIa) in the assembly of factor–X activating complex on the activated platelet surface. *J Thromb Haemost JTH* **2003**; 1: 2348–55.
- [107]. Lapan KA, Fay PJ. Localization of a Factor X Interactive Site in the A1 Subunit of Factor VIIIa. *J Biol Chem* **1997**; 272: 2082–8.

- [108]. Takeyama M, Wakabayashi H, Fay PJ. Factor VIII Light Chain Contains a Binding Site for Factor X That Contributes to the Catalytic Efficiency of Factor Xase. *Biochemistry (Mosc)* **2012**; 51: 820–8.
- [109]. Sichler K, Kopetzki E, Huber R, Bode W, Hopfner K–P, Brandstetter H. Physiological fIXa Activation Involves a Cooperative Conformational Rearrangement of the 99–Loop. *J Biol Chem* **2003**; 278: 4121–6.
- [110]. Brandstetter H, Bauer M, Huber R, Lollar P, Bode W. X–ray structure of clotting factor IXa: active site and module structure related to Xase activity and hemophilia B. *Proc Natl Acad Sci* **1995**; 92: 9796–800.
- [111]. Institut de veille sanitaire. Réseau Francecoag. Statistiques nationales. Données démographiques : hémophile A et hémophilie B. Mise à jour le 15 juil 2014 [Internet]. [cited 2014 Sep2]. Available from: [http://www.francecoag.org/fSiteWebPublic/fpublic/fstats/fstats\\_page.jsp?stat2=on&stat3=on](http://www.francecoag.org/fSiteWebPublic/fpublic/fstats/fstats_page.jsp?stat2=on&stat3=on)
- [112]. Stenson PD, Mort M, Ball EV, Shaw K, Phillips A, Cooper DN. The Human Gene Mutation Database: building a comprehensive mutation repository for clinical and molecular genetics, diagnostic testing and personalized genomic medicine. *Hum Genet.* 2014 Jan;133(1):1–9.
- [113]. Rallapalli P, Kemball-Cook G, Tuddenham EG, Gomez K, Perkins S. Factor VIII Variant Database [Internet]. [cited 2015 Jan 8]. Available from: [www.factorviii-db.org](http://www.factorviii-db.org)
- [114]. Naylor J, Brinke A, Hassock S, Green PM, Giannelli F. Characteristic mRNA abnormality found in half the patients with severe haemophilia A is due to large DNA inversions. *Hum Mol Genet.* 1993 Nov;2(11):1773–8.
- [115]. Lakich D, Kazazian HH Jr, Antonarakis SE, Gitschier J. Inversions disrupting the factor VIII gene are a common cause of severe haemophilia A. *Nat Genet.* 1993 Nov;5(3):236–41.

- [116]. Keeney S, Mitchell M, Goodeve A, UK Haemophilia Center Doctors' Organization Haemophilia Genetics Laboratory Network. The molecular analysis of haemophilia A: a guideline from the UK haemophilia centre doctors' organization haemophilia genetics laboratory network. *Haemoph Off J World Fed Hemoph*. 2005 Jul;11(4):387–97.
- [117]. Bagnall RD, Giannelli F, Green PM. Int2h-related inversions causing hemophilia A: a novel insight into their origin and a new more discriminant PCR test for their detection. *J Thromb Haemost JTH*. 2006 Mar;4(3):591–8.
- [118]. Kazazian HH, Wong C, Youssoufian H, Scott AF, Phillips DG, Antonarakis SE. Haemophilia A resulting from de novo insertion of L1 sequences represents a novel mechanism for mutation in man. *Nature*. 1988 Mar 10;332(6160):164–6.
- [119]. Dietz HC, Valle D, Francomano CA, Kendzior RJ, Pyeritz RE, Cutting GR. The skipping of constitutive exons in vivo induced by nonsense mutations. *Science*. 1993 Jan 29;259(5095):680–3.
- [120]. Tavassoli K, Eigel A, Wilke K, Pollmann H, Horst J. Molecular diagnostics of 15 hemophilia A patients: characterization of eight novel mutations in the factor VIII gene, two of which result in exon skipping. *Hum Mutat*. 1998;12(5):301–3.
- [121]. Graw J, Brackmann H-H, Oldenburg J, Schneppenheim R, Spannagl M, Schwaab R. Haemophilia A: from mutation analysis to new therapies. *Nat Rev Genet*. 2005 Jun;6(6):488–501.
- [122]. Rallapalli P, Kembal-Cook G, Tuddenham EG, Gomez K, Perkins S. Factor IX Variant Database [Internet]. [cited 2015 Jan 8]. Available from: [www.factorix-db.org](http://www.factorix-db.org)
- [123]. Rydz N, Natalia R, Leggo J, Jayne L, Tinlin S, Shawn T, et al. The Canadian “National Program for hemophilia mutation testing” database: a ten-year review. *Am J Hematol*. 2013 Dec;88(12):1030–4.
- [124]. Salier JP, Kurachi S, Kurachi K. Hémophilie B Leyden : les corrections naturelles d'un déficit temporaire de transcription. *médecine/sciences*. 1994;10(2):186.

- [125]. World Federation of Hemophilia Le diagnostic du statut de porteuse. Disponible sur ([http://www.wfh.org/fr/abd/carriers/porteuses-le-diagnostic-de-statut-de-porteuse.](http://www.wfh.org/fr/abd/carriers/porteuses-le-diagnostic-de-statut-de-porteuse)) (consulté le : 18/05/2019).
- [126]. Valérie C. La transmission de l'hémophilie. Tout savoir sur l'hémophilie. 2019. Disponible sur: <https://www.doctissimo.fr/html/dossiers/hemophilie/articles/10764-hemophilie-maladie-sang-essentiel.htm>
- [127]. Kitchen S, Jennings I, Makris M, Kitchen DP, Woods TL, Walker ID. Factor VIII assay variability in postinfusion samples containing full length and B-domain deleted FVIII. *Haemophilia*. 2016;22(5):806-12.
- [128]. Cid AR, Calabuig M, Cortina V, Casaña P, Haya S, Moret A, et al. One-stage and chromogenic FVIII:C assay discrepancy in mild haemophilia A and the relationship with the mutation and bleeding phenotype. *Haemophilia*. 2008;14(5):1049-54.
- [129]. Chandler WL, Ferrell C, Lee J, Tun T, Kha H. Comparison of Three Methods for Measuring Factor VIII Levels in Plasma. *Am J Clin Pathol*. juill 2003;120(1):34–9.
- [130]. Peyvandi F, Oldenburg J, Friedman KD. A critical appraisal of one-stage and chromogenic assays of factor VIII activity. *J Thromb Haemost*. févr 2016;14(2):248–61.
- [131]. Crochemore T, Piza FM de T, Rodrigues R dos R, Guerra JC de C, Ferraz LJR, Corrêa TD. A new era of thromboelastometry. *Einstein São Paulo*. 12 juin 2017;15(3):380–5.
- [132]. Wikkelsø A, Wetterslev J, Møller AM, Afshari A. Thromboelastography (TEG) or rotational thromboelastometry (ROTEM) to monitor haemostatic treatment in bleeding patients: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. *Anaesthesia*. avr 2017;72(4):519–31.
- [133]. Furukawa S, Nogami K, Ogiwara K, Yada K, Minami H, Shima M. Systematic monitoring of hemostatic management in hemophilia A patients with inhibitor in the perioperative period using rotational thromboelastometry. *J Thromb Haemost*. juill 2015;13(7):1279–84.

- [134]. Hemker HC, Giesen P, AlDieri R, Regnault V, de Smed E, Wagenvoord R, et al. The Calibrated Automated Thrombogram (CAT): a universal routine test for hyper- and hypocoagulability. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2002;32(5–6):249–53.
- [135]. Dargaud Y, Bordet J, Francillon S, Négrier C. Haemophilia patients exhibit prolonged coagulation time but normal lag time of thrombin generation test: Are these results really discordant? *Thromb Haemost*. 2007;97(04):675–6.
- [136]. Hemker HC, Giesen P, Al Dieri R, Regnault V, de Smedt E, Wagenvoord R, et al. Calibrated Automated Thrombin Generation Measurement in Clotting Plasma. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2003;33(1):4–15.
- [137]. Beltran-Miranda CP, Khan A, Jaloma-Cruz AR, Laffan MA. Thrombin generation and phenotypic correlation in haemophilia A. *Haemophilia*. juill 2005;11(4):326–34.
- [138]. Chantarangkul V, Clerici M, Bressi C, Giesen PLA, Tripodi A. Thrombin generation assessed as endogenous thrombin potential in patients with hyper- or hypo-coagulability. 2003;88:8.
- [139]. Dargaud Y, Lienhart A, Janbain M, Le Quellec S, Enjolras N, Negrier C. Use of thrombin generation assay to personalize treatment of breakthrough bleeds in a patient with hemophilia and inhibitors receiving prophylaxis with emicizumab. *Haematologica*. avr 2018;103(4):e181–3.
- [140]. Dargaud Y, Delavenne X, Hart DP, Meunier S, Mismetti P. Prophylaxie à base de PK individualisée dans l'hémophilie sévère. *Hémophilie*. 2018; 24 (Suppl 2): 3–17. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [141]. Manco-Johnson MJ, Kempton CL, Reding MT, Lissitchkov T, Goranov S, Gercheva L, Rusen L, Ghinea M, Uscatescu V, Rescia V, Hong W. Essai randomisé, contrôlé, en groupes parallèles de prophylaxie de routine vs. traitement à la demande par le facteur VIII recombinant formulé au saccharose chez les adultes atteints d'hémophilie A sévère (SPINART) *J Thromb Haemost*. 2013; 11 : 1119-1127. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]

- [142]. Gringeri A, Lundin B, von Mackensen S, Mantovani L, Mannucci PM; Groupe d'étude ESPRIT. Un essai clinique randomisé de prophylaxie chez les enfants atteints d'hémophilie A (étude ESPRIT) *J Thromb Haemost.* 2011; 9 : 700–710. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- [143]. Royal S, Schramm W, Berntorp E, Giangrande P, Gringeri A, Ludlam C, Kroner B, Szucs T; Groupe d'étude européen sur l'économie de l'hémophilie. Différences de qualité de vie entre la thérapie de remplacement prophylactique et à la demande chez les patients hémophiles européens. *Hémophilie.* 2002; 8: 44–50. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- [144]. Aledort LM, Haschmeyer RH, Pettersson H. Une étude longitudinale des résultats orthopédiques pour les hémophiles déficients en facteur VIII sévère. Groupe d'étude sur les résultats orthopédiques. *J Intern Med.* 1994; 236 : 391–399. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- [145]. Berntorp E, Boulyjenkov V, Brettler D, Chandy M, Jones P, Lee C, Lusher J, Mannucci P, Peak I, Rickard K. Traitement moderne de l'hémophilie. *Organe mondial de la santé Bull.* 1995; 73: 691–701. [[Article gratuit PMC](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- [146]. Recommandations du Conseil consultatif médical et scientifique (MASAC) concernant la prophylaxie. *Bulletin médical 193.* New York, Fondation nationale de l'hémophilie. *Bulletin médical 193.* New York, Fondation nationale de l'hémophilie. 1994. [[Google Scholar](#)]
- [147]. *Transfus Clin Biol* 2000 ; 7 : 257-80 2000 Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS. Tous droits réservés Les bases thérapeutiques actuelles l hémophilie C. Négrier *Centre régional de traitement de l'hémophilie, Inserts LI331, hopital Edouard-Herriot, S, place d'Arsonval, 69457 Lyon redex J, Fr4nre*
- [148]. European principles of hemophilia care, B.T. Colvin et al. for the Inter Disciplinary Working Group, *Hemophilia* 2008: 1-14, 361-374

- [149]. Schulte S. Facteurs de coagulation innovants: technologie de fusion d'albumine et facteur VIII recombinant à chaîne unique. *Thromb Res.* 2013; 131 (Suppl 2) : 2–6. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [150]. Ivens IA, Baumann A, McDonald TA, Humphries TJ, Michaels LA, Mathew P. PEGylated therapeutic proteins for haemophilia treatment: a review for haemophilia caregivers. *Haemophilia* **2013**; 19: 11–20.
- [151]. Tuyau SW. Nouvelles thérapies pour l'hémophilie. *Hématologie Am Soc Hematol Educ Program.* 2016; 2016 : 650–656. [ [Article gratuit PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [152]. Coyle TE, Reding MT, Lin JC, Michaels LA, Shah A, Powell J. Étude de phase I de BAY 94-9027, un facteur VIII recombinant PEGylé à domaine B délété avec une demi-vie prolongée, chez des sujets hémophiles A. *J Thromb Haemost.* 2014; 12 : 488–496. [ [Article gratuit PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [153]. Mancuso ME, Santagostino E. Résultat des essais cliniques avec de nouveaux concentrés de FVIII / IX à demi-vie prolongée. *J Clin Med.* 2017; 6. [ [Article gratuit PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [154]. Konkle BA, Stasyshyn O, Chowdary P, Bevan DH, Mant T, Shima M, Engl W, Dyck-Jones J, Fuerlinger M, Patrone L, Ewenstein B, Abbuehl B. Pégylé, pleine longueur, facteur VIII recombinant pour traitement prophylactique et à la demande de l'hémophilie sévère A. *Sang.* 2015; 126 : 1078-1085. [ [Article gratuit PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [155]. Cafuir LA, Kempton CL. Produits de remplacement du facteur VIII actuels et émergents pour l'hémophilie A. *Ther Adv Hematol.* 2017; 8 : 303–313. [ [Article gratuit PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [156]. Mullins ES, Stasyshyn O, Alvarez-Roman MT, Osman D, Liesner R, Engl W, Sharkhawy M, Abbuehl BE. Facteur VIII recombinant pégylé de pleine longueur à demi-vie prolongée pour la prophylaxie chez les enfants atteints d'hémophilie A sévère . 2017; 23 : 238–246. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]

- [157]. Reding MT, Ng HJ, Poulsen LH, Eyster ME, Pabinger I, Shin HJ, Walsch R, Lederman M, Wang M, Hardtke M, Michaels LA. Innocuité et efficacité de BAY 94-9027, un facteur VIII à demi-vie prolongée. *J Thromb Haemost.* 2017; 15 : 411–419. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [158]. Ganson NJ, Kelly SJ, Scarlett E, Sundy JS, Hershfield MS. Contrôle de l'hyperuricémie chez les sujets atteints de goutte réfractaire et induction d'anticorps contre le poly (éthylène glycol) (PEG), dans un essai de phase I de l'urate oxydase PEGylée sous-cutanée. *Arthritis Res Ther.* 2006; 8 : 12. [ [Article gratuit PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [159]. Armstrong JK, Hempel G, Koling S, Chan LS, Fisher T, Meiselman HJ, Garratty G. L'anticorps contre le poly (éthylène glycol) affecte négativement le traitement par PEG-asparaginase chez les patients atteints de leucémie lymphoblastique aiguë. *Cancer.* 2007; 110 : 103-111. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [160]. Lubich C, Allacher P, De la Rosa M, Bauer A, Prenninger T, Horling FM, Siekmann J, Oldenburg J, Scheiflinger F, Reipert BM. Le mystère des anticorps contre le polyéthylène glycol (PEG) - Que savons-nous? *Pharm Res.* 2016; 33 : 2239-2249. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [161]. Lencer WI, Blumberg RS. A passionate kiss, then run: exocytosis and recycling of IgG by FcRn. *Trends Cell Biol* **2005**; 15: 5–9.
- [162]. Goebel NA, Babbey CM, Datta-Mannan A, Witcher DR, Wroblewski VJ, Dunn KW. Neonatal Fc Receptor Mediates Internalization of Fc in Transfected Human Endothelial Cells. *Mol Biol Cell* **2008**; 19: 5490–505.
- [163]. Berntorp E. Traitement de l'hémophilie en 2030. *Hémophilie.* 2016; 22 (Suppl 5) : 15–19. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [164]. Mahlangu J, Powell JS, Ragni MV, Chowdary P, Josephson NC, Pabinger I, Hanabusa H, Gupta N, Kulkarni R, Fogarty P, Perry D, Shapiro A, Pasi KJ, Apte S, Nestorov I, Jiang H, Li S, Neelakantan S, Cristiano LM, Goyal J, Sommer JM, Dumont JA, Dodd N, Nugent K, Vigliani G, Luk A, Brennan A, Pierce GF; Enquêteurs A-LONG. Étude de phase 3 de la protéine de fusion recombinante du facteur VIII Fc dans l'hémophilie sévère. *A. Sang.* 2014; 123 : 317–325. [ [Article gratuit PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]

- [165]. Nolan B, Mahlangu J, Perry D, Young G, Liesner R, Konkle B, Rangarajan S, Brown S, Hanabusa H, Pasi KJ, Pabinger I, Jackson S, Cristiano LM, Li X, Pierce GF, Allen G. Sécurité et efficacité à long terme de la protéine de fusion recombinante du facteur VIII Fc (rFVIII Fc) chez les sujets atteints d'hémophilie A. *Hémophilie*. 2016; 22 : 72–80. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [166]. Young G, Mahlangu J, Kulkarni R, Nolan B, Liesner R, Pasi J, Barnes C, Neelakantan S, Gambino G, Cristiano LM, Pierce GF, Allen G. Recombinant factor VIII Fc fusion protein for the prevention and treatment of saignement chez les enfants atteints d'hémophilie sévère A. *J Thromb Haemost*. 2015; 13 : 967–977. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [167]. Stasyshyn O, Djambas Khayat C, Iosava G, Ong J, Abdul Karim F, Fischer K, Veldman A, Blackman N, St Ledger K, Pabinger I. Sécurité, efficacité et pharmacocinétique de la rVIII-SingleChain chez les enfants atteints d'hémophilie A sévère : résultats d'un essai clinique multicentrique. *J Thromb Haemost*. 2017; 15 : 636–644. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [168]. Mahlangu J, Kuliczowski K, Karim FA, Stasyshyn O, Kosinova MV, Lepatan LM, Skotnicki A, Boggio LN, Klamroth R, Oldenburg J, Hellmann A, Santagostino E, Baker RI, Fischer K, Gill JC, P'Ng S, Chowdary P, Escobar MA, Khayat CD, Rusen L, Bensen-Kennedy D, Blackman N, Limsakun T, Veldman A, St Ledger K, Pabinger I; Chercheurs AFFINITY. Efficacité et sécurité de rVIII-SingleChain: résultats d'un essai clinique multicentrique de phase 1/3 dans l'hémophilie sévère A. *Sang*. 2016; 128 : 630–637. [ [Article gratuit PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [169]. Klamroth R, Simpson M, von Depka-Prondzinski M, Gill JC, Morfini M, Powell JS, Santagostino E, Davis J, Huth-Kühne A, Leissing C, Neumeister P, Bensen-Kennedy D, Feussner A, Limsakun T, Zhou M, Veldman A, St Ledger K, Blackman N, Pabinger I. Pharmacocinétique comparative de la rVIII-SingleChain et de l'octocog alfa (Advate) chez les patients atteints d'hémophilie A. *Hémophilie sévère*. 2016; 22 : 730–738. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]

- [170]. protocole nationale de diagnostic et de soins de l'hémophilie 2019 .centre de référence d'hémophilie et autres déficits constitutionnels en protéine de la coagulation . HAS . [https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2019-10/pnds\\_hemophilie\\_argumentaire\\_10.10.19.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2019-10/pnds_hemophilie_argumentaire_10.10.19.pdf)
- [171]. Powell, J., et al. Efficacy and safety of prophylaxis with once-weekly BAY 79-4980 compared with thrice-weekly rFVIII-FS in haemophilia A patients. A randomised, active-controlled, double-blind study. *ThrombHaemost.* 2012. 108(5): p. 913-22.
- [172]. Mei, B., et al. Rational design of a fully active, long-acting PEGylated factor VIII for hemophilia A treatment. *Blood.* 2010. 116(2): p. 270-9.
- [173]. Dumont, J.A., et al. Prolonged activity of a recombinant factor VIII-Fc fusion protein in hemophilia A mice and dogs. *Blood.* 2012. 119(13): p. 3024-30
- [174]. Tiede A. Half-life extended factor VIII for the treatment of hemophilia A. *J Thromb Haemost* 2015;**13 Suppl 1**:S176-9.
- [175]. Lentz SR, Misgav M, Ozelo M, Salek SZ, Veljkovic D, Recht M, Cerqueira M, Tiede A, Brand B, Mancuso ME, Seremetis S, Lindblom A, Martinowitz U. Résultats d'un grand essai clinique multinational (tuteur <sup>TM</sup> 1) en utilisant un traitement prophylactique par turoctocog alfa chez les patients adolescents et adultes atteints d'hémophilie A sévère: sécurité et efficacité. *Hémophilie.* 2013; 19 : 691–697. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [176]. Schmidbauer S, Witzel R, Robbel L, Sebastian P, Grammel N, Metzner HJ, Schulte S. Caractérisation physicochimique de rVIII-SingleChain, un nouveau facteur VIII à chaîne unique recombinant. *Thromb Res.* 2015; 136 : 388–395. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [177]. Johnson DJD, Langdown J, Huntington JA. Molecular basis of factor IXa recognition by heparin- activated antithrombin revealed by a 1.7-Å structure of the ternary complex. *Proc Natl Acad Sci* **2010**; 107: 645–50.

- [178]. Carcao M, Zak M, Karim FA, Hanabusa H, Kearney S, Lu MY, Persson P, Rangarajan S, Santagostino E. Innocuité, efficacité et pharmacocinétique du nonacog beta pegol (N9-GP) dans la prophylaxie et le traitement des épisodes hémorragiques chez les patients atteints d'hémophilie B pédiatrique précédemment traités. *Du sang*. 2014; 124 : 1513. [ [Google Scholar](#) ]
- [179]. Barnes C, Fischer K, Kulkarni R. Innocuité, efficacité et pharmacocinétique de la protéine de fusion recombinante du facteur IX Fc chez les enfants atteints d'hémophilie B (Kids BLONG) In: Hematology Society of Australia and New Zealand, the Australian & New Zealand Society of Blood Transfusion, et la réunion scientifique annuelle de la Australasian Society of Thrombosis and Haemostasis. 2015. [ [Google Scholar](#) ]
- [180]. Kenet G, Chambost H, Male C, Lambert T, Álvarez-Román M, Halimeh S, Chan A, Barnes C, Chernova T, Blatny J, Mancuso M, Meunier S, Komrska V, Laws HJ, Morfini M, Curtain J, Blazek B, Voigt C, Jacobs J, Santagostino E. Résultats d'efficacité, de pharmacocinétique (PK) et de tolérance d'une étude clinique de phase 3 sur la protéine de fusion recombinante liant le facteur IX de coagulation à l'albumine (RIX-FP) chez des enfants atteints d'hémophilie précédemment traités B (résumé OR346) *J Thromb Haemost*. 2015; 13 : 227-228. [ [Google Scholar](#) ]
- [181]. Mahlangu J, Kuliczkowski K, Stasyshyn O, Skotricki A, Kasinova M, Kennedy DB, France N, Pabinger I; Le groupe d'étude AFFINITY. RVIII-SingleChain: résultats de l'essai clinique pivot de phase I / III PK, efficacité et sécurité chez les adultes et adolescents atteints d'hémophilie sévère A. *J Thromb Haemost*. 2015; 13 : 86. [ [Google Scholar](#) ]
- [182]. Mahlangu J, Lepatan LM, Vilchevska K, Oldenburg J, Stasyshyn O, Fischer K, Iosava G, Khayat CD, Simpson M, Wang M. RVIII-pharmacocinétique à chaîne unique chez les adultes, les adolescents et les enfants. *J Thromb Haemost*. 2015; 13 : 603. [ [Google Scholar](#) ]

- [183]. Peters RT, Toby G., Lu Q., Liu T., Kulman JD, Low SC, Bitonti AJ, Pierce GF  
Caractérisation biochimique et fonctionnelle d'une protéine de fusion monomère  
recombinante facteur VIII-Fc. *J. Thromb. Haemost.* 2013; 11 : 132-141. doi:  
10.1111 / jth.12076. [ Article gratuit PMC ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google  
Scholar ]
- [184]. Powell JS, Josephson NC, Quon D., Ragni MV, Cheng G., Li E., Jiang H., Li L.,  
Dumont JA, Goyal J., et al. Innocuité et activité prolongée de la protéine de fusion  
recombinante du facteur VIII Fc chez les patients hémophiles A. *Du sang.* 2012; 119  
: 3031–3037. doi: 10.1182 / blood-2011-09-382846. [ Article gratuit PMC ] [  
PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [185]. Mahlangu J., Powell JS, Ragni MV, Chowdary P., Josephson NC, Pabinger I.,  
Hanabusa H., Gupta N., Kulkarni R., Fogarty P., et al. Enquêteurs A-LONG. Étude  
de phase 3 de la protéine de fusion recombinante du facteur VIII Fc dans  
l'hémophilie sévère A. *Sang.* 2014; 123 : 317–325. doi: 10.1182 / blood-2013-10-  
529974. [ Article gratuit PMC ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [186]. Young G., Mahlangu J., Kulkarni R., Nolan B., Liesner R., Pasi J., Barnes C.,  
Neelakantan S., Gambino G., Cristiano LM, et al. Protéine de fusion recombinante  
du facteur VIII Fc pour la prévention et le traitement des saignements chez les  
enfants atteints d'hémophilie sévère A. *J. Thromb. Haemost.* 2015; 13 : 967–977.  
doi: 10.1111 / jth.12911. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [187]. Nolan B., Mahlangu J., Perry D., Young G., Liesner R., Konkle B., Rangarajan S.,  
Brown S., Hanabusa H., Pasi KJ, et al. Innocuité et efficacité à long terme de la  
protéine de fusion recombinante du facteur VIII Fc (rFVIII-Fc) chez les sujets atteints  
d'hémophilie A. *Hémophilie.* 2016; 22 : 72–80. doi: 10.1111 / hae.12766. [ PubMed  
] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]

- [188]. Mahlangu J., Ragni M., Gupta N., Rangarajan S., Klamroth R., Oldenburg J., Nogami K., Young G., Cristiano LM, Dong Y., et al. Protéine de fusion Fc du facteur VIII recombinant à longue durée d'action (rFVIII<sub>Fc</sub>) pour la prise en charge hémostatique périopératoire dans l'hémophilie A. *Thromb. Haemost.* 2016; 116 : 1–8. doi: 10.1160 / TH15-10-0780. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [189]. Turecek PL, Bossard MJ, Graninger M., Gritsch H., Höllriegl W., Kaliwoda M., Matthiessen P., Mitterer A., Muchitsch EM, Purtscher M., et al. BAX 855, un produit rFVIII PEGylé à demi-vie prolongée. Développement, caractérisation fonctionnelle et structurelle. *Hamostaseologie.* 2012; 32 : S29 à S38. [ PubMed ] [ Google Scholar ]
- [190]. Konkle BA, Stasyshyn O., Chowdary P., Bevan DH, Mant T., Shima M., Engl W., Dyck-Jones J., Fuerlinger M., Patrone L., et al. Facteur VIII recombinant pégylé de pleine longueur pour le traitement prophylactique et à la demande de l'hémophilie A sévère. *Sang.* 2015; 126 : 1078-1085. doi: 10.1182 / blood-2015-03-630897. [ Article gratuit PMC ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [191]. 191. Mullins ES, Stasyshyn O., Alvarez-Roman MT, Osman D., Liesner R., Engl W., Sharkhawy M., Abbuehl BE hémophilie A. *Hémophilie.* 2016 doi: 10.1111 / hae.13119. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [192]. Brand B., Gruppo R., Wynn TT, Griskevicius L., Lopez Fernandez MF, Chapman M., Dvorak T., Pavlova BG, Abbuehl BE Efficacité et sécurité du facteur VIII recombinant pégylé pleine longueur à demi-vie prolongée pour l'hémostase périopératoire chez les patients hémophiles A. *Hémophilie.* 2016; 22 : e251 – e258. doi: 10.1111 / hae.12963. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [193]. Coyle TE, Reding MT, Lin JC, Michaels LA, Shah A., Powell J. hémophilie A. *J. Thromb. Haemost.* 2014; 12 : 488–496. doi: 10.1111 / jth.12506. [ Article gratuit PMC ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]

- [194]. Reding MT, Ng HJ, Poulsen LH, Eyster ME, Pabinger I., Shin HJ, Walsch R., Lederman M., Wang M., Hardtke M., et al. Innocuité et efficacité du BAY 94-9027, un facteur VIII à demi-vie prolongée. *J. Thromb. Haemost.* 2017; 15 : 411–419. doi: 10.1111 / jth.13597. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [195]. Santagostino E., Saxena K., Kenet G., Fischer K., Biss T., Radke S., Michaels LA PROTECT VIII Kids résultats de l'essai: BAY 94-9027 innocuité et efficacité chez les enfants déjà traités atteints d'hémophilie sévère A. *Hémophilie.* 2016; 22 : 41. [ Google Scholar ]
- [196]. Mikaelsson M, Oswaldsson U, Sandberg H. Influence of phospholipids on the assessment of factor VIII activity. *Haemophilia.* 1998;4(4):646-50
- [197]. Kitchen S, Jennings I, Makris M, Kitchen DP, Woods TAL, Walker ID. Clotting and chromogenic factor VIII assay variability in post-infusion and spiked samples containing full-length recombinant FVIII or recombinant factor VIII Fc fusion protein ( RFVIII Fc ). *Int J Lab Hematol.* avr 2019;41(2):176–83.
- [198]. Lasne D, Pouplard C, Nougier C, Eschwege V, Proulle V, Smahi M, et al. Dosage de l'activité du facteur VIII chez les patients hémophiles A substitués. *Ann Biol Clin.* 2019;77:14.
- [199]. Bulla O, Poncet A, Alberio L, Asmis LM, Gähler A, Graf L, et al. Impact of a product-specific reference standard for the measurement of a PEGylated rFVIII activity: the Swiss Multicentre Field Study. *Haemophilia.* 2017;
- [200]. Turecek PL, Romeder-Finger S, Apostol C, Bauer A, Crocker-Buqué A, Burger DA, et al. A world-wide survey and field study in clinical haemostasis laboratories to evaluate FVIII:C activity assay variability of ADYNOVATE and OBIZUR in comparison with ADVATE. *Haemophilia.* 2016;22(6):957-65.
- [201]. Gu JM, Ramsey P, Evans V, Tang L, Apeler H, Leong L, et al. Evaluation of the activated partial thromboplastin time assay for clinical monitoring of PEGylated recombinant factor VIII (BAY 94-9027) for haemophilia A. *Haemophilia.* 2014;20(4):593-600.

- [202]. Young G, Mahlangu JN. Concentrés de facteur de coagulation à demi-vie prolongée: résultats d'essais cliniques publiés. *Hémophilie*. 2016; 22 (Suppl 5): 25–30. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [203]. Ling G, Nathwani AC, Tuddenham EGD. Progrès récents dans le développement de thérapies spécifiques pour l'hémophilie. *Br J Haematol*. 2018; 181 : 161-172. [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [204]. Collins PW, Young G, Knobe K, Karim FA, Angchaisuksiri P, Banner C, Gürsel T, Mahlangu J, Matsushita T, Mauser-Bunschoten EP, Oldenburg J, Walsh CE, Negrier C; Enquêteurs Paradigm 2. Facteur IX glycoPEGylé à action prolongée recombinant dans l'hémophilie B: un essai multinational randomisé de phase 3. *Du sang*. 2014; 124 : 3880-3886. [ [Article gratuit PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [205]. Santagostino E, Martinowitz U, Lissitchkov T, Pan-Petes B, Hanabusa H, Oldenburg J, Boggio L, Negrier C, Pabinger I, von Depka Prondzinski M, Altisent C, Castaman G, Yamamoto K, Álvarez-Roman MT, Voigt C, Blackman N, Jacobs I; Groupe d'étude des chercheurs PROLONG-9FP. Protéine de fusion d'albumine du facteur IX de coagulation recombinant à longue durée d'action (rIX-FP) dans l'hémophilie B: résultats d'un essai de phase 3. *Du sang*. 2016; 127 : 1761–1769. [ [Article gratuit PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [206]. Peters RT, Low SC, Kamphaus GD, Dumont JA, Amari JV, Lu Q., Zarbis-Papastoitsis G., Reidy TJ, Merricks EP, Nichols TC, et al. Activité prolongée du facteur IX en tant que protéine de fusion Fc monomère. *Du sang*. 2010; 115 : 2057–2064. doi: 10.1182 / blood-2009-08-239665. [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
- [207]. Shapiro AD, Ragni MV, Valentino LA, Key NS, Josephson NC, Powell JS, Cheng G., Thompson AR, Goyal J., Tubridy KL, et al. La protéine de fusion de fusion recombinante IX-Fc (rFIXFc) démontre l'innocuité et une activité prolongée dans une étude de phase 1 / 2a chez des patients atteints d'hémophilie B. *Du sang*. 2012; 119 : 666–672. doi: 10.1182 / blood-2011-07-367003. [ [Article gratuit PMC](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [Google Scholar](#) ]

- [208]. Powell JS, Pasi KJ, Ragni MV, Ozelo MC, Valentino LA, Mahlangu JN, Josephson NC, Perry D., Manco-Johnson MJ, Apte S., et al. Étude de phase 3 de la protéine de fusion recombinante du facteur IX Fc dans l'hémophilie B. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369 : 2313-2323. doi: 10.1056 / NEJMoa1305074. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [209]. Fischer K., Kulkarni R., Nolan B., Mahlangu J., Rangarajan S., Gambino G., Diao L., Ramirez-Santiago A., Pierce GF, Allen G. Recombinant factor IX Fc fusion protein in children avec l'hémophilie B (Kids B-LONG): résultats d'une étude de phase 3 multicentrique non randomisée. *Lancet Haematol.* 2017; 4 : e75 – e82. doi: 10.1016 / S2352-3026 (16) 30193-4. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [210]. Pasi KJ, Fischer K., Ragni M., Nolan B., Perry DJ, Kulkarni R., Ozelo M., Mahlangu J., Shapiro AD, Baker RI, et al. Sécurité et efficacité à long terme de la prophylaxie à intervalle prolongé avec la protéine de fusion recombinante du facteur IX Fc (rFIXFc) chez les sujets atteints d'hémophilie B. *Thromb. Haemost.* 2016 doi: 10.1160 / TH16-05-0398. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [211]. Powell JS, Apte S., Chambost H., Hermans C., Jackson S., Josephson NC, Mahlangu JN, Ozelo MC, Peerlinck K., Pasi J., et al. Protéine de fusion Fc du facteur IX recombinant à longue durée d'action (rFIXFc) pour la prise en charge périopératoire des sujets atteints d'hémophilie B dans l'étude de phase 3 B-LONG. *Br. J. Haematol.* 2015; 168 : 124-134. doi: 10.1111 / bjh.13112. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [212]. Santagostino E., Negrier C., Klamroth R., Tiede A., Pabinger-Fasching I., Voigt C., Jacobs I., Morfini M. Sécurité et pharmacocinétique d'une nouvelle protéine de fusion recombinante liant le facteur IX de coagulation à l'albumine (rIX-FP) chez les patients hémophiles B. *Du sang.* 2012; 120 : 2405–2411. doi: 10.1182 / blood-2012-05-429688. [ Article gratuit PMC ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]

- [213]. Martinowitz U., Lissitchkov T., Lubetsky A., Jotov G., Barazani-Brutman T., Voigt C., Jacobs I., Wuerfel T., Santagostino E. Résultats d'une phase I/ II en ouvert, essai de tolérance et d'efficacité du facteur IX de coagulation (recombinant), protéine de fusion albumine chez des patients hémophiles B. *Hémophilie*. 2015; 21 : 784–790. doi: 10.1111 / hae.12721. [ Article gratuit PMC ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [214]. 214. Santagostino E., Martinowitz U., Lissitchkov T., Pan-Petes B., Hanabusa H., Oldenburg J., Boggio L., Negrier C., Pabinger I., von Depka Prondzinski M., et al. Protéine de fusion d'albumine du facteur IX de coagulation recombinant à longue durée d'action (rIX-FP) dans l'hémophilie B: résultats d'un essai de phase 3. *Du sang*. 2016; 127 : 1761–1769. doi: 10.1182 / blood-2015-09-669234. [ Article gratuit PMC ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [215]. Kenet G., Chambost H., Male C., Lambert T., Halimeh S., Chernova T., Mancuso ME, Curtin J., Voigt C., Li Y., et al. Protéine de fusion recombinante à action prolongée liant le facteur IX de coagulation à l'albumine (rIX-FP) chez les enfants: résultats d'un essai de phase 3. *Thromb. Haemost.* 2016; 116 : 659–668. doi: 10.1160 / TH16-03-0179. [ Article gratuit PMC ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [216]. Negrier C., Karim FA, Lepatan LM, Lienhart A., Lopez-Fernandez MF, Mahlangu J., Pabinger I., Li Y., Wolko D., Voigt C., et al. Efficacité et sécurité de la protéine de fusion recombinante à action prolongée liant le facteur IX à l'albumine chez les patients hémophiles B subissant une intervention chirurgicale. *Hémophilie*. 2016;22: e259 – e266. doi: 10.1111 / hae.12972. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [217]. Østergaard H., Bjelke JR, Hansen L., Petersen LC, Pedersen AA, Elm T., Møller F., Hermit MB, Holm PK, Krogh TN, et al. Demi-vie prolongée et propriétés enzymatiques préservées du facteur IX PEGylé sélectivement sur les N- glycanes natifs dans le peptide d'activation. *Du sang*. 2011; 118 : 2333-2341. doi: 10.1182 / blood-2011-02-336172. [ Article gratuit PMC ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]

- [218]. Negrier C., Knobe K., Tiede A., Giangrande P., Møss J. Propriétés pharmacocinétiques améliorées d'un facteur IX recombinant glycoPEGylé: Un premier essai de dose humaine chez des patients atteints d'hémophilie B. *Sang.* 2011; 118 : 2695-2701. doi: 10.1182 / blood-2011-02-335596. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [219]. Collins PW, Young G., Knobe K., Karim FA, Angchaisuksiri P., Banner C., Gürsel T., Mahlangu J., Matsushita T., Mauser-Bunschoten EP, et al. Facteur IX glycoPEGylé à longue durée d'action recombinant dans l'hémophilie B: un essai multinational randomisé de phase 3. *Du sang.* 2014; 124 : 3880-3886. doi: 10.1182 / blood-2014-05-573055. [ Article gratuit PMC ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [220]. Carcao M., Zak M., Karim FA, Hanabusa H., Kearney S., Lu M.-Y., Persson P., Rangarajan S., Santagostino E. Nonacog beta pegol chez des enfants atteints d'hémophilie B précédemment traités: Résultats d'un essai international ouvert de phase 3. *J. Thromb. Haemost.* 2016; 14 : 1521-1529. doi: 10.1111 / jth.13360. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [221]. Escobar MA, Tehranchi R., Karim FA, Caliskan U., Chowdary P., Colberg T., Giangrande P., Giermasz A., Mancuso ME, Serban M., et al. Faible consommation de facteurs pour une intervention chirurgicale majeure dans l'hémophilie B avec le facteur IX glycoPEGylé recombinant à action prolongée. *Hémophilie.* 2017; 23 : 67–76. doi: 10.1111 / hae.13041. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]
- [222]. Sommer JM, Buyue Y, Bardan S, Peters RT, Jiang H, Kamphaus GD, et al. Comparative field study: impact of laboratory assay variability on the assessment of recombinant factor IX Fc fusion protein (rFIXFc) activity. *Thromb Haemost.* 2014;112(5):932-40.
- [223]. Bowyer AE, Hillarp A, Ezban M, Persson P, Kitchen S. Measuring factor IX activity of nonacog beta pegol with commercially available one-stage clotting and chromogenic assay kits: a two-center study. *J Thromb Haemost.* 2016;14(7):1428-35.

- [224]. Sørensen MH, Andersen S, Ezban M. Factor IX-deficient plasma spiked with N9-GP behaves similarly to N9-GP post-administration clinical samples in N9-GP ELISA and FIX activity assays. *Haemophilia*. 2015;21(6):832-6.
- [225]. Rosén P, Rosén S, Ezban M, Persson E. Overestimation of N-glycoPEGylated factor IX activity in a one-stage factor IX clotting assay owing to silica-mediated premature conversion to activated factor IX. *J Thromb Haemost*. 2016;14(7):1420-7.
- [226]. Kitchen S, Tiefenbacher S, Gosselin R. Factor Activity Assays for Monitoring Extended Half-Life FVIII and Factor IX Replacement Therapies. *Semin Thromb Hemost*. 2017;43(3):331-7.
- [227]. Oldenburg J. Optimal treatment strategies for hemophilia: achievements and limitations of current prophylactic regimens. *Blood*. 2015 Mar 26;125(13):2038–2044. PubMed PMID: 25712992; eng
- [228]. Kitazawa T, Shima M. Emicizumab, a humanized bispecific antibody to coagulation factors IXa and X with a factor VIIIa-cofactor activity. *Int J Hematol* [Internet]. 22 oct 2018
- [229]. Kitazawa T, Igawa T, Sampei Z, Muto A, Kojima T, Soeda T, et al. A bispecific antibody to factors IXa and X restores factor VIII hemostatic activity in a hemophilia A model. *Nat Med*. oct 2012;18(10):1570–4.
- [230]. Shima M, Hanabusa H, Taki M, Matsushita T, Sato T, Fukutake K, et al. Factor VIII-Mimetic Function of Humanized Bispecific Antibody in Hemophilia A. *N Engl J Med*. 26 mai 2016;374(21):2044–53.
- [231]. Kitazawa T, Igawa T, Sampei Z, et al. A bispecific antibody to factors IXa and X restores factor VIII hemostatic activity in a hemophilia A model. *Nat Med*. 2012 Oct;18(10):1570–1574. PubMed PMID:23023498; eng.
- [232]. <https://www.hemlibra.com/hcp/safety-side-effects/adverse-reactions.html>
- [233]. Scott LJ, Kim ES. Emicizumab-kxwh: first global approval. *Drugs*. 2018;78:269-274.
- [234]. Reichert JM. Antibodies to watch in 2017. *MAbs*. 2017;9(2):167-181.

- [235]. Minami H, Nogami K, Soeda T, Kitazawa T, Hattori K, Shima M. The factor VIII heavy chain improves emicizumab-tenase assembly to enhance the factor VIII-mimicking cofactor activity. *Thromb Res.*2018;166:77-79.
- [236]. Noguchi-Sasaki M, Soeda T, Ueyama A, et al. Emicizumab, a bispecific antibody to factors IX/IXa and X/Xa, does not interfere with antithrombin or TFPI activity in vitro. *TH Open.* 2018;2(1):e96-e103.
- [237]. Shima M. Emicizumab prophylaxis overcomes factor VIII inhibitors in Hemophilia A. *J Pediatr.* 2017;190:287-290.
- [238]. Mahlangu J, Oldenburg J, Paz-Priel I, et al. Emicizumab prophylaxis in patients who have hemophilia A without inhibitors. *N Engl J Med.* 2018;379(9):811-822.
- [239]. Uchida N, Sambe T, Yoneyama K, et al. A first-in-human phase 1 study of ACE910, a novel factor VIII-mimetic bispecific antibody, in healthy subjects. *Blood.* 2016;127:1633-1641.
- [240]. Shima M, Lillicrap D, Kruse-Jarres R. Alternative therapies for the management of inhibitors. *Haemophilia.* 2016;22(Suppl 5):36-41.
- [241]. Young G, Callaghan M, Dunn A, Kruse-Jarres R, Pipe S. Emicizumab for hemophilia A with factor VIII inhibitors. *Expert rev Hematol.* 2018;11:835-846.49
- [242]. Mancuso ME, Callaghan MU, Kruse-Jarres R, et al. Emicizumab prophylaxis in adolescent/adult patients with hemophilia A previously receiving episodic or prophylactic bypassing agent treatment: updated analyses from the HAVEN 1 study. *Blood.* 2017;130(Suppl1):1071-1071.
- [243]. Jimenez-Yuste V, Shima M, Fukutake K, et al. Emicizumab subcutaneous dosing every 4 weeks for the management of hemophilia A: Preliminary data from the pharmacokinetic run-in cohort of a multicenter, openlabel, phase 3 study (HAVEN 4). *Blood.* 2017;130(Suppl 1):86-86.

- [244]. Kitazawa T, Esaki K, Tachibana T, et al. Factor VIIIa-mimetic cofactor activity of a bispecific antibody to factors IX/IXa and X/Xa,emicizumab, depends on its ability to bridge the antigens. *ThrombHaemost.* 2017;117:1348-1357.
- [245]. Nogami K. Bispecific antibody mimicking factor VIII. *Thromb Res.* 2016;141(Suppl 2):S34-S35.
- [246]. Shima M, Hanabusa H, Taki M, et al. Factor VIII-mimetic function of humanized bispecific antibody in hemophilia A. *N Engl J Med.* 2016;374:2044-2053.
- [247]. Shima M. Trends in novel treatments for hemophilia. *RinshoKetsueki.* 2016;57:2259-2266.
- [248]. Klamroth R. A new era of treatment for patients with haemophilia A? *Hamostaseologie.* 2017;37:216-218.
- [249]. Fontana P, Robert-Ebadi H, Boehlen F, Righini M. Angiology and haemostasis. Highlights on some new data in 2017. *Rev Med Suisse.*2018;14(588-589):19-22.
- [250]. Collins PW, Liesner R, Makris M, et al. Treatment of bleeding episodes in haemophilia A complicated by a factor VIII inhibitor in patients receiving Emicizumab. Interim guidance from UKHCDO Inhibitor Working Party and Executive Committee. *Haemophilia.* 2018;24:344-347.
- [251]. Kruse-Jarres R, Callaghan MU, Croteau SE, et al. Surgical experience in two multicenter, open-label phase 3 studies of emicizumab in persons with hemophilia A with inhibitors (HAVEN 1 and HAVEN 2). *Blood.* 2017;130(Suppl 1):89-89.
- [252]. Young G, Sidonio RF, Liesner R, et al. HAVEN 2 updated analysis:Multicenter, open-label, phase 3 study to evaluate efficacy, safety and pharmacokinetics of subcutaneous administration of emicizumab prophylaxis in pediatric patients with hemophilia A with inhibitors. *Blood.* 2017;130(Suppl 1):85-85.

- [253]. Kotani N, Yoneyama K, Kawakami N, Shimuta T, Fukase H, Kawanishi T. Relative and absolute bioavailability of emicizumab to bridge drug products and subcutaneous injection sites in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Drug Dev*. 2018. <https://doi.org/10.1002/cpdd.617>.
- [254]. Hemlibra® (emicizumab) in haemophilia ASTASEY overview
- [255]. A multicentre, open-label study of emicizumab given every 2 or 4 weeks in children with severe haemophilia A without inhibitors
- [256]. Oldenburg J, Mahlangu JN, Kim B, Schmitt C, Callaghan MU, Young G, et al. Emicizumab Prophylaxis in Hemophilia A with Inhibitors. *N Engl J Med*. 31 août 2017;377(9):809–18.
- [257]. Uchida N, Sambe T, Yoneyama K, Fukazawa N, Kawanishi T, Kobayashi S, et al. A first-in-human phase 1 study of ACE910, a novel factor VIII-mimetic bispecific antibody, in healthy subjects. *Blood*. 31 mars 2016;127(13):1633–41.
- [258]. Adamkewicz JI, Chen DC, Paz-Priel I. Effects and Interferences of Emicizumab, a Humanised Bispecific Antibody Mimicking Activated Factor VIII Cofactor Function, on Coagulation Assays. *Thromb Haemost*. juill 2019;119(07):1084–93.
- [259]. Colowick AB, Bohn RL, Avorn J, Ewenstein BM. Immune tolerance induction in hemophilia patients with inhibitors: costly can be cheaper. 2000;96(5):6.
- [260]. Hassan S, Cannavò A, Gouw SC, Rosendaal FR, van der Bom JG. Factor VIII products and inhibitor development in previously treated patients with severe or moderately severe hemophilia A: a systematic review. *J Thromb Haemost*. juin 2018;16(6):1055–68.
- [261]. Yada K, Nogami K, Ogiwara K, Shida Y, Furukawa S, Yaoi H, et al. Global coagulation function assessed by rotational thromboelastometry predicts coagulation-steady state in individual hemophilia A patients receiving emicizumab prophylaxis. *Int J Hematol* [Internet]. 28 juin 2019
- [262]. <https://sfar.org/prise-en-charge-personne-hemophile-a-avec-inhibiteur-traitee-par-emicizumab-dans-contexte-chirurgie-ou-hemorragie/>

- [263]. [https://www.hassante.fr/upload/docs/evamed/CT15686\\_FEIBA\\_PIS\\_RCP\\_Avis2\\_CT15686.pdf](https://www.hassante.fr/upload/docs/evamed/CT15686_FEIBA_PIS_RCP_Avis2_CT15686.pdf)
- [264]. Neufeld EJ, Negrier C, Arkhammar P, et al. Safety update on the use of recombinant activated factor VII in approved indications. *Blood Rev* 2015;**29 Suppl 1**:S34-41.
- [265]. Chowdary P. Inhibition of Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) as a Treatment for Haemophilia: Rationale with Focus on Concizumab. *Drugs*. juin 2018;78(9):881–90.
- [266]. Nogami K, Shima M. New therapies using nonfactor products for patients with hemophilia and inhibitors. *Blood*. 31 janv 2019;133(5):399–406.
- [267]. Pelland-Marcotte M-C, Carcao MD. Hemophilia in a Changing Treatment Landscape. *Hematol Oncol Clin North Am*. juin 2019;33(3):409–23.
- [268]. FLORA PEYVANDI ET COLL. HEMOPHILIE .2019.Avancés cliniques en therapie genique[pubmed]

## Serment d'Hippocrate

*Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.*

- *Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- *Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*
- *Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- *Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*
- *Les médecins seront mes frères.*
- *Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*
- *Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- *Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- *Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

# قسم أبقراط

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوتا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- ◀ بأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية.
- ◀ وأن أحترم أسانذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه.
- ◀ وأن أمارس مهنتي بوانزع من ضميري وشرعي في جاعلا صحة مريض هدي في الأول.
- ◀ وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي.
- ◀ وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب.
- ◀ وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي.
- ◀ وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي.
- ◀ وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها.
- ◀ وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطريق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد.
- ◀ بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسمتا بشري في.

والله على ما أقول شهيد .



المملكة المغربية  
جامعة محمد الخامس بالرباط  
كلية الطب والصيدلة  
الرباط



أطروحة رقم: 119

سنة : 2021

# الأدوية الجديدة للهيموفيليا

## أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : / / 2021

## من طرفه

### السيدة إكرام حبوبات

المزودة في 17 أبريل 1994 بتيفلت الحميسات

طبيبة داخلية بالمركز الاستشفائي الجامعي ابن سينا بالرباط

## لنيل شهادة

## دكتور في الطب

الكلمات الأساسية : Emicizumab؛ تقنيات الربط؛ العامل الثامن المصنع ذو نصف العمر الطويل؛ العامل التاسع المصنع ذو نصف العمر الطويل

### أعضاء لجنة التحكيم:

رئيسة

السيدة سعاد بنكيران

مشرف

أستاذة في علم الدم البيولوجي

السيد عز العرب مسرار

عضو

أستاذ في علم الدم البيولوجي

السيد عبد الله دامي

عضو

أستاذ في الكيمياء الحيوية والكيمياء

السيد انيس جعايدي

أستاذ في علم الدم البيولوجي