

**QUATRIEME PARTIE :**

**TROUBLES HEREDITAIRES DE LA  
COAGULATION**

Les hémophilies A et B sont les deux principaux troubles héréditaires de la coagulation rencontrés chez les carnivores domestiques. Les déficits des autres facteurs, bien que plus rares, seront étudiés dans la partie III de ce chapitre.

Ces troubles héréditaires sont liés à l'absence ou à la moindre activité d'un ou de plusieurs des facteurs de la coagulation.

Lorsqu'un test génétique existe, pour chaque maladie concernée, il sera indiqué dans l'annexe 2.

## I. HÉMOPHILIE A

### A. GÉNÉRALITÉS SUR L'HÉMOPHILIE

#### 1. Définition :

L'hémophilie A est due à une déficience quantitative ou qualitative de l'activité du facteur VIII:C, cofacteur intervenant dans la voie intrinsèque de la coagulation. On définit une hémophilie A<sup>-</sup> en l'absence de ce facteur et une hémophilie A<sup>+</sup> lorsque le facteur VIII est présent mais pas activé.

#### 2. Importance de l'hémophilie A :

L'hémophilie A est le défaut de coagulation héréditaire le plus fréquent chez l'Homme et l'animal domestique (Chien, Chat, Cheval ...). Chez l'Homme, l'incidence est estimée entre 1 pour 10 000 à 1 pour 5 000 cas selon Mansell et collaborateurs (1992) et à 16 cas pour 100 000 hommes selon Stokol et collaborateurs (1994) [148, 203].

Le premier cas décrit chez le Chien l'a été chez un Setter Irlandais en 1946 [91]. La maladie est décrite dans de nombreuses races et chez de nombreux chiens croisés. D'après la base de données IDID (*Inherited Diseases In the Dogs*) de l'université de Cambridge (<http://server.vet.cam.ac.uk>), des cas d'hémophilie A ont été décrits dans les races suivantes : Akita Inu, Basenji, Basset Hound, Beagle, Berger Allemand, Berger Australien, Berger de Shetland, Bichon Frisé, Bobtail, Bouledogue Français, Bouvier Australien, Boxer, Boykin Spaniel, Braque Allemand, Braque

Hongrois, Bulldog, Cairn Terrier, Caniche, Chien d'eau Portugais, Chihuahua, Chow-Chow, Cocker Américain [165], Epagneul Breton, Golden Retriever, Labrador Retriever, Lhasa Apso, Manchester Terrier, Montagne des Pyrénées, Pit Bull Terrier, Pointer [118], Rottweiller, Saint Bernard, Schnauzer nain, Scottish Terrier, Setter Irlandais, Shar Peï, Shiba Inu, Siberian Husky, Spitz Allemand, Springer Anglais, Teckel, Welsh Corgi Pembroke, West Highland White Terrier, Yorkshire Terrier [45]. Le Berger Allemand est particulièrement touché notamment en Europe (France, Allemagne, Danemark, Grande Bretagne, Norvège), au Canada et en Australie suite à l'utilisation comme reproducteur d'un étalon allemand hémophile, Canto von der Wienerau dans les années 1970 [91, 177]. L'incidence en France n'est pas connue mais les observations montrent qu'il s'agit d'un trouble souvent suspecté.

Les cas d'hémophilie A sont plus rares chez le Chat ou moins rapportés. Des cas ont été décrits chez l'Abyssin, le Domestic Longhair, l'American Shorthair, le Havana, l'Himalayen (Persan *colourpoint*) et le Siamois [55, 113, 116, 137].

### 3. Mode de transmission :

L'hémophilie A est une maladie héréditaire liée au sexe, à déterminisme mendélien [148]. Les structures génétiques codant pour la synthèse, le contrôle et la régulation de la synthèse du facteur VIII sont portées par le chromosome X. Le gène existe sous deux formes : un allèle normal dominant ( $X$ ) et un allèle anormal récessif ( $X^h$ ).

Ce mode de transmission récessif lié au chromosome X explique que dans la majorité des cas les animaux atteints sont des mâles et que les femelles sont des porteurs asymptomatiques. Les cas de femelles hémophiles viables sont rarissimes ; celles-ci devant en effet recevoir un allèle anormal de chacun de ses parents [148, 165].

Plusieurs croisements sont possibles avec des conséquences variables sur la portée :

1) Cas du croisement d'un mâle hémophile et d'une femelle saine :

$(XX) \times (X^hY) \Rightarrow 50\%$  de  $(XX^h)$  soit toutes les femelles de la portée porteuses saines

$50\%$  de  $(XY)$  soit tous les mâles de la portée sains

2) Cas du croisement d'un mâle hémophile et d'une femelle porteuse :

$(X^hX) \times (X^hY) \Rightarrow 25\% \text{ de } (X^hX^h) \text{ soit } 50\% \text{ des femelles de la portée hémophiles (si viables)}$   
25 % de  $(X^hX)$  soit 50 % des femelles de la portée porteuses saines  
25 % de  $(X^hY)$  soit 50 % des mâles de la portée hémophiles  
25 % de  $(XY)$  soit 50 % des mâles de la portée sains

3) Cas du croisement d'un mâle hémophile et d'une femelle hémophile :

$(X^hX^h) \times (X^hY) \Rightarrow 100\% \text{ de } (X^hX^h) \text{ soit } 100\% \text{ des femelles de la portée hémophiles (si viables)}$   
100 % de  $(X^hY)$  soit 100 % des mâles de la portée hémophiles

4) Cas du croisement d'un mâle normal et d'une femelle porteuse :

$(X^hX) \times (XY) \Rightarrow 25\% \text{ de } (X^hX) \text{ soit } 50\% \text{ des femelles de la portée porteuses}$   
25 % de  $(XX)$  soit 50 % des femelles de la portée saines  
25 % de  $(X^hY)$  soit 50 % des mâles de la portée hémophiles  
25 % de  $(XY)$  soit 50 % des mâles de la portée sains

5) Cas du croisement d'un mâle normal et d'une femelle hémophile :

$(X^hX^h) \times (XY) \Rightarrow 50\% \text{ de } (X^hX) \text{ soit } 100\% \text{ des femelles de la portée porteuses saines}$   
50 % de  $(X^hY)$  soit 100 % des mâles de la portée hémophiles

En pratique le cas le plus fréquent est le cas 4 ; en effet les femelles porteuses de l'allèle anormal sont asymptotiques, l'allèle étant récessif, et donc en l'absence de recherche d'une hémophilie A éventuelle il est impossible d'identifier ces femelles porteuses et donc de les retirer de la reproduction. Par conséquent la plupart des mâles hémophiles proviennent de ce type de croisement. De plus, dans ce cas, 50 % des filles seront porteuses. Les cas de femelles homozygotes sont rares et un seul cas a été décrit dans une famille de chien dans laquelle l'hémophilie A était discrète. Les autres cas de femelles homozygotes rapportées proviennent de colonies établies pour la recherche sur l'hémophilie A [18].

Le cas 1 correspond au cas d'un Berger Allemand hémophile, Canto von der Wienerau utilisé comme étalon dans les années 70 (voir 2) et dont l'utilisation dans de nombreux croisements est à l'origine de la dissémination de l'hémophilie A en Europe, en Australie et au Canada.

A la vue des nombreuses conséquences sur les portées de la présence de l'allèle anormal chez les parents, il apparaît important de connaître le génotype des parents et de savoir diagnostiquer l'hémophilie A afin d'écarter les porteuses éventuelles de la reproduction.

#### 4. Les mutations dans l'hémophilie A [121]:

De très nombreuses mutations ont été décrites dans le gène codant pour le facteur VIII, chez l'Homme [30, 143, 223]:

- mutations ponctuelles,
- délétions d'une partie du gène,
- insertion de plusieurs kilobases,
- inversion par recombinaison chromatinienne entre séquences homologues pouvant entraîner une modification de la structure du gène.

Chez le Chat, aucune mutation causale n'a été identifiée jusqu'à présent, alors que, chez l'Homme, plus de 900 mutations différentes ont été identifiées jusqu'à présent [30]. Chez le Chien, deux groupes ont rapporté que l'inversion de l'intron 22 serait la mutation causale chez le Setter Irlandais [143] et dans la colonie de Schnauzers nains hémophiles de la Queen's University au Canada [106].

## B. SYMPTÔMES ET DIAGNOSTIC DE L'HÉMOPHILIE

### 1. Manifestations cliniques :

Les symptômes de l'hémophilie A sont dus aux conséquences de manifestations hémorragiques plus ou moins sévères ; celles-ci dépendant beaucoup de l'activité du facteur VIII:C. L'expression clinique de cette maladie dépend donc du pourcentage en facteur VIII:C plasmatique de l'animal hémophile que l'on peut rapporter au pourcentage en facteur VIII chez un animal normal (Tableau 13) :

Tableau 13. Classification clinique de l'hémophilie A chez le Chien [136]

	F VIII:C plasmatique % / animal normal	Manifestations cliniques
Hémophilie sévère	< 1 %	Hémorragies sévères après un traumatisme. Hémarthroses spontanées et hémorragies musculaires. Hémorragies internes pouvant mettre en jeu la vie de l'animal.
Hémophilie modérée	1 à 10 %	Hémorragies sévères après un traumatisme important ou une chirurgie. Petites hémorragies suite à un léger traumatisme. Hémarthroses occasionnelles et saignements spontanés
Hémophilie mineure	10 à 20 %	Saignements uniquement après un traumatisme important ou une chirurgie

Stokol et collaborateurs (1994) ont présenté une autre classification fondée sur l'activité du facteur VIII:C ; la référence utilisée pour un chien normal étant située entre 56 et 180 unités canines par décilitre (CU/dL) (Tableau 14) [203].

Tableau 14. Classification de l'hémophilie A canine d'après Stokol et collaborateurs 1994 [210]

	Activité du F VIII:C plasmatique par rapport à la normale	Manifestations cliniques
Hémophilie sévère	< 1 %	Hémorragies sévères après un traumatisme. Hémarthroses spontanées et hémorragies musculaires. Hémorragies internes pouvant mettre en jeu la vie de l'animal.
Hémophilie modérée	1 à 10 %	Saignements sévères après un traumatisme important ou une chirurgie. Hémarthroses occasionnelles et hémorragies « spontanées »
Hémophilie mineure	10 à 20 %	Saignements uniquement après un traumatisme important ou une chirurgie

Ainsi dans les cas les plus sévères (moins de 1 % d'activité du facteur VIII), les premiers symptômes apparaissent très rapidement après la naissance et dans certains cas sont responsables de mort prématurée dans les premières semaines de la vie [7]. Cependant dans les cas les moins graves, les premières hémorragies n'apparaissent que chez des animaux adultes notamment chez le Chat, animal plus agile et parfois confiné à l'intérieur des appartements et maisons [55].

Le premier symptôme mis en évidence dans les cas grave d'hémophilie A est une persistance du saignement du cordon ombilical. Les premiers déplacements du chiot et du chaton sont les moments d'apparition des premières hémorragies consécutives à divers traumatismes. Toutefois aucun passage transplacentaire de facteur VIII n'a pu être mis en évidence pour expliquer l'absence des symptômes avant les premiers déplacements. L'augmentation de l'activité semble être la seule hypothèse pour expliquer ces hémorragies. Il semblerait également que les chiens âgés soient moins exposés aux traumatismes, grâce à une adaptation comportementale [51].

Chez le chiot, l'éruption des dents définitives ou la première vaccination peuvent également être à l'origine de crises hémorragiques. En effet l'utilisation de vaccin vivant induit des anomalies quantitatives et/ou qualitatives plaquettaires 2 à 7 jours après l'injection. Ce phénomène passe inaperçu chez les animaux en bonne santé mais dans le cas d'un défaut d'hémostase cet effet peut suffire à causer une hémorragie importante [113].

Suite à certains actes chirurgicaux considérés comme mineurs (castration, coupe de queue ...) des hémorragies ont été rapportées après les opérations, notamment lors de castration chez le Chat chez qui sont rapportés des saignements 12 à 36 heures après l'intervention voir des hématomes abdominaux suite à la rétraction des vaisseaux spermatiques [55].

Les hématomes sous-cutanés ou intramusculaires sont le signe le plus fréquent lors de l'hémophilie A [73]. Ceux-ci sont généralement d'origine traumatique ou iatrogène (injections diverses) et permettent ainsi la découverte fortuite de la maladie lors de la visite chez le vétérinaire.

Les hématomes musculaires sont très fréquents chez les animaux hémophiles et sont responsables de douleurs plus ou moins importantes qui amènent les propriétaires de ces animaux à consulter le vétérinaire traitant pour des boiteries [118]. L'apparition de masses fluctuantes de taille parfois importante est également souvent un motif de consultation ; la localisation est très variable (thoracique, abdominale, faciale, ...) [7].

D'autre part, des saignements gastro-intestinaux sont parfois présents : coloration sanguine des selles, méléna, vomissements de sang frais ou digéré ... Les épistaxis sont moins fréquentes chez

l'animal que chez l'Homme. Chez les femelles hémophiles, des saignements utérins post-partum peuvent causer la mort. Enfin des saignements urinaires ont aussi été rapportés [7].

Les hémarthroses sont fréquemment rencontrées chez le Chien ; ces hémorragies ne sont pas sans conséquences délétères sur le fonctionnement articulaire. Elles entraînent des boiteries ou des hypertrophies articulaires. Ainsi, lors de boiteries intermittentes, une hémophilie est à suspecter. Des hémorragies épidurales (autour de la moelle épinière) peuvent induire une compression de cette dernière et sont alors responsables d'ataxie, de déficits moteurs allant du déficit proprioceptif à la paralysie.

Les hémorragies internes ont été rapportées mais leur diagnostic est difficile précocement ; l'apathie, l'anorexie ou la dysorexie sont généralement les seuls symptômes que présentent l'animal dans un premier temps. Des hémorragies pulmonaires consécutives à la migration des larva migrans, des hémorragies pleurales ou des hémorragies diffuses du cou et du médiastin sont parfois à l'origine de détresse respiratoire majeure conduisant éventuellement à la mort de l'animal [183].

Associée à ces désordres sanguins, une anémie peut se mettre en place soit brutalement dans le cas d'une hémorragie aiguë importante (l'anémie sera alors normocytaire, normochrome et régénérative) soit de manière chronique en cas d'hémorragies fréquentes (elle sera alors microcytaire, hypochrome et faiblement régénérative). Un ictère apparaît parfois, notamment après la formation d'un hématome de taille importante.

La corrélation, chez le Chien, entre les signes cliniques observés et l'importance du déficit en facteur VIII:C ne semble pas vérifiée chez le Chat. Certaines observations cliniques laissent penser que l'expression clinique de l'hémophilie A est moins sévère chez le Chat [55].

## 2. Diagnostic :

#### a. Clinique et biologique

Lors de tout désordre de l'hémostase, un bilan sanguin comprenant une numération et une formule sanguine, une mesure du temps de Quick, une mesure du temps de céphaline activée, une mesure du temps de saignement et une mesure du temps de thrombine est à réaliser.

L'hémogramme ne montre généralement qu'une thrombocytose ; toutefois une anémie est parfois mise en évidence [131].

Lors d'hémophilie A, le temps de Quick n'est pas modifié ce qui montre que la voie extrinsèque ou la voie commune de la coagulation ne sont pas touchées. Attention néanmoins aux modifications du temps de Quick qui sont, dans de rares cas, un indicateur d'un second problème notamment une maladie de Von Willebrand parfois associée dans certains cas à cette maladie [90].

Le temps de céphaline activée est prolongé lors du déficit en facteur VIII, puisque ce dernier intervient dans la voie intrinsèque de la coagulation et son activité réduite affaiblit la formation du caillot.

Une fois que le prolongement du TCA est mis en évidence et afin de savoir de quel facteur vient le déficit il est nécessaire de mesurer chacun de ces facteurs (VIII, IX, XI, XII). En pratique seuls les facteurs VIII et IX sont testés en première intention, les hémophilies A et B étant les troubles les plus fréquents dans cette situation.

Le dosage différentiel de l'activité du facteur VIII est réalisé à l'aide de méthodes chronométriques utilisant soit un plasma commercial d'hémophile humain sévère (donc très pauvre en facteur VIII:C) soit un plasma de Chien (ou de Chat) déficient en facteur VIII (COATEST Kit) [147, 181]. Il convient néanmoins de faire attention à la différence majeure qui existe entre les pourcentages d'activité du facteur VIII:C de l'Homme et du Chien. Ainsi un chien peut présenter 100 % d'activité en système humain mais seulement 10 % dans l'espèce canine. Il faut donc toujours rapporter les valeurs d'activité du facteur VIII:C à celle d'un chien témoin. Ce dosage permet le diagnostic et précise l'intensité du déficit en comparant le plasma du malade à un animal sain (ou

mieux à plusieurs animaux). Ainsi Langdell et collaborateurs, en 1953, ont proposé la méthode suivante : 0,1 mL de plasma du patient hémophile sont ajoutés à 0,1 mL de citrate et à 0,1 mL du plasma test dilué au cinquième ou 0,1 mL de plasma de chien normal dilué au 1:5, au 1:40, au 1:80, au 1:200 et au 1:500 [132]. Après 6 secondes d'incubation, 0,1 mL de  $\text{CaCl}_2$  M/4 sont ajoutés et le temps de coagulation est mesuré (apparition d'un caillot). Les résultats permettent alors de donner une idée de l'activité du facteur VIII:C.

Le dosage immunologique du facteur VIII:Ag par un test ELISA non spécifique donne des résultats comparables à ceux obtenus par les méthodes chronométriques [91]. Il existe également en médecine humaine des dosages immunologiques à l'aide de test ELFA (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*) ou de test IRMA (*Immune-RadioMetric Assay*) [189]. L'application au Chien n'a pas été retrouvée durant nos recherches.

Néanmoins dans le cas d'une maladie de von Willebrand on observe la même diminution d'activité du facteur VIII:C. Mais dans la maladie de von Willebrand on observe également une adhésion et une agrégation plaquettaire anormale. Aussi il existe plusieurs méthodes pour différencier ces deux maladies :

- un test d'agglutination à la ristocétine des plaquettes. *In vitro* le facteur de von Willebrand ne réagit pas spontanément avec les plaquettes. L'intervention d'un modulateur exogène, la ristocétine, un antibiotique glycopeptidique induit un changement de conformation du facteur de von Willebrand conduisant à une agglutination des plaquettes [16],
- un test au polybrène (bromide de hexasdiméthrine) qui utilise le même principe que le test précédent [92],
- un test au venin de *Bothrops jararaca* (une vipère d'Amérique du Sud). Des études ont montré que de nombreux venins de serpent, notamment de l'espèce *Bothrops jararaca* sont à l'origine d'une coagulation sanguine majeure sauf en l'absence de facteur de von Willebrand [92]. Ce test consiste donc à vérifier la présence d'une agglutination plaquettaire en présence de ce venin.

On comprend donc qu'un résultat normal ou augmenté (agglutination plaquettaire) est signe d'une hémophilie A [55]. Le calcul d'un ratio entre l'activité du facteur VIII et la concentration de l'antigène du facteur de von Willebrand peut être utilisé pour détecter les porteurs de l'hémophilie A [149].

Le dosage du facteur VIII:C présente un intérêt particulier en médecine humaine où il permet, suite à la ponction de sang fœtal dans le cordon ombilical, un diagnostic prénatal d'hémophilie A. Devant la complexité technique de cette ponction, cette méthode n'est pas utilisée en médecine vétérinaire.

#### b. Génétique

Un panel de marqueurs microsatellites du facteur VIII a été développé afin de permettre une détection génétique de l'hémophilie A chez le Chien. En 2005, Brooks et collaborateurs ont fondé la détection des chiens porteurs (des Golden Retrievers) sur la ségrégation d'un seul marqueur, *cF8ms* [28].

Brooks et collaborateurs, en 2008, ont étudié, chez 78 chiens représentant 14 races (Border Collie, croisé Border Collie, Border Terrier, Chihuahua, Grand Danois, Jack Russel Terrier, Loulou de Poméranie, Chien d'eau Portugais, Carlin, croisé Carlin/Terrier, Colley Barbu, Saint Bernard, Samoyède, croisé Terrier), 6 marqueurs intragéniques du facteur VIII, situés sur la partie 5' du gène et dans les introns 6, 10, 12, 14 et 21. En effet, l'étude a montré que le génotype basé sur un seul marqueur n'est pas suffisamment indicatif pour beaucoup de races. Les résultats ont montré une hétérogénéité allélique de l'hémophilie A canine mais l'utilisation d'un panel de trois marqueurs est intéressante pour faciliter la détection des porteurs de la maladie [30].

A ce jour, aucun laboratoire ne commercialise de test génétique chez le Chien pour la détection de l'hémophilie A.

### C. TRAITEMENT :

#### 1. Médical :

##### a. Tranfusion :

Pour stopper un saignement et limiter ses effets, il faut que le taux plasmatique de facteur VIII:C se maintienne à des valeurs de l'ordre de 20 % de la normale. Aussi le traitement des hémorragies requiert généralement une transfusion de sang frais total, de plasma ou de concentrés plasmatiques. Le sang est récolté auprès d'un animal donneur pour être utilisé immédiatement ou après

conservation au frais, l'efficacité thérapeutique étant décrite comme étant la même [64]. Il est généralement recommandé de transfuser 6 à 10 mL de plasma frais par kilo de poids vif 2 à 3 fois par jour (le facteur VIII ayant une demi-vie de 6 à 14 heures) pendant 2 à 3 jours en fonction de l'importance des symptômes et de continuer jusqu'à ce que les saignements stoppent. Les conditions classiques d'une transfusion sont décrites dans l'annexe 1. L'utilisation de plasma pour la transfusion est plus efficace que l'utilisation de sang frais car d'une part le plasma contient plus de facteur VIII par unité de volume et d'autre part l'animal receveur peut se sensibiliser au contact du sang du donneur (apparition d'anticorps anti-VIII) et par conséquent des complications peuvent survenir à la prochaine transfusion [64]. Lors d'anémie marquée, la transfusion de sang total est néanmoins plus indiquée pour rétablir la volémie et apporter des globules rouges.

Toutefois la disponibilité de l'équipement pour la centrifugation, la séparation et la conservation du plasma fait que transfuser du plasma frais est impossible en pratique courante et l'utilisation de sang frais est une bonne alternative. La conservation au frais pendant plusieurs jours de sang frais peut dégrader celui-ci et diminuer l'efficacité de la transfusion [55].

Dans le cas d'un hématome intramusculaire une seule transfusion de plasma peut suffire pour le traitement.

Les concentrés de facteur VIII existent mais ne sont pas disponibles en pratique. Par contre sont utilisables les cryoprécipités qui sont des concentrés de facteur VIII, de fibrinogène et de vWF obtenus à partir du plasma [131].

#### b. Thérapie génique :

##### *a. Intérêt :*

Les patients présentant une activité du facteur VIII:C inférieure à 1 % souffrent d'hémorragies très sévères, responsables d'une morbidité et d'une mortalité importante si la maladie n'est pas traitée. De plus, le passage à une activité du facteur VIII:C de 1 à 5 % permet de passer d'une hémophilie sévère à une hémophilie modérée. L'utilisation de dérivés sanguins ou de facteur VIII recombinant n'est pas sans défaut : la demi-vie plasmatique du facteur VIII est faible et le coût du traitement (150 000 \$ par an) est très élevé [111].

La thérapie génique est apparue comme une solution alternative intéressante pour soigner les animaux atteints d'hémophilie A.

### *β. Les différentes thérapies :*

Le gène codant pour le facteur VIII a été cloné et des vecteurs pour le transfert de l'ADN complémentaire du gène ont été développés. Des adénovirus ou des rétrovirus modifiés ont été le plus souvent employés pour contenir le gène. Les cellules cibles pour les modifications génétiques en vue de la production de molécules antihémophiliques sont les cellules hépatocytaires, les cellules musculaires, les cellules endothéliales, les kératinocytes ou encore les fibroblastes [53].

L'essentiel des études menées chez le Chien a été fait à l'aide de vecteurs ciblant les hépatocytes et contenant le gène ou une portion du gène codant pour le facteur VIII sous contrôle d'un promoteur hépatique.

La thérapie peut se faire soit par la réimplantation de cellules modifiées en culture chez le donneur (méthode *ex vivo*) soit par délivrance du vecteur directement dans les cellules cibles (méthode *in vivo*).

La méthode *ex vivo* donne généralement des sécrétions faibles *in vitro* et indétectables *in vivo* [53] même si certaines études ont permis d'obtenir des sécrétions thérapeutiques pendant quelques temps chez la Souris. Mais les manipulations cellulaires en laboratoire et la réimplantation sont des limites à l'utilisation en pratique courante de cette technique.

Pour tester la méthode *in vivo*, Connelly et collaborateurs ont injecté à des chiens atteints d'hémophilie A par voie intraveineuse une solution contenant un adénovirus recombiné contenant le gène du facteur VIII humain sous contrôle d'un promoteur hépatique [53]. Ils ont montré une correction phénotypique de l'hémophilie (normalisation des temps de coagulation). La mesure des taux de FVIII:C ont montré des doses thérapeutiques dans le plasma des chiens. Néanmoins l'effet positif ne fut présent que durant une à deux semaines suite au développement d'anticorps anti-FVIII:C humain [53]. L'étude de la toxicité éventuelle de la thérapie génique par Chuah et collaborateurs, en 2003, chez la Souris et le Chien, n'a pas permis de mettre en évidence d'effets secondaires possibles tels qu'une thrombocytopénie, une anémie, une élévation du taux d'interleukines pro-inflammatoires (IL-6) ou une hépatotoxicité [51]. Gallo-Penn et collaborateurs ont néanmoins mis en évidence une baisse transitoire du nombre de plaquettes juste après l'injection du vecteur. Dans leur étude, ils ont également mis en évidence des anomalies hématologiques et une toxicité hépatique [79].

Afin de permettre une efficacité plus longue dans la durée, Scallan et collaborateurs ont utilisé un virus adéno-associé de type 2 (AAV-2) qui présente l'avantage d'une expression persistante dans l'organisme mais l'inconvénient de ne pouvoir incorporer qu'une faible quantité de matériel génétique alors que le gène du facteur VIII est grand [193]. L'utilisation d'un élément régulateur pour permettre l'expression d'une forme délétée d'un domaine du facteur VIII:C, a permis une correction partielle de l'hémophilie sur une longue durée [209]. Une étude de Sarkan et collaborateurs, en 2004, a comparé l'efficacité des virus adéno-associés de type 2, 5, 7 et 8 et a déterminé que le vecteur le plus efficace semblait être l'AAV-8 [192]. Les études de Brown et collaborateurs, en 2004, et de Jiang et collaborateurs, en 2006, ont confirmé que l'utilisation de la méthode *in vivo* est la méthode la plus intéressante pour un traitement au long cours de l'hémophilie A [32, 111].

Une autre méthode développée par Shi et collaborateurs [197] et rapportée par High et collaborateurs a consisté à utiliser les plaquettes comme transporteurs du facteur VIII en incorporant le gène codant pour ce facteur au sein des cellules hématopoïétiques. L'expression de facteur VIII, par les thrombocytes, avec un stockage dans les granules  $\alpha$ , possédait l'avantage de délivrer ce facteur directement au site d'hémorragie. Pour le moment cette technique n'a été développée que dans le modèle Souris [102, 197].

Il existe ainsi de très nombreux essais de thérapie génique concernant l'hémophilie A. Le Chien constitue un excellent modèle pour l'étude de ces stratégies thérapeutiques et permettra peut être un jour d'aboutir à une correction efficace, stable et sans effet secondaire, du défaut en facteur VIII chez l'Homme.

c. Transplantations :

*α. Greffe de cellules de moelle osseuse [204]*

En médecine humaine, la greffe de moelle a montré des résultats positifs dans le traitement de l'hémophilie A. En 1972, Storb et collaborateurs ont essayé de greffer de cellules de moelle osseuse de chien normal sur des chiens atteints d'hémophilie A, afin de mesurer l'activité du facteur VIII:C. Contrairement à ce que montrait certaines études (production de facteur VIII:C par les lymphocytes *in vitro* – augmentation de l'activité du facteur VIII:C chez des chiens hémophiles à leucémie lymphoblastique), cela n'a pas été observé. Il semblerait donc que la

synthèse de facteur VIII:C par les lymphocytes soient inexistantes chez le Chien contrairement à ce qui a été observé chez l'Homme.

*β. Transplantation hépatique :*

Les maladies métaboliques du foie telles que l'hémophilie peuvent, en théorie, être traitées par une transplantation de foie normal. Toutefois la transplantation du foie en entier présente de nombreux risques. En médecine humaine, des cas de guérison de l'hémophilie A suite à une transplantation hépatique ont été rapportés [125, 126]. Chez le Chien, une transplantation orthotopique partielle du foie (lobe gauche) a permis également une augmentation de la synthèse de facteur VIII à l'origine d'une guérison de l'hémophilie A [126]. Contrairement à la greffe totale, la greffe partielle permet de maintenir une fonction hépatique en cas de rejet de la greffe.

La transplantation hépatique pourrait donc être un moyen d'améliorer la qualité de vie des animaux hémophiles avec toutefois des réserves sur le risque de saignement pendant la chirurgie et sur un rejet éventuel du greffon.

d. Facteur VIIa recombiné :

Le facteur VIII est détruit rapidement dans le plasma sanguin ce qui n'est pas le cas pour le facteur VII, pour lequel il n'existe pas d'inhibiteur plasmatique connu [14]. L'utilisation de facteur VIIa humain recombiné (rh-VIIa) à une dose allant de 50 à 220 µg/kg, chez des chiens atteints d'hémophilie A a permis une normalisation des temps de coagulation dans l'étude de Brinkhous et collaborateurs, en 1989 [14]. Néanmoins une réaction immunologique contre le rh-VIIa s'est mis rapidement en place chez les chiens et le coût du traitement fut important [129].

e. Vitamine K et préparations pro-coagulantes :

Leur utilisation dans le cadre d'une hémophilie A ne présente aucun intérêt [55].

f. Utilisation des corticoïdes :

Dans les cas d'hématomes sous-cutanés et d'hémarthroses (une ponction articulaire est indiquée en cas d'épanchement important), l'usage de corticoïdes per os (triamcinolone) à fortes doses, 0,5 mg/kg en quatre prises à 6 heures d'intervalle pendant 5 à 8 jours a donné de bons résultats [91].

g. Danazole [80]

En 1983, Gralnick et Rick ont rapporté que l'apport de danazole, un dérivé d'androgène atténué, à des doses de 1,5 à 3 mg/kg augmentait de 100 à 500 % le taux de facteur VIII chez quatre patients humains atteints d'hémophilie A [87]. Néanmoins une autre étude de Garewal et collaborateurs, en 1985, n'a montré aucun effet sur la fréquence des saignements de cinq patients atteints d'hémophilie A. L'utilisation du danazole dans le cadre d'une hémophilie A semble donc décevante.

h. Desmopressine :

L'administration de desmopressine permet la libération, par les cellules endothéliales, de facteur de von Willebrand mais ne semble pas modifier la teneur plasmatique en facteur VIII chez le Chien alors que c'est le cas chez l'Homme. Son efficacité est donc discutable dans l'hémophilie A canine [44]. Olsen et collaborateurs, en 2003, ont montré que l'utilisation d'interleukine 11 humaine recombinée avec ou sans desmopressine permettait d'augmenter les quantités plasmatiques de facteur VIII chez certains chiens hémophiles A [176]. Reste encore à déterminer une éventuelle toxicité du traitement au long cours.

i. Molécules contre-indiquées :

L'utilisation de médicaments interférant avec l'hémostase est bien évidemment à proscrire. Ainsi on veillera à ne pas utiliser d'acide acétylsalicylique, de dérivés de la promazine, de sulfamides, de nitrofluranes ou de phénylbutazone [55, 137].

2. Prophylaxie :

a. Individuelle

Certaines règles sont à observer afin de limiter les saignements chez les animaux hémophiles. Ainsi il convient d'éviter les injections intramusculaires, de vermifuger systématiquement contre les trichures et les ankylostomes, de ne pas donner d'aliments traumatisants (os, ...), d'éviter l'utilisation de médicaments perturbant l'hémostase, de restreindre l'exercice pour limiter les traumatismes et pour la même raison ne pas laisser l'animal en liberté sans surveillance et enfin, avant tout acte chirurgical, procéder à un traitement prophylactique pour éviter les saignements durant l'opération (cryoprécipités).

Le moindre saignement est à traiter avec sérieux notamment par l'injection, dans l'idéal, de facteur VIII.

#### b. Programmes d'éradication

La mise en place d'un programme d'éradication d'une maladie héréditaire dans une race requiert certaines règles [131] :

- La maladie doit se produire dans une population définie avec une fréquence génétique suffisamment forte pour lui conférer une importance médicale ou économique,
- Les tests disponibles doivent être simples, relativement bon marché, capables d'identifier les hétérozygotes et présenter de fortes sensibilités et spécificités,
- Le contrôle par la diminution du nombre d'hétérozygotes, dans le cas d'une maladie récessive, ne doit pas avoir d'effets délétères sur les autres caractères génétiques de la population ou réduire de manière trop importante le nombre d'animaux de l'élevage jusqu'à un niveau désavantageux ou non économique,
- Les tests et les programmes de contrôle doivent être acceptés par les éleveurs et être précédés par des programmes de relation publique et d'éducation,
- Les logistiques du programme doivent satisfaire les éleveurs mais ne pas empiéter sur les autres programmes de prévention des maladies. Le programme devrait être intégré avec les autres schémas de contrôle d'autres maladies pour simplifier la récolte des échantillons,
- La participation des sociétés d'élevage et des clubs est capitale en instituant une législation quant à l'obligation de dépistage.

Ainsi un plan d'éradication a été proposé au Danemark pour l'hémophilie A chez le Berger Allemand. Il consiste à dépister les chiens malades et les femelles porteuses. Les mâles atteints sont