

II. HÉMOPHILIE B

A. GÉNÉRALITÉS SUR L'HÉMOPHILIE B

1. Définition et épidémiologie

L'hémophilie B ou maladie de Christmas est une déficience héréditaire quantitative ou qualitative en facteur IX.

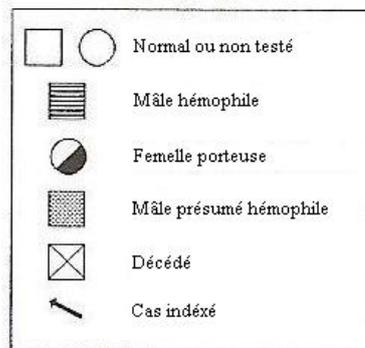
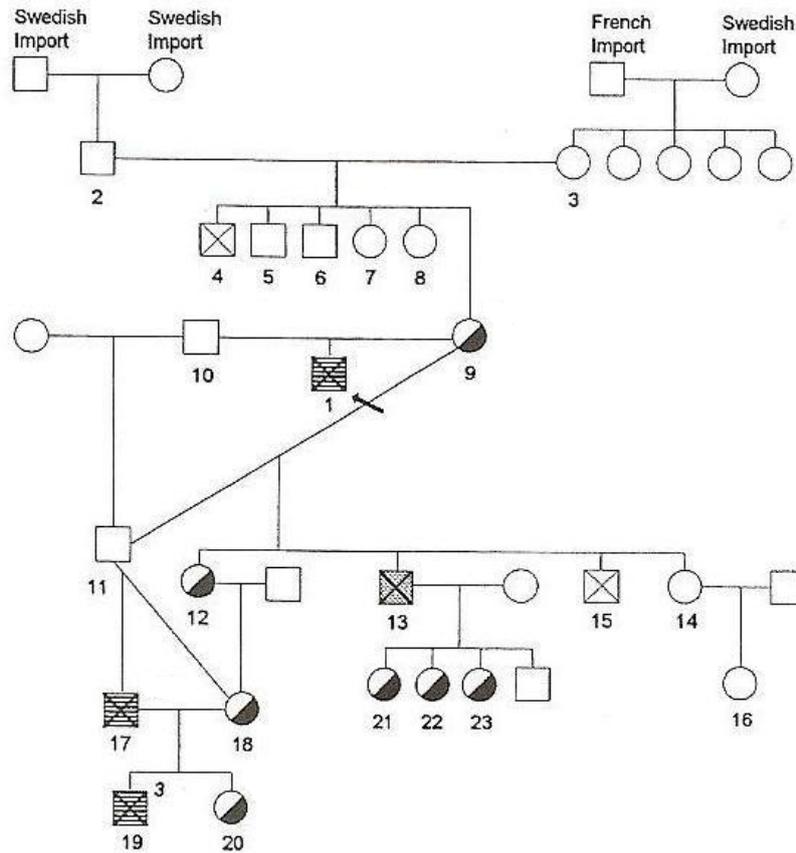
L'hémophilie B touche environ 1 homme sur 30 000 [86]. C'est la deuxième coagulopathie la plus décrite chez l'Homme et le Chien. A ce jour, elle est décrite dans les races canines suivantes : Airedale Terrier, Alaskan Malamute, Beagle, Berger allemand [71], Bichon Frisé, Bichon Maltais, Bouledogue Français, Braque Allemand, Braque de Weimar, Cairn Terrier, Chow-Chow, Cocker Anglais, Coonhound noir et feu, Drahtaar, Fox Terrier à poils durs, Jack Russel Terrier, Labrador Retriever, Lhasa Apso, Pinscher nain, Pit Bull Terrier, Rottweiller, Saint Bernard, Scottish Terrier, Sealyham Terrier, Shih Tzu [29, 217]. La maladie a aussi été rapportée dans certaines races de chats telles que : les British shorthairs, les Siamois (déficit combiné en facteur IX et XII), les chats domestiques à poils ras et les Himalayens (Persan *colourpoint*).

2. Mode de transmission

L'étude des pedigrees de familles de Bergers Allemands atteintes par l'hémophilie B a montré que seuls les mâles étaient atteints et qu'elle ne touchait pas toutes les générations. Ceci a permis de conclure à un mécanisme de transmission récessif lié au chromosome X [71]. Ainsi un père hémophile transmet le gène à toutes ses filles qui deviennent porteuses.

Chez l'Homme et le Chat, le mode de transmission est également récessif lié à l'X (Figure 33) [147].

Figure 33. Exemple de pedigree d'une famille de chats British shorthairs atteints d'hémophilie B d'après [147]



3. Etude des mutations intervenant dans l'hémophilie B

Le gène codant pour le facteur IX est présent, chez l'Homme, sur le chromosome X en Xq26-q27. Il occupe 33,5 kilobases et comporte 8 exons [29]. L'exon 1 code pour la séquence signal, l'exon 2 pour la région riche en acide γ -carboxyglutamique, l'exon 3 pour le faisceau de petits acides aromatiques, les exons 4 et 5 pour les domaines « *epidermal growth factor-like* », l'exon 6 pour le

peptide d'activation, l'exon 7 pour le domaine catalytique et l'exon 8 pour la région 3' non transcrite. Bien que cette structure ait été étudiée chez l'Homme, la séquence d'ADN_c du chien est comparable (86 % d'analogie au niveau des acides aminés d'après Evans et collaborateurs en 1989 [70]).

Evans et collaborateurs ont décrit, chez le chien, une mutation non-sens (G -> A au nucléotide 1477) qui conduit à une substitution d'un acide glutamique par un acide aminé glycine dans le domaine catalytique de la protéine [69]. Ce changement amène une modification de la conformation rendant le facteur IX inactif.

Mauser et collaborateurs ont rapporté chez des Lhasa Apso, une hémophilie B consécutive à une délétion des nucléotides 772 à 776 associée à une substitution de C -> T du nucléotide 777 (Figure 34) [143]. Ceci aboutit à la formation d'un ARNm instable et à la formation précoce d'un codon stop dans la région du peptide activateur. Un test génétique a donc pu être établi à partir de la découverte de cette mutation, pour les Lhasa Apso.

Brooks et collaborateurs, en 1997, ont montré chez un Labrador Retriever une délétion complète du gène codant pour le facteur IX responsable d'une hémophilie B sévère. Gu et collaborateurs, en 1999, ont décrits deux mutations causant des hémophilies B sévères : une large délétion allant de la région 5' du gène à l'exon 6 [89] et une insertion associé à un épissage alternatif de l'exon 8 amenant à la formation d'un codon stop [29].

Enfin une dernière mutation a été décrite par Brooks et collaborateurs, en 2003, dans une famille de Braque Allemand [28]. Les études de l'ADN par Southern Blot et PCR ont montré dans l'ADN des chiens hémophiles une insertion de 1,5 kilobases dans l'intron 5. Cette insertion consiste en un LINE-1 (*Long Interspersed Nuclear Element*) canin 5'. Cette mutation est responsable d'une hémophilie B moyenne (5 % d'activité par rapport à la normale).

Chez le Chat, Goree et collaborateurs ont décrit deux mutations différentes responsables d'hémophilie B chez des chats domestiques croisés [86]. Le premier chat hémophile étudié portait une mutation ponctuelle non sens dans l'exon 8 (Arginine -> STOP en position 338) conduisant à la synthèse d'une protéine tronquée. Quant au second chat étudié, il portait une mutation ponctuelle faux-sens (Tyrosine -> Cystéine en position 82) qui détruisait un pont disulfure indispensable à la structure normale de la protéine [86].

cordon ombilical, la perte des dents de lait ou un traumatisme quelconque ainsi que des douleurs d'origine indéterminée [80, 179, 190]. Des cas d'hémarthroses ont aussi été rapportés [196]. Les cas décrits d'hémophilie B chez le Chat ont montré des symptômes identiques avec une prédominance des boiteries dont la localisation variant avec le temps [25, 62, 147].

A la différence de l'hémophilie A, les animaux atteints d'hémophilie B semblent tous avoir un taux d'activité du facteur IX inférieur à 1 % de la normale. Un seul cas d'animal symptomatique ayant un taux égal à 80 % de la normale a été rapporté, il s'agissait d'un chien croisé mâle souffrant de saignements prolongés suite à des traumatismes mineurs [139].

2. Diagnostic

La méthode de diagnostic est identique à celle utilisée pour le diagnostic de l'hémophilie A. La principale anomalie mise en évidence est un allongement du temps de céphaline activée associé à un temps de Quick normal. La mesure de niveau d'activité des différents facteurs de la coagulation ne montre alors qu'une diminution de l'activité du facteur IX. L'activité du facteur IX peut être mesurée par mesure de la coagulation du plasma à tester en présence de plasma déficient en facteur IX. Des systèmes colorimétriques en cinétique fondés sur des mesures photométriques de temps de thromboplastine partiellement activée à partir de plasma déficient en facteur IX sont également utilisables pour déterminer l'activité du facteur IX chez un patient [74]. Ces tests nécessitent des animaux témoins.

L'étude de l'hémogramme ne montre généralement aucune anomalie sauf dans le cas de saignements très importants où une anémie est possible.

La découverte des mutations responsables de la maladie chez le Lhasa Apso et le Bull Terrier a permis le développement de tests génétiques pour ces deux races par trois laboratoires : Healthgene au Canada (www.healthgene.com), Progenus en Belgique (www.progenus.be) et VetGen aux Etats-Unis (www.vetgen.com). Les laboratoires Healthgene et Progenus ont également développé un test pour le Labrador Retriever. Enfin un test chez l'Airedale Terrier est possible dans le laboratoire Progenus.

C. TRAITEMENT

1. Médical

a. Transfusion

La transfusion de sang total ou de plasma est la thérapie d'urgence la plus facile à mettre en œuvre lors de saignements importants. Contrairement à l'hémophilie A, une transfusion toutes les 24 heures est suffisante dans le cas d'une hémophilie B car la demi-vie du facteur IX est d'environ 24 heures. Les règles à respecter sont identiques à celles décrites précédemment.

Il existe des fractions concentrées de facteur IX, titrant de 15 à 25 unités/mL, pouvant être administrées quotidiennement mais dont le coût et la disponibilité limitent l'utilisation en médecine vétérinaire [131].

La fraction PPSB est une substance extraite du plasma humain et contenant des concentrations élevées en proconvertine, prothrombine, facteur de Stuart et facteur IX. Son utilisation est intéressante dans le cas d'hémophilie B mais son utilisation en pratique est rarissime [131].

b. Facteur IX recombinant

L'ADN complémentaire du facteur IX humain a été cloné pour la première fois en 1982. L'expression du facteur IX par des cellules transfectées a été possible dès 1985 et a permis l'utilisation de facteur IX recombiné (rFIX) pour essayer de soigner l'hémophilie B. En 1996, Brinkhous et collaborateurs ont comparé les résultats obtenus chez des chiens hémophiles B après l'injection de rFIX et de facteur IX humain hautement purifié et ont montré que les effets procoagulants étaient identiques et que l'antigénicité de ces deux molécules était également identique [20]. Le facteur IX recombiné est donc un produit d'utilisation sûr et efficace dans la correction des troubles de la coagulation liés à l'hémophilie B canine et féline.

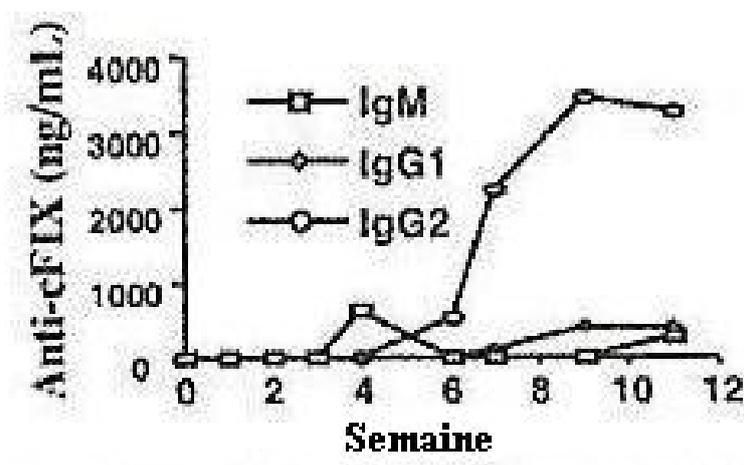
Une étude de Russell et collaborateurs, en 2003, a montré que des injections sous-cutanées de facteur IX recombiné en prophylaxie chez des chiens hémophiles B, avait réduit de 69 % la fréquence de saignements par rapport à des chiens non traités [191]. Toutefois les chiens traités étaient rendu immunologiquement tolérant au rFIX humain pour ne pas qu'il y ait de développement d'anticorps anti-rFIX.

c. Thérapie génique

L'utilisation d'adénovirus recombiné avec le facteur IX et capable de faire synthétiser le facteur IX par les hépatocytes [68, 120] ou les fibroblastes [167] permet aujourd'hui de traiter de manière efficace et sur le long terme des animaux atteints d'hémophilie B [3]. Les injections se font soit en intramusculaire [167] soit en intraveineux ; il a été montré chez des Rongeurs que le degré de transduction hépatique est directement lié à la dose d'adénovirus injecté. Des doses peu élevées permettent d'atteindre un seuil de 25 % d'activité du facteur IX considéré comme le seuil curatif [120].

Le problème reste le développement de certains anticorps anti-facteur IX au bout de quelques semaines [164] (Figure 35).

Figure 35. Taux d'IgM, d'IgG1 et d'IgG3 chez un chien suite à l'administration d'un adénovirus recombiné [164]



Légende : le graphe montre la variation des taux d'immunoglobulines M (IgM) et G (IgG1 et IgG2) (mesuré par la quantité d'anticorps anti-facteur IX) en fonction du temps suite à l'administration d'un adénovirus recombiné.

Aucune toxicité hépatique ou thrombocytopenie n'a été rapportée avec cette méthode [33, 68]. Une réaction fébrile transitoire liée probablement à une coagulation intravasculaire disséminée moyenne semblait apparaître lors de l'injection de doses d'adénovirus recombiné plus importante [120].

Tatsumi et collaborateurs ont montré, en 2008, que la transplantation de cellules hépatiques humaines ou canines chez des souris immunodéficientes permet la propagation de ces cellules ainsi que la production de facteur IX [206]. Harding et collaborateurs, en 2004, ont démontré pour la

première fois que le vecteur AAV-2 (virus adénoassocié de type 2) permettait une correction partielle de l'hémophilie B chez le chien [97].

Enfin Fewell et collaborateurs ont décrit en 2001, la possibilité de transférer un plasmide au niveau des cellules musculaires par une injection directe dans le muscle, associée à la mise en place d'un champ électrique. L'utilisation de cette méthode pour le transfert d'un plasmide contenant le gène codant pour le facteur IX humain et protégé par un polymère protecteur, interactif et non condensé (PINC) a permis l'expression d'un taux de facteur IX humain égal à 0,5 à 1 % du taux normal chez un chien atteint d'hémophilie B [72]. Toutefois la formation d'anticorps anti-facteur IX humain a limité l'effet dans le temps du facteur IX.

d. Danazole

Gralnick et collaborateurs, en 1983, ont également rapporté une augmentation de l'ordre de 280 % du taux de facteur IX chez des patients hémophiles B suite à l'apport de danazole [87]. En 1986, une étude de Brinkhous et collaborateurs, chez une famille de chats croisés siamois atteints d'hémophilie B (combinée à une déficience en facteur XII), a montré que l'apport de 5 mg/kg par voie orale une fois par jour pendant 7 à 9 jours ne modifiait pas le temps de coagulation des chats malades et que l'activité du facteur IX ne présentait aucune augmentation [12, 14]. L'utilisation du danazole comme traitement de l'hémophilie a donc été abandonnée.

e. Facteur VIIa recombiné

Comme pour l'hémophilie A, l'utilisation de facteur VIIa humain recombiné donne d'excellents résultats dans le traitement de l'hémophilie même si les réactions immunitaires et le coût en limite l'utilisation en médecine vétérinaire [131].

2. Prophylaxie

Les règles à suivre pour la prophylaxie individuelle et pour l'éradication de la maladie sont les mêmes que pour l'hémophilie A puisque la symptomatologie et le mode de transmission sont identiques.