

**THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le mardi 13 juin 2023
Par Mlle CHOPNGUI NGOUNOU Cindy**

**Thérapie génique,
une nouvelle approche
de la drépanocytose**

Membres du jury :

Président : Monsieur le Docteur CARNOY Christophe, Professeur des Universités, à l'Université de Lille

Directeur, conseiller de thèse : Monsieur le Docteur TAGZIRT Madjid, Maître de conférences, à l'Université de Lille

Membres extérieurs : Madame la Docteure Sandy-Caroll TCHOFFO, titulaire d'officine, à la pharmacie Moulins-Déliot à Lille

Monsieur le Docteur Thierry DZUKOU, pédiatre hospitalier, au CH Sambre Avesnois à Maubeuge

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**Thérapie génique,
une nouvelle approche
de la drépanocytose**

Soutenue publiquement le mardi 13 juin 2023
Par Mlle CHOPNGUI NGOUNOU Cindy

Membres du jury :

Président : Monsieur le Docteur CARNOY Christophe, Professeur des Universités, à l'Université de Lille

Directeur, conseiller de thèse : Monsieur le Docteur TAGZIRT Madjid, Maître de conférences, à l'Université de Lille

Asseseurs : Madame la Docteure Sandy-Caroll TCHOFFO, titulaire d'officine, à la pharmacie Moulins-Déliot à Lille

Monsieur le Docteur Thierry DZUKOU, pédiatre hospitalier, au CH Sambre Avesnois à Maubeuge

Faculté de Pharmacie de Lille
3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille
03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

Université de Lille

Président
Premier Vice-président
Vice-présidente Formation
Vice-président Recherche
Vice-présidente Réseaux internationaux et européens
Vice-président Ressources humaines
Directrice Générale des Services

Régis BORDET
Etienne PEYRAT
Christel BEAUCOURT
Olivier COLOT
Kathleen O'CONNOR
Jérôme FONCEL
Marie-Dominique SAVINA

UFR3S

Doyen
Premier Vice-Doyen
Vice-Doyen Recherche
Vice-Doyen Finances et Patrimoine
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires
Vice-Doyen RH, SI et Qualité
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie
Vice-Doyen Territoires-Partenariats
Vice-Doyenne Vie de Campus
Vice-Doyen International et Communication
Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX
Guillaume PENEL
Éric BOULANGER
Damien CUNY
Sébastien D'HARANCY
Hervé HUBERT
Caroline LANIER
Thomas MORGENROTH
Claire PINÇON
Vincent SOBANSKI
Dorian QUINZAIN

Faculté de Pharmacie

Doyen
Premier Assesseur et Assesseur en charge des études
Assesseur aux Ressources et Personnels
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement
Assesseur à la Vie de la Faculté
Responsable des Services
Représentant étudiant

Delphine ALLORGE
Benjamin BERTIN
Stéphanie DELBAERE
Anne GARAT
Emmanuelle LIPKA
Cyrille PORTA
Honoré GUISE

LISTE DES ENSEIGNANTS

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	86
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques	87
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85

M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques	87
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BLONDIAUX	Nicolas	Bactériologie - Virologie	82
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81

Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique	85
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	85
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie	87
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	86
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87

Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie	87
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86

Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques	85

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	GEORGE	Fanny	Bactériologie - Virologie / Immunologie	87
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	RUEZ	Richard	Hématologie	87
M.	SAIED	Tarak	Biophysique - RMN	85
M.	SIEROCKI	Pierre	Chimie bioinorganique	85

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière

Faculté de Pharmacie de Lille

3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille
03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

REMERCIEMENTS

Monsieur Tagzirt, je tiens à vous remercier d'avoir accepté de m'accompagner durant ce long travail qu'a été la rédaction cette thèse et surtout d'avoir toujours été source d'enthousiasme et d'encouragements.

Monsieur Carnoy, merci pour votre disponibilité et de me faire l'honneur d'être le Président de mon jury de thèse.

Ma Chère Sandy, je suis ravie que tu aies accepté et que puisses m'accompagner dans cette nouvelle étape de ma vie, car pour moi c'était une évidence. Je pense que tu as un peu minimiser le taux de stress que j'allais t'apporter par contre. ^^

Docteur Dzukou, dès que j'ai évoqué le sujet de cette thèse, tu m'as de suite témoigné ton intérêt pour le sujet. Ce que je n'ai pas jamais oublié. C'est pour cela que je suis ravie au plus au point de te compter parmi les membres de mon jury de thèse. Du fond du cœur, merci beaucoup.

Mes Chers parents, je crois savoir que la tâche de m'accompagner tout au long de mes études n'a pas forcément été des plus faciles. Vous l'avez toujours fait avec la rigueur qui a fait ce que vous êtes aujourd'hui, mais aussi avec amour. Je vous remercie infiniment de m'avoir porté jusqu'ici et particulièrement pour la relecture (votre maîtrise d'une langue qui n'est pourtant pas maternelle force l'admiration). Cette thèse elle est pour vous.

Té Kouam, BBB, mon meilleur supporter, peu importe les projets. Merci d'assumer ton rôle comme tu le fais et de me donner la liberté d'être moi-même (même si tu as quand même la plus cool des sœurs ^^). Et merci d'avoir agrandi la famille, pour mon plus grand bonheur.

Bébé Jea, merci d'illuminer mon quotidien.

Ma chère famille, je suis si riche de vous. Je ne peux malheureusement pas tous vous citer individuellement ici. Mais je mesure la chance de pouvoir compter parmi vous plusieurs mères, plusieurs pères, plusieurs frères, plusieurs sœurs et plusieurs enfants.

À mes amis, de plus ou moins longue date, je vous remercie pour votre soutien depuis le temps que je vous parle de cette thèse. C'est toujours avec beaucoup de bienveillance que vous m'avez motivé et encouragé. Tout cela toujours accompagné de quelques fous rires.

Merci à mes proches avec qui je partage la passion de la danse, et à qui je partage régulièrement des conseils pour les petits bobos, merci de me rappeler de vivre chaque moment intensément.

À mes Consœurs et mes Confrères, tout d'abord merci à celles et ceux qui avec qui j'ai partagé les bancs de la fac, les examens, les soirées, les revues et autres moments joyeux de la vie. Et je tiens à remercier également tous les titulaires qui m'ont fait confiance jusqu'ici, ainsi que mes collègues qui m'ont partagé leurs connaissances et l'amour du métier de pharmacien.

Et finalement j'aimerais remercier Dieu sans qui rien ne serait possible.

« Pour qu'un enfant grandisse, il faut tout un village. »

Proverbe africain

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	11
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	14
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	15
I - Introduction : Historique de la drépanocytose.....	16
1) Une histoire scientifique et sociale.....	16
2) Histoire naturelle de la maladie.....	20
II - La drépanocytose, une hémoglobinopathie.....	23
1) Hémoglobine.....	23
2) Définition biologique de la drépanocytose.....	26
3) Épidémiologie.....	33
4) Qu'en est-il au Cameroun ?.....	34
III - Clinique et traitements de la maladie.....	35
1) Signes cliniques.....	35
2) Prise en charge de la drépanocytose.....	39
3) Traitements en cas de complications.....	43
4) Autres approches thérapeutiques.....	50
5) Conseils et éducation thérapeutique.....	58
IV - Thérapie génique.....	61
1) Définitions et Principe.....	61
2) Historique.....	63
3) Un nouveau traitement pour la drépanocytose.....	66
4) Le 1er patient traité en France.....	89
5) Contrôle de qualité des produits de thérapie génique	93
6) Contrôle de l'efficacité.....	95
7) Les essais en cours.....	97
8) Principal point négatif : le coût.....	100
9) Les risques de la thérapie génique.....	102
V - Conclusion.....	104
BIBLIOGRAPHIE.....	106

LISTE DES ABRÉVIATIONS

SCD : Sickle cell disease = drépanocytose
ANSM : Agence Nationale de la Sécurité du Médicament
APIPD : Association pour l'information et la prévention de la drépanocytose
ARNm : ARN messenger
AVC : Accident vasculo-cérébral
CBD : cannabidiol
CSH : cellules souches hématopoïétiques
CSPi : cellules souches pluripotentes induites
CyPG : cyclophosphamide post-greffe
EMA : Agence Européenne du Médicament
FDA : Food and Drug Administration of United States of America
GVH : syndrome du greffon contre (vs) hôte
HAS : Haute Autorité de Santé
Hb : hémoglobine
HLA : antigènes de leucocytes humains
IRM : imagerie par résonance magnétique
JENH : jonction des extrémités non homologues
LTR : séquence terminale longue répétée
LV : vecteur lentiviral
NCV : nombre de copies de vecteur
OMS : Organisation mondiale de la Santé
PHHF : syndrome de persistance héréditaire de l'hémoglobine foétale
RCL : région de contrôle du locus
RH (ou HDR) : mutagenèse par recombinaison homologue
ZFN : nucléase à doigt de zinc
 μ ARN : micro ARN

α : alpha β : bêta γ : gamma

TABLE DES ILLUSTRATIONS

- Figure 1 : Électrophorèse de l'hémoglobine
Figure 2 : Distribution historique et contemporaine (2010) de la drépanocytose
Figure 3 : Distribution géographique de l'allèle HbS et du paludisme
Figure 4 : Coexistence des globines
Figure 5 : Représentation des différents types d'hémoglobine
Figure 6 : Régulation développementale des gènes de la globine β like
Figure 7 : Représentation de la mutation à l'origine de la drépanocytose
Figure 8 : Les différents types de drépanocytose et leurs caractéristiques
Figure 9 : Représentation du changement de la forme des hématies de biconcave à la forme faucille et la perte de flexibilité
Figure 10 : Représentation du mécanisme d'une crise vaso-occlusive
Figure 11 : Évolution de l'espérance de vie chez les patients atteints de drépanocytose entre 1910 et 2000
Figure 12 : Physiopathologie du syndrome thoracique aigu
Figure 13 : Photo d'une boîte d'Adakveo®
Figure 14 : Photo d'un flacon d'Oxbryta® 500mg
Figure 15 : Tableau des essais cliniques en cours portant sur Crizanlizumab dans la prise en charge de la drépanocytose, notamment au niveau de l'atteinte rénale
Figure 16 : Représentation des techniques de thérapie génique
Figure 17 : Protocole de thérapie génique ciblant les cellules souches hématopoïétiques (CSH) dans le drépanocytose
Figure 18 : Représentation simplifiée de la technique CRISPR/Cas9
Figure 19 : Représentation simplifiée de l'architecture et du mécanisme de Cas9
Figure 20 : Modes de coupures des endonucléases Cas 9
Figure 21 : Autres approches d'édition génomique de thérapie génique dans la drépanocytose
Figure 22 : Modèles de vecteurs lentiviraux
Figure 23 : Inhibition de la polymérisation de l'hémoglobine S par les globines β -like anti-falciformantes
Figure 24 : Les principaux acteurs lors du switch de l'hémoglobine fœtale à adulte
Figure 25 : Mécanisme de l'interférence par ARN
Figure 26 : Récapitulatif des techniques de thérapie génique et leurs limites
Figure 27 : Évolution des concentrations en hémoglobines suite à la réimplantation de cellules CD34+ modifiées
Figure 28 : Contrôles de l'efficacité de la thérapie génique
Figure 29 : Tableau des essais cliniques portant sur la thérapie génique en 2018
Figure 30 : Récapitulatif des essais cliniques en cours et à venir portant sur la drépanocytose en 2021
Figure 31 : Comparaison entre les thérapies géniques ex vivo et in vivo portant sur les cellules souches hématopoïétiques (CSH) dans la drépanocytose

Tableau n°1 : Les taux sanguins des hémoglobines en fonction du statut génétique

Tableau n° 2 : Tableau comparatif des hémogrammes de patients atteints de drépanocytose de différentes nationalités africaines

THÉRAPIE GÉNIQUE, UNE NOUVELLE APPROCHE DE LA DRÉPANOCYTOSE

I - Introduction : Historique de la drépanocytose

1) Une histoire scientifique et sociale

La première description de la drépanocytose dans un ouvrage scientifique remonte à plus d'un siècle (1).

En 1846, Docteur Leiby avait observé l'absence de rate lors de l'autopsie d'un esclave noir fugitif qui présentait des fièvres bilieuses intermittentes et rémittentes. On supposera plus tard qu'il était atteint de l'anémie falciforme et qu'à la suite de nombreux infarctus, il y a eu une atrophie splénique (2).

En 1872, le Docteur Africanus Horton (James Beale), médecin de l'armée britannique originaire de Sierra Leone (Freetown) décrivait une « fièvre rhumatismale » dans son livre *The Disease of Tropical Climates and their Treatment*, ce qui correspond aujourd'hui à une crise vaso-occlusive osseuse. Mais à l'époque c'était passé inaperçu (3).

En 1910 aux États-Unis d'Amérique, James Herrick, un américain professeur en médecine, avait pris en compte les observations de son interne Ernest Irons. Et comme cela, il a été le premier à décrire des « érythrocytes étrangement allongés et en forme de faucille » sur le frottis sanguin d'un étudiant en médecine dentaire, originaire de l'île de Grenade. Ce constat avait été fait en association avec d'autres symptômes de l'anémie sévère. Mais la drépanocytose restait à l'époque facilement et fréquemment mal diagnostiquée. Sachant qu'à cette période la mortalité infantile était assez élevée, et les personnes atteintes de la drépanocytose étant particulièrement vulnérables face aux diverses infections, le diagnostic se résumait à l'infection prédominante présentée.

En 1911, l'étudiant Washburn fait la même observation que Herrick, chez Ellen Anthony une servante noire qui souffrait d'une douleur abdominale sévère. Et en 1915, Victor Emmel émet l'hypothèse d'une transmission héréditaire avec le cas d'une patiente de 21 ans(4). En effet, trois enfants de la même famille sont décédés d'une anémie et le père de famille ainsi que la patiente elle-même étaient sensibles au test de falciformation d'Emmel, bien que asymptomatiques. Le test d'Emmel établi en 1917 consiste à rechercher l'hémoglobine S (Hb S). Il permet de montrer que la déformation des hématies est réversible *in vitro* sous l'action de la pression partielle de l'oxygène. C'est à partir de là qu'il a distingué deux formes de la pathologie avec des patients cliniquement sains et des patients symptomatiques.

C'est en 1922 que la Docteure Verne Mason nomme pour la 1ère fois la pathologie « sickle cell anemia »(SCD), anémie falciforme faisant référence à la forme des globules rouges.

En 1924, Virgil Sydenstricker, présentait une nouvelle étude clinique où il fait les premières descriptions de la crise hémolytique : son aspect aigu et douloureux.

Dans les années 1920, Lemuel Diggs pathologiste ayant étudié à de l'Université de John Hopkins, commençait à s'intéresser à cette pathologie encore rarement diagnostiquée. Le tableau clinique tel que l'hyperthermie fréquente, les infections à répétitions, l'hypertrophie splénique, des épisodes d'hyperalgie, était interprété à tort comme un accès palustre. Car le paludisme était endémique à Memphis, région où travaillait Diggs. Et c'est grâce à ses travaux qu'en 1933 le trait drépanocytaire fut décrit en distinction de la drépanocytose. On en donnera la définition précise plus tard.

Ce n'est qu'au milieu du XXème siècle, qu'il y a eu une évolution en termes de diagnostic et de thérapeutique. D'abord en 1948 on fait l'observation de l'absence de symptôme chez le jeune enfant (4). Et en 1949 Linus Pauling, un chimiste américain, a découvert le rôle de l'hémoglobine dans la falciformation des hématies. Avec Harvey Itano, ils ont décrit la solubilité anormale de l'hémoglobine S sur l'électrophorèse des protéines chez un patient ayant des hématies falciformes mais avec une symptomatologie peu marquée. Il possède également de l'hémoglobine A (HbA), il est donc dit hétérozygote porteur du trait drépanocytaire (cf Figure 1). Et ils ont ainsi attribué l'anomalie à la molécule d'hémoglobine elle-même, faisant passer la pathologie de « curiosité étrange » à une pathologie moléculaire. (5)

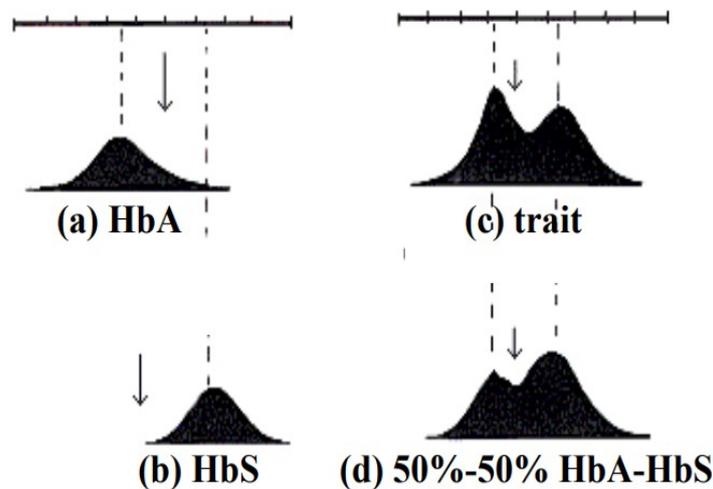


Figure 1 : Électrophorèse de l'HbA (a), de l'HbS (b), du trait drépanocytaire (c) et d'un mélange à part égales de HbA et de HbS (modifié de Pauling et Al., 1949) (6)

La même année James Neel démontrait que le mode de transmission de la drépanocytose est mendélien c'est-à-dire génétiquement déterminé.

Ce sont les retombées de la guerre et l'innovation biomédicale d'après Seconde Guerre Mondiale qui ont pu, avec l'avènement des antibiotiques, transformer la gestion des infections et de la mortalité liée aux infections. Et ainsi une fois que ces infections avaient été traitées, la pathologie sous-jacente est devenue plus visible cliniquement et dans la société.

En termes de biochimie, Tosteson a découvert le 1er, l'augmentation de la perméabilité passive des cations monovalents Na^+ et K^+ pendant la désoxygénation de courte durée des hématies chez les patients atteints de la drépanocytose. Cela, sans modification de la quantité totale de ces cations, ni de la quantité totale d'eau. Et il a également découvert que l'Hb polymérisée modifierait l'interaction entre le cytosquelette et la membrane (7).

En 1956, le britannique Vernon Ingram précisait que c'est la mauvaise substitution d'un seul acide aminé au niveau de la molécule de l'hémoglobine qui était à l'origine du changement de forme des globules rouges. L'acide glutamique 6 au niveau de la chaîne β de globine est alors remplacée par une valine. De plus avec les progrès réalisés, la technique d'électrophorèse a permis l'identification d'une autre hémoglobinopathie HbS/C (association l'hémoglobine S à l'hémoglobine C). Démontrant que dans une protéine, chaque acide aminé est déterminé par les gènes.

Puis dans les années 1960, la drépanocytose affectant particulièrement les Africains-Américains est devenue un symbole politique pour la communauté. Repris notamment tout au long de la décennie par le mouvement activiste Black Panther faisant de cette pathologie une cause civique plus connue. En parallèle on découvrait que le gène codant la chaîne β se trouve sur le chromosome 11.

Également au milieu des années 60, l'arrivée du Medicaid. C'est un programme financé par les gouvernements fournissant une assurance maladie aux américains en situation de handicap ou ayant de faibles revenus. Medicaid devait donner un accès aux soins à des millions d'américains. Mais il est devenu un point de rupture à cause des divergences concernant le contrôle des coûts liés à la drépanocytose.

En 1971, le Président Richard Nixon lançait un appel pour améliorer le financement du diagnostic de la drépanocytose, de la prévention durant le conseil génétique, et du traitement. Parallèlement à la lutte contre le cancer, l'anémie falciforme devait être la seconde maladie cible des recherches. Et il a évoqué aussi une négligence au niveau des connaissances des causes de la pathologie, liée à l'histoire des États-Unis d'Amérique. Et toujours en ce sens, en 1972, le Président Nixon a promulgué la loi *Sickle Cell Anemia Control Act*.

À la suite de celle-ci, de nombreuses interventions pour la drépanocytose ont été saluées. Certaines prometteuses, d'autres ne sont pas parvenues à atteindre les objectifs attendus, et d'autres ont suscité une nouvelle polémique. En cause les effets indésirables voire toxiques du traitement par l'urée. Ainsi que des conseils génétiques agressifs auprès des couples porteurs du trait drépanocytaire pour leur éviter de faire des enfants, ce qui a été perçu comme un génocide racial. Des tests

de dépistage avaient été lancés aux États-Unis à cette période. Linus Pauling a lui-même participé à la controverse, suggérant un tatouage sur le front des jeunes porteurs du gène afin qu'ils se retiennent de tomber amoureux les uns les autres (8).

En 1978 Tom Maniatis, professeur de biologie moléculaire et cellulaire, isolait le gène HbB de la chaîne β (bêta) de l'hémoglobine sur le chromosome 11. C'est en 1980 que le Professeur Yuet Wai Kan, généticien et hématologue canado-américain d'origine chinoise, élaborait un test de dépistage prénatal de la drépanocytose à partir d'ADN fœtal. Et en 1981 l'AFDPHE (Association Française pour le Dépistage et la Prévention du Handicap Enfant) mettait en place à titre expérimental une campagne de dépistage en France métropolitaine ainsi qu'aux Antilles.

En 1988 c'est la création de la première association de lutte contre la drépanocytose : APIPD, l'Association Pour l'Information et la Prévention de la Drépanocytose.

Et tout au long du siècle dernier, la prise en charge des douleurs liées à la pathologie s'est révélée assez compliquée. En effet les États-Unis commençaient à intensifier il y avait la lutte contre l'usage des drogues, et de ce fait les patients en souffrance étaient tributaires de l'approbation et du soutien de leurs soignants pour être soulagés de leurs douleurs. Dans les années 1980, les patients atteints de la drépanocytose ont été stigmatisés comme des drogués malhonnêtes, notamment dans les services d'urgence. Ce qui était d'autant plus renforcé par le fait que les patients avaient souvent une connaissance précise des thérapeutiques qui les soulageaient (codéine et autres opiacés), contrairement aux équipes médicales qui les prenaient en charge.

Ainsi l'arrivée de l'hydroxyurée a permis de contourner ces problématiques en diminuant de façon considérable le nombre annuel de crises (5). En 1995 c'est le premier traitement et seul traitement préventif en terme de complications. Et la même année en France le dépistage néonatal ciblé est étendu aux grandes villes métropolitaines en fonction de l'origine des parents. Et c'est en 2000 qu'il est étendu à l'ensemble du territoire français.

En 2005, l'Union Africaine et la fondation UNESCO reconnaissent la drépanocytose. Puis en 2006 l'Organisation des Nations Unies (ONU) fit de même. En 2008 son Assemblée établissait la drépanocytose comme « priorité de Santé Publique ». Et le 19 juin de la même année, a été déclarée journée internationale dédiée à la drépanocytose.(9)

2) Histoire naturelle de la maladie

La distribution de l'Hb S est le reflet de deux facteurs : la sélection des porteurs par leur avantage en termes de survie en région endémique à la malaria (paludisme), et ultérieurement la migration.(1)

Il y a eu dans les années 40, une hypothèse selon laquelle on trouvait le gène drépanocytaire en fréquences élevées dans les régions endémiques pour le paludisme (10). Celle-ci fut confirmée récemment selon une étude géographique (11) (12). Ce gène était prévalent dans les populations touchées par le paludisme en Afrique sub-saharienne, le Moyen-Orient, le bassin méditerranéen (Grèce, Italie) et certaines régions de l'Inde. Puis, par suite de mouvements migratoires de populations, le gène drépanocytaire a connu une expansion, indépendante de celle du paludisme. Ainsi on le retrouve le long des côtes orientales des Amériques, dans les Caraïbes et en Europe de l'Ouest (cf Figure 2).(13)

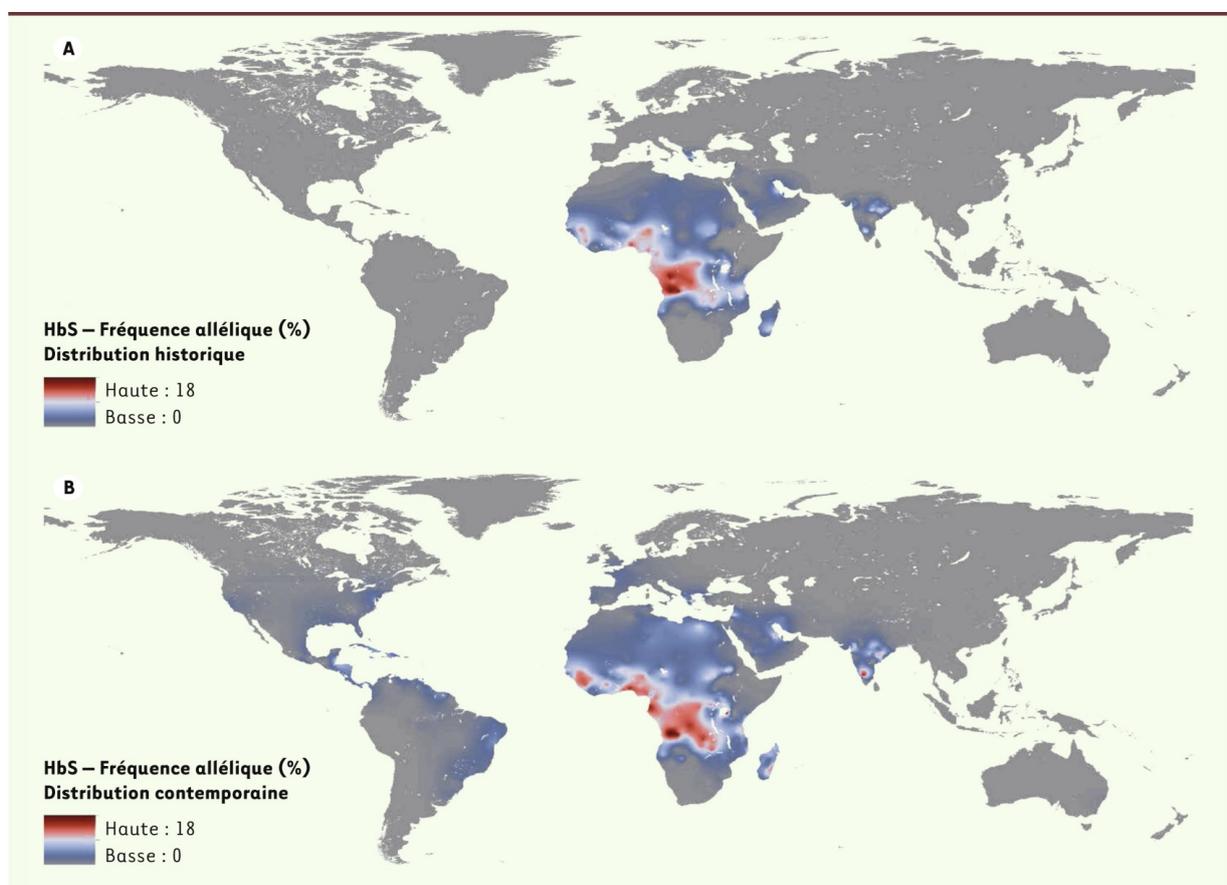


Figure 2 : Distribution historique et contemporaine (2010) de la drépanocytose
A. Les données de distribution historique (11) B. Les données de distribution contemporaine (2010)(14)

Concernant le continent africain, la caractérisation de la structure l'ADN partant du locus de la β globine de l'Hb S, laisse penser que la mutation est survenue lors d'au moins trois événements indépendants. Chacun faisant référence à un haplotype et nommé par rapport au pays ou la région où cela a été décrit la première fois, soit le

Bénin, le Sénégal et la région Bantu (Centrafrique) (15,16). La caractéristique de l'hémoglobine C (HbC) semble venir d'une mutation assez récente se limitant à l'Afrique de l'Ouest où la fréquence est élevée (> 20%) au centre du Ghana et au Burkina Fasso. Elle n'apparaît pas en Afrique de l'Est, ni en Afrique Centrale sauf chez les personnes originaires de l'Afrique de l'Ouest.

Concernant l'Inde et le golfe Persique, la structure de l'ADN du locus de la globine β diffère de celles trouvées dans les populations africaines, on parle de l'haplotype asiatique de l'HbS. Il est souvent associé à des taux élevés d'HbF et à une α (alpha) thalassémie. Les deux étant des facteurs d'inhibition de la falciformation et d'amélioration de l'évolution clinique.(17) Cet haplotype arabo-indien a étayé l'hypothèse selon laquelle la mutation à l'origine de la constitution de l'Hb S, a eu lieu et a été localement amplifiée, à différentes occasions. (18)

Il y a plus de 60 ans, on suggérait que le paludisme causait cette amplification (19). Et en plus de la corrélation géographique étroite entre la fréquence du gène de l'Hb S dans les populations et l'incidence historique du paludisme, c'est une preuve de résistance partielle des porteurs à toutes les formes de la malaria à *Plasmodium falciparum* qui a été retrouvée dans plusieurs populations. (20,21)

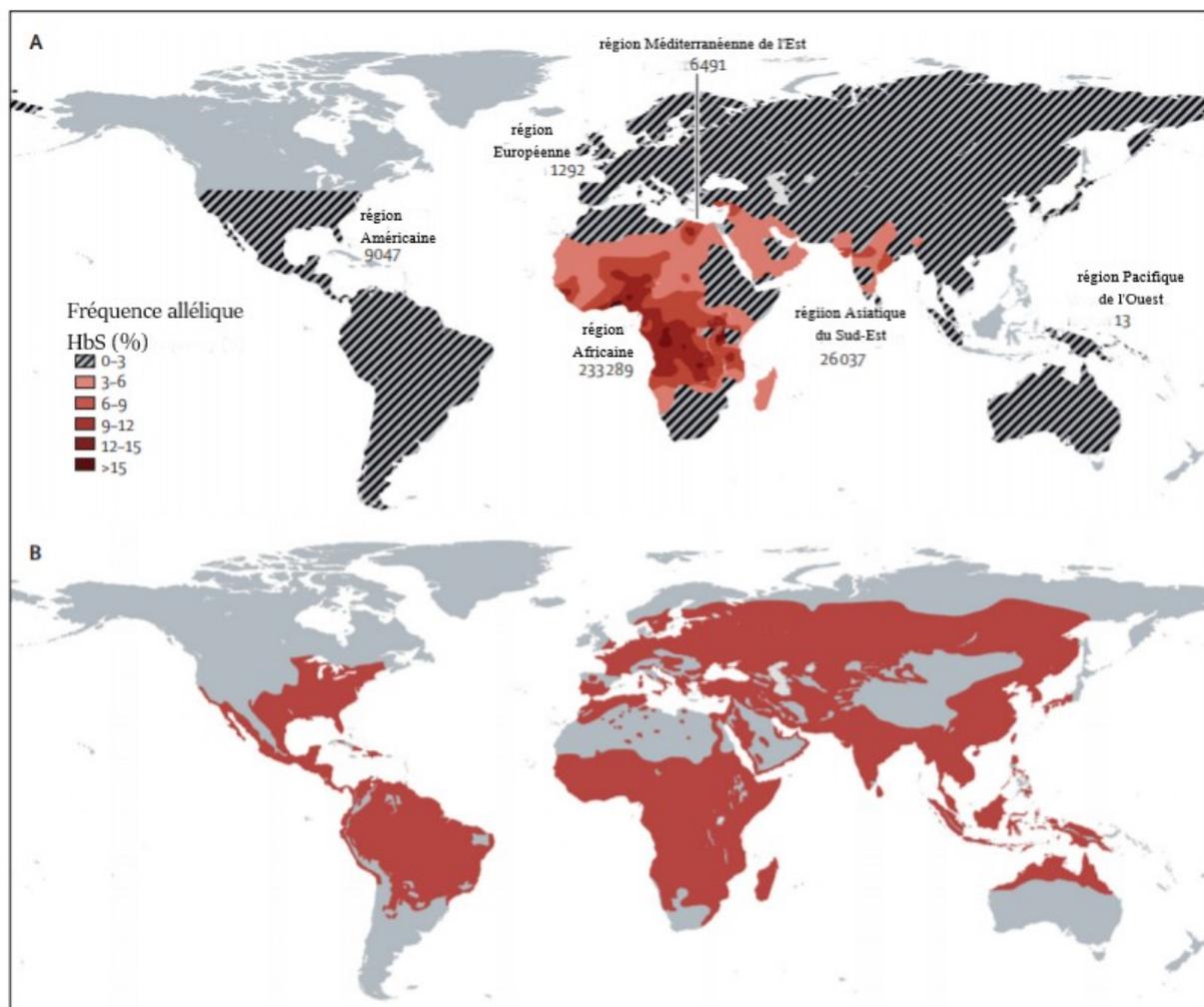


Figure 3 : Distribution géographique de l'allèle HbS et du paludisme

A : Distribution de l'allèle Hb S. Celà a été établi en se basant sur les données numérisées issues de Cavalli-Sforza et de ses collègues. Les chiffres indiquent les estimations annuelles du nombre d'individus touchés par Hb SS, Hb SC et Hb S, β thalassémie par région de l'OMS (adaptée de Modell et Darlinton)

B : Distribution du paludisme (rouge) avant l'intervention pour le contrôler (adaptée de Lysenko et Semashko, et Hay et ses collègues) (1)

Hb S = hémoglobine falciforme

Des études réalisées en Afrique de l'Ouest ont montré que le trait drépanocytaire permet une réduction d'environ 80% du risque de contracter une malaria sévère et que le génotype hétérozygote HbA/S est protecteur jusqu'à environ 30% contre le paludisme sans complication.(22) Les premiers travaux sur le sujet ont montré que l'invasion et la croissance *in vitro* du *Plasmodium falciparum* dans les hématies Hb A/S sont moindres en conditions d'oxygénation basse.(23) En 2012, LaMonte *et al* ajoutaient les différents effets de l'hôte des micro-ARNs d'hématies Hb A/S et Hb S/S sur la croissance intracellulaire des parasites de la malaria. Car ces hématies ont ces hôtes spécifiques en taux plus élevés, et vont ainsi pouvoir inhiber la translation des enzymes parasitaires importantes à la croissance et au développement. De plus, le traitement par oligonucléotide anti-sens contre ces micro-ARNs a partiellement libéré la croissance parasitaire *in vitro* dans les hématies Hb A/S.

Par ailleurs, le génotype Hb A/S diminue les propriétés adhésives des globules rouges parasités via la protéine 1 de la membrane érythrocytaire du *Plasmodium falciparum*. Ainsi le cytosquelette atteint, pourrait impacter le déplacement des protéines vers la surface cellulaire (24) et diminuer la cytoadhésion (25).

Ensuite, bien que le mécanisme de cette protection n'ait pas encore été totalement décrit, il fait certainement intervenir le système immunitaire inné ainsi que l'adaptatif. (26) Il y a un postulat qui dit que réduire l'invasion et la croissance des parasites dans les hématies A/S, va indirectement permettre au système immunitaire de gagner du temps pour accroître son activité et combattre plus efficacement l'infection. Et que de façon plus directe, le génotype A/S augmente la phagocytose des hématies infectés ou favorise l'activation endothéliale suivie d'une induction des cytokines inflammatoires (à cause de l'altération des propriétés de cytoadhésion). (25)

La sélection du paludisme s'est aussi faite avec les défauts génétiques de l'Hb C et de la β thalassémie, généralement associés à l'Hb S. Le fait est que le taux le plus élevé de ces défauts se trouve dans des populations similaires. (18,26)

Notons quand même que quand les patients atteints de drépanocytose homozygotes S/S sont atteints de paludisme, la mortalité et la morbidité sont accrues (27). Par contre les patients hétérozygotes A/S ont une durée de vie dite normale, et sont généralement dits asymptomatiques sauf conditions extrêmes, comme la déshydratation ou une activité physique très intense, où peuvent survenir des complications (rhabdomyolyse d'effort, infarctus splénique et nécrose papillaire) (28).

II - La drépanocytose, une hémoglobinopathie

1) Hémoglobine

L'hémoglobine est la protéine assurant le transport de l'oxygène dans les hématies.

Il existe différents types d'hémoglobine chez l'être humain, issus de deux groupes de gènes qui vont directement être à l'origine de leur synthèse.(29)

- le locus alpha α : contenant le gène embryonnaire dzêta ζ et deux gènes adultes α
- le locus bêta β : contenant les gènes gammas $G\gamma$, $A\gamma$, delta δ , epsilon ϵ et bêta β

Ainsi les expressions des différentes globines se succèdent ou coexistent au cours du développement de l'être humain. D'abord la globine embryonnaire évolue en la globine foetale puis celle-ci bascule en sa forme adulte (Figure 4). Les changements d'expression des gènes de globines de ϵ à γ puis de γ à β sont uniquement contrôlés au moment de la transcription génique. Le gène de la globine δ adulte est quant à lui faiblement exprimé durant la période périnatale et post-natale.

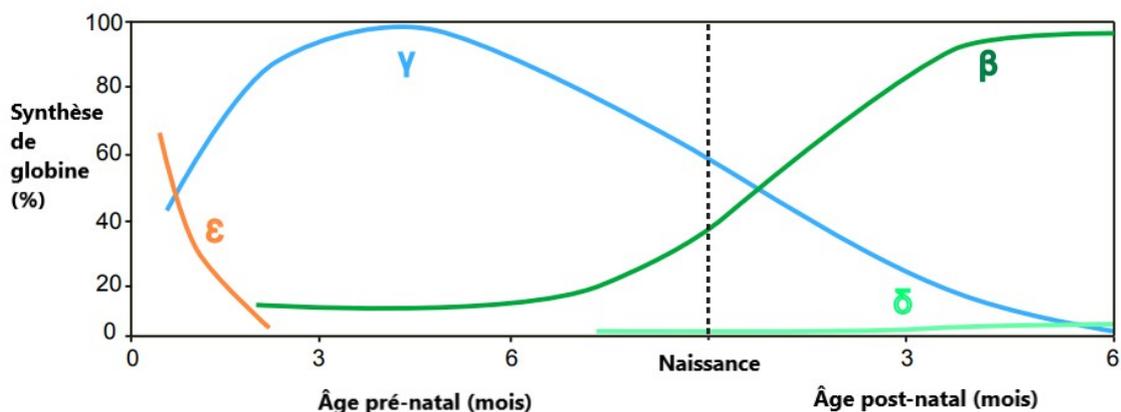


Figure 4 : Coexistence des globines (30)

Pour résumé il y a donc 3 grands types d'hémoglobines (29) :

- embryonnaires : Gower 1 ($\zeta_2\epsilon_2$), Gower 2 ($\alpha_2\epsilon_2$) et Portland ($\zeta_2\gamma_2$)
- foetale et néonatale : HbF ($\alpha_2\gamma_2$)
- adultes : HbA1 ($\alpha_2\beta_2$) et HbA2 ($\alpha_2\delta_2$)

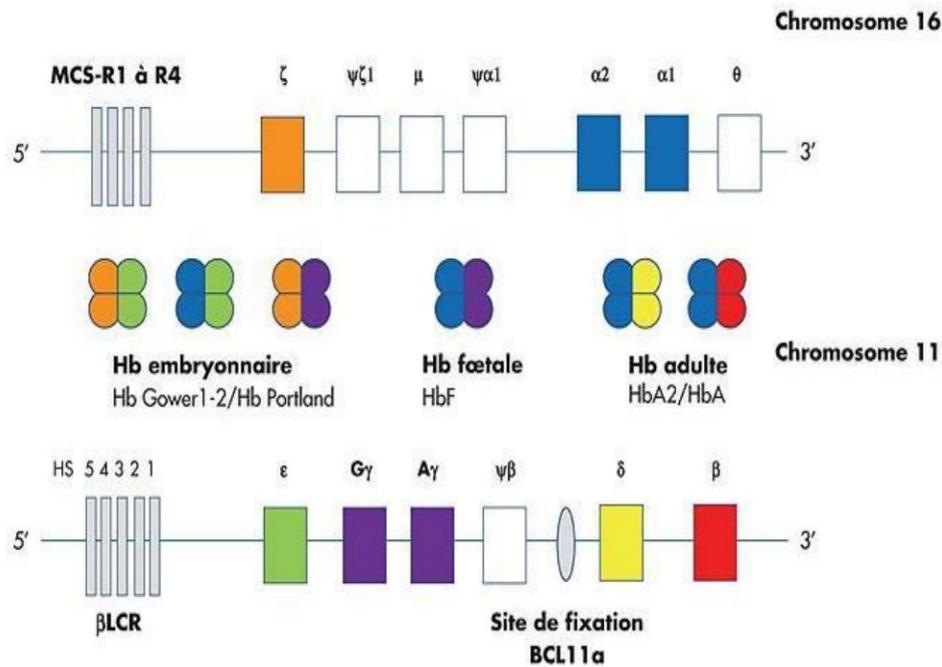


Figure 5 : Représentation des différents types d'hémoglobines (Hb)

Les gènes correspondent aux rectangles colorés et les pseudogènes qui sont des vestiges de l'évolution, correspondent aux rectangles incolores. Le site MCS-R2 a été mis en évidence 40 kb en amont du gène ζ sur le chromosome 16. Il correspond à une zone régulatrice majeure.(31)

L'hémoglobine A est constituée de 4 sous-unités, on dit qu'elle est hétérotétramérique : il y a 2 chaînes de globine de type α (alpha) et 2 chaînes de globine de type β (bêta). Chaque chaîne porte un groupement hémique comportant un atome de fer réduit (Fe 2+) pour fixer l'oxygène.

Les chaînes alpha sont constituées à partir du chromosome 16 et les chaînes bêta sont constituées à partir du chromosome 11, de 5' en 3', comme représenté sur la Figure 5.

En plus de la régulation individuelle du gène de chaque globine par les facteurs de transcription, la transcription de l'ensemble du cluster de gènes est soumise à une région de contrôle partagé, appelée RCL (région de contrôle du locus). Cette RCL est située 40 à 60 paire de bases en amont du gène de globine β. Et elle interagit avec les promoteurs des gènes actifs en formant une structure en épingle à cheveux. La RCL se compose de plusieurs sites hypersensibles à la ADNase de type I (HS1, HS2, HS3, HS4 et HS5) qui ont une forte affinité pour les facteurs de transcription. (32)

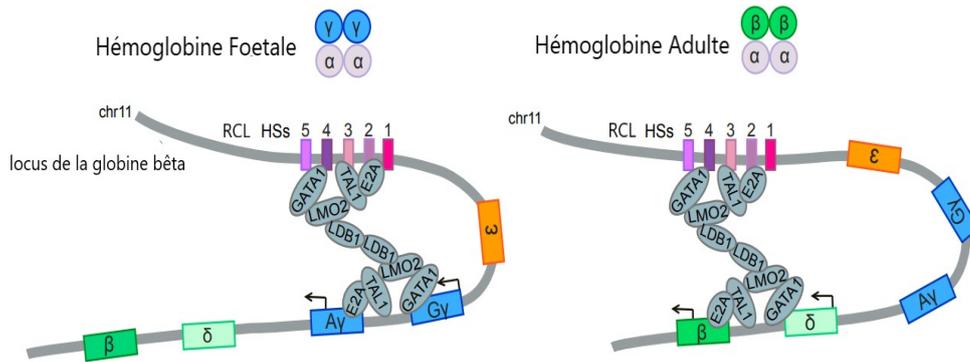


Figure 6 : Régulation développementale des gènes de la globine β like (30)
 (chr 11 : chromosome 11 HSs : sites hypersensibles à la ADNase de type I)

Le locus de la globine β humaine comporte 5 gènes de la globine β -like. La figure 6 montre comment les interactions à longue portée entre la région de contrôle du locus (RCL) et les promoteurs des globines γ et β au niveau des érythroblastes fœtaux et adultes, sont arbitrées respectivement par ce complexe pentamérique. (30)

2) Définition biologique de la drépanocytose

La drépanocytose, encore appelée anémie à hématies falciformes, est une maladie de l'hémoglobine génétique héréditaire. De façon plus précise, le terme drépanocytose fait référence à l'ensemble des génotypes qui sont à l'origine du tableau clinique caractéristique. Alors que l'appellation d'anémie falciforme, qui est la forme la plus courante, fait référence à l'homozygotie pour l'allèle βS .

Il s'agit d'une pathologie héréditaire dont la transmission est dite autosomique récessive au niveau du gène de la globine βA , lui-même situé sur le chromosome 11. Il s'agit d'une mutation faux-sens ponctuelle au niveau du 6ème codon du gène de la globine β , plus précisément au niveau l'exon 1. Celle-ci transformant l'acide glutamique (Glu) en valine (Val), autrement dite : la mutation Glu6Val. Ce qui correspond à un changement d'une adénine en une thymine, soit un passage de GAG à GTG au niveau du 17ème nucléotide (cf Figure 7).(33) Cette mutation est à l'origine de ce qu'on appelle l'hémoglobine S (HbS) pour « sickle » qui signifie faucille en anglais. Ainsi la drépanocytose a été la 1ère pathologie dont on a découvert la base moléculaire en 1956.

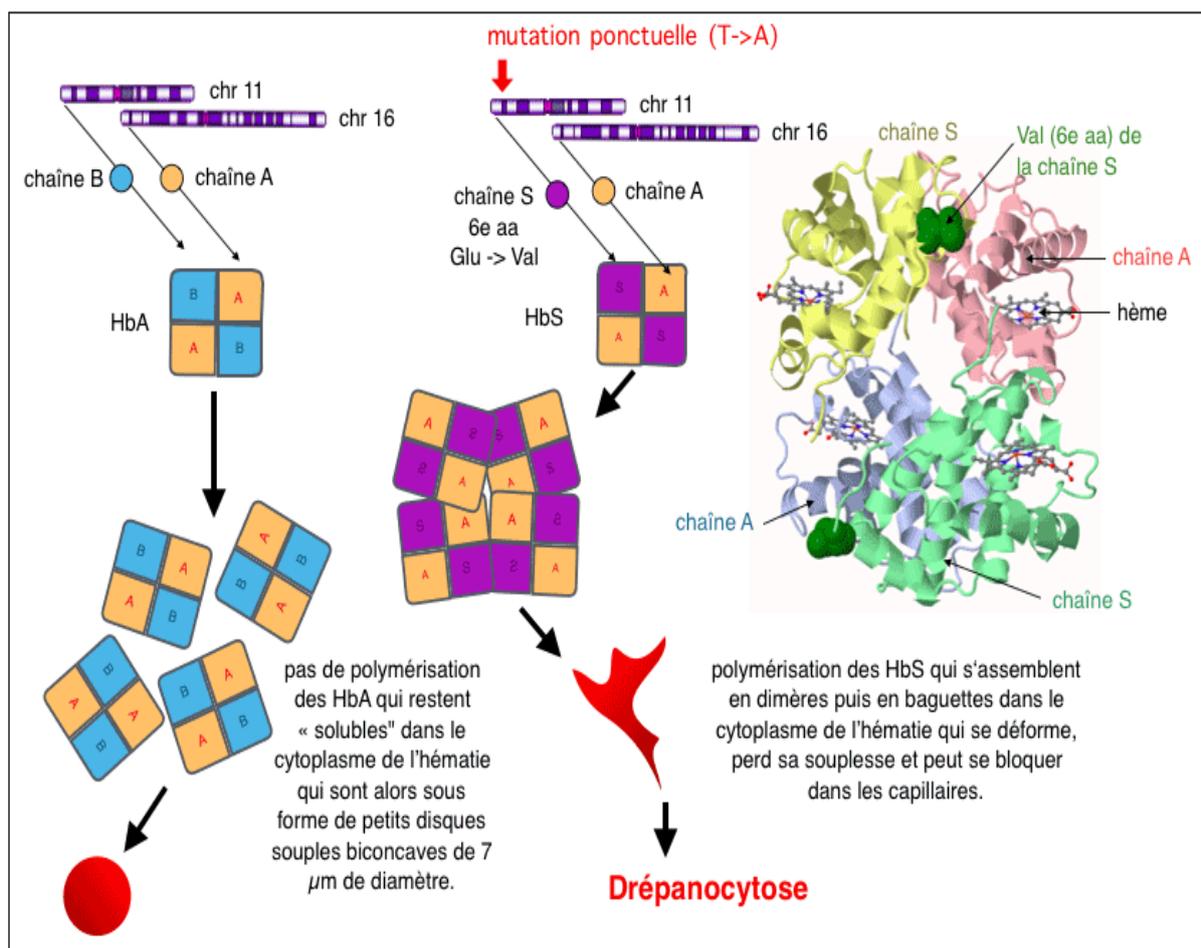


Figure 7 : Représentation de la mutation à l'origine de la drépanocytose (34)

A – Les différents profils génétiques

Il existe différents statuts génétiques qui vont notamment différer par les taux des différentes hémoglobines (Tableau 1). (29,35)

- Homozygote S/S : drépanocytose → symptomatique
- Hétérozygote A/S : trait drépanocytaire → asymptomatique
- Double hétérozygote ou hétérozygotie composite S/C, S/β⁰-thalassémie et S/β⁺-thalassémie : syndromes drépanocytaires → symptomatiques

Statut génétique	HbA	HbS	HbF	HbA2
Adulte normal A/A	96 à 98%	0	< 1%	< 3,5%
Drépanocytose hétérozygote A/S	55 à 70 %	35 à 45%	< 1%	< 3,5%
Drépanocytose homozygote S/S	0	80 à 95%	2 à 20%	< 3,5%
Hétérozygote composite S/C	0	40 à 50% (+ HbC)	1 à 5%	< 3,5%
Hétérozygote S/β ⁰ thalassémie	0	80 à 90%	5 à 15%	> 3,5%
Hétérozygote S/β ⁺ thalassémie	10 à 30%	60 à 80%	5 à 15%	> 3,5%

Tableau n°1 : Les taux sanguins des hémoglobines en fonction du statut génétique (29)

Caractéristiques	
Forme sévère	
HbS/S (β6Glu>Val/β6Glu>Val); anémie falciforme	Forme la plus répandue de la drépanocytose
HbS/β° thalassémie	Forme la plus courante en Inde et en région Méditerranéenne de l'Est
Severe HbS/β° thalassémie	Forme la plus courante en Inde et région Méditerranéenne de l'Est (1 à 5% d'Hb A)
HbS/OArab (β6Glu>Val/β121Glu>Lys)	Forme déclarée en Afrique du Nord, Moyen-Orient et aux Balkans. C'est une forme assez rare.
HbS/D Punjab (β6Glu>Val/β121Glu>Gln)	Forme prédominante au nord de l'Inde, mais présent de façon mondiale
HbS/C Harlem (β6Glu>Val/β6Glu>Val/β, β73Asp>Asn)	Forme très rare, ressemblante à la HbS/C au niveau de l'électrophorèse, mais cliniquement sévère, comporte une mutation double de la beta globine
HbC/S Antilles (β6Glu>Lys/β6Glu>Val, β23Val-Ile)	Forme très rare, drépanocytose sévère associée à l'Hb C, comportant du double mutation du gène de la beta globine.
HbS/Quebec-CHORI (β6Glu>Val/β87Thr>Ile)	Peu de cas décrits, ressemblance avec le trait drépanocytaire
Forme modérée	
HbS/C (β6Glu>Val/β6Glu>Lys)	Forme retrouvée chez 25-30% des cas de drépanocytoses chez les populations d'origine Africaine.
Thalassémie HbS/B+ modérée	Forme très courante en région Méditerranéenne de l'Est (6 à 15% d'Hb A)
HbA/S Oman (β°/β6Glu>Val, β121Glu>Lys)	Forme dominante de la maladie causée par une double mutation du gène de la B globine
Formes légères	
Thalassémie HbS/B++ légère	Principalement chez les populations d'origine Africaine. (16 à 30% d'Hb A)
HbS/E (β6Glu>Val/β26Glu>Lys)	Hb E prédomine en Asie du Sud mais la fréquence de cette forme augmente avec le flux migratoire.
HbA/Jamaica Plain (β°/β6Glu>Val, β68Leu/Phe)	Un cas décrit.
Formes bénignes	
HbS/HPFH	Troubles causés par des délétions étendues au niveau du complexe de la B globine (Environ 30% d'Hb F)
HbS/autres variants de Hb	Formes où les symptômes se développent en cas d'hypoxie extrême.

*Figure 8 : les différents types de drépanocytose et leurs caractéristiques (1)
Voici la liste des génotypes qui ont été reportés. Tous ont au moins une copie de l'allèle βS, associée à une ou plusieurs mutations du gène de la globine β.*

HbS = hémoglobine falciforme

HbA = variant A de l'hémoglobine

HbE = variant E de l'hémoglobine

Le terme de drépanocytaire concerne principalement les personnes ayant un minimum de 40% de HbS menant à des conséquences pathologiques cliniques.

La forme la plus courante (plus de 70% des cas dans le monde) est issue de la transmission héréditaire homozygote de la mutation au niveau d'une sous-unité de la β globine, on parle du profil homozygote « S/S ». Il s'agit également de la forme la plus sévère.

Il existe plus de 700 variants structuraux de l'hémoglobine, mais deux sont courants sur le continent africain, l'HbS et l'HbC. Il y a donc de nombreuses formes plus ou moins sévères de la pathologie avec des caractéristiques associées (cf Figure 8).

Le trait drépanocytaire est lui défini par un profil hétérozygote avec au moins 40% d'HbS et une absence d'anémie. (36)

B – Les anomalies du bilan sanguin

Les paramètres hématologiques vont varier en fonction du génotype, de l'âge, du sexe et le moment de la réalisation de l'examen (en phase stationnaire ou en phase de crise ou lors d'une complication). (37,38) La phase stationnaire étant une phase apyrétique, sans crise vaso-occlusive ou hémolytique.

Le diagnostic de la drépanocytose repose sur l'analyse de l'hémoglobine. Généralement une électrophorèse des protéines ou une chromatographie. Ce sont des techniques abordables quant au prix et à la disponibilité géographique. Bien que la spectrométrie de masse de l'hémoglobine et l'analyse de l'ADN soient de plus en plus utilisées car elles permettent de faire des tests à haut débit. Dans certains pays, un dépistage prénatal est réalisé chez les femmes afin d'identifier les couples présentant un risque de concevoir un enfant drépanocytaire. (39)

Une étude transversale et comparative de l'hémogramme a été réalisée au laboratoire central d'hématologie du centre hospitalier Ibn Sina Rabat (Maroc) sur 87 patients drépanocytaires homozygotes. (38) On notait qu'une diminution significative du taux d'hémoglobine avec une moyenne de 75,9 g/L pour les malades et de 120,6 g/L pour les témoins. Une anémie a été observée chez 88,5% des patients S/S, avec un degré variable : normochrome (78,2%), normocytaire (67,8%), microcytaire (29,9%), macrocytaire (2,3%). Le degré d'anisocytose est lui-même lié au degré de cette anémie. Et elle est très évocatrice chez ces patients : 95,4% avec $p < 0,003$. Donc on retrouve principalement une anémie modérée de type normochrome normocytaire.

Concernant les leucocytes, la moyenne est de $13,55 \pm 5,32$ G/L dans le groupe drépanocytaire et de $8,25 \pm 2,96$ G/L dans le groupe témoin, ce qui est différence significative ($p = 0,002$). Une hyperleucocytose est constatée chez 64,4% des patients SS avec une neutropénie chez 80,5% d'entre eux. Cela pourrait s'expliquer par une production médullaire importante associée à une démarginalisation continue du pool marginal vers le pool circulant.(40) Ainsi, la leucocytose et l'activation des leucocytes constituent des marqueurs de l'inflammation dans la drépanocytose.

Avec la disparition de l'Hb F vers l'âge de 6 mois, on observe alors une altération clinique, ce qui justifie la réalisation d'une électrophorèse de façon précoce. Et c'est en cela que *Bernard et al* évoque une anomalie hémolytique chronique comme un élément évocateur dès lors, notamment chez les enfants présentant une splénomégalie. (41)

L'Hb S désoxygénée est moins soluble que l'Hb A, elle va donc se polymériser et permettre la falciformation des hématies, ce qui va engendrer une hémolyse importante.(38) Cette hémolyse est cause d'anémie, de fatigue, de lithiase biliaire ainsi que de vasculopathie. Avec l'âge, les patients atteints de la drépanocytose vont développer un risque vasculaire, marqué par l'hypertension artérielle et pulmonaire,

le dysfonctionnement endothélial, et les changements au niveau de l'intima et des muscles lisses des vaisseaux.(42–45)

Les complications qui seraient associées à ce phénomène sont : la lithiase biliaire, l'ulcère cutané de la jambe, le priapisme, et l'hypertension pulmonaire en lien avec une constance de faibles concentrations en hémoglobine et l'augmentation du taux d'hémolyse intravasculaire. (42,44)

Il semblerait que les patients avec des faibles concentrations en hémoglobine et des taux hémolytiques élevés sont plus susceptibles de développer une vasculopathie. Là où ceux ayant des concentrations en hémoglobine plus élevées sont plus enclin à des crises de douleur aiguë et potentiellement au syndrome thoracique aigu.(46)

De plus, l'hémolyse chronique est à l'origine d'une forte régénération médullaire dans le but de compenser l'anémie, mais qui va entraîner en parallèle une carence en acide folique. Cette carence étant une cause de macrocytose. (38)

Pays	Nombre	Age années	Hb g/dL	CCMH %	Leucocytes G/L	VGM fL	Plaquettes G/L
Cameroun	57	12,3	7,8	32,1	17	81,1	388
Gabon	299	12	7,4	32,4	16,9	79,5	398
Congo	167	11,4	7,3	32,2	16,5	89,9	344
Tanzanie	47	5,1	7,2	33,3	16,7	86,9	377
Maroc	87	13	7,59	34,6	13,55	80,81	336

Tableau n° 2 : Tableau comparatif des hémogrammes de patients atteints de drépanocytose de différentes nationalités africaines

(Hb = hémoglobine, CCMH = concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, VGM = Volume globulaire moyen)

Cette étude par ailleurs faisait la comparaison des numérations de formule sanguine entre patients malades homozygotes marocains et ceux de plusieurs pays d'Afrique centrale, qui n'a pas révélé de différences tangibles (cf Tableau n°2).

C - Physiopathologie

La mutation Glu6Val engendre une réduction de la déformabilité des globules rouges, ils deviennent alors plus rigides et prennent la forme de faucille. Ainsi un motif hydrophobe est produit au sein du tétramère de l'HbS qui est désoxygénée, qui va lier les chaînes $\beta 1$ et $\beta 2$ de deux molécules d'hémoglobine. Le tout forme ainsi un noyau polymère qui va remplir l'érythrocyte et perturber son architecture ainsi que sa flexibilité. Cette forme correspondant à une pression partielle en oxygène basse, favorisant la déshydratation cellulaire et causant le stress oxydant physique et cellulaire.(1)

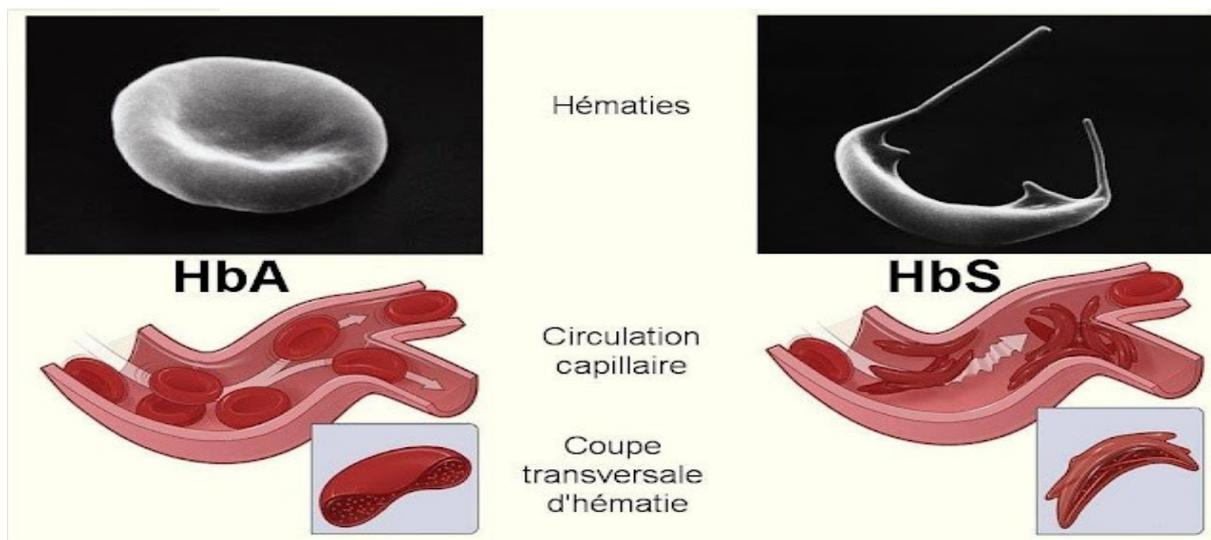


Figure 9 : Représentation du changement de la forme des hématies de biconcave à la forme faucille et la perte de flexibilité (47)

Les hématies ne peuvent plus reprendre leur forme de disque biconcave (Figure 9), même si la pression partielle en oxygène revient à la normale. De fait, elles sont incapables de changer leur forme au travers des différents vaisseaux capillaires. Elles s'y accumulent, créant une occlusion vasculaire, appelée vaso-occlusion et par la suite une ischémie.

Les facteurs favorisant ce passage à la forme faucille sont : un stress physiologique, une haute altitude, les changements de températures, et la déshydratation.

Les crises vaso-occlusives à répétition vont à force mener à une détérioration progressive des organes, incluant la rate, les poumons, le foie, les reins, le squelette et le système nerveux central. (48)

Le taux et l'étendue de la polymérisation de l'HbS sont proportionnels à : la durée et au niveau de désoxygénation de l'Hb, à la concentration intracellulaire en HbS, et à la présence de HbF dans l'érythrocyte (qui va diminuer le taux de HbS).(49)

Ainsi cela s'illustre par l'hérédité de facteurs génétiques qui modulent la concentration intracellulaire en HbS ou en HbF ou des effets protecteurs de l' α -thalassémie et de la persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale (PHHF).(1) Il a été démontré que la présence d'HbF en forte concentration, au-delà de la petite enfance, améliore l'évolution de la pathologie, notamment l'espérance de vie (50) et réduit la fréquence des douleurs aiguës (51).

En effet, il est connu que les patients atteints de la drépanocytose ou de la β thalassémie, présentent des symptômes moins sévères lorsque le taux d'HbF est élevé. C'est dû à ce qu'on appelle la persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale (PHHF). Le mécanisme de l'activité protectrice des globines fœtales chez les patients atteints de la drépanocytose est le suivant : les chaînes de globines γ sont intégrées à un mélange de tétramères d'hémoglobine qui ne participent pas à la formation polymère, et ainsi la déformation des faucilles est inhibée, se manifestant par un phénotype clinique moins sévère. Dans la drépanocytose, un taux d'HbF de plus de 20%, soulage la sévérité des symptômes de la maladie et améliore le taux de survie du patient. (32)

Chez les drépanocytaires, ce taux peut varier de 1 à 30%, c'est considéré comme un trait génétique quantitatif. Trois loci majeurs ont été identifiés : le polymorphisme Xmn1 au niveau du promoteur des gènes de la γ (gamma) globine (52), le locus HMIP sur le chromosome 6q23.3 (53) et le locus BCL11A sur le chromosome 2 (54). Il existe une relation de dose-effet, faisant que le quartile supérieur des patients atteints de SCD, c'est-à-dire, ceux ayant un taux d'Hb F supérieur à 8,6%, ont une espérance de vie rallongée. Les patients correspondant à l'haplotype Arabo-Indien avec un taux d'Hb F aux environs de 20% ont un profil clinique modéré, et les patients porteurs d'Hb S ou de la PHHF (Hb F à environ 30%) sont presque exempts de manifestations de la maladie. (55)

L' α thalassémie est retrouvée chez 30% des patients originaires du continent africain et chez plus de 50% des patients en Inde et en Arabie Saoudite. Elle réduit la taux globulaire moyen en hémoglobine, diminue la tendance à la polymérisation de l'HbS ce qui va augmenter les concentrations en Hb et diminuer le taux d'hémolyse. Au niveau clinique ça diverge beaucoup, mais globalement on observe moins d'accidents vasculaires cérébraux (AVC), de calculs biliaires, d'ulcères de la jambe et de priapisme mais sans diminution de la fréquence des épisodes douloureux. Certaines études ont même noté une tendance à l'augmentation de ces épisodes chez ces patients, pouvant être associée à une augmentation de l'hématocrite et une viscosité sanguine (56).

3) Épidémiologie

La drépanocytose est majoritairement retrouvée en Afrique subsaharienne, où l'on recense approximativement 15 millions des malades sur une estimations de 25 millions.(36) Ce qui fait d'elle la maladie génétique la plus répandue dans le monde(57). Dans les années 2010, on estimait que les porteurs d'un gène responsable d'hémoglobinopathie représentaient 5% de la population mondiale.(58) Plus précisément, la drépanocytose est fréquente en Afrique équatoriale, aux Antilles, aux Amériques (États-Unis, Brésil), le bassin méditerranéen (Maghreb, Sicile, Grèce), Moyen-Orient, Inde. (57)

Chaque année cela représente plus de 236 000 naissances en Afrique subsaharienne, soit 0,74% des nourrissons de la région et 80% du total d'enfants touchés. En comparaison, on estime qu'en Amérique du Nord il y a 2600 personnes atteintes de la drépanocytose qui naissent chaque année, et 1300 en Europe. (59) En France la drépanocytose représente à peu près 400 naissances par an.(60)

En 2010 la fréquence allélique la plus élevée (environ 18%), se trouvait au nord de l'Angola. Et des fréquences supérieures estimées à 10% ont été trouvées en Afrique centrale et Afrique de l'Ouest, de même dans quelques régions de l'Arabie Saoudite et de l'Inde.(13) En Arabie Saoudite le trait drépanocytaire est assez largement répandu avec des fréquences plus élevées dans les provinces de l'est du pays. Et en Inde le trait est plus courant (pouvant aller jusqu'à plus de 40%) chez les populations indigènes du centre du pays (sud-est du Gujarat, Maharastra, Madhya Pradesh, Chhattisgarh, ouest d'Odisha), avec un plus petit foyer dans le sud (nord du Tamil Nadu et Kerala). (17)

Plus concrètement, lorsque les deux parents sont porteurs de l'allèle de la drépanocytose, ils ont un risque de 25% d'avoir un enfant drépanocytaire à chaque grossesse.(52) Sur les 352 000 naissances de bébés nés avec une hémoglobinopathie chaque année, il y en a environ 312 000 qui ont l'hémoglobine SS.

Aux États-Unis d'Amérique, ça représente 1 africain-américain sur 12.(61) En France, ça représente, 200 à 400 naissances d'enfants drépanocytaires par an, soit environ 1 naissance sur 3000. Principalement en région parisienne et aux Antilles. Car en effet il y a une grande disparité d'une région à l'autre : 1 naissance sur 16 000 à Lille, 1 sur 550 à Saint-Denis en région parisienne et 1 sur 280 aux Antilles. (57)

L'Afrique détient des taux de mortalité allant de 50 à 90% pour les enfants moins de 5 ans.(62) En cause un manque d'accès au diagnostic prénatal, de suivis réguliers, de mise en place de traitement prophylactique à base de pénicilline. Ainsi que le manque d'accès à la vaccination contre des maladies virales et des pathologies qui vont modifier le traitement par Hydroxyurée. Et en plus, un accès insuffisant à la transplantation de cellules souches hématopoïétiques (CSH).

4) Qu'en est-il au Cameroun ?

Le Cameroun a une fréquence élevée de porteurs de SCD (20-30%) telle que rapportée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 2006. Il s'agit du 6ème pays avec le plus grand nombre de naissances drépanocytaires par an. (58) Le seul centre spécialisé du pays se trouve à Yaoundé, la capitale du pays. Y sont possibles des tests prénuptiaux, mais peu sont réalisés car il y a un manque de promotion de la santé afin de développer la sensibilisation à cette pathologie.

Dans une étude se déroulant à Buéa (Cameroun anglophone) ayant pour cible les jeunes non mariés avec une moyenne d'âge 21 ± 3.4 ans, les données ont montré qu'une large majorité (89,8%) avait entendu parler de la drépanocytose. La principale source d'informations est l'éducation formelle (41,7%), les autres sources étant les personnes affectées (21,0%), les médias (20,2%), et les professionnels de santé (15,4 %). La moitié de l'effectif (53,0%) dit avoir un proche ou un ami atteint de la maladie.

De plus 44,9% des participants à l'étude ont un niveau de connaissance modéré de la pathologie. 20,5% avaient un bon niveau de connaissance de celle-ci et 33,6% avaient en revanche un niveau de connaissance faible de la drépanocytose.

Cette même étude indique que parmi les 48 participants (soit 13,2%) disant connaître le génotype de leur hémoglobine, le variant majoritaire était l'HbAA (85,1%) et le variant HbAS était quant à lui à hauteur de 14,9%. Dans le cas présent l'absence de variant HbSS pourrait s'expliquer par la petite taille de l'échantillon de participants à l'étude (n=100) mais aussi par le fait que la population devait avoir entre 18 et 35 ans et que généralement à l'âge adulte la drépanocytose est déjà diagnostiquée. (36)

Une autre étude se déroulant au Cameroun, avec un plus large échantillon (n=929) s'intéressant à tous les groupes d'âges, montrait un pourcentage plus élevé de génotype HbAS d'hémoglobine (26,4%) et révélait un pourcentage d'HbSS de 2,9%. (63)

III - Clinique et traitements de la maladie

Le diagnostic est généralement établi pendant l'enfance, avec une espérance de vie estimée à 40 – 50 ans dans les régions développées, mais elle chute en deçà de 5 ans dans certains pays d'Afrique ou en Inde par exemple. (29)

1) Signes cliniques

La drépanocytose (S/S) et la S/ β^0 -thalassémie sont les tableaux les plus sévères cliniquement ainsi qu'au niveau hématologique, bien que les deux génotypes puissent fortement différer en terme de gravité. Le profil S/C est généralement une forme modérée mais sera plus sujet à la rétinopathie drépanocytaire proliférante (RDP). La S/ β^+ -thalassémie a un spectre clinique large qui est fonction de la mutation moléculaire du gène de la β thalassémie et du taux d'HbA produit. (17)

Chez les enfants atteints de drépanocytose, les symptômes les plus fréquents sont les crises vaso-occlusives et les douleurs osseuses qui en résultent. Chez les adultes, la colonne vertébrale et le genou sont le plus souvent touchés. (64)

Chez les patients originaires de l'Afrique de l'Ouest, le gène du syndrome drépanocytaire S/ β^+ -thalassémie est associé à une réduction modérée de la synthèse de chaînes de globine β . Ainsi qu'un taux d'HbA compris entre 15 et 25%, et une évolution clinique modérée, bien qu'ils soient plus sujets à la rétinopathie drépanocytaire proliférante. Ce risque élevé de RDP dans les formes plus modérées (S/C et S/ β^+) de la drépanocytose demeure inexplicé.

Chez les Indiens, la forme S/ β^+ -thalassémie est associée à un taux d'HbA entre 3 et 5% et une évolution clinique assez sévère.

La fréquence et la sévérité des complications du tableau clinique varient d'un génotype à l'autre. Par exemple une étude coopérative de la drépanocytose se déroulant aux États-Unis auprès de 3578 patients, disait que 39% n'avaient pas de douleur, là où 1% faisait plus de six épisodes de crises douloureuses par an. (51) Mais de façon globale, on observera une forme plus sévère chez les profils S/S et S/ β^0 -thalassémie, et une forme modérée chez les profils S/C et S/ β^+ -thalassémie. (17)

A - Pathologies ostéo-articulaires

L'une des manifestations cliniques la plus courante dans la drépanocytose est causée par une implication ostéo-articulaire.(48) Dans un contexte aigu, les patients peuvent présenter des crises vaso-occlusives très douloureuses au niveau des os. Et à répétition, le passage à la forme faucille des hématies, peut s'accompagner d'une nécrose avasculaire. Une autre manifestation prévalente, est l'atteinte de la colonne vertébrale, mais il y a un manque d'informations sur le lien entre les deux. (65,66)

Les douleurs osseuses augmentent généralement lors de l'adolescence et la vie de jeune adulte, notamment pour les hommes. Et elles vont diminuer en fréquence et en sévérité après l'âge de 25-30 ans dans la plupart des cas.(17)

Ces complications musculo-squelettiques n'aggravent pas la mortalité des patients, par contre elles augmentent les comorbidités. En situation aiguë, ça va être des douleurs causées par les crises vaso-occlusives, ostéomyélite, fractures de fatigue/tension, syndrome de compression de l'orbite, problèmes dentaires, tassement vertébral, et nécrose de la moelle osseuse. En situation chronique, ça va inclure des nécroses avasculaires, arthrite chronique, ostéopénie et ostéoporose. (65,66)

- Crise vaso-occlusive

C'est la pathologie osseuse la plus fréquente touchant les patients atteints de drépanocytose.(66) C'est le symptôme aigu le plus fréquent présent chez les enfants et est récurrent tout au long de leur vie.

Ceci est causé par l'occlusion de la microcirculation par les globules rouges en forme de faucille (ainsi que les leucocytes), aboutissant à une ischémie chronique des tissus et un infarctus, qui finalement est source de douleurs et du gonflement des tissus ischémiques. (67) Bien que le processus requière la polymérisation de l'HbS, l'élément déclencheur est souvent inflammatoire (Figure 10).

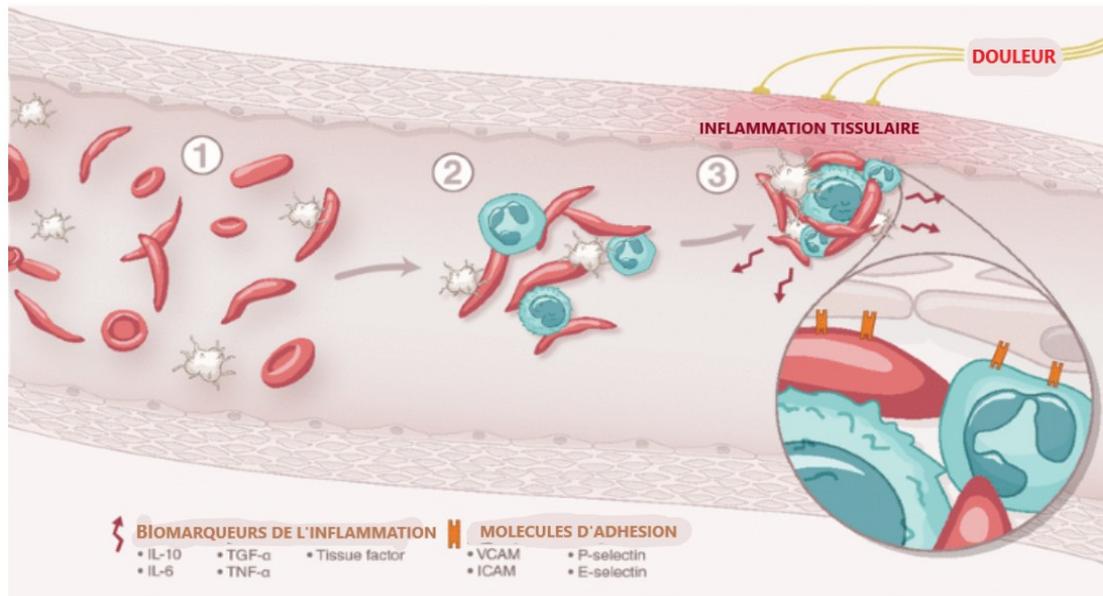


Figure 10 : Représentation du mécanisme d'une crise vaso-occlusive (68)

L'occlusion vasculaire est le résultat de l'interaction entre les érythrocytes et l'endothélium vasculaire, qui va mener à l'occlusion microvasculaire épisodique et l'ischémie, suivies de la restauration du flux sanguin qui favorise les lésions tissulaires par l'intermédiaire de la reperfusion. Ces cycles alternant ischémie et reperfusion sont sources : de stress oxydant, avec l'activation des oxydases vasculaires (69), de stress inflammatoire, de l'augmentation de l'expression endothéliale des protéines d'adhésion cellulaire, ainsi que de la synthèse de cytokines inflammatoires, ce qui peut causer une leucocytose. (70,71)

L'infarctus de moelle osseuse menant à une embolie graisseuse, pourrait aussi contribuer à cette vaso-occlusion, notamment au niveau des poumons où a lieu le syndrome thoracique aigu. (1,50)

Généralement c'est localisé au niveau du genou ou de la colonne vertébrale, là où la moelle est dite « active ». Le sternum et le fémur sont aussi fréquemment touchés. Chez environ 2/3 des patients il y a une implication au niveau lombo-sacré alors qu'il n'y a qu'environ 20% d'entre eux que l'implication est au niveau thoracique. Cliniquement cela se manifeste par des douleurs dorsales et des douleurs à la palpation des vertèbres. Les os plats (crâne, os iliaque, côtes) sont moins susceptibles d'être des sites pour ces crises car ils ont plus de chaînes vasculaires et donc sont mieux perfusés. (72)

Au niveau de l'imagerie médicale, le scanner en combinant un radioisotope osseux à Tc 99m marqué à un colloïde de sulfure (mesure de l'assimilation de la moelle osseuse) et Tc 99m diphosphonate (mesure de l'assimilation osseuse) peut effectivement détecter les zones d'infarctus en phase aiguë.(73) Par contre les radiographies sont totalement inutiles dans la détection de ces crises car les os y apparaissent sans anomalie en phase aiguë.

De plus ces crises sont plus susceptibles de se produire et d'être destructrices au niveau des vaisseaux aux terminaisons longues.

- Ostéomyélite

C'est la 2ème pathologie osseuse la plus fréquente chez les drépanocytaires. De fait avec un terrain comprenant : tissu nécrotique, une immunodéficience secondaire au dysfonctionnement de la rate, un excès de fer, et une implication bactérienne suite à un grand turn over des globules rouges. À ce sujet, *Salmonella* spp et *Staphylococcus* spp ont été largement décrites, et il s'avérerait que *Bacteroides fragilis* soit aussi un pathogène fréquemment impliqué dans l'ostéomyélite vertébrale. Au niveau clinique cela s'accompagne de fièvre, frissons, nausées, vomissements, et des douleurs du bas du dos, localisées et non rayonnantes sans symptôme neurologique.

Le traitement consiste alors à une antibiothérapie en intraveineuse. On pourrait en déduire des cas d'ostéomyélite anaérobie hémotogène aiguë, qui peut être résolue sans nécessité de débridement chirurgical.(74) En situation chronique, les changements osseux dus aux infarctus répétitifs contribuent à une nécrose avasculaire, et ensuite l'hyperplasie de la moelle à l'ostéoporose. Les thromboses et les infarctus affectent le plus souvent la tête d'humérus ou de fémur.(65,75) D'ailleurs, une autre étude pédiatrique cherchant à démontrer un lien avec la croissance des enfants drépanocytaires a observé la présence d'un déficit de la densité minérale osseuse ainsi que de la surface totale osseuse. (76)

- Ostéoporose

Les individus atteints de drépanocytose, sont prédisposés à de l'ostéoporose, en raison d'un faible taux de vitamine D et une densité minérale osseuse réduite. Cette dernière pourrait conduire à une hyperplasie médullaire. (77)

Ces deux phénomènes ne sont pas encore bien décrits mais pourraient être en lien avec l'inflammation chronique au niveau des os des patients drépanocytaires. Une étude basée à Boston a permis de mettre en évidence le fait que le niveau de la partie C-terminale du procollagène de type I, marqueur de la résorption osseuse, était élevé avant et après traitement de l'ostéoporose. D'autres études disent que la libération dans les os de TNF α (tumor necrosis alpha) et d'IL-6 (interleukine 6) en condition ischémique, est liée à l'augmentation de la résorption osseuse, car ce sont des cytokines inflammatoires, expliquant alors en partie la faible densité osseuse chez ces patients. Ce qui représente donc un risque élevé de fracture en comparaison à la population générale. (78)

Par conséquent, un traitement préventif de l'ostéoporose et de l'ostéomyélite est mis en place lorsqu'un faible taux de vitamine D associé à une faible densité minérale osseuse au niveau des lombaires est observé. (79)

2) Prise en charge de la drépanocytose

A – La douleur

Les crises vaso-occlusives constituent le premier motif de consultation et/ou d'hospitalisation. Elles sont d'une douleur telle qu'il faut fréquemment administrer des morphiniques ou des dérivés d'opiacés pour soulager les crises. (57)

- Hydroxyurée

En terme de traitement de fond, l'Hydroxyurée (hydroxycarbamide), commercialisée sous le nom de Siklos® (et Hydréa®) en France, est un agent cytotoxique capable d'augmenter les taux d'hémoglobine fœtale chez certains patients. C'est la seule thérapeutique de modification de la maladie approuvée pour la drépanocytose. (80) En raison de son efficacité par voie orale et le peu d'effets toxiques. Autres bénéfiques, elle diminue le taux de plaquettes et de globules blancs, ainsi que le changement d'expression des molécules d'adhésion. De plus, plusieurs études ont montré que l'hydroxycarbamide diminue la fréquence des épisodes douloureux, du syndrome thoracique aigu, des transfusions sanguines et du nombre d'admissions à l'hôpital chez les adultes et les enfants. Permettant ainsi une meilleure qualité et durée de vie. (80,81)

Durant les deux premières années de vie, de façon physiologique, l'expression des chaînes γ (gamma) globine diminue voire disparaît. Sachant que associées aux chaînes de α (alpha) globine, elles forment l'hémoglobine fœtale (Hb F). Or dans le syndrome drépanocytaire majeur, le gène de l'Hb F n'est pas touché par la mutation, de ce fait l'induction d'Hb F est un axe thérapeutique qui a été exploité pour prévenir la falciformation. (82)

Ce traitement n'intervient pas au niveau de la prévention des AVC, ou des atteintes osseuses secondaires ni sur les infections pulmonaires ou osseuses.(83)

Il y a tout de même certains effets indésirables à prendre particulièrement en compte car très fréquents ($\geq 1/10$) : l'oligospermie et l'azoospermie. Ce sont des effets généralement réversibles mais bien à signaler aux patients masculins en cas de désir d'enfant.(84) Il existe aussi un effet de myélosuppression dose-dépendant apparaissant à court terme.

Cependant la réponse à ce traitement n'est pas uniforme parmi les malades et une réserve demeure sur l'usage à long terme. (85)

- Transfusions

Un autre traitement consiste à des échanges transfusionnels partiels.(57) Effectivement, La transfusion d'érythrocytes intervient dans la prise en charge des complications aiguës et chroniques de la drépanocytose. Elle a pour fonctions de corriger l'anémie, de diminuer le pourcentage d'Hb S, supprimer la synthèse d'Hb S, et réduire l'hémolyse. Il peut s'agir d'une transfusion additive ou d'un échange sanguin. L'exsanguino-transfusion est plus susceptible d'être employée, si la concentration initiale en hémoglobine est élevée ou alors s'il faut diminuer rapidement le taux d'Hb S sans augmenter l'hématocrite ni la viscosité du sang, notamment lorsqu'il y a des symptômes neurologiques.

La transfusion sanguine chronique engendre généralement une surcharge en fer. C'est pourquoi la chélation en fer est importante afin d'éviter l'atteinte hépatique chez les drépanocytaires concernés. Il s'agit d'un traitement par voie parentérale de déféroxamine, Desferal®, ou de Déférasinox, Exjade® qui est un chélateur administré par voie orale.(86) Les transfusions sanguines répétées exposent aussi les malades aux risques de transmission d'infection, d'allo-immunisation et autres réactions immunologiques.(31) Mais il y a aussi le risque de développer des allo-anticorps qui est exacerbé par le fait que les patients atteints de drépanocytose y sont déjà plus susceptibles que les patients sains.(87) D'ailleurs une conséquence directe de transfusions fréquentes, est que plus le patient en est dépendant longtemps, plus ça va être difficile de trouver des produits sanguins compatibles à lui transfuser à cause des multiples allo-anticorps. (88)

B – Atteinte multiple des viscères

L'hypersplénisme, soit l'hyperactivité de la rate, se caractérise par l'hypertrophie persistante de la rate, la séquestration importante des hématies, l'expansion considérable de la moelle osseuse.

La séquestration splénique aiguë est assez fréquente entre l'âge de 6 mois et 2 ans, et ça devient plus rare après l'âge de 6 ans. La résolution peut se faire spontanément, sinon une transfusion chronique est mise en place et la splénectomie est préconisée, dès que deux attaques spléniques ont eu lieu. Car la mauvaise prise en charge de cette complication va entraîner une forte morbidité et mortalité. D'ailleurs l'éducation des parents par rapport aux signes de splénomégalie a permis de diminuer la mortalité liée à cette complication.

La relation entre la séquestration splénique aiguë et l'hypersplénisme est assez complexe.(17)

L'administration de vitamine B9 (Acide folique) est aussi recommandée pour éviter l'aggravation de l'anémie. Cette correction est nécessaire en cas d'infections ou d'atteinte splénique.(57)

C – Mortalité précoce

- Les causes

L'espérance de vie a été historiquement estimée à 50 ans environ (50), bien qu'elle s'améliore avec le développement de la médecine moderne dans les pays développés. On dit globalement qu'elle y est diminuée de 20 ans par rapport à la population générale. Mais celle-ci est davantage limitée dans les pays en voie de développement, pouvant s'abaisser à 5 ans dans les zones où l'accès au soin est limité.(17)

Bien que la mortalité infantile en lien avec la drépanocytose soit élevée, on retrouve relativement peu de documentation sur les causes, notamment en Afrique. Elle est donc ainsi souvent attribuée au paludisme ou bien une infection bactérienne sanguine.(89) Cependant, une étude menée auprès d'une population africaine a montré que la fréquence de bactériémies causées par *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* chez les enfants drépanocytaires était similaire aux chiffres concernant la Jamaïque et les États-Unis. (90,91) Cette susceptibilité est causée par l'atteinte de la fonction splénique, les défauts d'activation du complément (immunité innée), les déficiences en micronutriments et ischémie tissulaire.

- Prophylaxie

À partir de ces infections, on a ainsi supposé qu'une prophylaxie antibiotique adaptée pourrait diminuer jusqu'à 50% la mortalité infantile en Afrique.(1) Cette mortalité pourrait aussi être causée par un syndrome thoracique aigu.(17) Et de façon plus globale, le dépistage systématique des nouveaux-nés, la prophylaxie à la pénicilline et les vaccinations supplémentaires, ont contribué à une baisse significative du taux de mortalité chez les jeunes enfants.(91) Ainsi que l'éducation des parents dès la naissance à la détection précoce des complications telle que la séquestration splénique. (82) Une urgence qui peut parfois être compliquée à saisir pour les parents qui ont devant eux un bébé qui semble en bonne santé, asymptomatique.

La vaccination contre *Haemophilus influenzae* est généralement intégrée dans les programmes nationaux. Il s'agit de trois doses de vaccin avant l'âge de 1 an (à 2 mois, 4 mois et 11 mois). Concernant la vaccination contre le pneumocoque, il est recommandé de faire 4 doses de Prevenar 13® (à 2 mois, 3 mois, 4 mois et 9 mois), complétées d'une dose Pneumo 23® à 24 mois puis tous les 5 ans.(94) La vaccination contre l'hépatite B, quant à elle, est faite à la naissance pour tous. Cela dit, le risque de faire une hépatite est plus important pour le patient atteint de la drépanocytose car il est amené à avoir des transfusions assez régulièrement. Pour le méningocoque, il faudrait à minima vacciner contre le méningocoque de type A (MENAfriVac®) après l'âge de 1 an. Et durant la première année la vaccination un vaccin conjugué ACYW135 et la vaccination contre le méningocoque B (Bexsero®). Et concernant la prophylaxie antibiotique, l'administration quotidienne de pénicilline en sirop est recommandée jusqu'à l'âge de 15 ans. (57)

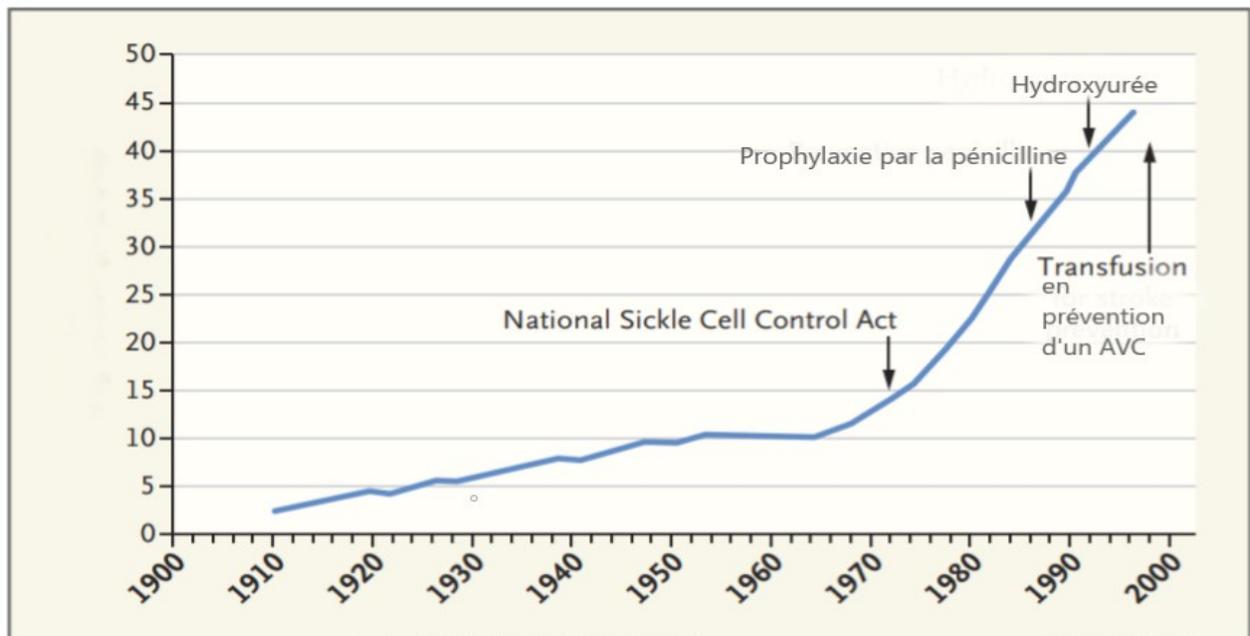


Figure 11 : Évolution de l'espérance de vie chez les patients atteints de drépanocytose entre 1910 et 2000 (5)

- Les complications

Avec l'âge, le syndrome thoracique aigu demeure une cause de mortalité importante, mais le type de septicémie peut évoluer, avec des sérotypes de *Streptococcus pneumoniae* résistants à la pénicilline et/ou non couverts par la vaccination.(17) Par ailleurs, une augmentation de la fréquence des douleurs aiguës va être associée à une mort précoce chez les patients atteints d'anémie falciforme ayant plus de 20 ans. (51) Après l'âge de 30 ans, il y a accumulation d'atteinte des organes, notamment au niveau des poumons (fibrose pulmonaire et hypertension pulmonaire) et des reins (fibrose glomérulaire progressive). (17)

3) Traitements en cas de complications

A – Douleurs aiguës

Les douleurs aiguës sont la cause la plus courante d'hospitalisation chez les enfants et les adultes. Elles sont plus couramment observées chez les adolescents et les jeunes adultes, moins chez les jeunes enfants.

Bien que la douleur aiguë vaso-occlusive n'aboutira généralement pas à une atteinte des organes, c'est la complication la plus importante du point de vue des patients. Leur fréquence est en lien avec un hémocrite élevé, de faibles concentrations en Hb F (51), l'historique fraternel concernant l'asthme (95) et l'hypoxémie nocturne.

La prise en charge des douleurs sévères comprend principalement les opiacés par voie orale, qui serait équivalente à la voie parentérale chez les enfants.(96) Une enquête britannique confidentielle a fait le lien entre de le décès de personnes atteintes de la drépanocytose et la sédation excessive aux opiacés. Mettant en lumière l'importance d'une surveillance rapprochée et de la présence d'un spécialiste de la douleur dans les équipes médicales. (97)

Les corticostéroïdes peuvent réduire les épisodes aigus mais sont finalement peu administrés car ils présentent fréquemment un effet rebond de la douleur aboutissant à une nouvelle admission. (98)

B – Syndrome thoracique aigu

Le syndrome thoracique aigu est la deuxième cause d'admission hospitalière pour les personnes atteintes de la drépanocytose. C'est en fait une lésion pulmonaire aiguë, causée par le développement d'une infiltration alvéolaire au niveau d'au moins un des segments pulmonaires. (99)

La cause de ce syndrome est la résultante de plusieurs éléments, une infection, une embolie graisseuse, une vaso-occlusion au niveau pulmonaire. Les manifestations cliniques peuvent être variables incluant : douleur thoracique, toux, et dyspnée. La sévérité est variable, mais 13% des patients vont nécessiter une assistance respiratoire et il y a un taux de 3% de mortalité.(100) En effet ce syndrome peut survenir suite à une hypoventilation associée à une douleur pleurétique due à une nécrose avasculaire des côtes ou du sternum, d'où la mise en place d'une spirométrie préventive.

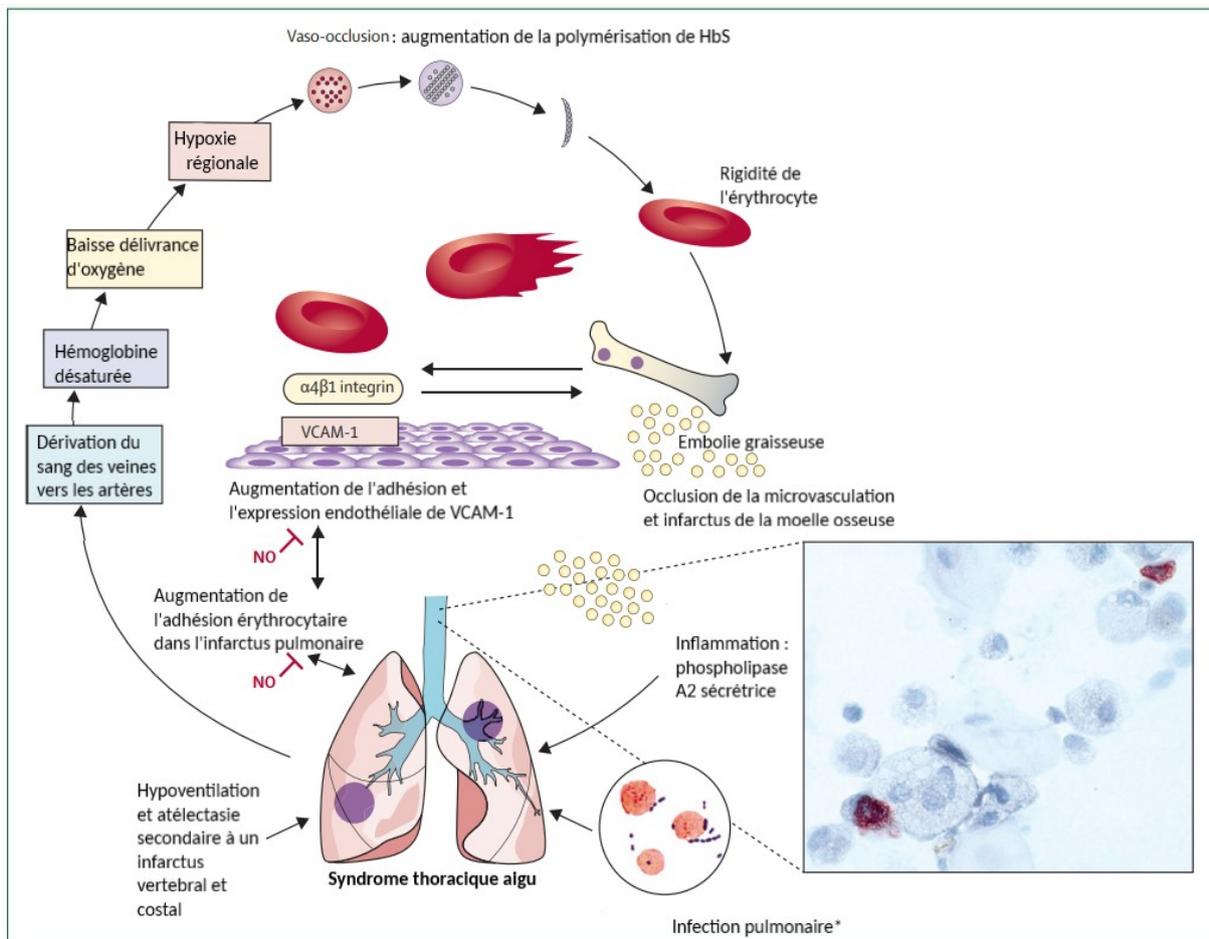


Figure 12 : Physiopathologie du syndrome thoracique aigu (1)

* Infection pulmonaire : 29% *Chlamydia pneumoniae*, 20% *Mycoplasma pneumoniae*, 2% *Legionella pneumoniae*, 10% virus respiratoire syncytial, 4% parvovirus, 3% rhinovirus, 2% virus parainfluenza, 2% cytomegalovirus, 1% virus Epstein-Barr, et 1% Herpes simplex virus; 5% *Staphylococcus aureus* was isolated et 4% *Streptococcus pneumoniae*.

Une hypoxie pulmonaire va être causée par une infection ou d'autres stimuli inflammatoires, qui vont augmenter l'expression endothéliale des molécules d'adhésion, notamment l'intégrine $\alpha4\beta1$ et VCAM-1. Ceci va accélérer la polymérisation de l'HbS et la vaso-occlusion et causer par la suite une hypoxie et une réaction inflammatoire qui vont évoluer sous forme de cycle permanent. La vaso-occlusion entraîne la libération d'hémoglobine plasmatique libre, ce qui va diminuer la disponibilité du monoxyde d'azote (NO) et altérer l'expression de VCAM-1. La vaso-occlusion et l'infarctus de la moelle osseuse peuvent provoquer une embolie graisseuse, ce qui va endommager la circulation pulmonaire. L'encadré (Figure 12) montre des taches rouges au niveau des macrophages des alvéoles pulmonaires, cela correspond aux inclusions lipidiques rouges caractéristiques du diagnostic de l'embolie graisseuse. En parallèle les concentrations en phospholipase A2 sécrétrice sont très élevées en réponse à l'inflammation. Et celles-ci vont être suivies de

l'augmentation de l'expression des molécules d'adhésion dans la vascularisation pulmonaire, qui va elle-même accroître la vaso-occlusion.

La prise en charge implique une antibiothérapie à spectre large, des bronchodilatateurs et de l'oxygénothérapie. En cas de baisse considérable des concentrations en Hb ou de détérioration de l'état clinique du patient, on mettra en place une transfusion sanguine.

La dexaméthasone, Dectancyl®, peut améliorer la clinique et diminuer le besoin de transfusion sanguine chez les enfants ayant un syndrome thoracique aigu. Il existe tout même un effet indésirable de rebond de la douleur à l'arrêt du corticostéroïde. (101).

On pourra aussi administrer de l'hydroxycarbamide lors de récurrences de cette complication.

C – Complications neurologiques

La drépanocytose est l'une des causes les plus fréquentes d'AVC pédiatrique. La plupart des cas sont liés à une sténose touchant la carotide interne distale et l'artère cérébrale moyenne. Le mécanisme de ce type d'AVC n'est pas encore établi car il diffère d'une sténose au niveau de vaisseaux plus petits, mais certains facteurs de cette vasculopathie ont été identifiés : anémie, leucocytose, hypoxémie, rhéologie anormale causant des dommages au niveau endothélial, dysfonctionnement du monoxyde d'azote associé à l'hémolyse, altération de la régulation du flux sanguin causant une hyperémie.(102)

La vasculopathie semble commencer dès la petite enfance, l'incidence du premier AVC est de 1,02 pour 100 patients-années entre l'âge de 2 et 5 ans, et 11% des patients drépanocytaires avaient déjà fait un AVC à l'âge de 20 ans.(43) La détection peut être elle aussi précoce grâce à un Doppler transcrânien. Chez les patients présentant des vitesses transcrâniennes élevées, le risque d'AVC est diminué de 90% grâce à des transfusions sanguines régulières qui vont maintenir le taux d'HbS en deçà de 30%. Par contre, une fois qu'un AVC a lieu, le risque de récurrence est de plus de 60%, bien qu'il soit considérablement diminué par les transfusions. (103) Généralement, on dit que dans les trois années suivant le 1er AVC, il y aura récurrence. (17)

D'autre part, des études où les patients sont soumis à des IRM montraient que 20% des enfants atteints de la drépanocytose avaient des infarctus cérébraux silencieux, notamment au niveau des lobes frontaux. Ceux-ci peuvent être la cause de troubles neurocognitifs, de crises et ultérieurement d'un risque de récurrence d'un infarctus cérébral. (102) Ces troubles peuvent aussi être présents en l'absence d'infarctus, mais en lien avec l'anémie et l'hypoxie.

D – Hypertension pulmonaire

L'hypertension pulmonaire est une complication retrouvée chez les patients adolescents et adultes.

Dans trois études prospectives faites sur des adultes, on a utilisé l'échocardiographie pour mesurer la vélocité du jet de la régurgitation tricuspide. 20% des participants présentaient une légère élévation des pressions artérielles pulmonaires estimées, c'est-à-dire au-dessus de 35mmHg (pour une norme haute définie à 32 mmHg). 9% avaient une hypertension pulmonaire modérée à sévère, c'est-à-dire au-dessus de 45 mmHg. Même si ces mesures sont inférieures à celles des patients ayant des hypertensions pulmonaires idiopathiques ou héréditaires, le risque de mortalité associée à une hypertension, même faible, est élevé pour les patients atteints de la drépanocytose.

Dans une étude française réalisée sur 385 patients qui a exclu les patients ayant une clairance de la créatinine basse, une capacité pulmonaire réduite, et ceux ayant une pathologie hépatique, car ce sont les risques majeurs additionnels d'hypertension. Il y a 6% des participants qui avaient en moyenne une pression artérielle pulmonaire supérieure à 25 mmHg au cathétérisme cardiaque droit. Bien que cette prévalence soit inférieure à celle des études utilisant l'échocardiographie, la survenue de l'hypertension pulmonaire est élevée comparée aux autres maladies associées à son développement et tous les décès s'observaient au sein la population atteinte d'hypertension.

Pour l'instant, on n'a pas de preuve robuste de la meilleure prise en charge de l'hypertension pulmonaire chez les patients ayant la drépanocytose. Il est donc important d'identifier et de traiter les facteurs de risque comme : hypoxémie, apnée du sommeil, maladie thromboembolique pulmonaire, maladie pulmonaire restrictive, dysfonctionnement du ventricule gauche, anémie sévère, et surcharge martiale. Si le patient n'est pas suffisamment réceptif, on envisage un traitement par hydroxycarbamide associé à des transfusions sanguines régulières.

Chez les patients ayant une hypertension pulmonaire sévère (vélocité du jet de la régurgitation tricuspide supérieure à 3 m/s), un cathétérisme cardiaque droit est nécessaire pour confirmer le diagnostic et évaluer la fonction ventriculaire gauche. Les antagonistes des récepteurs à l'endothéline (ex : bosentan et ambrisentan), la thérapie basée sur la prostaglandine (ex : epoprostenol, treprostinol, et iloprost) et les inhibiteurs de phosphodiesterase de type 5 (ex : sildénafil), sont tous utilisés dans l'hypertension pulmonaire idiopathique et peuvent être bénéfiques aux patients qui en sont atteints. L'administration de sildénafil par voie orale améliore la tolérance à l'effort physique et l'hypertension pulmonaire chez les personnes atteintes de la drépanocytose. Bien qu'un essai clinique multicentrique contrôlé contre placebo, ait été soudainement arrêté suite à la suite d'une augmentation inattendue des douleurs aiguës chez les admis du groupe sous traitement. (1)

E – Complications rénales

La détérioration de la fonction rénale va être majeure de la morbidité des drépanocytaires de plus de 40 ans. Se constatent une fibrose glomérulaire progressive associée à une diminution du taux de filtration glomérulaire, une chute du taux d'érythropoïétine et une diminution du taux d'Hb total. En général, cela demeure asymptomatique, mais la diminution graduelle du taux d'Hb va nuire à la fonction cardiaque. Il est donc conseillé d'avoir une créatinémie de référence, pour les patients S/S, inférieure à celle de population générale, pour déterminer une insuffisance rénale. (17)

F – Pathologies de la colonne vertébrale

Les méthodes de traitement non invasives vont être priorisées par rapport à la chirurgie dans la prise en charge des pathologies spinales afin d'éviter une complication telle que l'effondrement de la vertèbre atteinte de l'ostéoporose. Qui est une complication fréquente chez les patients atteints de la drépanocytose.(48)

Chez ces patients il est cliniquement très difficile de faire la distinction entre une infection osseuse et un infarctus osseux. Car il y a une similitude du tableau clinique : taux élevés des marqueurs de l'inflammation, fièvre et sensibilité. La prise en charge implique donc du repos, un traitement symptomatique des accès douloureux aigus, des médicaments pour l'ostéoporose et une orthèse.

Les antalgiques et les myorelaxants peuvent servir mais leur usage chronique peut provoquer des effets indésirables notamment la sédation et les effets anticholinergiques (sécheresse buccale, constipation). L'usage d'orthèse lombaire et/ou thoracique va permettre de moins utiliser ces médicaments.(74)

La salmonelle et *Staphylococcus aureus* sont les deux bactéries en cause dans l'ostéomyélite dans le cadre de la drépanocytose. Donc on met en place une antibiothérapie principalement à base de Ceftriaxone et d'Oxacilline *per os* ou intraveineuse. Avec éventuellement en plus, un débridement chirurgical.(104) La prise en charge thérapeutique sera la même pour un abcès de la colonne vertébrale.

La prise en charge de l'infarctus médullaire nécessite : du repos, une gestion symptomatique de la douleur, une prévention médicale de l'ostéoporose, une orthèse. Et il peut y avoir en plus de la chirurgie.

La prise en charge de l'ostéoporose implique : une prévention médicale, un corset dorso-lombaire/ceinture de soutien lombaire, la gestion symptomatique de la douleur, et une orthèse (41).

Le traitement chirurgical des pathologies de la colonne vertébrale est considéré lorsque celles-ci impactent cliniquement un jeune patient chez qui la drépanocytose est stabilisée.(105) Le débridement chirurgical intervient également lorsque l'antibiothérapie seule ne semble pas être adaptée au soin d'abcès étendus. (104) En effet les patients atteints de la drépanocytose deviennent parfois immunodéprimés

suite à un infarctus splénique lui-même causé par une occlusion vasculaire. Et de ce fait, ils ont tendance à moins bien répondre à une antibiothérapie seule lorsqu'il s'agit d'ostéomyélite ou d'un abcès splénique. (79)

G – Nécrose avasculaire de la moelle osseuse

La dactylite est une complication causée par la nécrose avasculaire de la moelle osseuse au niveau des petits os des mains et des pieds. Elle surgit de façon précoce environ à 10 à 12 semaines de vie. Dans une étude de cohortes en Jamaïque, 50% des enfants ayant atteint l'âge de 2 ans étaient touchés. Le temps de résolution d'une attaque est généralement de 5 à 7 jours, avec un traitement analgésique, mais cela aura tendance à être récurrent jusqu'à l'âge de 5 ans. C'est en fait l'âge où la moelle osseuse active se retire des petits os. À l'adolescence il y a la crise de douleur osseuse qui prend le relais, jusqu'à 25-30 ans où ça va généralement diminuer en fréquence et en sévérité.

Une autre conséquence de cette atteinte de la moelle osseuse, la nécrose avasculaire de la tête fémorale. Elle apparaît généralement à la fin de l'adolescence. Les conséquences dépendront de la maturité de la tête fémorale, vont nécessiter un remodelage ou nécessiter la mise en place d'une prothèse de hanche. (17)

H – Autres

L'incontinence nocturne, va toucher les jeunes enfants et peut parfois continuer jusqu'à l'âge de 18-20 ans. Ces patients auront tendance à avoir un volume urinaire plus important et une vessie avec une capacité moindre (106). En effet, une étude de cohorte réalisée en Jamaïque montrait que 45% des enfants de 8 ans avaient des accidents deux fois par semaine, contre 18% pour le groupe des non atteints de drépanocytose. On s'y attarde peu car il n'y a pas d'enjeu vital. Les effets délétères sont principalement aux niveaux social et psychologique à cause du stress généré chez le patient et sa famille.

L'ulcère chronique de la jambe constitue rarement une cause de décès mais l'isolement scolaire et sociétal qui l'accompagne peut être source de dépression. Car cet isolement se manifeste par un cycle vicieux de guérison et de rechute.

La croissance et le développement sexuels sont communément assez tardifs (d'environ 2,5 ans) lors de l'adolescence chez les patients atteints de la maladie. Certains traits peuvent subsister : des membres graciles et allongés, des hanches et des épaules étroites, et un taux de graisse relativement faible.

La grossesse va engendrer une augmentation de risques de crise de douleurs osseuses, de syndrome thoracique aigu, et de mortalité maternelle, notamment durant le troisième trimestre et en post-partum.

Le priapisme, est une complication particulièrement pénible. Il s'agit d'une érection douloureuse qui n'est pas liée à un désir sexuel. Il touche jusqu'à 35% des jeunes garçons et hommes drépanocytaires.

Il en existe deux formes cliniques. Le priapisme du bégaiement : plutôt nocturne, qui va durer entre 2 à 4h, et sans altération de la fonction sexuelle. Il peut être suivi de somnolence en journée car il va y avoir un manque de sommeil. Or, le taux de recensement de ces épisodes pourtant sources de gêne pour les patients, est assez faible. Et il y a l'attaque de priapisme : pouvant durer plus de 12h généralement suivie de lésions vasculaires permanentes et d'une impotence. (17)

4) Autres approches thérapeutiques

A - Transplantation allogénique de CSH

Comme vu précédemment, il existe plusieurs traitements chroniques mais la principale option curative pour la β -thalassémie et la drépanocytose est la transplantation allogénique de cellules souches hématopoïétiques. Elle a longtemps été le seul traitement curatif. Et elle se fait à partir de donneurs HLA géno-identiques, c'est-à-dire qui sont apparentés au receveur.

Elle est principalement faite chez les enfants atteints de la drépanocytose ayant un donneur HLA-compatible parmi leurs frères et sœurs hétérozygotes pour Hb S, chez qui elle est plus sûre. Ce qui rend de ce fait, ce traitement peu accessible. En effet cela représente moins de 15% des patients à cause du manque de donneur compatible d'une part et du risque élevé de mortalité et de morbidité d'autre part. En particulier quand le donneur n'est pas un frère ou une sœur HLA géno-identique et chez un adulte présentant un organe sévèrement endommagé.

Or généralement, les enfants déclarent assez peu de complications manifestes. Donc cette transplantation n'est envisagée qu'en cas de complication sévère telle que les maladies cérébrovasculaires où les enfants vont être dépendants des transfusions. (1)

Les données des études indiquent une survie globale de 92 à 94 %, une survie sans événement indésirable lié à la transplantation de 82 à 86 % et une mortalité en lien avec la greffe de 7 %. (107) Il est difficile de faire la balance bénéfiques/risques entre le risque de mort à court terme et le risque de complications à long terme lié à la maladie chronique qu'est la drépanocytose.

B - Transplantation haplo-identique de CSH

Les transplantations haplo-identiques peuvent potentiellement être aussi curatives. Ici la promesse faite avec cette approche, c'est un plus grand nombre de donneurs compatibles (supérieur à 90%) car ils peuvent être non apparentés : parents biologiques, enfants biologiques, frères et sœurs, demi-frères et demi-sœurs, ou des membres de la familles plus éloignés. Mais seuls 19% des drépanocytaires ont un donneur non apparenté compatible.

Un donneur HLA-haploidentique partage exactement un haplotype HLA (antigènes des leucocytes humains) avec le receveur, mais avec des différences au niveau de plusieurs gènes HLA sur le 2ème haplotype non identique.

Le principal challenge, est l'alloréactivité bidirectionnelle à l'origine de fortes incidences de rejets de greffon et de maladie du greffon contre l'hôte (taux de 50 à 60%). Qui en plus n'a aucun bénéfice dans le contexte de la drépanocytose qui est une pathologie non maligne.

En comparaison avec les patients ayant une hémopathie maligne qui ont dans un premier temps une chimiothérapie et/ou un traitement par rayons, les patients atteints de drépanocytose pourraient avoir un risque plus élevé de rejet du greffon à cause du fait que le système immunitaire demeure intact et robuste, qu'en plus ils présentent une anémie et une inflammation depuis le plus jeune âge, et ils ont un plus grand taux d'alloimmunisation. Donc pour pouvoir traiter plus de patients avec cette stratégie, il faudrait ne pas augmenter le taux de syndrome de rejet du greffon contre de l'hôte (GVH).

Notamment en utilisant des méthodes de déplétion des lymphocytes T qui d'une part réduiraient le taux de lymphocytes T du receveur reconnaissant la HLA dissemblance des cellules du donneur haplo-identique ainsi que le taux de rejets de greffe. Et d'autre part qui réduiraient le taux de lymphocytes du donneur conduisant au syndrome de rejet GVH. Ces méthodes nécessitent *in vivo* du cyclophosphamide post-greffe (CyPG) et *ex vivo* des CD34+ issus du greffon.(92)

- Cyclophosphamide post-greffe (CyPG)

L'usage de CyPG à fortes doses permet de cibler la déplétion des lymphocytes T alloréactives, tout en préservant la reconstitution de l'immunité et une immunité protectrice. L'expérience initiale la plus large de transplantation de HLA haplo-identique dans la drépanocytose, a montré que le CyPG donné à J+3 et J+4 était efficace dans la baisse du syndrome de greffon contre l'hôte. (108) En effet aucun patient n'a eu le syndrome, que ce soit de façon aiguë ou chronique, le CyPG a bien été toléré et il n'y a pas eu de mortalité liée à la transplantation. Cependant, le rejet avec un taux de 42,8% demeure un obstacle conséquent. Cela peut être dû à une immunosuppression insuffisante lors d'un rejet de greffe qui est dit immunologique ou à une myélosuppression insuffisante lorsque les CSH de l'hôte supplantent les cellules du donneur. Théoriquement on peut solutionner cela en augmentant l'irradiation corporelle totale (de 200 cGy à 400 cGy) réalisée avant, afin de préparer la moelle osseuse. On a ainsi une amélioration du taux de rejet : on est passé de 42,8% à 6% (n=1) (109), treize des dix-sept patients ont fait un chimérisme total donneur et trois ont fait un chimérisme mixte donneur-receveur. Et tous les patients étaient en vie lors du contrôle à 705 jours. Les taux de maladie GVH aiguë et chronique étaient de 29% et 18%, qui ont été tous résolus lors du suivi le plus récent. Et 88% des patients n'étaient plus en état d'immunosuppression.

Dans une autre étude avec des patients présentant un état sévère (n= 21 drépanocytose et n= 2 β thalassémie), qui ont été traités avec une approche non myéloablative, impliquant une irradiation corporelle totale à 400cGy, alemtuzumab, des doses croissantes de CyPG et sirolimus en prévention de la maladie GVH.

Si on élimine la fludarabine, ce protocole pourrait être proposé en cas d'atteinte sévère des organes, notamment une insuffisance rénale. La survie sans événement a augmenté de 50% avec deux doses de CyPG par rapport au cas où il n'y avait pas eu de dose ou une seule. Un protocole supplémentaire utilise de la pentostatine et du cyclophosphamide par voie orale avant la transplantation, pour qu'il y ait

d'avantage de lymphocytes déplétés chez le receveur afin d'essayer de diminuer le taux de rejet de greffe.

Une autre méthode pour potentiellement améliorer la greffe de CSH haplo-identiques, c'est l'ajout de Thiotépa. Suite auquel on a constaté une baisse du taux de rejet de 60% (3 sur 5) à 6% (1 sur 15) et du taux de maladie GVH de 20% à 6%. Et 100% de survie globale après le suivi médian à 13 mois. Une seconde cohorte de cette étude où on a transplanté 22 patients pédiatriques avec l'azathioprine et de l'hydroxycarbamide, a montré 9% de rejet de greffe, 18% de GVHD aiguë et chronique et 86,4% de survie globale.

Ces résultats de transplantations HLA haploidentiques avec le CyPG ont démontré un taux élevé de survie globale, une toxicité limitée et une diminution efficace de la GVHD aux niveaux aigu et chronique, dans la plupart des études. L'augmentation de l'irradiation corporelle totale à 400cGy et l'ajout de thiotépa au protocole de préparation semblent améliorer la greffe. Et c'est en cours d'évaluation dans un essai clinique multicentre BMT CTN 1507, NCT03263559 (92).

- *Ex vivo* approche des lymphocytes T déficitaires

Cette approche permet d'éliminer le risque de toxicité des organes qui était associé *in vivo* avec le cyclophosphamide. Notamment, il existe une méthode pour diminuer le temps de la prise de la greffe ou enrichir l'immunité anti-virale. En élargissant la capacité de la greffe à prendre de plus grandes doses de CSH tout en maintenant le taux lymphocytes T à une dose fixe, ou en réintégrant les lymphocytes T spécifiques du virus.(92)

C - Crizanlizumab, Adakveo®

Figure 13 : Photo d'une boîte d'Adakveo® (110)

Le crizanlizumab est un anticorps monoclonal humanisé IgG2 kappa sélectif qui se lie à la P-sélectine avec une haute affinité et bloque l'interaction avec ses ligands. Il est produit dans des cellules d'ovaires de hamster chinois par la technique de l'ADN recombinant.(111)

La P-sélectine est une molécule d'adhésion exprimée sur les cellules endothéliales activées et les plaquettes. Elle joue un rôle essentiel dans le recrutement initial des leucocytes et l'agrégation des plaquettes sur le site de la lésion vasculaire pendant l'inflammation. Dans le cas de la drépanocytose, lorsqu'il y a un état pro-inflammatoire chronique, il y a une surexpression de la P-sélectine et une activation des cellules endothéliales et sanguines circulantes et qui vont alors devenir hyperadhérentes. L'adhérence multicellulaire médiée par la P-sélectine est un facteur clé dans la pathogenèse de la vaso-occlusion et des crises vaso-occlusives (CVO). D'ailleurs des taux élevés de P-sélectine sont retrouvés chez les patients atteints de drépanocytose.

Le 7 mai 2021, ce médicament était en cours de phase II en France pour diminuer les crises vaso-occlusives. En effet, un avis favorable a été donné pour le remboursement dans le cadre de la prévention des crises vaso-occlusives (CVO) récurrentes chez les patients atteints de drépanocytose âgés de 16 ans et plus. Il peut être administré en association avec de l'hydroxyurée/de l'hydroxycarbamide (HU/HC).(112)

Cela dit, le maintien de cet avis est conditionné par la soumission des résultats de l'étude de phase III comparant le crizanlizumab au placebo et des données du registre des patients traités en France. Ainsi une réévaluation par la Commission aura lieu dans un délai maximum de 4 ans. À ce moment, les données préliminaires disponibles issues d'une étude de phase II montraient un effet modeste (avec

seulement 1,35 CVO évitée par an par rapport au placebo : taux annuel médian de crises vaso-occlusives dans le groupe crizanlizumab 5,0 mg/kg de 1,63 [0,0-24,3] versus 2,98 [0,0-24,3] dans le groupe placebo ; différence des médianes selon la méthode de Hodges-Lehmann de -1,01, IC95% [-2,00 ; 0,00]), p=0,010)) dans une population hétérogène en termes de gravité et d'antécédent de traitement par l'hydroxycarbamide. Mais ces résultats ne sont pas suffisants pour positionner ADAKVEO (crizanlizumab) par rapport à l'hydroxycarbamide, traitement de référence dont l'efficacité est établie pour prévenir la survenue des crises vaso-occlusives. En effet, le recul est faible en termes d'efficacité et de tolérance (1 an).(113)

La Commission de la Transparence considère, qu'en l'état actuel du dossier, le crizanlizumab ne peut se substituer à un traitement par l'hydroxycarbamide bien conduit réalisé à une posologie adaptée sur une durée de traitement adéquate, et après s'être assuré de la bonne observance de ce traitement. De ce fait, un traitement par crizanlizumab doit être envisagé préférentiellement en association à l'hydroxycarbamide. Toutefois, le crizanlizumab, selon son résumé des caractéristiques du produit (RCP), pourra être prescrit en monothérapie uniquement chez les patients chez qui le traitement par HU/HC est inapproprié ou inadéquat.

En résumé de SMR est faible et l'ASMR absente (niveau V). En effet, il est impossible d'estimer la quantité d'effet du crizanlizumab d'une part en monothérapie chez les patients pour lesquels le traitement par hydroxycarbamide est inapproprié ou inadéquat, et d'autre part en association avec l'hydroxycarbamide liée à l'hétérogénéité de la population incluse. La population comportant une majorité de patients avec un faible taux de crises annuel (soit de 2 à 4 crises au cours de l'année précédant l'inclusion pour 62,6% des patients) et une minorité de patients (37,4%) ayant entre 5 et 10 crises vaso-occlusives au cours de l'année précédant l'inclusion ; ainsi qu'une majorité de patients traités par hydroxycarbamide à l'inclusion (62,1%).

Ce médicament a été commercialisé(114), il était réservé à l'usage hospitalier car il a été démontré que la fixation à la P-sélectine, à la surface des cellules endothéliales activées et des plaquettes, bloque efficacement les interactions entre les cellules endothéliales, les plaquettes, les globules rouges et les leucocytes, prévenant ainsi la vaso-occlusion. Au cours des études cliniques, le traitement par crizanlizumab dosé à 5 mg/kg a entraîné une inhibition dose-dépendante, immédiate et prolongée de la P-sélectine (mesurée *ex vivo*) chez des patients atteints de drépanocytose.

Adakveo se présente sous la forme d'une solution à diluer pour perfusion dosée à 10 mg/mL dans un flacon de 10 ml, sous forme de conditionnement unitaire (Figure 13). Le liquide est incolore à légèrement jaune-brunâtre. Ce médicament doit être conservé au réfrigérateur avant ouverture. (111)

Le traitement doit être initié par un médecin expérimenté dans la prise en charge de la drépanocytose. Concernant la posologie, la dose recommandée de crizanlizumab est de 5 mg/kg administrés sur une période de 30 minutes par perfusion intraveineuse à la semaine 0, à la semaine 2, puis toutes les 4 semaines. Il peut être administré seul ou en association avec de l'HU/HC.

En cas de dose manquée, le traitement doit être administré dès que possible. Soit le crizanlizumab est administré dans les 2 semaines suivant la dose manquée, alors l'administration doit être poursuivie conformément au schéma d'administration initial du patient. Soit le crizanlizumab est administré plus de 2 semaines après la dose manquée, alors l'administration doit être poursuivie toutes les 4 semaines par la suite.

Concernant les effets indésirables très fréquents, on note : des nausées & des douleurs abdominales, des arthralgies & des douleurs dorsales, ainsi que de la pyrexie. Et concernant les effets indésirables dits fréquents il y a : la réaction à la perfusion (qui va demander une prise en charge particulière en fonction du grade de sévérité), la diarrhée & les vomissements, la douleur oropharyngée, la myalgie & les douleurs thoraciques musculo-squelettiques.

Depuis le 15 juin 2023 l'Adakveo a perdu son AMM suite aux résultats de l'évaluation de l'étude de phase III STAND qui n'ont pas montré d'efficacité suffisante dans la prévention des CVO récurrentes dans la drépanocytose chez les patients âgés de 16 ans et plus. Il ne peut donc plus être administré.(115)

D - Voxelotor, Oxbryta®



Figure 14 : Photo d'un flacon d'Oxbryta® 500mg (116)

Le 26 juin 2022, la Haute Autorité de santé (HAS) a délivré une autorisation d'accès précoce, pour le OXBRYTA (voxelotor) dans le traitement de l'anémie hémolytique sévère causée par la drépanocytose chez les adultes et les adolescents âgés de 12 ans et plus, ne répondant pas suffisamment à un traitement bien conduit par l'hydroxyurée/hydroxycarbamide et nécessitant des apports transfusionnels réguliers, toujours en association avec HU/HC.

Le voxelotor est un inhibiteur de la polymérisation de l'hémoglobine S (HbS) qui se lie à l'HbS et qui en plus présente une répartition préférentielle dans les érythrocytes. En augmentant l'affinité de l'Hb pour l'oxygène, le voxelotor induit une inhibition

dose-dépendante de la polymérisation de l'HbS qui engendre la diminution des marqueurs de l'hémolyse (bilirubine indirecte), avec une diminution concomitante du taux de réticulocytes et une augmentation de l'Hb compatible avec l'amélioration de l'anémie hémolytique. Ainsi le voxelotor inhibe la falciformation des érythrocytes et augmente leur déformabilité.(117)

Cette autorisation précoce remplace l'ancien système des autorisations temporaires d'utilisation (ATU) de cohorte et de prise en charge temporaire post-AMM (PECT). (118) C'est une procédure permettant l'utilisation, à titre exceptionnel, d'un médicament dans une indication précise soit avant la délivrance d'une autorisation de mise sur le marché (AMM), soit dans l'attente de sa prise en charge par l'Assurance maladie au titre de son AMM (sous ces conditions : la maladie est grave, rare ou invalidante ; il n'existe pas de traitement approprié ; l'efficacité et la sécurité de ce médicament, pour l'indication considérée, sont fortement présumées au vu des résultats des essais thérapeutiques ; le médicament est présumé innovant ; la mise en œuvre du traitement ne peut être différée).

Comme il vient d'obtenir une AMM, ce médicament sera prochainement examiné par la Commission de la Transparence de la Haute Autorité de santé pour déterminer le bien-fondé de sa prise en charge par l'assurance maladie. Cette décision est donc susceptible d'évoluer (maintien, modification ou retrait) en fonction des nouvelles données. En cas de retrait ou de suspension, un dispositif de continuité de prise en charge des patients en cours de traitement est prévu. Aujourd'hui il est donc commercialisé mais pas disponible en ville, et il faut noter qu'il est considéré comme médicament dopant.

Il y a quelques effets indésirables très fréquents qui ont été notifiés : des nausées, diarrhée & douleurs abdominales, ainsi que des céphalées, et un rash cutané.

Le traitement doit donc être instauré par un médecin expérimenté dans la prise en charge de la drépanocytose. La posologie recommandée est de 1500 mg une fois par jour. Il s'agit de comprimés pelliculés de 500 mg (cf Figure 14). La posologie est identique pour la population pédiatrique âgée de plus de 12 ans. Par contre aucune donnée n'a été établie pour la population de moins de 12 ans que ce soit en termes de sécurité ou de l'efficacité du traitement.

Ces deux derniers traitements n'ont jusqu'à présent pas encore prouvé d'effet curatif ou sur les complications telles que : la nécrose avasculaire, l'atteinte rénale ou l'hypertension pulmonaire. Il faut faire davantage d'études à ce sujet pour le savoir. (119) Il y a actuellement une dizaine d'essais cliniques en cours dont plusieurs en phase III (Figure 15).

Trial	Phase	N	Objective	Year of completion
NCT03814746	III	240	Efficacy and safety of two doses of crizanlizumab versus placebo, in adolescent and adult SCD patients with vaso-occlusive crises	2027
NCT03474965	II	100	Efficacy and safety of crizanlizumab in pediatric patients with vaso-occlusive crises	2023
NCT04053764	II	170	Effect of crizanlizumab + standard therapy renal function in CKD patients	2022
NCT03264989	II	57	PK/PD of crizanlizumab in sickle cell patients	2021
NCT03938454	II	56	Efficacy and safety of crizanlizumab in SCD patients with priapism	2022
NCT03573882	III	179	Long-term treatment efficacy of voxelotor and disease progression in SCD patients	2024
NCT04218084	III	224	Efficacy and safety of voxelotor in SCD pediatric patients	2026
NCT04188509	III	50	Extension study for efficacy of voxelotor and disease complications in SCD pediatric patients	2026
NCT04247594	II	45	Safety and tolerability at higher doses of voxelotor in SCD patients	2021
NCT04335721	I/II	12	Efficacy, safety, and CKD progression in SCD patients with CKD	2024
NCT02850406	II	155	Efficacy and safety of voxelotor in SCD pediatric patients	2022

Figure 15 : Tableau des essais cliniques en cours portant sur Crizanlizumab dans la prise en charge de la drépanocytose, notamment au niveau de l'atteinte rénale(61) (CKD : « chronic kidney disease »)

5) Conseils et éducation thérapeutique

A - Aménagements du quotidien

Il est important pour une meilleure qualité de vie de prodiguer des conseils aux patients, ainsi qu'à leurs proches, afin de prévenir les crises et de mieux les appréhender. Les voici :

- La déshydratation est un facteur déclenchant de crise, il est donc conseillé de boire au moins 2L d'eau par jour. Il faut donc intervenir rapidement en cas de vomissements ou de diarrhée. Et d'éviter la consommation de sodas et d'alcool.
- Éviter les situations d'hypoxie, c'est-à-dire les voyages en altitude : ne pas aller au-delà de 1500m d'altitude (les complications surviennent plus fréquemment en haute altitude), ou un effort physique intense et prolongé. Donc éviter l'essoufflement.
- Le tabagisme est lui déconseillé.
- Une activité physique est fortement recommandée mais elle ne doit être ni traumatisante, ni trop intensive. Toute activité nautique, doit se faire dans une eau à au moins 25°C.
- Concernant l'anxiété, il est conseillé de faire une évaluation psychologique. Et si une anxiété est avérée, il faudra éviter les benzodiazépines qui ont un effet indésirable de détresse respiratoire.
- Éviter le port de vêtements trop serrés et les médicaments vasoconstricteurs.
- Éviter les changements de températures brutaux. Les bains et douches froids sont déconseillés.
- Prévenir le médecin traitant si voyage en zone tropicale en prévision : car la potentielle déshydratation va augmenter la viscosité du sang et déclencher des crises.
- Avoir une bonne observance du traitement et un suivi médical régulier. Ne surtout pas arrêter le traitement sans avis médical.
- Faire un examen ophtalmologique annuel.
- Aller consulter un urologue en cas de priapisme.
- La vaccination prophylactique est fortement recommandée : méningocoque, pneumocoque, *Haemophilus*, grippe, Covid-19.
- Avoir une alimentation riche en fer ou facilitant l'assimilation de celui-ci.
- Éviter les infections respiratoires ainsi que les courants d'air.
- Toujours avoir sur soi sa carte de groupe sanguin. (120,121)

Notons, que dans les pays en voie de développement, les infections sont la principale cause de mort infantile chez les patients atteints de drépanocytose, surtout en Afrique mais que dans les pays développés, les infections peuvent survenir à tout âge.

De plus, la maladie peut se manifester de façon plus ou moins sévère selon l'environnement. Le temps froid ou les variations de température favorisent les complications aiguës, notamment les crises douloureuses. Il en est de même pour la vitesse du vent, ou encore les saisons sèches ou pluvieuses.

Il a d'ailleurs été observé dans les pays tropicaux que la fréquence des épisodes de douleur aiguë est augmentée durant la saison des pluies.(122) Bien que cela ait été moins documenté dans les pays tempérés, un lien a été fait entre le temps venteux et une augmentation de la survenue de douleur.(123) Ces variations dépendent aussi de la qualité du logement et de l'habillement.

La pollution atmosphérique est un facteur aggravant, elle touche surtout les patients en zone urbaine, il en est de même pour le tabagisme passif.

Concernant l'éducation thérapeutique, il est également important de connaître les motifs de consultations en urgence : les doigts gonflés (surtout chez l'enfant), les troubles visuels, les vomissements et diarrhées répétés, une fièvre à plus de 38,5 °C (toute fièvre est signe d'infection grave chez un patient avec SCD, jusqu'à preuve du contraire), les douleurs importantes notamment osseuses, les signes d'hémolyse (yeux jaunis et urines foncées) et une érection prolongée de plus d'1h.

En cas de présence de l'un de ces symptômes, il est important que le patient se rapproche d'un service des urgences ou contacte le SAMU afin d'être pris en charge dans les délais les plus brefs. (124)

B - Le cannabidiol

Depuis quelques années le cannabidiol, plus couramment appelé CBD, s'est démocratisé dans nos quotidiens. On pourrait se demander si de fait il constitue un conseil avisé pour les douleurs chroniques des patients atteints de drépanocytose.

Aux États-Unis, compte tenu du manque de stratégies thérapeutiques efficaces et de la montée de la réticence des médecins pour prescrire des opiacés pour cette indication. De nombreux patients ont recours à l'usage de marijuana récréative pour tenter de soulager leur douleur ainsi que d'autres symptômes en lien avec la drépanocytose. Des études rétrospectives ont montré que 31 à 51% des drépanocytaires se disent consommateurs de cannabis et la plupart dans le but de soulager la douleur. Une étude rétrospective montrait que l'usage médical du cannabis était associé à une diminution du nombre d'admissions à l'hôpital. Par contre, la seule étude randomisée contrôlée portant sur le cannabis inhalé dans la drépanocytose n'a pas démontré une diminution significative au niveau du report de douleurs, mais elle a montré une amélioration prometteuse au niveau de l'humeur. Par conséquent il faudrait davantage d'études rigoureuses évaluant l'intérêt et l'efficacité du cannabis dans la prise en charge des douleurs chroniques en lien avec la drépanocytose. D'autant plus que des études chez les murins ont montré que la réponse à la molécule est fonction de la dose et du genre.

Il faut être d'autant plus vigilant que beaucoup de produits sur le marché ne sont pas qualitatifs. Aux États-Unis, il existe une forme orale de CBD qui est autorisée par la FDA, mais uniquement dans le cadre des troubles épileptiques. (125)

IV - Thérapie génique

La thérapie génique, en utilisant des cellules souches hématopoïétiques autologues génétiquement modifiées et la transplantation de celles-ci, est une nouvelle alternative thérapeutique. Car, en effet elle permettrait d'éviter les problèmes de mortalité et de morbidité liés aux rejets de greffon à la suite de la transplantation haplo-identique de CSH. Et de ce fait, le processus d'immunosuppression n'est plus nécessaire. (32)

1) Définitions et Principe

Le principe de la thérapie génique consiste à insérer une copie du gène cible sain dans les cellules souches hématopoïétiques du patient malade, le tout suivi d'une transplantation de moelle osseuse.

L'Agence Nationale de la Sécurité du Médicament (ANSM), définit les médicaments de thérapie génique comme : tout produit obtenu par un ensemble de procédés de fabrication visant au transfert d'un gène prophylactique, diagnostique ou thérapeutique chez l'homme et son expression consécutive *in vivo*, constitue un médicament de thérapie génique. Le transfert d'un gène implique un système d'expression contenu dans un système d'administration appelé vecteur qui peut être d'origine virale ou non virale.

Les préparations de thérapie génique sont des médicaments non fabriqués industriellement servant à transférer du matériel génétique et ne consistant pas en des cellules d'origine humaine ou animale. Les préparations sont constituées à l'avance et dispensées sur prescription médicale à un ou plusieurs patients. (126)

L'Agence Européenne du Médicament (EMA) définit un produit de thérapie génique comme un médicament biologique présentant deux caractéristiques. D'une part, il doit contenir une substance active contenant ou consistant en un acide nucléique recombinant utilisé ou administré à un être humain afin de réguler, réparer, remplacer, ajouter ou supprimer une séquence génétique. Et d'autre part, l'effet thérapeutique, prophylactique ou diagnostique doit directement être corrélé à la séquence d'acide nucléique recombinant qu'il contient ou au produit de l'expression génétique de cette séquence. Les vaccins contre les maladies infectieuses ne faisaient pas partie des médicaments de thérapie génique avant l'élaboration des vaccins contre la Coronavirus disease 2019 (COVID-19)(127).

L'Agence Américaine, Food and Drug Administration (FDA) définit la thérapie génique comme cherchant à modifier ou exprimer l'expression d'un gène, ou à altérer les propriétés biologiques de cellules vivantes à des fins thérapeutiques. C'est une

thérapie qui va traiter ou soigner une pathologie en modifiant les gènes d'une personne. Il existe plusieurs mécanismes : le remplacement du gène malade par une copie du gène sain, l'inactivation du gène malade ne fonctionnant pas bien, et l'introduction d'un nouveau gène ou d'un gène modifié.

Les produits de thérapie génique vont donc agir par la transcription et/ou la translation de matériel génétique transformé et/ou par l'incorporation dans le génome de l'hôte. On recense ainsi plusieurs types de produits de gène thérapie :

- plasmide : les molécules d'ADN circulaire peuvent être génétiquement modifiées pour incorporer des gènes thérapeutiques dans des cellules humaines
- vecteurs viraux : les virus ont la faculté de délivrer du matériel génétique dans les cellules après qu'ils aient été modifiés de façon à leur enlever une fonction infectieuse
- vecteurs bactériens : les bactéries peuvent être modifiées de façon à prévenir leur fonction infectieuse et ensuite être utilisées comme porteur de gène thérapeutique dans les cellules humaines
- techniques de modification génomique : le but étant d'empêcher les gènes défectueux ou de réparer les gènes mutés
- produits dérivés des cellules du patient : les cellules prélevées chez les patients, modifiées génétiquement (souvent via un vecteur viral), puis réadministrées aux patients

Ainsi ces produits peuvent être utilisés pour modifier des cellules *in vivo*, ou d'abord transférés dans des cellules *ex vivo* avant l'administration chez le receveur.(128)

On distingue deux catégories : la thérapie génétique somatique et la thérapie génétique germinale. Dans la première technique, le matériel génétique est inséré au niveau de cellules cibles et la modification ne sera pas transmise à la descendance. Là où dans la technique germinale la modification génétique serait transmise la génération suivante. Or la législation actuelle autorise uniquement la thérapie génique sur les cellules somatiques. (127)

2) Historique

La thérapie génique semble avoir débuté en 1928 avec Frederick Griffith, bactériologiste britannique, qui a décrit la transformation d'un pneumocoque non virulent en une forme virulente. (129) Durant son étude, il a mélangé un pneumocoque de type I vivant non virulent en configuration R, avec un pneumocoque de type II virulent inactivé par la chaleur en configuration S, et par la suite il a administré le mélange à des souris. Il a observé que les souris avaient développé des pneumonies avant de décéder. Et à partir du sang des souris infectées, il a pu isoler des colonies de pneumocoques de type II en configuration S. Comme leur virulence avait été inactivée, il en a déduit qu'il y avait dû y avoir une conversion de la configuration de R à S mais aussi du type de pneumocoque de I à II. Ce fut la première observation de la sorte. Et par la suite Dawson et Sia ont développé une méthode de transformation *in vitro* en 1931.(130) Juste après en 1932 James Alloway a fait une manipulation lui permettant de dire qu'un élément de l'extrait acellulaire issu du contenu intracellulaire de pneumocoque S était responsable de la conversion de la bactérie. C'est ce qu'il a appelé le « principe de transformation bactérienne ». (131) Ultérieurement il verra que la réaction peut être précipitée par une solution alcoolique.

Et en 1944, Avery and McCarty démontraient que cette transformation était causée par l'acide désoxyribonucléique (ADN). À cette époque, les généticiens pensaient que les gènes étaient composés de protéines. (132)

En 1947, Joshua Lederberg découvrait un nouveau mode de transfert de matériel génétique chez certaines bactéries : l'accouplement. (133) Et en 1952, avec Norton Zinder, ils découvraient un troisième mécanisme de transfert chez la bactérie : la transduction. Ils avaient observé que la recombinaison de mutant de *Salmonella* résistant aux antibiotiques avec une souche sauvage pouvait se faire même séparées par un filtre en fibres de verre. Après purification de l'agent, ils ont réalisé que ce n'était pas de l'ADN pur qui était responsable du transfert de l'hérédité mais plutôt un bactériophage (virus bactérien) de la *Salmonella typhimurium*. Cette découverte a permis d'expliquer comment des bactéries de différentes espèces pouvaient très rapidement devenir résistantes au même antibiotique. (134)

En 1958, Lederberg recevait le Prix Nobel pour ses travaux sur les génétiques bactériennes.(127)

Entre temps en 1953, Watson et Crick font la découverte de la structure en double hélice de l'ADN.

Plus tard, en 1962, Waclaw Szybalski publiait son étude "DNA-mediated heritable transformation of a biochemical trait" (transformation d'un caractère biochimique transmissible via l'ADN). C'est une technique où des cellules génétiquement modifiées pouvaient être sélectionnées en se basant sur leur phénotype.

Son concept se fondait sur le fait que les cellules avaient besoin de la dihydrofolate réductase (DHFR) pour la synthèse *de novo* d'acides nucléiques, notamment les purines. Lorsque cette enzyme est inhibée, la cellule doit alors utiliser une autre voie de sauvetage faisant intervenir la hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transférase (HGPRT). Cette dernière catalyse la conversion de l'hypoxanthine en inosine monophosphate et la guanine en guanosine monophosphate pouvant être utilisés dans la biosynthèse des purines. Et à partir de là il a établi des dérivés des cellules humaines de moelle osseuse (D98S), certaines avec la HGPRT activée, et d'autres chez lesquelles l'enzyme est inhibée. Et lorsque ces cellules sont en présence du mélange hypoxanthine, aminoptérine (inhibiteur de la DHFR) et thymidine (mélange HAT), seules les HGPRT(+) sont capables de synthétiser de l'ADN nécessaire à leur survie et à leur prolifération. Szybalski a ensuite isolé cet ADN issu des cellules HGPRT(+) pour transformer les cellules réceptrices HGPRT(-) qui ainsi pouvaient proliférer. (135)

Ainsi il a démontré qu'une anomalie génétique peut être résolue en transférant de l'ADN fonctionnel issu d'une autre source. Mais aussi que le gène fonctionnel pouvait être hérité lorsque les cellules filles ont le même phénotype que les cellules mères transformées. Cette étude est devenue la 1^{ère} preuve de transfert de gènes héréditaire dans des cellules de mammifères.

Une décennie après la découverte de Joshua Lederberg avec le bactériophage comme vecteur de transfert de matériel génétique, Howard Temin fit en 1961 la découverte que de la même façon, certaines mutations génétiques pouvaient être transmises à la suite d'une infection virale. Ainsi ces observations l'amènèrent à constater que les cellules de poulet infectées par le virus du sarcome de Rous (VSR) ont hérité de mutations génétiques spécifiques contenant des informations pour la descendance de ce virus. (136) L'étude de Temin montra en même temps que l'information pouvait passer de l'acide ribonucléique (le VRS étant un virus à ARN) à l'ADN, et non plus uniquement dans le sens inverse. Et ensuite cette découverte a mené aux ADN polymérases ARN-dépendantes.

En 1966, Edward Tatum évoquait l'efficacité de l'utilisation des virus comme système de transmission de gènes et donc comme possibilité d'améliorer les maladies génétiques humaines. C'est l'émergence du concept de thérapie génique. (137)

Et en 1968 Sambrook montrait que la transmission de façon stable de l'acquisition d'une nouvelle caractéristique se faisait via une insertion chromosomique du matériel génétique étranger. (138) La même année, Rogers et Pfunderer utilisaient le virus de la mosaïque du tabac comme véhicule pour introduire une portion de polyadénylate (agent de la maturation de l'ARN) dans de l'ARN viral. Ils ont fait la démonstration de faisabilité du transfert de gène via un virus. En 1973, les résultats leur ont permis d'effectuer le 1^{er} essai de thérapie génique chez l'être humain, en utilisant le papillomavirus de Shope dans l'intention d'introduire le gène de l'arginase chez deux filles souffrant de troubles du cycle de l'urée. (139) Ils pensaient que le virus codait le

gène de l'activité de l'arginase mais ce n'est pas le cas donc l'essai a abouti à un échec thérapeutique.

En 1990 Martin Cline fit le 1er essai de thérapie génique utilisant de l'ADN recombinant. Cela après avoir réussi à insérer de façon expérimentale, des gènes étrangers dans des cellules souches de moelle osseuse de souris. Et il avait ensuite démontré que ces cellules modifiées étaient capables de repeupler partiellement la moelle osseuse d'autres souris. (140) Devant ces résultats, il a voulu postuler au Comité Éthique de l'UCLA dans le but d'essayer cette nouvelle approche chez l'homme et notamment pour avoir l'autorisation de l'exercer chez des patients souffrant de β thalassémie. Il commença donc son étude en prélevant les cellules souches de la moelle osseuse des patients, sans avoir l'autorisation du Conseil d'Examen Institutionnel qui avait des réticences au niveau de l'efficacité. (141)

C'est en décembre 1988, qu'a été établi le premier protocole clinique introduisant un gène étranger chez l'humain approuvé par le Comité consultatif sur l'ADN Recombinant (RAC). Au lieu de proposer une thérapie, Rosenberg voulait utiliser des techniques de marquage des gènes pour tracer les mouvements des cellules sanguines au niveau des tumeurs chez les cancéreux.(142)

C'est entre le début des années 1990 et le début des années 2000 que des essais cliniques et des démonstration de faisabilité ont été proposés, d'abord sur les immunodéficiences primaires (143–145). Puis des essais pas tout à fait aboutis ont produit des résultats peu concluants avec une faible efficacité de la transduction virale, un manque de durabilité de la prise de la greffe (146). (92)

Récemment, les scientifiques ont réessayé d'obtenir un modelage du génome précis via la méthode de recombinaison homologue avec l'ADN donneur (homology-directed repair ou « HDR » en anglais) d'une mutation de l'hémoglobine B. Cela a été exploré depuis 1985, mais avec une très faible efficacité (10^{-6}). (147,148)

3) Un nouveau traitement pour la drépanocytose

La thérapie génique constitue une opportunité pour les patients n'ayant pas de donneur HLA identique ou résidant dans un pays où il est difficile de réaliser une allogreffe de moelle osseuse. De plus, aucune transplantation ou greffe ne peut permettre d'éliminer complètement le risque de syndrome GVH ou le besoin d'immunosuppresseur sur le long terme.

Pour qu'elle soit concluante, la thérapie génique doit atteindre deux objectifs. D'une part, un transfert génétique sûr et effectif ou une correction de la repopulation des CSH sur le long terme. Et une expression génétique stable, bien régulée et à un niveau thérapeutique, d'autre part. (55) Et cela sans remise en cause de la sécurité que ce soit en termes de réponse immunologique ou d'oncogenèse due à une mutagenèse aléatoire. (85)

Il existe alors, différentes stratégies qui ont été mises en place avec la drépanocytose : la thérapie par addition de gènes, l'édition génomique, le silençage génique et la thérapie de correction génétique (cf Figure 16). L'hémoglobine saine (non-falciformante) est la protéine cible de toutes ces thérapies, mais ce qui va différencier l'une de l'autre c'est le moyen employé pour induire le remplacement de l'HbS par de l'Hb saine.

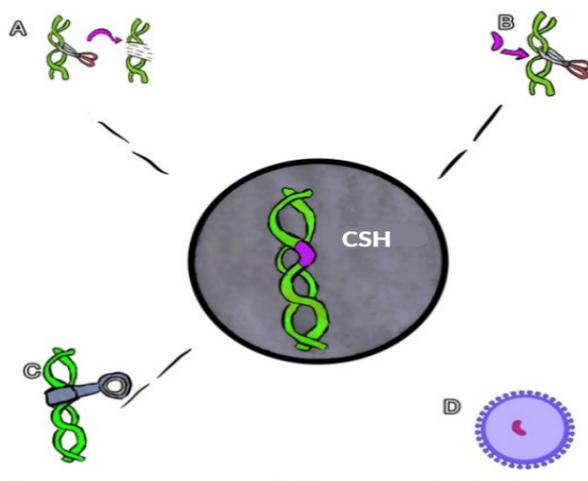


Figure 16 : Représentation des techniques de thérapie génique (119)

A : édition génomique, B : correction génétique, C : silençage génique, D : addition de gène via un vecteur viral

La thérapie par addition de gène : comme son nom l'indique, c'est l'ajout d'un nouveau gène, généralement via un vecteur viral au niveau des CSH, afin d'y produire de l'Hb non falciformante. Ici, il n'y a pas d'altération du gène de l'HbS natif, mais une production d'HbS native et de la nouvelle Hb. Actuellement plusieurs essais

cliniques en cours utilisent cette stratégie à l'aide d'un vecteur lentiviral notamment. (149)

Dans la drépanocytose, l'édition génomique est plus souvent utilisée pour décrire une perturbation génétique. Elle peut servir à cibler les suppresseurs de l'HbF afin d'augmenter le taux d'HbF tout en diminuant le taux d'HbS. Des éléments au niveau de l'ADN d'un gène peuvent être ciblés à l'aide d'un guide capable d'identifier et de se lier précisément à la cible avec une spécificité élevée. Ce guide va être couplé à une enzyme qui va couper l'ADN faisant une cassure double-brin. Cette cassure va permettre de spécifiquement changer la séquence génétique avec une grande précision, ce qui va généralement aboutir à une insertion ou une délétion. Souvent, ce type de thérapie génique s'intéresse à une autre partie de l'ADN (séparée de la mutation HbS), afin d'obtenir une augmentation de la production d'HbF tout en supprimant la production d'HbS de façon réciproque. (149) Actuellement, plusieurs thérapeutiques se servent du gène BCL11A, régulant l'expression de l'HbF de façon négative.

Le silençage génique utilise la régulation de l'expression génique dans une cellule pour en empêcher l'expression et ensuite empêcher la production de certaines protéines. Et de façon similaire à l'édition génomique, cette méthode va chercher à supprimer le gène BCL11A, toujours pour aboutir à une suppression de Hb S tout en augmentant la HbF. Cependant, contrairement à l'édition de gènes, cette thérapie repose sur la délivrance d'un vecteur viral (tout comme dans l'addition de gènes) pour avoir un anti-sens à l'ARN messager (ARNm) afin de supprimer le produit génique plutôt que de couper le gène.

La correction génétique peut s'effectuer de plusieurs façons. Mais la plupart du temps, un ARN guide est utilisé pour cibler à quel niveau la coupe de la mutation doit avoir lieu, et ensuite l'édition se fait simultanément avec l'obtention de l'ADN matrice de la séquence saine, servant à la réparation par recombinaison homologue (HDR). La correction génique constitue la méthode la moins efficace actuellement, mais des efforts d'amélioration sont en cours (via insertion d'ADN, édition directe des bases) car c'est la seule thérapie génique qui, pour l'instant, vise à supprimer la production d'HbS tout en introduisant une hémoglobine non falciformante.

Actuellement, on peut dire que toutes les formes de thérapie génique appliquent la même procédure. Chaque étude débute par un dépistage des patients. Ces derniers doivent présenter des complications importantes liées à la drépanocytose tout en ayant une fonction organique en capacité de subir la chimiothérapie nécessaire à la préparation au traitement. Ensuite les patients sélectionnés sont amenés à faire un prélèvement des cellules souches à l'aide du Plerixafor (Mozobil®) pour la mobilisation et une aphaïrèse. Cette étape a parfois lieu plusieurs fois afin de s'assurer d'avoir suffisamment de CSH. Une fois les CSH modifiées de la bonne façon, vient la chimiothérapie avec le Busulfan pour avoir une myéloablation et assurer la greffe optimale des CSH. L'essai MOMENTUM utilise plutôt le Melphalan pour un schéma de chimiothérapie d'intensité « réduite ». (119)

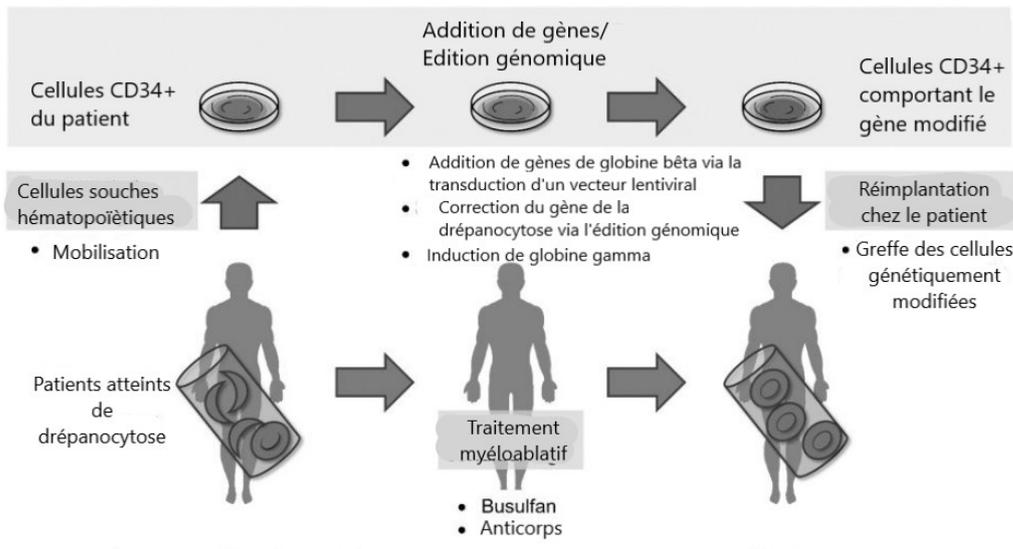


Figure 17 : Protocole de thérapie génique ciblant les cellules souches hématopoïétiques (CSH) dans la drépanocytose (édition génomique/addition de gènes) (150)

A – L'édition génomique : les nucléases

La conception de nucléases réalisant des cassures double brin a permis de grandement améliorer la capacité à réaliser la technique de recombinaison homologue (HDR), et d'autres techniques de recombinaison de l'ADN sur des cellules humaines non transformées. Depuis 2008, il est possible de générer des cellules souches pluripotentes induites (CSPi) humaines à partir de patients atteints de drépanocytose ayant des mutations uniques de l'Hb B.(151,152)

Au même moment, le développement des nucléases à doigt de zinc (ZFN) et des nucléases effectrices type activateur de la transcription et des nucléases Cas9 (CRISPR-associated protein 9) utilisant la méthode des courtes répétitions en palindrome regroupées et régulièrement espacées (CRISPR : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats), a ainsi permis d'établir une édition précise du génome afin de corriger les mutations de l'Hb B au niveau des CSPi.(153)

- la technique CRISPR-Cas9

Il s'agit d'une technologie de remodelage de gènes faisant intervenir deux composants principaux. Un ARN guide d'une part, qui devra s'associer au gène cible souhaité. Et une endonucléase Cas9 d'autre part, qui va causer des cassures double-brin de l'ADN, guidée par la section d'ARN. L'ensemble va permettre d'effectuer des modifications de façon spécifique sur le génome (Figure 18).

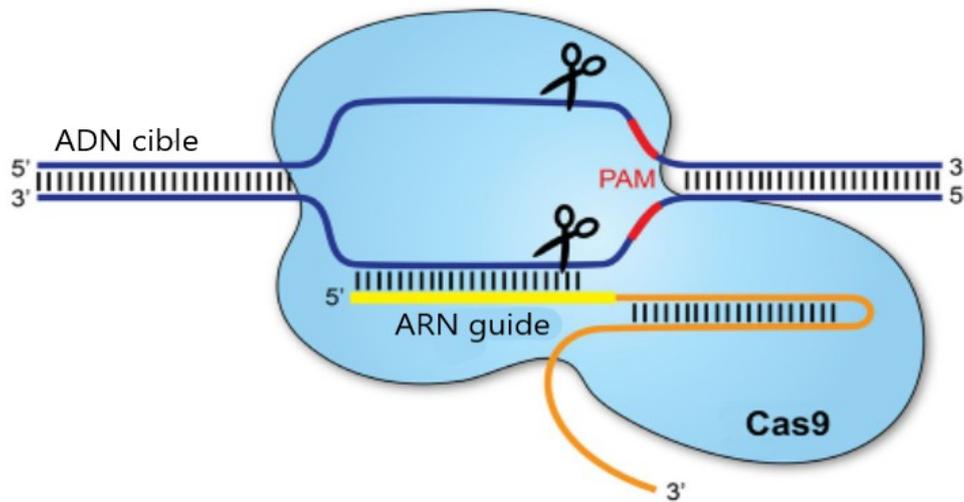


Figure 18 : Représentation simplifiée de la technique CRISPR/Cas9 (154)

C'est en 1987 qu'un segment d'ADN atypique a été découvert dans un génome bactérien d'*Escherichia Coli* par le biologiste japonais Atsuo Nakata et son équipe. Et c'est en 2002 que ces séquences prennent le nom qu'on leur connaît aujourd'hui, c'est-à-dire un ensemble de molécules correspondant à de courtes répétitions en palindrome regroupées et régulièrement espacées (CRISPR). En fait, c'est un système de l'immunité adaptative présent chez plusieurs espèces procaryotiques dans le but de prévenir les infections des phages.(155) Et ces molécules se couplent à une série de protéines Cas9 ou Cas12 qui vont intégrer des fragments d'ADN étranger issus d'infections antérieures, appelés proto-espaces (« protospacer »), et qui ainsi protègent contre les virus envahisseurs.

Dans un premier temps, ces proto-espaces vont être transformés en ARN guide (appelés aussi ARN CRISPR), au sein du réseau de CRISPR. Et ils pourront être intégrés à une endonucléase Cas. L'ARN guide utilisé est simple brin, il correspond à la section d'ARN faisant 18 à 20 nucléotides qui se lie à l'ADN génomique cible (154). Ensuite, l'appariement des bases de l'ARN guide chargées d'ADN étranger provenant de Cas, va stimuler la cassure de l'ADN étranger par une endonucléase Cas. On obtient alors une cassure double-brin de l'ADN, ce qui va interrompre l'infection. (156–158)

L'endonucléase Cas9 est issue du système CRISPR de classe II du *Streptococcus pyogenes*, et l'endonucléase Cas12 est issue du système CRISPR de classe V du *Francisella novicida*.(159) Tous les systèmes CRISPR ont une activité endonucléasique spécifique liée à une séquence programmable.

Cas 9 est une ribonucléoprotéine dont la structure est faite de deux lobes protéiques et deux molécules d'ARN. Parmi les deux lobes, l'un sert à la reconnaissance hélicoïdal (REC) et l'autre contient un domaine d'endonucléase de type HNH et RuvC (Figure 19).

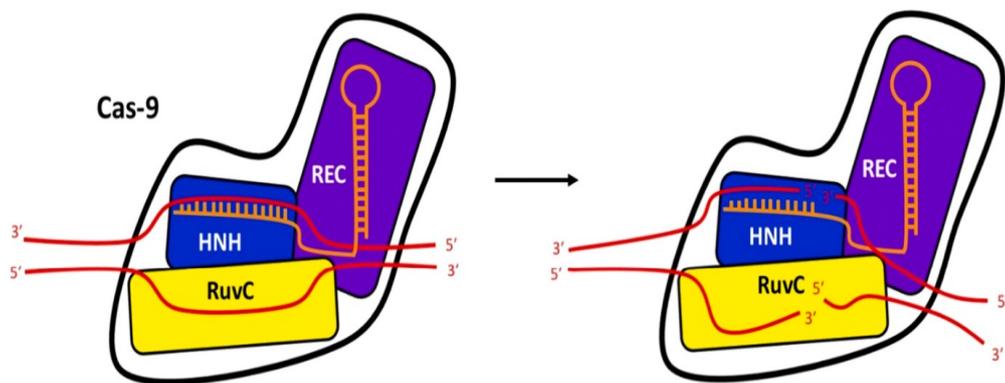


Figure 19 : Représentation simplifiée de l'architecture et du mécanisme de Cas9 (le lobe REC en violet, le lobe de la nucléase décomposé en bleu et jaune, l'ARN guide en orange et l'ADN cible en rouge). L'ARN guide forme un complexe hybride complémentaire ADN/ARN avec l'un des brins de l'ADN cible.(88)

Les molécules d'ARN sont liées au lobe REC : l'on distingue un ARN guide et un ARN transactivant (ARNtracr). La spécificité est déterminée par la complémentarité de la séquence d'ADN cible avec l'ARN guide généré à partir d'une infection antérieure par un bacteriophage.

L'ARNtracr, contrairement à l'ARN guide, est constant en matière de séquence et de son rôle qui est de maintenir associés l'ARN guide et le squelette de la protéine Cas9. En effet les régions constantes de l'ARN guide se lient de façon complémentaire à l'ARNtracr, lui-même lié au squelette de Cas9. En intégrant des ARN guides complémentaires à l'ADN étranger des Cas 9, la cellule devient capable de transmettre une spécificité de séquence à une nucléase intrinsèquement non spécifique, en la ciblant sur l'ADN spécifique de phage. Afin de couper une séquence spécifique d'ADN allant de 2 à 5 nucléotides (la séquence exacte dépendant de la bactérie qui produit la protéine Cas), il doit se trouver au niveau de la terminaison 3' de l'ARN guide. C'est ce qu'on appelle la configuration PAM (protospacer adjacent motif)(154). En effet, en plus de l'addition des paires entre l'ADN cible et l'ARN guide, un motif adjacent au proto-espaceur (PAM), doit être présent dans l'ADN cible. C'est un motif de séquence spécifique conservée se situant en dehors de la séquence du proto-espaceur dans l'ARN guide. Et une fois en présence des deux, les deux domaines de la nucléase vont hydrolyser l'une des deux liaisons phosphodiester des squelettes d'ADN opposés. Ce qui engendre une cassure double-brin franche. (160)

Cas 12 (initialement appelé CPF-1), est similaire à Cas 9 structurellement et biochimiquement, mais avec des différences clés pouvant lui être avantageuses. En effet il est plus petit et a un mécanisme moléculaire plus simple. De plus, contrairement à Cas 9, Cas 12 n'utilise naturellement qu'un ARN guide et ne nécessite pas d'ARNtracr, ce qui simplifie la modélisation de l'ARN guide. Et la rupture engendrée en 5' par Cas 12 est beaucoup moins franche que celle de Cas 9, ce qui permet une recombinaison plus efficace, car il y a un meilleur appariement.

Enfin la séquence PAM de Cas 12 est plus susceptible de couper des séquences d'ADN riches en T (thymine), que la séquence PAM de Cas 9 qui plus susceptible de ne couper que des séquences d'ADN riches en G (guanine). Ces avantages potentiels ont conduit à favoriser l'usage de Cas 12, en alternative à Cas 9, dans la thérapie génique. (159,161)

Contrairement à d'autres nucléases comme les ZFN ou les TALENS, ici la nucléase n'a pas besoin d'être remodelisée pour chaque ADN cible. Elle reste constante et est facilement programmable pour cibler une séquence spécifique en changeant la complémentarité de l'ARN guide. Cas 9 induit des cassures double brin de l'ADN qui ne vont pas altérer la fonction des gènes mais qui vont précipiter leur mutation.

Comme le système CRISPR n'est exprimé que de manière transitoire, ne s'intégrant jamais dans le génome, il sera éliminé lors d'une mitose ultérieure de la cellule. Bien qu'une modification hors cible du génome puisse se produire en plus de la modification prévue, la perte du système CRISPR dans les générations suivantes garantit que la modification du génome est stoppée. (88)

Dans la configuration faisant intervenir Cas9, la modification après la coupure de l'ADN peut se faire de deux façons (Figure 20). Soit la jonction des extrémités non homologues (JENH) menant généralement à une insertion ou une délétion aléatoire d'ADN. Soit la mutagenèse dirigée par recombinaison homologue (RH ou HDR) où un segment d'ADN homologue est utilisé comme matrice de remodelage. C'est ce segment qui permet une édition génomique précise, car avec un changement de la séquence requise, à l'aide du complexe ARN guide et endonucléase Cas9, permettrait théoriquement une modification avec une précision allant jusqu'à une paire de bases. (154)

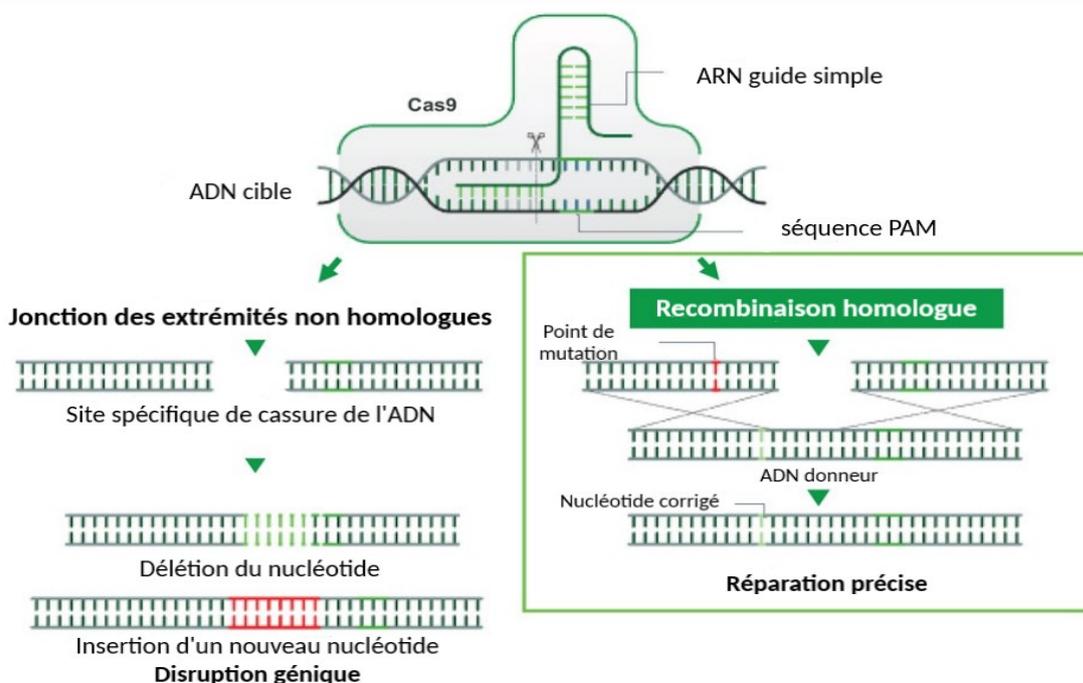


Figure 20 : Modes de coupures des endonucléases Cas 9 (119)

Bien que l'efficacité de la méthode RH demeure faible chez les cellules non transformées (< 1%), quelques rares clones de CSPi ayant subi une correction génétique d'après cette dernière, peuvent être sélectionnés, ainsi que caractérisés et largement développés. À l'aide de nucléases validées qui vont cibler la localisation spécifique de mutations diverses précises de l'Hb B, des corrections du génome ont pu être réalisées notamment dans le cadre de la drépanocytose au niveau de la mutation de l'exon 1 lorsqu'on avait un modèle donneur d'ADN spécifique.(162,163) La facilité d'usage et la robustesse du système CRISPR/Cas9 en fait la technique mise en avant au cours des dernières années pour réaliser une cassure double-brin spécifique au niveau d'un locus de l'Hb B.(163,164)

En vue de faciliter les futures applications cliniques de la correction de différentes mutations de l'Hb B, il a été préférable d'essayer de développer une stratégie universelle de correction de plus de 200 mutations de l'Hb B en utilisant une séquence ARNs (short) guide, validée par la méthode CRISPR et un modèle de donneur d'ADN pour la technique RH. Afin de prouver un principe de démonstration, une stratégie a été établie avec deux ARNs guide validés (ciblant l'exon 1 de l'Hb B et la région 3' non traduite (UTR untranslated region)) de l'ARNm (messager) et un modèle d'ADN donnant toute la région codante de l'Hb B. Ainsi une recombinaison homologue à côté de l'ARN guide permettrait la correction fonctionnelle de plusieurs sites, au-delà de l'exon 1.

Et par ailleurs, d'autres essais cliniques actuels traitant de la modification génétique utilisant le système CRISPR, ciblent la séquence codante du gène BCL11A ainsi que la région promotrice des gènes de la sous-unité γ 1 et 2 de l'hémoglobine (HBG1 et HBG2). (88)

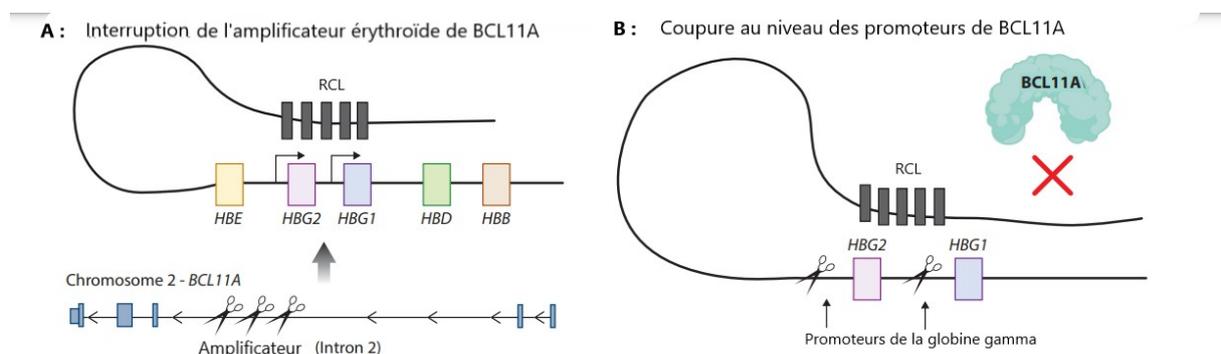


Figure 21 : Autres approches d'édition génomique de thérapie génique dans la drépanocytose (165)

En effet, l'interruption de l'amplificateur érythroïde spécifique de BCL11A, en utilisant le système CRISPR-Cas9 au niveau de l'intron 2 (région amplificatrice) du chromosome 2 (Figure 21A). Ce qui va diminuer la fonction de la BCL11A. Sans la répression de la BCL11A sur la globine γ , la RCL (région de contrôle du locus) va interagir avec HBG1 et HBG2. Ce qui va augmenter l'expression de la globine γ .

Par ailleurs l'interruption du promoteur de la globine γ , en coupant la séquence liaison de BCL11A au niveau des promoteurs de la globine γ , va inhiber la liaison de BCL11A et ainsi que la répression de la globine γ . La RCL va alors interagir avec HBG1 et HBG2, et augmenter l'expression de la globine γ (Figure 21B). (165)

- Technologie d'édition génomique

Comme la drépanocytose est issue d'une mutation monogénique de la globine β , une édition génomique ayant pour but de corriger ce gène serait applicable à tous les patients atteints, ce qui fait de ce trouble la cible idéale. De plus, les faits que la coupure génique au niveau de loci spécifiques soit plus efficace que la correction génétique, et que le syndrome PHHF ait un effet mélioratif sur le phénotype de la pathologie, font que les loci de la PHHF sont à l'origine de l'approche initiale. L'induction de la synthèse d'Hb F via l'édition de séquences régulatrices (comme BCL11A ou des promoteurs) est une approche de traitement curatif radical des hémoglobinopathies de la globine β .

On le rappelle, le système CRISPR/Cas9, c'est une endonucléase qui va couper l'ADN, un ARN guide pour diriger précisément où la cassure a lieu et un ADN matrice qui sert de copie corrigée du gène cible. L'on relève différentes façons de délivrer ces outils aux cellules en fonction de l'application, mais l'efficacité des cassures double-brin à des loci spécifiques peut être obtenue à des taux de 90% ou plus, là où pour l'instant les taux de la recombinaison homologue demeurent assez bas. Comme les CSH sont principalement quiescentes (G_0/G_1), la rupture génétique sera plus facile que la correction génétique qui est plus probable parmi les cellules progénitrices (S/G_2). (166)

- Induction de globine γ ciblée à travers l'édition génomique

Augmenter les taux de HbF dans les érythrocytes drépanocytaires avant une atteinte sévère d'organe, peut être bénéfique dans la prévention de complications difficiles de la drépanocytose.

BCL11A a été l'une des premières cibles de l'édition génomique. Mais l'élimination complète de BCL11A est létale chez la souris, à cause des déficiences au niveau du développement neural et lymphoïde (167). En conséquence, une recherche d'un amplificateur spécifique érythroïde pourrait être une cible sans complication associée. Dans une étude, des mutations saturantes médiées par CRISPR/Cas9 ont été introduites dans des cellules érythroïdes pour évaluer les effets sur les taux de Hb F dans les érythrocytes. Ce tour de force a mené à l'identification d'un site particulier dans la région amplificatrice de BCL11A, activant la production significative de Hb F sans affecter le comportement des CSH ni le développement lymphoïde (168,169). Dans une approche similaire, Tan *et al.*, ont utilisé des ZFN spécifiques pour cibler deux régions de BCL11A afin d'augmenter la production de Hb F dans des cellules CD34+ dérivées de moelle osseuse. L'ablation de BCL11A a abouti à la réactivation de l'Hb F dans les érythrocytes et au maintien de la capacité de greffe,

ce qui est un bon indicateur de la pertinence de ces stratégies d'édition génique (170). Plus récemment, on a vu que la perturbation de l'exon 2 et du motif GATAA au niveau intronique de l'amplificateur de BCL11A de CD34+ dérivés de moelle osseuse, en utilisant des ZFN ciblées, augmenterait l'expression de Hb F, alors que la délétion en exon 2 affectait négativement l'énucléation *ex vivo* et le greffage chez la souris immunodéficiente (171).

Autre que BCL11A, des mutations connues du syndrome de PHHF dans le locus le globine β ont aussi été créées dans des cellules CD34+ en utilisant CRISPR/Cas9, faisant augmenter l'expression de la globine γ dans les érythrocytes générés en culture *ex vivo* (172,173).

La régulation positive de Hb F dans des cellules progénitrices modifiées est prometteuse et les efforts pour obtenir une greffe fiable devraient être poursuivis car les technologies nécessitent une électroporation des CSH. Ce processus avait initialement conduit au développement des vecteurs viraux il y a plus de 25 ans, à cause des effets délétères en matière de viabilité de l'électroporation.

Malgré de nombreuses avancées sur l'édition génomique, il demeure de sérieuses contraintes et réflexions. Plusieurs méthodes de délivrance pour les outils d'édition génomique, sous forme d'ADN, d'ARN ou de protéine, ont été présentées dans la littérature, incluant l'électroporation, les lipides cationiques, les peptides de pénétration cellulaire, les nanoparticules et les vecteurs viraux, associés à des avantages et des inconvénients (174,175).

L'utilisation de vecteurs viraux incorporés à une expression persistante de Cas9 et d'ARN guide, permet l'étude de l'activité du système. Mais l'expression persistante de Cas9 n'est pas souhaitable dans la plupart des mises en place cliniques (176). De ce fait, une activité nucléasique transitoire serait préférable. On peut se servir des nucléases *ex vivo* et *in vivo* pour cibler les CSH, mais l'édition serait plus avantageuse en *ex vivo*. Car les CSH peuvent être mises en culture et manipulées pour permettre ainsi le contrôle des enzymes. Notamment quand les modifications « hors cible » posent un problème et que des niveaux plus élevés de technique sont nécessaires. Cependant, les CSH peuvent perdre leurs propriétés de cellule souche et leur capacité de greffe dans les conditions de culture à cause de l'instabilité épigénétique en laboratoire (177). On peut augmenter la capacité de greffe en faisant un traitement ablatif mais cela implique un certain nombre de risques (176).

- Amélioration du conditionnement pour une meilleure tolérance

De meilleurs traitements de conditionnement offrant moins de toxicité globale et une spécificité plus importante contourneraient les préoccupations portant sur les traitements basés sur la chimiothérapie, et augmenteraient le taux de réussite des thérapies génétiques basées sur les CSH.

Il y a une alternative émergente à la chimiothérapie génotoxique qui est le ciblage des CSH de moelle osseuse. Mais tout en épargnant les cellules non hématopoïétiques via des anticorps spécifiques. Ces approches non toxiques sont

particulièrement appropriées pour les troubles sanguins telle que la drépanocytose où l'atteinte d'organe aggrave la toxicité du traitement de conditionnement. L'anticorps monoclonal ACK2 ciblant c-kit a été utilisé avec ou sans de faibles doses d'irradiation pour éliminer les cellules progénitrices sanguines de l'hôte avant la transplantation des cellules du donneur (178). Et après des transplantations successives, on a obtenu une élimination majeure des CSH endogènes et 90% de chimérisme avec le donneur.

D'autres stratégies utilisent le CD45 incluant un anticorps conjugué à une protéine inactivant les ribosomes appelée saporine (CD45-SAP) pour cibler les CSH chez un modèle murin immunocompétent (179). Une greffe de cellules du donneur a efficacement (> 90%) été obtenue avec une dose unique de CD45-SAP, sans neutropénie ni anémie, et surtout une récupération rapide des cellules T et B avec une immunité antifongique durable, avec en plus une correction des manifestations drépanocytaires *in vivo*. Ces stratégies prometteuses pourraient transformer la façon d'aborder la transplantation pour les maladies génétiques sanguines si ces résultats sont largement reproductibles chez les animaux et les humains.

B – Correction génétique

La correction génétique au niveau du site spécifique de la mutation de globine β dans les CSH semblerait la stratégie plus facile ou logique, pour la thérapie génique. En effet, en principe, cette approche ne requiert qu'une libération transitoire de nucléase et d'une matrice/modèle de réparation pour réaliser la correction. On évite donc d'introduire un ADN étranger ainsi que le risque associé d'oncogénèse par mutation insertionnelle existant avec les vecteurs viraux. De plus, la correction directe de la mutation de la drépanocytose a l'avantage de préserver les mécanismes de la globine endogène pour obtenir le bon équilibre des chaînes de globine durant l'érythropoïèse. (55)

- La correction génétique à travers l'édition génomique

Le Graal de l'édition génomique pour les β -hémoglobinopathies c'est la correction de la mutation globine β . Soit chez les CSH dérivées de patient, soit chez les cellules souches pluripotentes induites (CSPi) dérivées de patient, qui bien que plus faciles à manipuler, elles requerraient la conversion en CSH greffables. En effet les CSPi sont infiniment plus exploitables pour l'édition génomique par rapport aux cellules primaires (162). Mais elles restent très utilisées car la dérivation de CSH à partir de cellules souches pluripotentes potentiellement greffables est insuffisante pour l'instant. Et il demeure des préoccupations au niveau de la sécurité d'usage des CSPi dans les troubles de la β globine. Cependant les CSH dérivées de patient constituent tout de même une option appropriée pour la correction génétique, en attendant que les CSPi puissent être utilisées au niveau clinique. Bien que des données issues des expériences sur des modèles animaliers avec des cellules CSH-like dérivées de

CSPi soient encourageantes. Le modèle murin drépanocytaire humanisé, chez qui la transplantation de progéniteurs hématopoïétiques obtenus à partir de CSPi autologues fibroblaste-like de la peau qui avaient été corrigées avec de la globine β normale, a résolu les manifestations en lien avec les cellules drépanocytaires. Afin de commencer à transférer ces méthodes chez l'humain, les tentatives de correction au niveau de cellules progénitrices sanguines dérivées de patient drépanocytaire ou de CSPi par les nucléases (ZFNs (162,180,181) et TALENs (182,183)) ont montré un grand potentiel dans la cure de la drépanocytose. Ces nucléases peuvent être modélisées pour être assez spécifiques (aucun souci majeur de mutagenèse n'a été révélé par manque de précision au niveau de la cible), mais généralement elles sont coûteuses, demandent beaucoup de main d'œuvre et d'expertise, et sont chronophages.

Pour toutes les techniques de thérapie génique, il est crucial que les effets « hors cible » soient minimales. L'amélioration de la spécificité de l'ADN via des nucléases modifiées telles que : les nickases Cas9 (Cas9n), l'enzyme chimérique morte Cas9-FokI dépendante de la dimérisation, ou des versions de haute fidélité de la Cas9 mutées lors de la liaison à l'ADN pour augmenter la spécificité de la nucléase, a du coup permis de réduire l'activité hors-cible (166).

Aussi, les taux de correction des progéniteurs dérivés de patients atteints de drépanocytose sont encourageants, avec 20% au niveau des cellules de moelle osseuse CD34+ ayant subi une électroporation avec ARNm Cas9 et transduites avec un vecteur lentiviral sans intégrase porteur d'un ARN guide et d'une matrice de globine β du donneur (Hoban *et al*) (184). Ce niveau de correction pourrait être cliniquement pertinent car il suffit de 20% de chimérisme avec les donneurs pour apporter des améliorations significatives. Et ainsi, inverser les manifestations au sein des CSH allogéniques transplantées chez les patients malades. Un taux de presque 30% de correction des érythrocytes dérivés de CD34+ drépanocytaires a aussi été reporté. La transplantation de ces cellules corrigées chez un modèle de souris NSG (NOD scid gamma) a révélé un maintien sur le long terme et la repopulation des CSH éditées selon la technique RH dans la moelle osseuse (2,3%) et dans la rate (3,7%). Cependant, malgré ces résultats plutôt encourageants, la correction cellulaire avec une activité de repopulation sur le long terme requiert davantage d'optimisation. Afin de solutionner cette limite, le récepteur du facteur de croissance nerveuse (tNGFR) a été utilisé plus récemment pour enrichir les CSH ciblant Hb B via la séparation de billes magnétiques. (164)

La correction génétique via des nucléases spécifiques suivie de la technique RH a été démontrée chez différents types cellulaires, y compris des CSPi issues de la souris et de l'homme. De plus, les stratégies de thérapies géniques basées sur l'oligonucléotide (comme les acides nucléiques peptidiques en formation triplex), qui reposent sur la RH mais pas sur la formation initiale de cassure double-brin, sont parvenues à une correction à basse fréquence de la mutation drépanocytaire. Bien que ces approches proposent la possibilité de déterminer la spécificité de la

modification génomique à un niveau clonal, il demeure un défi de taille d'établir des dérivés de CSH fonctionnelles à partir de cellules pluripotentes. Car malgré un essai de correction chez des CSH humaines, les taux de correction sur le long terme étaient bien en deçà de ceux nécessaires pour un effet thérapeutique. Un résultat similaire a été observé avec la technique JENH (plutôt que la RH qui est un peu plus robuste chez les cellules progénitrices et les souches hématopoïétiques CD34+) pour tenter de corriger la mutation SCID-X1 chez des CSH humaines. Cela pourrait s'expliquer par le fait que la filière de la technique de RH est restreinte aux phases S et G2 du cycle cellulaire, quand les chromatides sœurs sont disponibles en tant que donneuses des séquences modèles de réparation. Là où les CSH sont principalement des cellules quiescentes, s'appuyant davantage sur la technique de JENH. (55)

C – Vecteurs viraux : addition de gènes

Pour réussir l'intégration dans le génome de la cellule hôte, les vecteurs rétroviraux sont couramment utilisés. La réplication des rétrovirus se fait via la conversion de l'ARN simple brin du génome, en ADN double brin. Cet ADN est par la suite intégré dans le génome de la cellule infectée. Suite à la transfection, il y a la transcription du génome de l'ARN (simple brin) qui est ensuite dégradé par une transcriptase inverse, laissant une matrice d'ADN simple brin. Celle-ci va amorcer sa propre réplication et générer une copie d'ADN double brin de génome du rétrovirus. Cet ADN double brin est ensuite intégré au génome de la cellule hôte via une intégrase. L'intégrase est dépendante de la présence de deux séquences terminales longues répétées (LTR) se trouvant aux terminaisons de l'ADN double brin. (185)

Les deux sous-classes de rétrovirus utilisées pour la délivrance de produits génétiques sont les rétrovirus gamma et les lentivirus. La principale différence est que la physiologie des lentivirus permet à leurs acides nucléiques d'être conduits au-delà de l'enveloppe nucléaire à travers le pore nucléaire pour accéder au génome de l'hôte. Alors que les rétrovirus gamma doivent attendre la disparition de l'enveloppe de l'hôte pendant la mitose. En conséquence, les vecteurs lentiviraux peuvent intégrer le génome de cellules primitives comme les CSH. (186)

L'un des risques majeurs de la thérapie génique basée sur les rétrovirus réside en la mutagenèse ou l'oncogenèse. Car elles peuvent se produire lorsqu'une insertion induit l'expression d'un proto-oncogène ou bien réprime un gène suppresseur de tumeur, pouvant donner des tumeurs malignes retardées. (187) Les vecteurs lentiviraux présentent un risque inférieur par rapport aux vecteurs rétroviraux gamma, mais le risque demeure. Une partie de la solution est l'incorporation de séquences terminales longues répétées (LTR) auto-inactivantes. (188) L'autre risque potentiel des vecteurs rétroviraux c'est l'infection de l'hôte par des lentivirus réplicateurs présents dans le produit cellulaire. (187)

Bien que de bons protocoles de fabrication et la conception de vecteur aient pour but de produire des vecteurs qui ne font pas de réplication, le processus peut créer une sous-population de rétrovirus pouvant se répliquer indépendamment et par la suite

infecter le patient. De plus, comme les composants des vecteurs sont dérivés du VIH (virus de l'immunodéficience humaine), il est possible que les patients traités soient testés faux séropositifs au VIH. (78)

Les premières tentatives de développement de vecteurs intégrant un rétrovirus γ pour le transfert de β globine, révélaient des difficultés à se montrer efficaces. En cause, une expression érythroïde importante due à un manque de RCL (région de contrôle du locus) dans le vecteur. Cette RCL est un élément essentiel de la régulation, faisant entre 40 et 60 kb en amont du gène de la β globine, délimitée par 5 sites hypersensibles (HS) à la DNase de type I, contenant des amplificateurs érythroïdes puissants fonctionnant avec des éléments en aval des gènes de la globine.(55)

Cependant le développement d'un vecteur lentiviral (LV) incluant une cassette β globine avec portion de RCL, a permis de faire une avancée dans la recherche. À l'origine l'idée était d'inhiber la polymérisation de l'Hb S en introduisant un transgène de globine β fonctionnelle dans des CSH. Mais l'expression spécifique au niveau érythroïde et efficace du transgène dans la reconstruction des CSH demeurait insuffisante dans les études *in vivo* (85). C'est par la suite que l'incorporation de la RCL de la globine β humaine est devenue réalisable grâce au développement de systèmes de vecteurs lentiviraux basé sur le VIH-1. Ainsi cette nouvelle génération de vecteurs exprimant une globine β -like à des niveaux bien plus élevés, s'est montrée efficace chez deux souris modèles porteuses de la β thalassémie et de la drépanocytose, ouvrant la voie aux essais cliniques.

En effet, les vecteurs lentiviraux offrent plus d'avantages que les vecteurs rétroviraux γ (transduction des CSH ne se divisant pas, une capacité d'ADN plus grande, une transmission stable et un profil d'intégration plus sûr). Car les vecteurs rétroviraux ont tendance à s'intégrer à proximité des sites d'initiation de la transcription, ce qui va exacerber la potentielle altération de l'expression du gène. Là où les vecteurs lentiviraux ont tendance à s'intégrer de façon plus aléatoire avec un biais vers l'intégration des corps des gènes exprimés. Les vecteurs auto-inactivants ont une délétion au niveau de la région U3 de la séquence LTR 3', qui est copiée en LTR 5' lors de la transcription inverse. Cette modification minimise la transactivation des gènes autour, et va ainsi limiter l'insertion d'une potentielle oncogène.

Contrairement aux rétrovirus gamma, les lentivirus ont tendance à s'insérer au niveau des régions actives agissant pendant la transcription, plutôt qu'au niveau des sites d'initiation de la transcription.

Différents vecteurs lentiviraux porteurs de β globine humaine ont donc été utilisés pour corriger des modèles malades dans la β thalassémie et la drépanocytose. Un essai clinique multicentrique a pris place aux États-Unis avec le vecteur lentiviral LV BB305, chez sept patients dans un premier temps. Le protocole a été modifié une première fois de façon à introduire un processus de transfusion d'hématies avant le prélèvement des CSH ainsi qu'une étude pharmacocinétique en temps réel de

Busulfan pendant la myéloablation. Cela entraîne la modification du nombre de transplantés de cellules progénitrices souches ou hématopoïétiques CD4+, ainsi qu'une modification du protocole de transduction. Après six mois de génothérapie, le dernier groupe de patients a montré un taux médian d'HbS inférieur à 50% et une baisse des paramètres hémolytiques à des taux normaux. À partir de ces résultats, il a été fortement recommandé d'apporter en moyenne 7.10^6 cellules CD34+/kg avec une VCN (variation du nombre de copies) ≥ 2 pour le LV BB305. Par ailleurs, pour avoir un nombre élevé de cellules, les CSH des drépanocytaires doivent être mobilisées dans le sang périphérique en utilisant du Plérixafor. Trois mois après la transplantation, le premier patient drépanocytaire traité avec des cellules CD34+ ayant subi une transduction avec Plérixafor, montre que 23% de l'Hb totale est de l'HbF et que 60% des cellules érythroïdes l'expriment également. En effet parmi les critères clés pour obtenir un bénéfice sur la clinique, l'on note la distribution pancellulaire de l'HbF et le ratio d'Hb anti-falciformation par cellule.(32)

Des vecteurs contenant des cassettes d'expression de la globine β ou de la globine γ ou des hybrides β/γ globine ont été développés (Figure 22). Notamment en se basant sur l'Hb F ($\alpha 2\gamma 2$) qui est une hémoglobine anti-falciforme plus efficace que l'hémoglobine adulte ($\alpha 2\beta 2$). En effet, les patients drépanocytaires présentant des taux accrus d'Hb F ($> 20\%$), auront tendance à avoir une meilleure évolution clinique. De ce fait, l'insertion génétique avec la globine γ pourrait procurer une réponse thérapeutique avec une exigence relativement moindre par rapport à la globine β pour l'expression génique. (55)

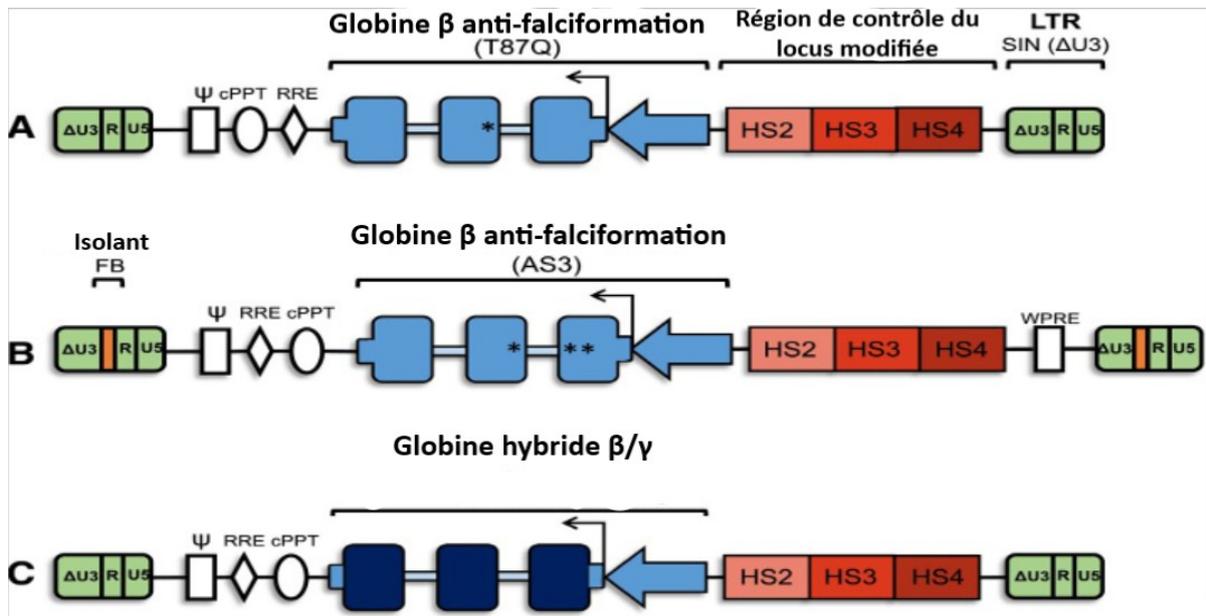


Figure 22 : Modèles de vecteurs lentiviraux (55)

(A) : vecteur de la globine β anti-falciformation, comportant de la mutation T87Q. Le vecteur lentiviral auto-inactif n'est pas isolé et comprend une RCL modifiée avec HS2, HS3 et HS4.

(B) : vecteur de la globine β anti-falciformation, comportant les mutations G16D, E22A et T87Q (AS3). Le vecteur lentiviral auto-inactif possède un élément FB comme isolant bloqueur d'activité, et il comporte une RCL modifiée avec HS2, HS3 et HS4.

(C) : vecteur hybride β/γ comportant les régions codantes de la globine γ et les régions non codantes de la globine β . Les cassettes des gènes de la globine γ (bleu foncé), de la globine β , ou de la globine β anti-falciformation (bleu clair) avec les régions non transcrites 5' et 3' de la globine β (petites cases bleues) sous le contrôle d'un promoteur de la globine β (flèche bleue) et de la RCL de la globine β modifiée (rouge). La cassette génétique est à l'envers tout en respectant la transcription virale afin d'éviter un épissage anormal lors de l'encapsidation due à la présence de séquences introniques de globine (bleu clair). Ce sont tous des vecteurs lentiviraux $\Delta U3$ (vert).

Ψ : signal d'encapsidation - cPPT : central polypurine tract - HS : site hypersensible à la DNase I - LTR : séquence terminale longue répétée (U3, R et U5) - RRE : élément de réponse à Rev - WPRE : élément de régulation post-transcriptionnel du virus de l'hépatite woodchuck

- Addition génétique globine β anti-falciformation

L'état polymérisé de l'Hb S est la raison principale de la déformation structurale des érythrocytes. Des études ont montré que la globine fœtale ou le tétramère hybride ($\alpha\beta\gamma$) ne contribuent pas ou très peu à la polymérisation de la désoxyHbS. La thréonine en position 87 (T87) est remplacée par une glutamine (Q87) au niveau de la globine β et ainsi sera moins susceptible d'entrer en contact avec la sous-unité falciformante de la valine en position 6. (85) La mutation de la séquence β (A-T87Q) du gène de la globine β permet d'obtenir de fortes propriétés d'anti-falciformation, aussi efficaces que la globine γ dans l'inversion le phénotype de deux modèles murins drépanocytaires (BERK et SAD). (190) De plus, la globine β modifiée peut

être isolée des autres globines dans la phase inverse de l'analyse de la chromatographie liquide à haute performance. Ce qui est arrangeant pour les essais cliniques. Les résultats d'une étude multicentrique (NCT02140554) en phases cliniques I et II, a montré chez adultes atteintes de drépanocytose sévère qu'une transfusion au préalable du traitement avec des CD34+ améliorées et des conditions de production, avec l'amélioration de la myéloablation, permettaient d'avoir un nombre plus élevé de NCV (nombre de copies de vecteur) dans le sang périphérique des patients. De plus l'utilisation du plerixafor (récepteur antagoniste au CXCR4) pour mobiliser les CD34+ a permis d'avoir une collecte moins invasive, respectant la moelle osseuse, contrairement au facteur de stimulation granulocytaire ayant engagé des complications d'ordre vital auparavant.

Comme la modification en β 16 de la glycine en acide aspartique, procure un avantage concurrentiel par rapport à la globine falciforme β S pour la liaison à la chaîne α et que la modification en β 22 de l'acide glutamique en alanine, donne une amélioration partielle de l'interaction axiale avec l'histidine α 20, le mutant double (β AS2 ; T87Q et E22A) (191) et le mutant triple (β AS3 ; T87Q, E22A et G16D)(192) qui sont des variants de la globine β ont également été développés. Cela permet d'obtenir une meilleure propriété anti-falciformation que le mono-variant modifié T87Q et comparable à la globine fœtale (Figure 23). Chez un modèle murin drépanocytaire, la transplantation de cellules souches de moelle osseuse transduites avec du lentivirus auto-inactivant vecteur de β AS3 avait conservé la physiologie des hématies. Sur la base de cette découverte encourageante, ce variant est testé dans l'essai clinique NCT02247843.

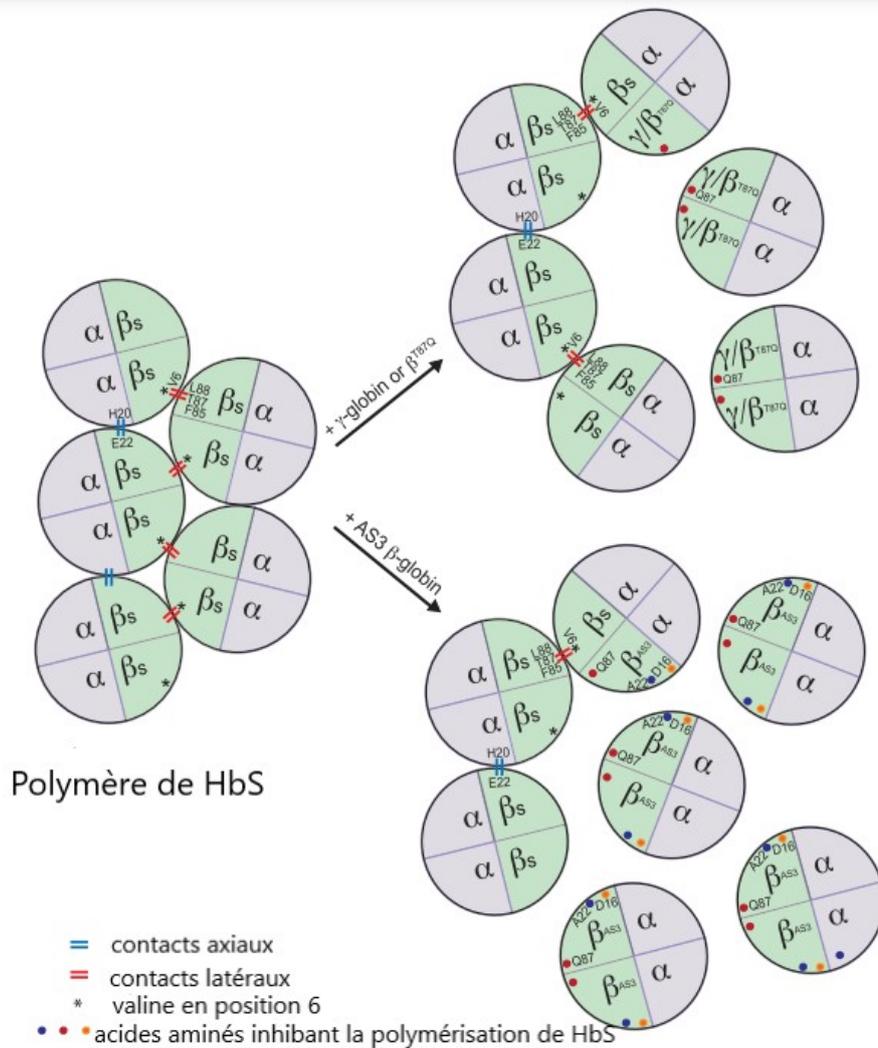


Figure 23 : Inhibition de la polymérisation de l'hémoglobine S (Hb S) par les globines β -like anti-falciformantes.(30)

La polymérisation des tétramères de HbS a lieu lors de la désoxygénation. À l'intérieur des polymères d'HbS, la valine en position 6 (V6) de la chaîne de globine S forme une connexion latérale avec les résidus de phénylalanine et de leucine en position 85 et 88 (F85 et L88) présents sur le tétramère de globine S adjacent. De plus l'acide glutamique en position 22 de la chaîne β interagit avec le résidu d'Histidine en position 20 (H20) de la chaîne α , faisant un contact axial. Et le résidu de glutamine en position 87 (Q87) dérivé de la chaîne γ inhibe les connexions latérales entre les tétramères d'HbS. Enfin dans la globine β AS3, l'acide glutamique en position 22 est remplacé par l'alanine (A22), ce qui inhibe les contacts axiaux entre les tétramères.

- Addition génétique globine γ

On rappelle que la synthèse de globine chez l'humain est contrôlée par l'expression génique régulée par le développement, appelée la commutation de l'hémoglobine. Le type dominant après le premier trimestre de gestation est l'Hb F, qui va graduellement être remplacée par l'hémoglobine adulte après la naissance. Le taux

de l'Hb F chez l'adulte est généralement inférieur à 1% et elle n'est pas uniformément distribuée dans les érythrocytes, mais plutôt dans les cellules F.

Il y a environ 70 années, Janet Watson et ses collègues démontraient chez les érythrocytes désoxygénés dérivés de nourrissons drépanocytaires, une falciformation retardée par rapport à la falciformation des érythrocytes de leurs mères en conditions *in vitro* (4). Cela était attribué à la présence de Hb F en fortes concentrations dans le sang des nourrissons, avec une augmentation de la falciformation plus tard lors de la régression de l'Hb F. Cette observation initiale a été confirmée par d'autres via la démonstration que les patients atteints de la drépanocytose ou de la β -thalassémie avec un syndrome PHHF, ayant des érythrocytes avec une distribution pancellulaire de Hb F à un taux de 30%, ont une clinique et une biologie au niveau hématologique beaucoup moins sévères. (193,194) Ainsi on a cherché à augmenter l'expression de la globine γ . Tout comme pour les vecteurs d'encodage de la globine β , les vecteurs d'encodage de la globine γ étaient insuffisants. La problématique de la spécificité tissulaire a été partiellement résolue avec différents modèles de vecteurs comme la liaison du promoteur de l'ankyrine à la cassette de la globine γ pour obtenir une expression érythroïde spécifique. Ou comme l'utilisation des séquences régulatrices et promotrices de la globine β pour obtenir une expression à taux élevé et une spécificité cellulaire. Sur une différente approche, Samakoglu et ses collègues ont utilisé l'expression d'un transgène de la globine γ et l'interférence concomitante de l'ARN β S sous le contrôle de la RCL et des promoteurs de la globine γ dans des cellules CD34+ dérivées d'un patient atteint de drépanocytose. Avec une réduction de la globine β S et une augmentation de globine γ , on s'attendrait à un renforcement de l'activité anti-falciformation (195). Afin d'obtenir un niveau stable et thérapeutique de l'expression génique pour les essais cliniques, des vecteurs hybrides γ/β ont été construits afin de bénéficier des éléments régulateurs de la RCL de la globine β ainsi que des propriétés anti-falciformes de la globine γ . L'un de ces hybrides conduit par le promoteur de l'ankyrine-1 et contrôlé par deux amplificateurs érythroïdes, a donné 43 à 113% de copies de globine γ humaine/globine α murine. (196)

- Ciblage de l'induction de globine γ

Avec la connaissance de l'existence de plusieurs facteurs de transcription régulant l'expression des globines, le contrôle de ces paramètres afin d'induire la production de Hb F a été un centre d'attention dans la recherche de traitement pour la drépanocytose. La commutation de la globine γ à β pendant la période néonatale est menée par la RCL de la globine β , qui va moduler les expressions de globine β -like de façon directe avec leurs promoteurs. Le changement d'interaction entre les promoteurs et la RCL est mené des facteurs de transcription (Gata1, Tal1, E2A, Lmo2 et Ldb1)] (Figures 4 et 6) (30) .

Plus récemment une stratégie innovante basée sur le changement de façon artificielle du site de liaison, a émergé afin de modérer cette commutation de globine.

Deng et ses collègues ont reporté que la protéine de fusion d'un ZF (doigt de zinc) artificiel et Ldb1, ou son domaine d'auto-association, peuvent sauver l'interaction entre le promoteur de la globine β et la RCL au niveau des érythroblastes Gata-null (197). L'ensemble ZF-Ldb1 peut efficacement être ciblé sur le promoteur de la globine γ , ce qui va réactiver l'expression de la globine γ (85% du total des globines β -like) et une réduction concomitante de l'expression de globine β au niveau des érythroblastes primaires adultes humains. Cette approche a également été testée dans des cellules progénitrices hématopoïétiques dérivées de patients atteints de drépanocytose. La transduction de cellules CD34+ drépanocytaires avec un vecteur lentiviral codant ZF-Ldb1 a régulé la production de Hb F et a réduit la falciformation érythrocytaire *in vitro*, avec une meilleure efficacité par rapport aux inducteurs chimiques de Hb F tels que l'hydroxyurée et le butyrate.

Par ailleurs, des modèles de ZF ont été fusionnés avec des facteurs de transcription régulant l'expression de la globine γ . En fait, la ZF était dirigée vers la position 117 du promoteur de la globine γ , qui est disponible pour les protéines de liaison à l'ADN et suffisamment proche des régulateurs connus de la transcription du gène. La transcription de cellules K562 avec le rétrovirus exprimant le domaine activateur transcriptionnel gg-VP64, a engendré l'expression de Hb F. Wilber et ses collègues ont employés cette technologie pour des cellules CD34+ humaines (198). Ainsi une induction de Hb F, jusqu'à 20%, a été menée par la surexpression du domaine gg-VP64 conduite par l'ankyrine-1 (promoteur spécifique érythrocytaire).(85)

D – Silencage génique

À côté de la thérapie génique par addition de gènes notamment le gène de la globine anti-falciformation, une autre approche corrige le phénotype drépanocyttaire dans le but d'induire la production d'hémoglobine fœtale endogène (HbF, $\alpha 2\gamma 2$). Dans un essai clinique (NCT03282656) où la stratégie d'induction de l'HbF est l'introduction d'ARNsh, « short » ciblant la suppression de la BCL11A des cellules érythroïdes dérivées de CSH. L'avantage ici, c'est que cela permet d'augmenter l'expression thérapeutique des gènes de globine γ endogène sous le contrôle de la RCL, et en plus une diminution de la synthèse de la globine βS drépanocyttaire.

- Silencage du répresseur de la globine γ : BCL11A, une cible majeure

Les taux d'hémoglobine fœtale (HbF) chez l'adulte, modifient la morbidité de la drépanocytose (50), en inhibant la polymérisation de l'hémoglobine falciforme (HbS) et en réduisant ainsi l'anémie hémolytique et les lésions tissulaires. Les taux d'HbF sont très variables et héréditaires, principalement par des variations génétiques à trois loci principaux, BCL11A, HBS1L-MYB et cluster HBB (Figure 24), représentant 10% à 20% des variations de l'HbF chez les patients SCD (199). Plus précisément, des variations de BCL11A ont été montrées pouvant se prêter à une manipulation thérapeutique, conduisant à l'inversion des symptômes de SCD dans des modèles de souris (200). (201)

La protéine BCL11A est une protéine, un facteur de transcription pour être plus précis, jouant un rôle majeur dans le contrôle de l'expression de l'HbF. De ce fait, une modification génétique au niveau de l'amplificateur érythroïde de la BCL11A impacte son expression et par conséquent le taux d'HbF. En conséquence, les patients présentant une haploinsuffisance de la BCL11A affichent des taux d'HbF susceptibles d'être thérapeutiques pour les β hémoglobinopathies (202). La difficulté a consisté à supprimer l'expression de la BCL11A uniquement dans les érythrocytes, puisque la perturbation de cette protéine a une incidence sur les fonctions physiologiques au-delà de l'expression de la globine. Notamment l'auto-renouvellement des CSH, la maturation des lymphocytes B, et le développement du système nerveux central.

Plusieurs travaux et études menés sur les donneurs de sang ont révélé des polymorphismes de l'ADN au niveau des gènes BCL11A et HBS1L-MYB qui sont en lien avec un taux d'expression de l'Hb F élevé (53,54). L'activité régulatrice de BCL11A a été confirmée par la suite. Notamment son rôle de répresseur de la globine γ dans les cellules érythroïdes primaires via la reconfiguration de la RCL par la liaison aux facteurs de transcription tels que GATA-1 et SOX-6 (203). De plus, la délétion conditionnelle de BCL11A dans les cellules érythroïdes chez un modèle de souris drépanocytaire suggérait que le ciblage de ce répresseur était suffisant pour inverser les manifestations cliniques de la drépanocytose *in vivo*, montrant donc l'importance de ce gène comme cible potentielle pour des études cliniques. D'ailleurs l'étendue du pouvoir de contrôle de BCL11A sur l'HbF a été partiellement reportée dans deux études cliniques portant sur des patients atteints d'un trouble autistique avec des microdélétions rares (2p15-p16.1), ayant une haploinsuffisance en BCL11A, et exprimant des niveaux d'Hb F environnant les 20%. Indiquant son rôle central dans le silençage de la globine γ (202,204). D'autres facteurs clés, tels que KLF1 et MYB ont été étudiés dans des modèles génétiques et fonctionnels. (205,206). La poursuite de ces différentes recherches autour des facteurs de répression de l'Hb F aura un effet de levier sur les techniques d'édition génomique des approches cliniques. (85)

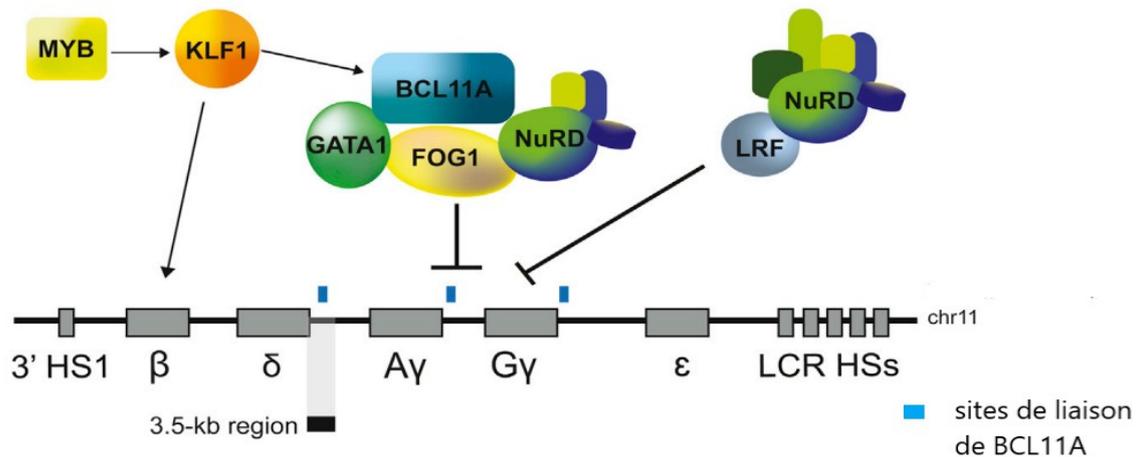


Figure 24 : Les principaux acteurs lors du switch de l'hémoglobine fœtale à adulte

Au niveau des érythroblastes adultes, BCL11A interagit avec SOX6, GATA1, FOG1 et le complexe répresseur NuRD pour opprimer l'expression des gènes de la globine γ . Les sites de liaison de BCL11A (rectangles bleus) sont au niveau des promoteurs de la globine et d'un silenseur de HbF (rectangle noir). KLF1 régule de façon positive l'expression de BCL11A et elle-même régulée de la même façon par MYB. De plus, KLF1 est favorable au switch de l'hémoglobine fœtale à adulte en activant directement l'expression du gène de la globine β . Le facteur de transcription LRF, quant à lui, inhibe l'expression du gène γ via le complexe NuRD. (30)

- Le principe de l'interférence par ARN (ARNi)

C'est une technique de silençage génique basée sur la présence d'ARN double-brin dans la cellule qui a été initialement décrite chez *Caenorhabditis elegans*, avant d'apprendre plus tard que c'est un moyen de signalisation présent dans toutes les cellules eucaryotes. (207)

Les études initiales montraient que la perte de fonction de la BCL11A en utilisant un vecteur lentiviral ARNsh/ μ ARN, induit la production d'HbF dans les érythrocytes humains. Comme des séquences étroites sont responsables de l'expression de la BCL11A au niveau des érythrocytes, une simple coupure par une nucléase, (que ce soit une nucléase à doigt de zinc (ZFN), une nucléase effectrice type activateur de transcription (TALENs)), ou une association de protéines CRISPR-Cas9, serait suffisante pour perturber l'expression de la BCL11A dans les globules rouges associée à un taux élevé d'HbF.

L'interférence par ARN peut être activée et utilisée par plusieurs types d'ARN double-brin : un micro-ARN (μ ARN) encodé par le génome de la cellule, ou un ARN double-brin viral exogène. Les deux sont traités par la cellule et utilisés pour réprimer la transcription et la traduction des ARN messagers (ARNm) partageant une homologie

avec l'ARN double-brin déclencheur. C'est à ce niveau qu'il y a une similarité avec les systèmes CRISPR.

Les gènes des μ ARN codent pour un ARN ayant une complémentarité interne formant d'épingle à cheveux à double-brin. Après un traitement post-transcriptionnel, ces ARN double-brin en épingle à cheveux sont transformés en μ ARN simple-brin de 20 à 22 nucléotides capables de mettre sous silence ou de moduler les gènes cibles après avoir été inclus dans un complexe de silençage induit par un ARN (RISC). (208) Il y a plusieurs modalités : le clivage de l'ARNm, le blocage de la traduction, et la désacétylation des histones. L'ensemble μ ARN-RISC va inhiber un ARNm cible par complémentarité avec l'UTR 3' (région non traduite en 3') de cet ARNm (Figure 25). Et comme l'homologie n'a pas besoin d'être parfaite, un même μ ARN peut agir sur plusieurs cibles. (208,209) C'est au sein du RISC, que l'ARN double-brin s'associe avec la protéine Argonaute (Ago) qui va dégrader le brin dit passager de cet ARN, tout en maintenant l'autre brin dit guide du μ ARN mature. Là où tous les complexes Ago- μ ARN sont capables de réduire sous silence l'expression des gènes, seule la composante Ago-2 (dite la trancheuse) est capable de dégrader un ARNm cible via son activité nucléasique. De plus, cela ne peut se produire qu'en cas de complémentarité quasi totale, entre le μ ARN et son ARNm cible. (210)

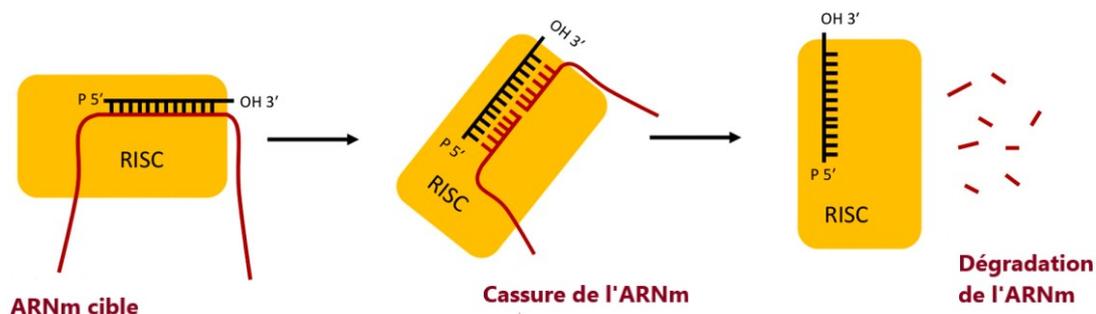


Figure 25 : Mécanisme de l'interférence par ARN (88)

Un complexe RISC (jaune) chargé d'un ARNsh mature (noir), lui-même lié à un ARNm cible complémentaire (rouge). L'ARNm va est rompu via l'activité trancheuse de la composante Ago-2 (pas représentée ici) de RISC. L'ARNm fendu, est ensuite dégradé par la mitose cellulaire.

L'interférence par ARN est une méthode qui, contrairement aux systèmes CRISPR-Cas9, montre dans les essais en cours que ça fonctionne pour supprimer l'ARNm transcrit de BCL11A plutôt que de muter le gène de BCL11A lui-même. De plus, là où un ribonucléotide CRISPR n'a besoin d'être présent que dans les cellules de façon transitoire pour modifier le génome, l'interférence par ARN nécessite que le RISC soit continuellement rechargé avec l'ARN double-brin contre BCL11A. Afin de surmonter cette difficulté, un vecteur lentiviral est utilisé pour introduire un μ ARN artificiel contre BCL11A de façon *ex vivo* dans le génome des CSH, c'est l'ARNsh « short hairpin ». Celui-ci va être transcrit par la polymérase II et être traité par la voie de l'interférence par ARN. (149)

Les ARNsh sont une sous-classe des μ ARN, conçue pour subir le même processus de maturation que celui ayant lieu naturellement chez les μ ARN. Mais contrairement à la plupart des μ ARN, les ARNsh ne ciblent qu'un ARNm cible en particulier. De plus les ARNsh sont généralement conçus pour être totalement complémentaires avec une région codante spécifique, plutôt que de cibler la région UTR 3'. Et c'est cette complémentarité totale qui permet d'assurer un ARNm ciblé par un ARNsh qui réduit au silence via l'activité trancheuse de la protéine Argonaute (Ago-2). Dans le cas de l'ARNsh anti-BCL11A, qui est en cours d'essais cliniques, l'ARNsh est basé sur le μ ARN naturel mais avec la base de la région en épingle à cheveux « hairpin », remplacée par 21 nucléotides (et leurs compléments inverses) complémentaires à une partie de la séquence codante de BCL11A. (78)

On sait donc aujourd'hui, que plusieurs tentatives d'inactivation de l'amplificateur érythroïde de la BCL11A ont fonctionné en matière de correction fonctionnelle au niveau de cellules CD34+ thalassémiques et drépanocytaires *in vitro* et *in vivo* via une ZFN ou CRISPR-Cas9.

De plus, la technique d'édition génomique serait plus sécurisante par rapport à l'intégration de vecteur lentiviral de façon semi-aléatoire dans le génome.

Chaque technique génothérapie utilisée dans le cadre de la drépanocytose a ses limites (Figure 26).

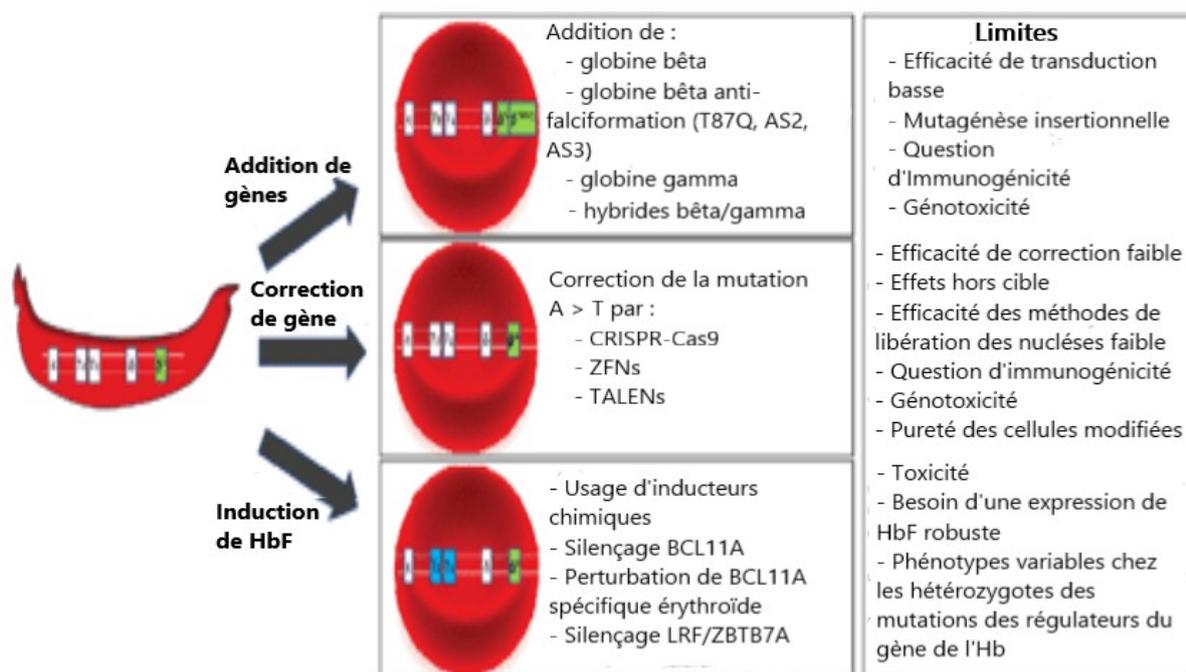


Figure 26 : Récapitulatif des techniques de thérapie génique et leurs limites(85)

4) Le 1er patient traité en France

Il s'agit d'un garçon présentant un génotype β^S / β^S avec une délétion de 3,7 kB au niveau du gène de la globine α , ainsi qu'une absence de déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase. Le diagnostic de la drépanocytose a été posé à sa naissance, et il a été suivi au Centre de référence de la drépanocytose, l'Hôpital universitaire Necker-Enfants malades à Paris par une équipe médicale dirigée par la professeure Marina Cavazzana.

Ses antécédents cliniques comportent de nombreuses crises vaso-occlusives, deux épisodes de syndrome thoracique aigu, et une ostéonécrose bilatérale de la hanche. Il a subi une cholécystectomie et splénectomie. Durant le dépistage, une hypodensité au niveau cérébral a été détectée sans qu'aucune caractéristique de la vasculopathie cérébrale ne soit présente.

En raison du fait qu'il ait reçu une thérapie par l'hydroxyurée de ses 2 à 9 ans, mais qui n'a pas diminué significativement les symptômes. Une prophylaxie par transfusion d'hématies a été mise en place en 2010 avec un chélateur du fer le Déférasirox, Exjade® à une posologie de 17mg/kg par jour. En moyenne par an, il avait 1,6 événements en lien avec la SCD sur les 9 ans précédant les transfusions.

En mai 2014, il a commencé l'essai clinique après le recueil de son consentement oral et du consentement écrit de sa mère. En octobre 2014, à l'âge de 13 ans, il a reçu une perfusion de LentiGlobine BB305. Il a été traité par l'ajout d'un vecteur lentiviral du gène de la β -globine anti-falciformation aux cellules souches hématopoïétiques autologues. En se basant notamment sur un modèle de thérapie génique efficace chez la souris où on a effectué un transfert lentiviral d'HbB modifiée codant pour un variant anti-falciformation ($\beta A87Thr:Gln$ [$\beta A-T87Q$]). (190,211)

Cet essai a été sponsorisé par la société américaine Bluebird Bio qui développe le vecteur. Vecteur qui a été élaboré par le Professeur Philippe Leboulch. Le protocole a été revu par le Comité français de la Protection des Personnes et les comités institutionnels d'éthique compétents.

Concernant le vecteur lentiviral, il est auto-inactivant et code pour le variant humain $\beta A-T87Q$ de l'HbB. En plus d'inhiber la polymérisation de l'HbS, la substitution T87Q permet à la chaîne de globine β de l'Hb A adulte d'être quantifiée de façon différentielle via l'intermédiaire d'une chromatographie en phase liquide à haute performance durant la phase inverse.

Au niveau de la procédure de transfert et de la transplantation de gènes, de la moelle osseuse a été prélevée à deux reprises chez le patient afin de recueillir en nombre des cellules souches ($6,2 \cdot 10^8$ par kilogramme pour le transfert de gène et $5,4 \cdot 10^8$ par kilogramme pour le pool, du total des cellules nucléées obtenues). Cela a été réalisé par exsanguino-transfusion, sans séquelle clinique chez le patient. Mais au niveau biologique une anémie de grade 3 a été déclarée, c'est le seul événement indésirable qui a été remonté. Ainsi le patient a bénéficié d'une transduction des cellules de la moelle osseuse enrichies en CD34+, avec le vecteur LentiGlobin BB05.

Les moyennes du nombre de copies du vecteur pour les deux lots de cellules étaient de 1,0 et à 1,2 copies par cellule.

Avant la greffe de CSH, le patient a subi une myéloablation via l'administration de Busulfan en intraveineuse. Le Busulfan servant à élimination des CSH comportant le gène malade. Et après 2 jours de sevrage thérapeutique, les cellules CD34+ transduites, en étaient imprégnées ($5,6 \cdot 10^6$ cellules CD34+/Kg). Les transfusions d'hématies se sont poursuivies après la transplantation, jusqu'à ce qu'une large proportion de l'HbA T87Q soit détectée, soit 25 à 30% de l'hémoglobine totale.

En parallèle, une greffe de polynucléaires neutrophiles avait été effectuée à J 38 post-transplantation, et une greffe de plaquettes à J 91. Et les résultats de l'essai nous indiquent une augmentation progressive du marquage génétique dans le sang total, les CD15, les cellules B et les monocytes, suivis d'une stabilisation vers le 3ème mois. L'augmentation des cellules T porteuses du vecteur, a été elle davantage graduelle.

De même, la Figure 27 montre que les niveaux d'Hb T87Q ont progressivement augmenté ce qui a motivé l'interruption des transfusion de globules rouges, la dernière a eu lieu le 88ème jour. Au 9ème mois les taux d'Hb T87Q atteignaient 5,5 g/dL (46%), ensuite au 15ème mois 5,7 g/dL (48%). Et de façon similaire les taux d'HbS augmentaient, on est passé de 5,5 g/dL (46%) au 9ème mois à 5,8 g/dL (49%) au 15ème mois. Au 6ème mois post-transplantation, les taux d'hémoglobine totale se stabilisaient entre 10,6 et 12,0 g/dL. Les taux d'hémoglobine fœtale (HbF) sont restés en deçà de 1 g/dL.

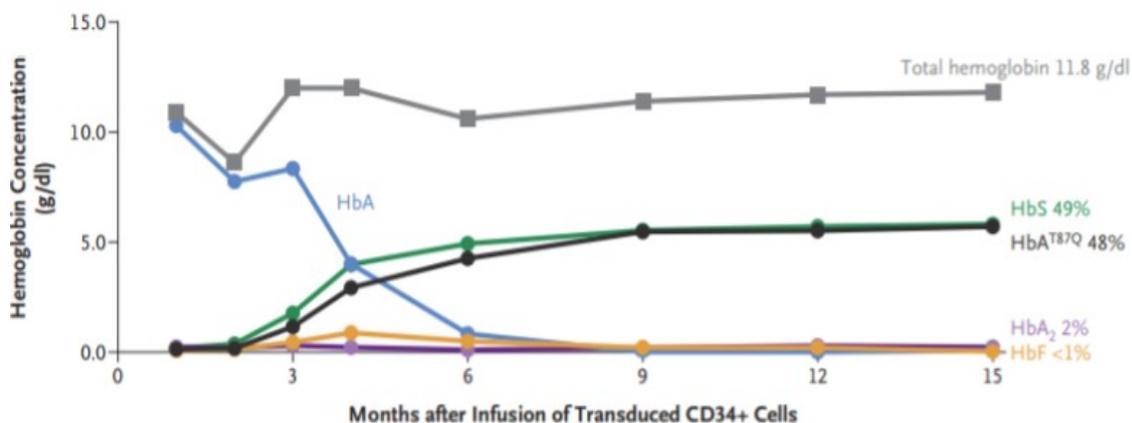


Figure 27 : Évolution des concentrations en hémoglobines (Hb) suite à la réimplantation de cellules CD34+ modifiées (212)

Concernant les effets indésirables, se sont manifestés les effets connus du Busulfan : neutropénie de stade 4, une anémie et une thrombocytopénie de stade 3, ainsi qu'une infection à *Staphylococcus epidermidis* de stade 3 également. Tous résolus avec une prise en charge classique. Après la sortie d'hôpital qui a eu lieu au 50ème jour, d'autres événements indésirables de stade 2 sont survenus : douleurs au niveau des membres inférieurs au 3ème mois, des augmentations transitoires des

alanine amino-tranfèreses (ALAT), des aspartate amino-transfèreses (ASAT) et gamma glutamytransfèreses (GGT) entre le 5ème et le 8ème mois. Ces signes d'atteinte hépatique se sont résolus spontanément.

Aucun effet en lien avec le vecteur LentiGlobin BB305 introduit dans les cellules souches n'a été soulevé. Les résultats du test de détection de lentivirus capables de réplication, étaient négatifs. La surveillance de sites d'intégration dans des échantillons de sang périphérique, a montré un profil polyclonal, sans détection d'un clone dominant au cours du 12ème mois.

Au niveau clinique, plus de 15 mois après la transplantation, aucun événement ou hospitalisation en lien avec la drépanocytose n'a eu lieu. Ce qui tranche avec la période qui a précédé l'essai durant laquelle le patient ne recevait pas encore de transfusion de façon régulière. Tous les médicaments ont été arrêtés, y compris les antalgiques. Le patient déclare avoir complètement repris ses activités scolaires et sportives quotidiennes. L'imagerie par résonance magnétique (IRM) de la tête faite au 8ème mois, montre des hypodensités inchangées de la substance blanche sous corticale ponctuée. Et l'IRM des membres inférieurs réalisée au 14ème mois ne montre pas d'atteinte récente des os ou des tissus.

Au niveau biologique, les mesures de sang complet étaient stables, le nombre de réticulocytes a légèrement diminué au fur et à mesure des mois. L'on note l'inobservation d'érythroblastes circulants détectés. Les différents indicateurs ne montrent pas de dysfonctionnement des fonctions hépatique et rénale. Et bien que la chélation du fer ait été discontinuée avant la transplantation, la ferritinémie a diminué passant à 363 µg/L au 15ème mois. L'IRM hépatique à 1 an post-traitement, montre une faible charge martiale. Les taux plasmatiques de bilirubine totale et de lactate déshydrogénase s'inscrivent dans les normes. Les taux de récepteurs de la transferrine soluble ont fortement progressé. Lors du dépistage, on était à 3,4 fois au-dessus des valeurs normales, et au 12ème et 15ème mois on était passé à 1,5 fois les normes. Cela indique une normalisation progressive de l'érythropoïèse.

Cependant, le patient avait suivi un protocole de transfusions régulières pendant 4 ans avant cette étude, et à cause de l'exsanguino-transfusion préalable à la transplantation, des études comparatives significatives n'ont pas pu être menées. On remarque tout de même que les proportions d'hématies falciformes présentes dans le sang du patient avaient significativement baissé au 6ème et au 12ème mois. C'était en deçà des proportions chez les drépanocytaires ($\beta S / \beta S$) non traités. Au 12ème mois, le taux de falciformation en conditions d'hypoxie n'était pas significativement différent de celui du patient hétérozygote asymptomatique ($\beta A / \beta S$), qui s'avère être la mère du patient. Les études quantifiant la saturation en oxygène par rapport à pression partielle d'oxygène, ont montré des résultats similaires chez le patient au 12ème mois et chez le patient contrôle hétérozygote ($\beta A / \beta S$).

À ce jour on parle de rémission prolongée de ce patient. Un suivi sur un plus long terme est nécessaire pour confirmer l'efficacité et la sécurité dans la durée du profil

observé. Ainsi que des données supplémentaires des évaluations de la thérapie génique au niveau de cohortes plus étendues de patients.

Professeure Cavazzana précise que ce patient faisait partie d'une étude de phase I/II, ayant déjà pris en charge cinq patients toujours à l'hôpital Necker de Paris. Dont quatre traités pour la bêta thalassémie, avec des résultats positifs. En effet la particularité du vecteur LentiGlobin BB05, est qu'il pourrait traiter les deux hémopathies. Le traitement a donc été bénéfique pour seulement l'un des deux autres patients drépanocytaires traités dans le même essai clinique. (212)

5) Contrôle de qualité des produits de thérapie génique

Les médicaments de thérapie génique (fabriqués industriellement) ou spécialités pharmaceutiques de thérapie génique sont soumis à l'obtention, préalablement à leur mise sur le marché, d'une autorisation délivrée par la Commission Européenne. Ils doivent être fabriqués par un établissement pharmaceutique autorisé.

Les préparations de thérapie génique font l'objet d'une autorisation délivrée par l'ANSM. Les établissements ou organismes qui proposent les préparations de thérapie génique doivent aussi bénéficier d'une autorisation par l'ANSM.(213)

Il n'existe actuellement pas de préparation de thérapie génique sur le marché français. Les dispositions relatives à l'autorisation des produits eux-mêmes et à l'autorisation des établissements ou organismes exerçant les activités de préparation, de conservation, de distribution et de cession des préparations de thérapie génique sont cependant déjà prévues.

Le laboratoire de contrôles de l'ANSM, ainsi que d'autres laboratoires européens envisagent de contrôler la qualité, l'efficacité et la sécurité de ces produits postérieurement à leur mise sur le marché. À cette fin, l'Agence a mis sur pied des laboratoires et des équipes dédiés, en particulier à la manipulation des vecteurs viraux de thérapie génique en laboratoire confiné de type L3, le développement de techniques de contrôles en laboratoire en biologie cellulaire et moléculaire, histologie, virologie, cytométrie en flux, immunodosages, électrophorèse capillaire. De plus l'Agence remplit un rôle majeur de rédaction du chapitre général « Médicaments de transfert génétique pour usage humain » de la Pharmacopée européenne comprenant 7 monographies applicables aux principaux types de vecteurs de thérapie génique. Un pôle d'expertise européen a été constitué au sein du réseau des OMCL (laboratoires officiels de contrôle des médicaments) en partenariats avec des experts nationaux du domaine. Ce réseau ambitionne un transfert technologique et organise la mise à disposition de matériel biologique d'une part (Généthon) et l'instauration d'un programme scientifique d'autre part au CHU de Nantes.

Ainsi, concernant les essais cliniques portant sur les médicaments et produits biologiques, sont régis par le décret n° 2016-1537 du 16 novembre 2016 en application. Il y a deux types de recherches impliquant la personne humaine portant sur le médicament. Les recherches non interventionnelles (observationnelles), soumises uniquement à l'avis d'un CPP (Comité de Protection des Personnes) d'une part, et les recherches interventionnelles (mentionnées au 1 de l'article L. 1121-1 du code de la Santé Publique) soumises à autorisation de l'ANSM et avis du CPP. Elles correspondent aux recherches qui étaient antérieurement définies comme les recherches biomédicales ou essais cliniques.

La transmission des dossiers à l'ANSM se fait uniquement par voie électronique via deux adresses distinctes :

- aec-essaiscliniques@ansm.sante.fr pour les demandes d'autorisation d'essai initiale (AEC), déclaration début et fin d'essai
- et ams-essaiscliniques@ansm.sante.fr pour les demandes de modification substantielles (MSA).

Concernant les États-Unis, la Food and Drugs Administration (FDA), les produits de génothérapie sont des produits biologiques régulés par leur Centre d'Évaluation et de Recherche Biologiques. Les études cliniques chez les hommes requièrent dans un premier temps de faire une demande de nouveau médicament, avant de commencer véritablement l'étude. Aux États-Unis la commercialisation des produits issus de thérapie génique exige une demande et une licence d'autorisation de mise sur le marché. (214)

6) Contrôle de l'efficacité

Il existe différentes façons de contrôler l'efficacité de la thérapie génique dans la drépanocytose. L'élément le plus important à la fin du processus étant le taux de nouvelle Hb produite (autrement dit le produit protéique de la génothérapie). Mais au cours de l'acheminement sont à respecter des étapes clés où il est pertinent de procéder à une évaluation qualitative (Figure 28).

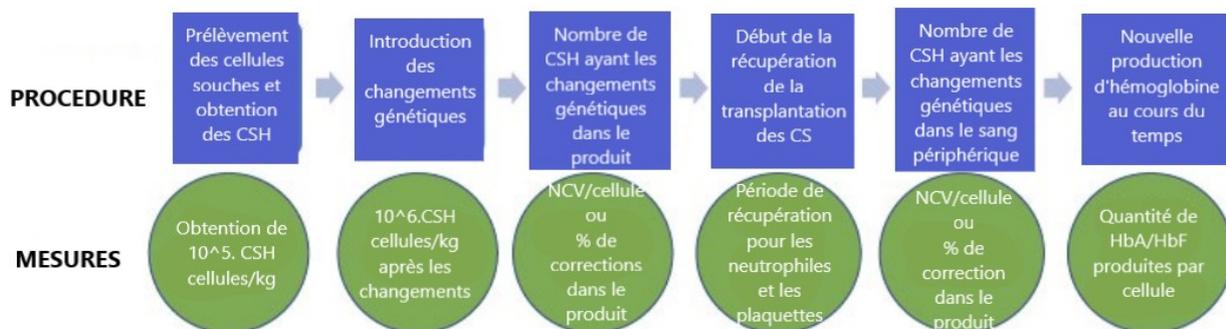


Figure 28 : Contrôles de l'efficacité de la thérapie génique (119)

Il est important de quantifier le taux d'Hb non falciformante dans chaque hématie, et de mesurer quelle est la proportion issue de la thérapie génique, par rapport à la myéloablation (pouvant aboutir à une érythropoïèse de stress qui va causer une production d'HbF). Ceci peut être fait en analysant l'efficacité de la transduction ou en évaluant le pourcentage de SCH ayant intégrées le matériel génétique souhaité. Cependant des études longitudinales sont nécessaires pour déterminer la longévité de la génothérapie. Enfin il est essentiel de relever les symptômes et/ou complications de la drépanocytose améliorés par la thérapie génique et voir si les résultats diffèrent en fonction du type ou de la quantité de matériel génétique.

À ce jour, on ne sait pas encore de façon exacte, le pourcentage de CSH devant être génétiquement modifiées pour obtenir suffisamment d'Hb saine. C'est pourquoi les évaluations de suivi complémentaires doivent inclure en plus des résultats détaillés habituels, des mesures de laboratoire mais aussi de rhéologie de l'hémostase et de l'adhérence.

Enfin, l'évaluation de l'efficacité passe par l'estimation de deux aspects : la thérapie génique peut-elle prévenir le phénomène vaso-occlusion (quels types et dans quelle mesure) ; et peut-elle stabiliser ou résoudre les complications viscérales causées par la drépanocytose. Et bien que ces données soient essentielles pour l'avancée de la prise en charge des drépanocytaires, elles demeurent pour l'instant indéterminées ou tout au moins, pas de façon claire. Si on prend l'exemple de la fonction rénale, près de 10% de malades ayant une anémie falciforme peuvent être atteints d'une insuffisance rénale terminale. Et à ce jour, on ne sait pas si la transplantation allogénique peut prévenir le développement de cette atteinte rénale une fois que l'insuffisance est chronique. Et les résultats de la génothérapie sont encore moins accessibles pour l'instant. En revanche, concernant les crises vaso-occlusives, les

données semblent plus claires, la réponse sur le long terme spécifique d'organe à la génothérapie mesurera véritablement son efficacité. (119)

7) Les essais en cours

Tableau 1. Open gene therapy clinical trials for sickle cell disease.

ClinicalTrials.gov identifier	Official title	Therapeutic gene	Age eligibility/phase	Status	Sponsor
NCT02186418	Gene Transfer for Patients With Sickle Cell Disease Using a Gamma Globin Lentivirus Vector: An Open-Label Phase I/II Pilot Study	γ -globin	18–35/Phase I/II	Recruiting	Children's Hospital Medical Center, Cincinnati
NCT02247843	Clinical Research Study of Autologous Bone Marrow Transplantation for Sickle Cell Disease (SCD) Using Bone Marrow CD34 ⁺ Cells Modified With the Lenti/ β AS3-FB Lentiviral Vector	β AS3-FB (Antisickling β -globin)	\geq 18/Phase I	Recruiting	Donald B. Kohn, MD (University of California, Los Angeles)
NCT02193191	Safety and Efficacy Trial of Escalation of Plerixafor for Mobilization of CD34 ⁺ Hematopoietic Progenitor Cells and Evaluation of Globin Gene Transfer in Patients With Sickle Cell Disease	β -globin	18–65/Phase I	Recruiting	Memorial Sloan Kettering Cancer Center
NCT02140554	A Phase 1 Study Evaluating Gene Therapy by Transplantation of Autologous CD34 ⁺ Stem Cells Transduced <i>Ex Vivo</i> With the LentiGlobin BB305 Lentiviral Vector in Subjects With Severe Sickle Cell Disease	T87Q (Antisickling β -globin)	\geq 18/Phase I	Recruiting	Bluebird Bio
NCT02633943	Longterm Follow-up of Subjects With Hemoglobinopathies Treated With <i>Ex Vivo</i> Gene Therapy Using Autologous Hematopoietic Stem Cells Transduced With a Lentiviral Vector	T87Q (Antisickling β -globin)	5–50/NA	Enrolling by invitation	Bluebird Bio
NCT02151526	Phase 1/2 Open Label Study Evaluating the Safety and Efficacy of Gene Therapy of the Beta-Hemoglobinopathies (Sickle Cell Disease and Beta-Thalassemia Major) by Transplantation of Autologous CD34 ⁺ Stem Cells Transduced <i>Ex Vivo</i> With a Lentiviral Beta-A-T87Q Globin Vector (LentiGlobin BB305 Drug Product)	T87Q (Antisickling β -globin)	5–35/Phase I/II	Active, not recruiting	Bluebird Bio

Figure 29 : Tableau des essais cliniques portant sur la thérapie génique en 2018 (85)

Un rapport de l'essai HGB-205 établit qu'un patient avec une drépanocytose sévère n'a montré aucune complication jusqu'à 30 mois après le traitement LentiGlobin, avec des taux stables d'Hb (12,4 g/dL), de β A(T87Q) à 6,1 g/dL et de NCV dans le sang périphérique (2,3). Le patient transplanté avec des cellules CD34⁺ autologues ayant subi une transduction avec la LentiGlobin BB305, présentait un taux de β A(T87Q) suffisant pour inverser les taux des marqueurs hémolytiques et stabiliser les taux d'hémoglobines. Ces résultats sont encourageants mais beaucoup d'essais cliniques sont encore en cours, demandant des suivis sur du plus long terme ainsi que d'étudier la sécurité et l'efficacité de ces approches basées sur l'utilisation de vecteur.

La modification au β 16, de la glycine en acide aspartique, produit une action compétitive par rapport à l'HbS au niveau de l'attache sur la chaîne α . Et la modification au β 22, de l'acide glutamique en alanine augmente partiellement l'interaction axiale avec l'histidine α 20. De plus, un mutant double de la β AS2 (T87Q et E22A) et un mutant triple de la β AS3 (T87Q, E22A et G16D) ont également été développés (Figure 23). Ces modifications permettent d'obtenir de meilleures propriétés anti-falciformantes que le mono-variant et comparable à la globine fœtale. Chez un modèle murin drépanocytaire, la transplantation de cellules souches de moelle osseuse transduites avec le lentivirus auto-inactivant porteur de la β AS3, a inversé la physiologie des cellules rouges ainsi que les symptômes cliniques de la pathologie. Sur les bases des résultats encourageant *in vivo* et *in vitro*, ce variant est testé en essai clinique (NCT02247843). (85)

Le tableau (Figure 30) ci-après cite les essais cliniques en cours et à venir.

Nom de l'étude	LentiGlobin DREPAGLOBE		MONTER	PRÉCISION-1	Silencage génétique de BCL11A	CÈDRE MOMENTUM	
Type de thérapie génique	Ajout de gène		Modification des gènes	Édition de gènes	Silencage de gènes	Ajout de gènes	
Outil d'édition	CE	CE	Doigt de zinc CRISPR-Cas9	RNP	ShARN	CE	CRISPR HiFi Cas9 RNP
Type de manipulation de cellules souches	Transduction		Électroporation	Transfection avec ARNm de nucléase à doigts de zinc	Transduction	Transduction Électroporation	
Vecteur (o/n)	BB305LVV	EXERCICE 1 LVV	Aucun	Aucun	BCH-BB694 LVV qui code un shRNA adapté aux microARN	yG16D LVV	Non intégrant Donneur AAV6 Modèle de réparation d'ADN
Cible génétique (o/n) NA		CE	Amplificateur spécifique de la lignée érythroïde de la Gène BCL11A	locus 11A (BCL11A) (activateur érythroïde)	ARNm de BCL11A	N / A	Mutation falciforme (adénosine → thymine [A → T])
Produit médicamenteux	LentiGlobine BB305	DREPAGLOBE	CTX001	BIVV003	BCH-BB694	ARU-180126	GPH101
Produit protéique	HbAT87Q	γAS3, une protéine γ-globine antifalciforme (AS3) contenant 3 substitutions d'acides aminés dans le HBB de type sauvage	HbF	HbF	HbF	HbFG16D	HbA

Figure 30 : Récapitulatif des essais cliniques en cours et à venir portant sur la drépanocytose en 2021 (119)

Certains de ces essais ciblent le gène BCL11A (activateur érythroïde de l'ARNm) réprimant l'expression de la globine γ , afin d'induire la production d'HbF au niveau des érythrocytes d'un adulte. D'autres font appel à un vecteur viral d'insertion aléatoire pour obtenir une production d'HbA. Et une étude cible spécifiquement la mutation du gène de la drépanocytose. (215,216)

Actuellement, ce sont les essais cliniques de thérapie génique via lentivirus basées sur l'addition du gène de la globine β modifié (Hb AT87Q) qui ont accumulé le plus de données pour l'instant et qui ont démontré un bénéfice de diminution significative du nombre de crises vaso-occlusives (CVO). Cependant ces données restent précoces et les résultats à propos de l'amélioration de la durabilité sur le long terme et la fonction des organes sont en cours. D'autre part, CRISPR Therapeutics and Vertex Pharmaceuticals et des investisseurs du Boston Children's Hospital ont également présenté des données de leurs études respectives sur CLIMB et sur l'ARN court (ARNsh) en épingle à cheveux. Cela montre également que les propriétés anti-falciformation de l'HbF, combinées à des taux d'HbS diminués, vont résoudre les CVO. Cependant il est beaucoup trop tôt pour obtenir des rapports ou des résultats sur le long terme des études d'édition génomique et de silencage génique.

La thérapie par correction génétique est la prochaine technique à entrer en phase clinique. Cette méthode est en fait l'association de l'édition génomique et de l'addition de gènes. L'étude CEDAR a reçu l'autorisation de la FDA pour passer à la phase I d'essai clinique au début de l'année 2021. Le principe est d'utiliser une ribonucléoprotéine CRISPR-Cas9 pour induire une cassure double-brin de l'ADN et un remodelage homologue (HDR) avec une matrice non intégrante adéno-associée au virus en position 6, réparatrice de l'ADN du donneur, pour produire un nouveau produit génique. Et contrairement aux thérapies d'édition génomique basées sur la jonction des terminaisons non homologues et la formation ultérieure de délétion et

d'insertion au niveau de la séquence éditée, les thérapies de correction génomique reposent sur la recombinaison homologue, qui elle est plus compliquée et historiquement moins efficace. (217)

Les Figures 29 et 30 montrent que la thérapie génique est en pleine expansion et que les essais cliniques menés à ce sujet s'étendent généralement sur plusieurs années.

8) Principal point négatif : le coût

Actuellement le prix élevé pour une thérapie génétique de cellules souches hématopoïétiques *ex vivo* est un obstacle majeur à l'utilisation de cette technique à une variété de pathologies. En effet, la 1^{ère} thérapie génique approuvée dans l'Occident s'est vendue en l'Allemagne et aux États-Unis à près de 1 million de dollars par traitement. Le montant s'explique par le fait que par exemple pour le produit bio bluebird LentiGlobin, les patients doivent être admis en soins intensifs à cause du conditionnement myoablasif et de beaucoup de surnageant de virus afin de faire une transduction effective des CSH.

L'utilisation d'amplificateurs de transduction pourrait réduire la quantité de vecteur nécessaire pour une transduction de CSH efficace et suffisante. De plus, de nouveaux vecteurs lentiviraux et plus efficaces, corrigeant les phénotypes de la β thalassémie et de la drépanocytose, avec une variation faible du nombre de copies (VNC) par cellule, pourraient aussi diminuer le besoin de grands volumes de préparations virales. Un producteur stable de lignes cellulaires a été décrit pour un essai de génothérapie, un vecteur lentiviral basé sur SCID-X1, qui serait une avancée pour diminuer le coût de ces préparations (218). Enfin, les stratégies basées sur la modification du génome (« editing ») pourraient être moins chères : les frais de fabrication pour la modification de cellules à usage clinique sont légèrement plus bas, que ceux des stratégies basées sur le LV.

D'autre part, l'utilisation de protocoles de conditionnement de myéloablation partielle pourrait être une option prometteuse au regard du coût élevé et du niveau de toxicité liée au conditionnement. En effet, pour sécuriser l'espace dans la moelle osseuse pour les CSH transduquées chez les malades (β thalassémie et drépanocytose), un protocole de myéloablation complète peut être nécessaire afin d'obtenir une génothérapie réussie. Généralement, les essais réussis utilisent des doses myélo-ablatives de Busulfan autour de 12 à 16 mg/Kg. Ces protocoles représentent un risque de toxicité liée au transplant de façon assez précoce, mais aussi un risque d'infertilité et de cancers secondaires sur le long terme. Une myélo-suppression sévère et les toxicités liées à la chimiothérapie, demandent de multiples transfusions sanguines, un traitement prophylactique des infections, et une hospitalisation dans un environnement adapté. Ce qui aboutit à un coût élevé de la prise en charge. Une façon de contourner ce problème est l'utilisation d'anticorps monoclonaux ciblant les antigènes présents sur les CSH. Notamment le CD45, limité dans son expression aux cellules hématopoïétiques, ou le CD117 (ou c-kit) exprimé au niveau des CSH, des mastocytes, des mélanocytes, et d'autres cellules non hématopoïétiques. Un anticorps reconnaissant CD45 chez la souris et chez l'être humain, lorsqu'il est couplé avec une saponine toxique (CD45-SAP), il active sur le long terme le greffage de cellules syngéniques, tout en diminuant la cytopénie ainsi que l'immunosuppression liée aux conditions cytotoxiques. Cibler CD117 active un

greffage autologue chez la souris immunodéficiente, et quand il est associé à CD47, ça active le greffage chez la souris immunocompétente.

Une autre option pour éviter l'utilisation de réactifs de chimiothérapie pour la myéloablation, c'est la transduction de CSH *in vivo*. C'est-à-dire qu'on injecte directement le vecteur dans le corps humain. Ainsi la procédure serait simplifiée car le transfert de gène *in vivo* demande un geste qui est invasif de façon minimale et sans besoin de prélever de cellules souches ni de transplantation (Figure 31), ce qui permet de réduire le coût.

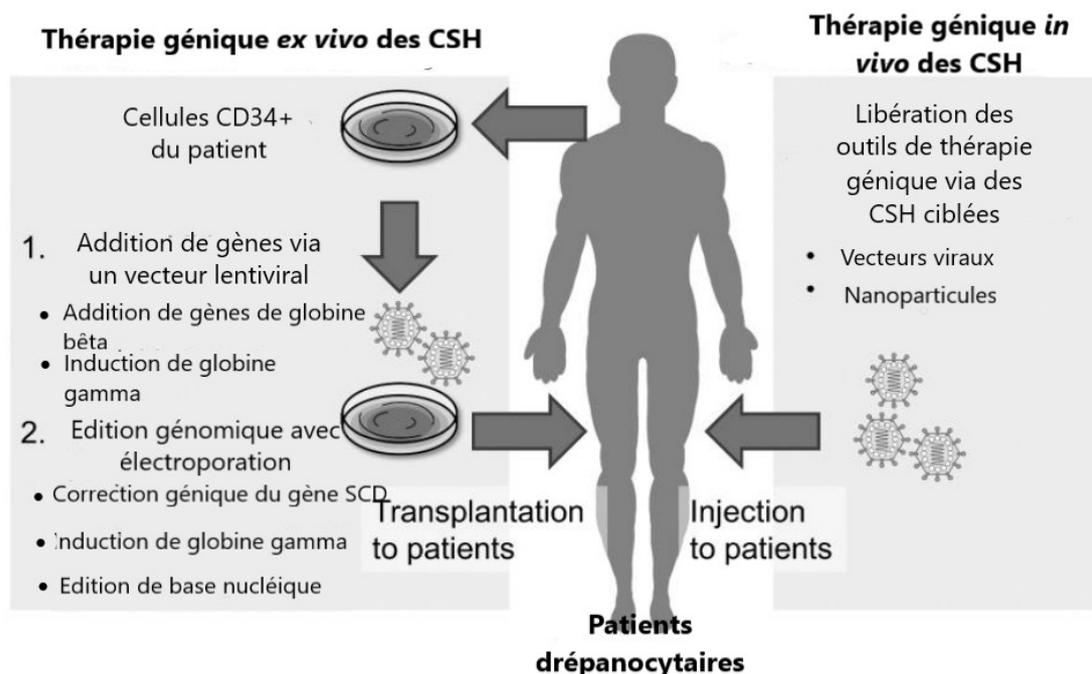


Figure 31 : Comparaison entre les thérapies géniques *ex vivo* et *in vivo* portant sur les cellules souches hématopoïétiques (CSH) dans la drépanocytose (150)

Est-ce que ce coût compense les dépenses en lien avec les hospitalisations fréquentes ? C'est un élément qui pourrait être intéressant d'étudier pour pouvoir mettre en balance le coût que représente la thérapie génique.

9) Les risques de la thérapie génique

La thérapie génique, peu importe la technique employée, va engendrer des risques potentiels et/ou avérés. La chimiothérapie utilisée pour la myéloablation comporte un risque élevé d'infertilité (presque 100%), et va être responsable de mucites, nausées, perte d'appétit, alopecie, et d'autres complications globalement réversibles. L'infertilité doit impérativement être abordée avec les patients car c'est un sujet de préoccupation majeure. Dans certains cas, on va tenter de préserver la fertilité mais ce n'est pas toujours possible (par manque de moyens à disposition) ni efficace. Les patients sont mis en relation avec des spécialistes de la fertilité pour aborder les différentes options envisageables, ainsi que les bénéfices et les risques y étant associés.

La malignité secondaire constitue un autre risque majeur. En effet chez les patients ayant subi une greffe allogénique ainsi qu'une greffe autologue le Busulfan utilisé en chimiothérapie, comporte ce risque de façon indépendante sur le long terme. De plus la transplantation CSH potentiellement endommagées représente aussi une cause. Car en effet, les patients sont atteints d'inflammation chronique et d'une fragilité endothéliale, tout en ayant un infarctus osseux hypoxique et un stress érythropoïétique permanent. (195) Ce qui peut abîmer les CSH et qui pourrait par la suite entraîner une prédisposition à une transformation maligne. Cependant à ce jour, on ne sait pas encore évaluer la hauteur de ce risque ou si ce risque peut être convenablement adapté avec des changements déjà utilisés dans les protocoles de génothérapie ou avec des changements futurs. En effet deux patients ayant suivi l'essai initial LentiGlobin HGB206 ont développé une leucémie myéloïde aiguë à 3 ans et 5 ans après la thérapie génique autologue. (220) Le bilan de santé insinue que la malignité n'est pas en lien avec le vecteur et que peut-être il existe un risque intrinsèque accru chez les patients atteints de la drépanocytose aggravé par une faible dose de cellules, un faible nombre de copies de vecteur et un rebond du phénotype drépanocytaire au stress érythropoïétique élevé.

Il est possible que ces risques soient atténués via une collecte de cellules souches médiée par Plérixafor (au lieu d'une collecte de moelle osseuse) et une transfusion au préalable de cette collecte. Cependant la mesure dans laquelle ça diminuerait les risques sur le long terme est inconnue.

Concernant l'addition de gènes, la préoccupation majeure est le potentiel risque de faire une insertion au niveau d'un site promoteur qui causerait une prolifération cellulaire non souhaitée ou transformation maligne. En effet le problème s'est présenté chez un patient atteint d'adrénoleucodystrophie qui a développé un syndrome myélodysplasique à la suite d'une thérapie génique. Le vecteur lentiviral (LV), Lenti-D (Bluebird Bio) est différent de ceux utilisés dans la génothérapie de la drépanocytose mais ils sont similaires au niveau du but qui est d'ajouter des copies fonctionnelles d'un gène dans une cellule souche. Cela dit, en se basant sur

l'emplacement de l'insertion du LV, on soupçonne que ce soit la cause du syndrome myélodysplasique (rapport de presse BlueBird Bio, août 2021). Jusqu'à présent, ça n'a pas été observé dans les génothérapies à LV de la drépanocytose, mais ça n'écarte pas le risque pour autant.

L'édition génomique peut elle aussi aboutir à des modifications imprévues sur le génome en dehors de la séquence d'ADN ciblée. La technologie actuelle permet de détecter les mutations hors cible apparaissant à fréquence élevée. Mais les mutations plus rares peuvent ainsi ne pas être identifiées et ainsi pourraient avoir une croissance ou une survie cellulaire qui favoriserait un cancer. (119)

Bien que la thérapie génique représente un réel espoir dans la prise en charge de la drépanocytose, toute la décision de faire ce choix thérapeutique par le patient et son entourage devrait être encadrée par un expert en drépanocytose ainsi qu'une équipe connaissant l'ensemble des options thérapeutiques. En effet, le consentement devant être éclairé, le patient devrait avoir des attentes réalistes et être conscient des risques potentiels d'une thérapie génique. Il est important que la décision finale soit prise en cohésion entre la patient, son entourage et le praticien. (221) Ainsi les aspects connus et moins connus de ces nouvelles procédures doivent être partagés, par un dialogue le plus pertinent et accessible possible. La myéloablation étant toujours nécessaire dans la génothérapie, elle peut susciter un frein d'adhésion ou de participation de la part des patients, à cause des risques d'infertilité et ou d'une inéligibilité à cause d'un dysfonctionnement d'organe. Ces discussions approfondies devraient donc avoir lieu au préalable de dépistage de la population cible.

V - Conclusion

La thérapie génique est prometteuse dans l'avancée de la prise en charge thérapeutique des patients atteints de la drépanocytose. Cependant des données récentes de thérapies géniques en cours montrent le besoin de suivi sur le long terme et d'une collecte cohérente des données en utilisant des éléments de données communes afin de garantir que les résultats puissent être comparés entre différents essais cliniques ainsi qu'avec l'histoire naturelle de la drépanocytose.

Tout comme des données supplémentaires sont nécessaires concernant l'utilisation de la génothérapie dans la résolution spécifique des complications organiques en lien avec la drépanocytose. Chez le patient atteint, le symptôme majeur est la douleur chronique sévère. Enfin, pour mieux comprendre, quantifier, et comparer la malignité éventuelle pour cette population, il faut une surveillance renforcée et des études longitudinales de la drépanocytose. (119)

Un autre axe d'amélioration de la prise en charge de la drépanocytose se joue au niveau de l'un des premiers traitements, la transfusion sanguine issue des dons du sang. En effet, les patients drépanocytaires sont plus à risque d'alloimmunisation, à cause de la différence ethnique d'origine entre les donneurs et les patients. En effet le sang est soumis à une compatibilité étendue et complète pour les groupes sanguins ABO, pour les Rhésus (Cc/D/Ee) et les Kells.(222) Cette procédure est recommandée car elle permet de réduire l'alloimmunisation de 50%, ce qui n'est pas négligeable dans les pays où les donneurs sont principalement d'origine européenne. (1) Il a été observé que les minorités ethniques sont moins susceptibles de donner leur sang. En Angleterre, entre 2019 et 2020, la communauté noire ne représentait que 1,2% des dons, et ceux concernant les donneurs de la communauté asiatique ou d'origine métissée représentaient de 2,1%. Or les patients drépanocytaires ont besoin de dons du sang comportant une compatibilité du système antigènes Rho Kell. Ce qui est plus fréquemment le cas chez la population noire (52%), que chez la population caucasienne (2%). De fait, de meilleurs résultats ont été observés sur la drépanocytose dans les cas où cette compatibilité ethnique était présente. De plus, la demande en antigène Kell, augmente chaque année de 10 à 15% en Angleterre, or seulement 2% des donneurs anglais ont des antigènes Rho.(223)

Cela s'explique car il existe des groupes sanguins rares. Actuellement l'on compte 40 groupes sanguins érythrocytaires définis à partir de 380 antigènes. Les plus fréquents étant les systèmes ABO et Rhésus. Les groupes sanguins rares, en France sont ceux qu'on retrouve chez moins de 4 personnes sur 1000 dans la population et avec lesquels aucun groupe sanguin n'est compatible pour la transfusion. On en compte environ 250. Ça concerne environ 700 000 individus. Ainsi les produits sanguins rares sont essentiellement stockés dans la Banque Nationale de Sang de Phénotype Rare située à Créteil.

Par ailleurs, l'Afrique est le continent comportant la plus grande diversité génétique. Faisant que certains groupes sanguins sont présents uniquement chez des personnes d'origine africaine ou caribéenne. Ainsi en France, une personne originaire, ou ayant des ancêtres originaires, d'Afrique ou des Caraïbes ou de l'Océan Indien, est beaucoup plus susceptible d'avoir un groupe sanguin rare ou peu fréquent.

Chaque patient dans le besoin devrait pouvoir bénéficier d'une transfusion sanguine compatible. Pour cela il est impératif de disposer d'une diversité des dons afin d'obtenir une meilleure représentation de ces groupes sanguins peu fréquents voire rares, ce qui revient à une meilleure représentation de la population française parmi les donneurs. (224)

Autre fait notoire, le 15 novembre 2022 la HAS a publié un avis recommandant l'extension du dépistage néonatal de la drépanocytose à l'ensemble des nouveau-nés. Cette préconisation découle de la demande de la Direction Générale de la Santé (DGS) auprès de la HAS en 2018. Cette demande était fondée sur de nouvelles études épidémiologiques, et les différents arguments suivants.

D'abord parce que la drépanocytose est la seule maladie dépistée à la naissance dont l'incidence augmente régulièrement : 557 cas ont été dépistés en 2020 (soit 1 nouveau-né sur 1 323) contre 412 en 2010. D'autant plus qu'un défaut de prise en charge précoce est responsable d'une forte morbidité. Or jusqu'à présent le dépistage en France est hétérogène, avec une majorité en Île de France (75,9 % des nouveau-nés dépistés), alors que la pathologie s'étend sur l'ensemble du territoire. La généralisation permettrait de ne plus stigmatiser les populations dites cibles et d'éviter les erreurs liées à ce fait. Effectivement, les professionnels de santé ont soulevé des difficultés d'application des règles de ciblage actuelles, qui exposent à un risque de non-dépistage, une prise en charge tardive et une perte de chance élevée. (225)

Cette décision est partagée avec l'ensemble des acteurs de la lutte contre la drépanocytose. La HAS a aussi pu s'appuyer sur l'expérience des autres pays occidentaux pratiquant déjà le dépistage universel pour la mise en place de cette nouvelle recommandation.

BIBLIOGRAPHIE

1. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. *The Lancet*. déc 2010;376(9757):2018-31.
2. The kidney in sickle cell anemia - ScienceDirect. Disponible sur: <https://www-sciencedirect-com.ressources-electroniques.univ-lille.fr/science/article/pii/S0085253815314629?via%3Dihub>
3. Mangla A, Ehsan M, Agarwal N, Maruvada S. Sickle Cell Anemia. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482164/>
4. Watson J. The significance of the paucity of sickle cells in newborn Negro infants. *Am J Med Sci*. avr 1948;215(4):419-23.
5. Wailoo K. Sickle Cell Disease — A History of Progress and Peril. *N Engl J Med*. 2 mars 2017;376(9):805-7.
6. Chapitre 2 - Découverte et historique de la drépanocytose 4 - PDF. Disponible sur: <https://docplayer.fr/22719578-Chapitre-2-decouverte-et-historique-de-la-drepanocytose-4.html>
7. Tosteson DC, Carlsen E, Dunham Et. The effects of sickling on ion transport : I. Effect of sickling on potassium transport. *J Gen Physiol*. 20 sept 1955;39(1):31-53.
8. Ostrer H. The troubled dream of genetic medicine Ethnicity and innovation in Tay-Sachs, cystic fibrosis, and sickle cell disease. *J Clin Invest*. 2 oct 2006;116(10):2565.
9. L'histoire - Association Pour l'Information et la Prévention de la Drépanocytose. 2021. Disponible sur: <https://apipd.fr/discriminations/>
10. Haldane JBS. The rate of spontaneous mutation of a human gene. 1935. *J Genet*. déc 2004;83(3):235-44.
11. Piel FB, Patil AP, Howes RE, Nyangiri OA, Gething PW, Williams TN, et al. Global distribution of the sickle cell gene and geographical confirmation of the malaria hypothesis. *Nat Commun*. 2 nov 2010;1:104.
12. Labie D. Les relations complexes entre hémoglobinopathies et paludisme. *médecine/sciences*. 1 août 2010;26(8-9):685-7.
13. Piel FB. Distribution géographique de la drépanocytose en 2010. *médecine/sciences*. nov 2013;29(11):965-7.
14. Implementation of the newborn screening programme for sickle cell disease in England: results for 2003-2005. Disponible sur: <https://journals.sagepub.com/doi/epub/10.1258/jms.2008.007063>

15. Pagnier J, Mears JG, Dunda-Belkhodja O, Schaefer-Rego KE, Beldjord C, Nagel RL, et al. Evidence for the multicentric origin of the sickle cell hemoglobin gene in Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A*. mars 1984;81(6):1771-3.
16. Structural Analysis of the 5' Flanking Region of the β -globin Gene in African Sickle Cell Anemia Patients: Further Evidence for Three Origins of the Sickle Cell Mutation in Africa on JSTOR. Disponible sur: <https://www.jstor.org/stable/31794>
17. Serjeant GR. The Natural History of Sickle Cell Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 1 oct 2013;3(10):a011783-a011783.
18. Flint J, Harding RM, Boyce AJ, Clegg JB. The population genetics of the haemoglobinopathies. *Baillieres Clin Haematol*. mars 1998;11(1):1-51.
19. Allison AC. Protection Afforded by Sickle-cell Trait Against Subtertian Malarial Infection. *Br Med J*. 6 févr 1954;1(4857):290-4.
20. Williams TN, Mwangi TW, Wambua S, Alexander ND, Kortok M, Snow RW, et al. Sickle Cell Trait and the Risk of *Plasmodium falciparum* Malaria and Other Childhood Diseases. *J Infect Dis*. juill 2005;192(1):178-86.
21. May J, Evans JA, Timmann C, Ehmen C, Busch W, Thye T, et al. Hemoglobin Variants and Disease Manifestations in Severe Falciparum Malaria. *JAMA*. 23 mai 2007;297(20):2220.
22. Goheen MM, Campino S, Cerami C. The role of the red blood cell in host defence against falciparum malaria: an expanding repertoire of evolutionary alterations. *Br J Haematol*. nov 2017;179(4):543-56.
23. Goheen MM, Wegmüller R, Bah A, Darboe B, Danso E, Affara M, et al. Anemia Offers Stronger Protection Than Sickle Cell Trait Against the Erythrocytic Stage of Falciparum Malaria and This Protection Is Reversed by Iron Supplementation. *EBioMedicine*. 9 nov 2016;14:123-30.
24. Cyrklaff M, Sanchez CP, Kilian N, Bisseye C, Simpore J, Frischknecht F, et al. Hemoglobins S and C interfere with actin remodeling in *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *Science*. 2 déc 2011;334(6060):1283-6.
25. Cholera R, Brittain NJ, Gillrie MR, Lopera-Mesa TM, Diakité SAS, Arie T, et al. Impaired cytoadherence of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes containing sickle hemoglobin. *Proc Natl Acad Sci*. 22 janv 2008;105(3):991-6.
26. Wellems TE, Hayton K, Fairhurst RM. The impact of malaria parasitism: from corpuscles to communities. *J Clin Invest*. 1 sept 2009;119(9):2496-505.
27. Makani J, Komba AN, Cox SE, Oruo J, Mwamtemi K, Kitundu J, et al. Malaria in patients with sickle cell anemia: burden, risk factors, and outcome at the outpatient clinic and during hospitalization. *Blood*. 14 janv 2010;115(2):215-20.
28. Tsaras G, Owusu-Ansah A, Boateng FO, Amoateng-Adjepong Y. Complications associated with sickle cell trait: a brief narrative review. *Am J Med*. juin 2009;122(6):507-12.

29. Duployez N. Hématologie. Bruxelles [Paris]: De Boeck; 2015. (Prépa pharma).
30. Cavazzana M, Antoniani C, Miccio A. Gene Therapy for β -Hemoglobinopathies. *Mol Ther.* mai 2017;25(5):1142-54.
31. Dembele AK. Vasculopathie et inflammation dans la drépanocytose: i) étude des déterminants de la vasculopathie chronique en Afrique sub-saharienne: ii) dynamique inflammatoire des polynucléaires neutrophiles sous thérapeutiques transfusionnelles au sein d'une cohorte française.
32. Ikawa Y, Miccio A, Magrin E, Kwiatkowski JL, Rivella S, Cavazzana M. Gene therapy of hemoglobinopathies: progress and future challenges. *Hum Mol Genet.* 1 oct 2019;28(R1):R24-30.
33. Pathogenesis and Treatment of Sickle Cell Disease | NEJM. Disponible sur: https://www-nejm-org.ressources-electroniques.univ-lille.fr/doi/10.1056/NEJM199709113371107?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed
34. Les hémoglobines: de la structure aux fonctions - HTML5. Disponible sur: <http://pst.chez-alice.fr/protstfo.htm>
35. Sismeiro D, Le Reun B. Hématologie. Paris: Vernazobres-Gregio; 2012.
36. Ngwengi NY, Nde Fon P, Fon Mbanya D. Distribution of haemoglobin genotypes, knowledge, attitude and practices towards sickle cell disease among unmarried youths in the Buea Health District, Cameroon. *Pan Afr Med J.* 2020 ;37. Disponible sur: <https://www.panafrican-med-journal.com/content/article/37/109/full>
37. Girot R, Bégué P. [Sickle cell disease in childhood in 2004]. *Bull Acad Natl Med.* 2004;188(3):491-505; discussion 505-506.
38. Dahmani F, Benkirane S, Kouzih J, Woumki A, Mamad H, Masrar A. Etude de l'hémogramme dans la drépanocytose homozygote: à propos de 87 patients. *Pan Afr Med J.* 20 déc 2016;25:240.
39. Ryan K, Bain BJ, Worthington D, James J, Plews D, Mason A, et al. Significant haemoglobinopathies: guidelines for screening and diagnosis. *Br J Haematol.* 2010;149(1):35-49.
40. Girot R. [Treatment of thalassemia and sickle cell anemia in children]. *Ann Pediatr (Paris).* 1978;25(5-6):277-84.
41. Wonkam A, Mnika K, Ngo Bitoungui VJ, Chetcha Chemegni B, Chimusa ER, Dandara C, et al. Clinical and genetic factors are associated with pain and hospitalisation rates in sickle cell anaemia in Cameroon. *Br J Haematol.* janv 2018;180(1):134-46.
42. Pegelow M Charles H, Colangelo M Linda, Steinberg M Martin, Wright P Elizabeth C, Smith M Jeanne, Phillips M George, et al. Natural History of Blood Pressure in Sickle Cell Disease: Risks for Stroke and Death Associated with Relative Hypertension in Sickle Cell Anemia. *Am J Med.* 1 févr 1997;102(2):171-7.

43. Ohene-Frempong K, Weiner SJ, Sleeper LA, Miller ST, Embury S, Moohr JW, et al. Cerebrovascular Accidents in Sickle Cell Disease: Rates and Risk Factors. *Blood*. 1 janv 1998;91(1):288-94.
44. Kato GJ, Hsieh M, Machado R, Taylor J, Little J, Butman JA, et al. Cerebrovascular Disease Associated with Sickle Cell Pulmonary Hypertension. *Am J Hematol*. juill 2006;81(7):503-10.
45. Pulmonary Hypertension as a Risk Factor for Death in Patients with Sickle Cell Disease | NEJM [Internet]. [cité 17 mai 2023]. Disponible sur: https://www-nejm-org.ressources-electroniques.univ-lille.fr/doi/10.1056/NEJMoa035477?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200www.ncbi.nlm.nih.gov
46. Kato GJ, Gladwin MT, Steinberg MH. Deconstructing sickle cell disease: Reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood Rev*. 1 janv 2007;21(1):37-47.
47. La drépanocytose : La Maladie [Internet]. [cité 17 mai 2023]. Disponible sur: <http://drepaconseils.blogspot.com/2016/12/la-drepanocytose-la-maladie.html>
48. Rudy HL, Yang D, Nam AD, Cho W. Review of Sickle Cell Disease and Spinal Pathology. *Glob Spine J*. oct 2019;9(7):761-6.
49. Noguchi CT, Rodgers GP, Serjeant G, Schechter AN. <http://dx.doi.org.ressources-electroniques.univ-lille.fr/10.1056/NEJM198801143180207>. Massachusetts Medical Society; 2010 [cité 17 mai 2023]. Levels of Fetal Hemoglobin Necessary for Treatment of Sickle Cell Disease. Disponible sur: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM198801143180207>
50. Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, Milner PF, Castro O, Steinberg MH, et al. Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. *N Engl J Med*. 9 juin 1994;330(23):1639-44.
51. Platt OS, Thorington BD, Brambilla DJ, Milner PF, Rosse WF, Vichinsky E, et al. Pain in sickle cell disease. Rates and risk factors. *N Engl J Med*. 4 juill 1991;325(1):11-6.
52. Gilman JG, Huisman THJ. DNA Sequence Variation Associated With Elevated Fetal Gy Globin Production. *Blood*. 1 oct 1985;66(4):783-7.
53. Thein SL, Menzel S, Peng X, Best S, Jiang J, Close J, et al. Intergenic variants of HBS1L-MYB are responsible for a major quantitative trait locus on chromosome 6q23 influencing fetal hemoglobin levels in adults. *Proc Natl Acad Sci*. 3 juill 2007;104(27):11346-51.
54. Menzel S, Garner C, Gut I, Matsuda F, Yamaguchi M, Heath S, et al. A QTL influencing F cell production maps to a gene encoding a zinc-finger protein on chromosome 2p15. *Nat Genet*. oct 2007;39(10):1197-9.
55. Hoban MD, Orkin SH, Bauer DE. Genetic treatment of a molecular disorder: gene therapy approaches to sickle cell disease. *Blood*. 18 févr 2016;127(7):839-48.

56. Clinical Events in the First Decade in a Cohort of Infants With Sickle Cell Disease - ScienceDirect [Internet]. [cité 17 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com.ressources-electroniques.univ-lille.fr/science/article/pii/S0006497120768631?via%3Dihub>
57. Nau JY. Premiers succès de la thérapie génique contre la drépanocytose.
58. Comité régional de l'Afrique 60. Drépanocytose : une stratégie pour la Région africaine de l'OMS : rapport du Directeur régional [Internet]. OMS. Bureau régional de l'Afrique; 2011 mai [cité 17 mai 2023]. Report No.: AFR/RC60/8. Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/1727>
59. Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull World Health Organ.* juin 2008;86(6):480-7.
60. Ce qu'il faut savoir sur la drépanocytose . *Sante-pratique-paris.* 2021. Disponible sur: <https://sante-pratique-paris.fr/maladie/drepanocytose-quil-faut-savoir-cette-maladie-genetique/>
61. Ali MA, Ahmad A, Chaudry H, Aiman W, Aamir S, Anwar MY, et al. Efficacy and safety of recently approved drugs for sickle cell disease: a review of clinical trials. *Exp Hematol.* déc 2020;92:11-18.e1.
62. Makani J, Cox SE, Soka D, Komba AN, Oruo J, Mwamtemi H, et al. Mortality in sickle cell anemia in Africa: a prospective cohort study in Tanzania. *PloS One.* 16 févr 2011;6(2):e14699.
63. de Montalembert M, Ferster A, Colombatti R, Rees DC, Gulbis B, on behalf of the European Network for Rare and Congenital Anaemias. ENERCA clinical recommendations for disease management and prevention of complications of sickle cell disease in children. *Am J Hematol.* 2011;86(1):72-5.
64. Roger E, Letts M. Sickle cell disease of the spine in children. *Can J Surg.* août 1999;42(4):289-92.
65. Almeida A, Roberts I. Bone involvement in sickle cell disease. *Br J Haematol.* 2005;129(4):482-90.
66. Vanderhave KL, Perkins CA, Scannell B, Brighton BK. Orthopaedic Manifestations of Sickle Cell Disease. *J Am Acad Orthop Surg.* 1 févr 2018;26(3):94-101.
67. Reynolds J. A Re-evaluation of the « fish vertebra » sign in sickle cell hemoglobinopathy. *Am J Roentgenol.* juill 1966;97(3):693-707.
68. Puri L, Nottage KA, Hankins JS, Anghelescu DL. State of the Art Management of Acute Vaso-occlusive Pain in Sickle Cell Disease. *Paediatr Drugs.* févr 2018;20(1):29-42.
69. Wood KC, Hebbel RP, Granger DN. Endothelial cell NADPH oxidase mediates the cerebral microvascular dysfunction in sickle cell transgenic mice. *FASEB J.* 2005;19(8):989-91.

70. Frenette PS. Sickle cell vaso-occlusion: multistep and multicellular paradigm. *Curr Opin Hematol.* mars 2002;9(2):101-6.
71. Belcher JD, Bryant CJ, Nguyen J, Bowlin PR, Kielbik MC, Bischof JC, et al. Transgenic sickle mice have vascular inflammation. *Blood.* 15 mai 2003;101(10):3953-9.
72. Buisson AM, Kawchak DA, Schall J, Ohene-Frempong K, Stallings VA, Zemel BS. Low vitamin D status in children with sickle cell disease. *J Pediatr.* nov 2004;145(5):622-7.
73. Cerci SS, Suslu H, Cerci C, Yildiz M, Ozbek FM, Balci TA, et al. Different findings in Tc-99m MDP bone scintigraphy of patients with sickle cell disease: report of three cases. *Ann Nucl Med.* juill 2007;21(5):311-4.
74. Al-Tawfiq JA. *Bacteroides fragilis* bacteremia associated with vertebral osteomyelitis in a sickle cell patient. *Intern Med Tokyo Jpn.* 2008;47(24):2183-5.
75. Pollen AG. Bone Change in Hæmoglobin S-C Disease. *Proc R Soc Med.* sept 1961;54(9):822-3.
76. Buisson AM, Kawchak DA, Schall JI, Ohene-Frempong K, Stallings VA, Leonard MB, et al. Bone area and bone mineral content deficits in children with sickle cell disease. *Pediatrics.* oct 2005;116(4):943-9.
77. Gauthier M, Winikoff R. Meningeal signs and facial edema in a child with sickle cell disease. *CMAJ Can Med Assoc J.* 13 juill 2010;182(10):1069-72.
78. Seriola B, Paolino S, Sulli A, Ferretti V, Cutolo M. Bone metabolism changes during anti-TNF-alpha therapy in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci.* juin 2006;1069:420-7.
79. Mohammed S, Addae S, Suleiman S, Adzaku F, Annobil S, Kaddoumi O, et al. Serum calcium, parathyroid hormone, and vitamin D status in children and young adults with sickle cell disease. *Ann Clin Biochem.* janv 1993;30 (Pt 1):45-51.
80. Strouse JJ, Lanzkron S, Beach MC, Haywood C, Park H, Witkop C, et al. Hydroxyurea for sickle cell disease: a systematic review for efficacy and toxicity in children. *Pediatrics.* déc 2008;122(6):1332-42.
81. Lanzkron S, Strouse JJ, Wilson R, Beach MC, Haywood C, Park H, et al. Systematic review: Hydroxyurea for the treatment of adults with sickle cell disease. *Ann Intern Med.* 17 juin 2008;148(12):939-55.
82. Arlet JB. Avancées thérapeutiques dans la drépanocytose : vers des thérapies ciblées. *Rev Médecine Interne.* févr 2020;41(2):73-7.
83. Drepanocytose-FRfrPub125v01.pdf. Disponible sur: <https://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/Drepanocytose-FRfrPub125v01.pdf>
84. VIDAL. SIKLOS 1000 mg cp pellic séc. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/siklos-1000-mg-cp-pellic-sec-82425.html>

85. Demirci S, Uchida N, Tisdale JF. Gene therapy for sickle cell disease: An update. *Cytotherapy*. juill 2018;20(7):899-910.
86. Vichinsky E, Onyekwere O, Porter J, Swerdlow P, Eckman J, Lane P, et al. A randomised comparison of deferasirox versus deferoxamine for the treatment of transfusional iron overload in sickle cell disease. *Br J Haematol*. févr 2007;136(3):501-8.
87. Yazdanbakhsh K, Ware RE, Noizat-Pirenne F. Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease: pathophysiology, risk factors, and transfusion management. *Blood*. 19 juill 2012;120(3):528-37.
88. Waldron E, Tanhehco YC. Under the hood: The molecular biology driving gene therapy for the treatment of sickle cell disease. *Transfus Apher Sci*. oct 2022;61(5):103566.
89. Serjeant GR. Mortality from sickle cell disease in Africa. *BMJ*. 26 févr 2005;330(7489):432-3.
90. John AB, Ramlal A, Jackson H, Maude GH, Sharma AW, Serjeant GR. Prevention of pneumococcal infection in children with homozygous sickle cell disease. *Br Med J Clin Res Ed*. 26 mai 1984;288(6430):1567-70.
91. Adamkiewicz TV, Sarnaik S, Buchanan GR, Iyer RV, Miller ST, Pegelow CH, et al. Invasive pneumococcal infections in children with sickle cell disease in the era of penicillin prophylaxis, antibiotic resistance, and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccination. *J Pediatr*. oct 2003;143(4):438-44.
92. Leonard A, Tisdale J, Abraham A. Curative options for sickle cell disease: haploidentical stem cell transplantation or gene therapy? *Br J Haematol*. mai 2020;189(3):408-23.
93. Vichinsky E, Hurst D, Earles A, Kleman K, Lubin B. Newborn screening for sickle cell disease: effect on mortality. *Pediatrics*. juin 1988;81(6):749-55.
94. Drépanocytose de l'enfant - Prise en charge - VIDAL Evidal. Disponible sur: https://evidal-vidal-fr.ressources-electroniques.univ-lille.fr/recos/details/4032/drepanocytose_de_l_enfant/prise_en_charge
95. Field JJ, Macklin EA, Yan Y, Strunk RC, DeBaun MR. Sibling history of asthma is a risk factor for pain in children with sickle cell anemia. *Am J Hematol*. nov 2008;83(11):855-7.
96. Jacobson SJ, Kopecky EA, Joshi P, Babul N. Randomised trial of oral morphine for painful episodes of sickle-cell disease in children. *Lancet Lond Engl*. 8 nov 1997;350(9088):1358-61.
97. NCEPOD - Sickle: A Sickle Crisis? Report (2008). Disponible sur: <https://www.ncepod.org.uk/2008sc.html>
98. Griffin TC, McIntire D, Buchanan GR. High-dose intravenous methylprednisolone therapy for pain in children and adolescents with sickle cell disease. *N Engl J Med*. 17 mars 1994;330(11):733-7.

99. Sundd P, Gladwin MT, Novelli EM. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. *Annu Rev Pathol.* 24 janv 2019;14:263-92.
100. Vichinsky EP, Neumayr LD, Earles AN, Williams R, Lennette ET, Dean D, et al. Causes and outcomes of the acute chest syndrome in sickle cell disease. National Acute Chest Syndrome Study Group. *N Engl J Med.* 22 juin 2000;342(25):1855-65.
101. Bernini JC, Rogers ZR, Sandler ES, Reisch JS, Quinn CT, Buchanan GR. Beneficial effect of intravenous dexamethasone in children with mild to moderately severe acute chest syndrome complicating sickle cell disease. *Blood.* 1 nov 1998;92(9):3082-9.
102. Switzer JA, Hess DC, Nichols FT, Adams RJ. Pathophysiology and treatment of stroke in sickle-cell disease: present and future. *Lancet Neurol.* juin 2006;5(6):501-12.
103. Verduzco LA, Nathan DG. Sickle cell disease and stroke. *Blood.* 10 déc 2009;114(25):5117-25.
104. Burnett MW, Bass JW, Cook BA. Etiology of osteomyelitis complicating sickle cell disease. *Pediatrics.* févr 1998;101(2):296-7.
105. Lal A, Fung EB, Pakbaz Z, Hackney-Stephens E, Vichinsky EP. Bone mineral density in children with sickle cell anemia. *Pediatr Blood Cancer.* déc 2006;47(7):901-6.
106. Readett DR, Morris J, Serjeant GR. Determinants of nocturnal enuresis in homozygous sickle cell disease. *Arch Dis Child.* 1 juin 1990;65(6):615-8.
107. Bhatia M, Walters MC. Hematopoietic cell transplantation for thalassemia and sickle cell disease: past, present and future. *Bone Marrow Transplant.* janv 2008;41(2):109-17.
108. Bolaños-Meade J, Fuchs EJ, Luznik L, Lanzkron SM, Gamper CJ, Jones RJ, et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation with posttransplant cyclophosphamide expands the donor pool for patients with sickle cell disease. *Blood.* 22 nov 2012;120(22):4285-91.
109. Bolaños-Meade J, Reshef R, Fraser R, Fei M, Abhyankar S, Al-Kadhimi Z, et al. Prevention of graft versus host disease with Hematopoietic Cell Transplantation with Reduced Intensity Conditioning—a comparison of three prophylaxis regimens (tacrolimus/mycophenolate mofetil/cyclophosphamide, tacrolimus/methotrexate/bortezomib or tacrolimus/methotrexate/maraviroc) versus tacrolimus/methotrexate: a randomised phase 2 trial with a non-randomised contemporaneous control group (BMT CTN 1203). *Lancet Haematol.* mars 2019;6(3):e132-43.
110. Sosglobi. Adakveo, un nouveau traitement de la drépanocytose autorisé en Europe! . SOS GLOBI. 2020. Disponible sur: <https://sosglobi.fr/actualites/adakveo-un-nouveau-traitement-de-la-drepanocytose-autorise-en-europe/>
111. VIDAL. ADAKVEO. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/gammes/adakveo-99877.html>
112. Haute Autorité de Santé. ADAKVEO (crizanlizumab). Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3264981/en/adakveo-crizanlizumab

113. Ataga KI, Kutlar A, Kanter J, Liles D, Cancado R, Friedrich J, et al. Crizanlizumab for the Prevention of Pain Crises in Sickle Cell Disease. *N Engl J Med.* 2 févr 2017;376(5):429-39.
114. VIDAL. Drépanocytose : évaluation européenne des nouvelles données cliniques relatives à ADAKVEO. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/30091-drepanocytose-evaluation-europeenne-des-nouvelles-donnees-cliniques-relatives-a-adakveo.html>
115. VIDAL. Drépanocytose : ADAKVEO perd son AMM. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/30285-drepanocytose-adakveo-perd-son-amm.html>
116. Sagonowsky Nov 25 E, 2019 04:26pm. Fierce Pharma 2019. Global Blood Therapeutics scores blockbuster FDA nod for Oxbryta, forecasts « paradigm shift » in sickle cell disease. Disponible sur: <https://www.fiercepharma.com/pharma/global-blood-therapeutics-scores-fda-nod-for-oxbryta-and-execs-expect-a-paradigm-shift>
117. VIDAL. OXBRYTA 500 mg cp pellic. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/oxbryta-500-mg-cp-pellic-234532.html>
118. Haute Autorité de Santé. OXBRYTA (voxelotor). Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3348627/fr/oxbryta-voxelotor
119. Kanter J, Falcon C. Gene therapy for sickle cell disease: where we are now? *Hematology.* 10 déc 2021;2021(1):174-80.
120. Arnould DJP. Accompagnement du patient drépanocytaire à l'officine dans le cadre de la loi HPST.
121. Facteurs environnementaux - Association Pour l'Information et la Prévention de la Drépanocytose 2020. Disponible sur: <https://apipd.fr/drepanocytose/facteurs-environnementaux/>
122. Redwood AM, Williams EM, Desal P, Serjeant GR. Climate and painful crisis of sickle-cell disease in Jamaica. *Br Med J.* 10 janv 1976;1(6001):66-8.
123. Jones S, Duncan ER, Thomas N, Walters J, Dick MC, Height SE, et al. Windy weather and low humidity are associated with an increased number of hospital admissions for acute pain and sickle cell disease in an urban environment with a maritime temperate climate. *Br J Haematol.* nov 2005;131(4):530-3.
124. Mesures simples de prévention : Règles d'or - Association Pour l'Information et la Prévention de la Drépanocytose 2013. Disponible sur: <https://apipd.fr/drepanocytose/traitements-et-bonnes-pratiques/>
125. Curtis SA, Novelli EM. Is CBD ready for prime time in sickle cell disease? *Blood.* 12 janv 2023;141(2):132-3.
126. ANSM. Nos missions - Les produits biologiques. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/qui-sommes-nous/notre-perimetre/les-produits-biologiques/p/les-produits-biologiques-1>

127. Wirth T, Parker N, Ylä-Herttuala S. History of gene therapy. *Gene*. août 2013;525(2):162-9.
128. Research C for BE and. What is Gene Therapy? FDA 12 sept 2020; Disponible sur: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/what-gene-therapy>
129. Griffith F. The Significance of Pneumococcal Types. *J Hyg (Lond)*. janv 1928;27(2):113-59.
130. Dawson MH, Sia RH. In vitro transformation of pneumococcal types : i. a technique for inducing transformation of pneumococcal types in vitro. *J Exp Med*. 31 oct 1931;54(5):681-99.
131. Alloway JL. The transformation in vitro of r pneumococci into s forms of different specific types by the use of filtered pneumococcus extracts. *J Exp Med*. 1 janv 1932;55(1):91-9.
132. Avery OT, MacLeod CM, McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from *Pneumococcus* type III. 1944. *Mol Med Camb Mass*. mai 1995;1(4):344-65.
133. Dykhuizen DE, Green L. Recombination in *Escherichia coli* and the definition of biological species. *J Bacteriol*. nov 1991;173(22):7257-68.
134. Zinder ND, Lederberg J. Genetic exchange in *Salmonella*. *J Bacteriol*. nov 1952;64(5):679-99.
135. Szybalska EH, Szybalski W. Genetics of human cell line. IV. DNA-mediated heritable transformation of a biochemical trait. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 15 déc 1962;48(12):2026-34.
136. Temin HM. Mixed infection with two types of Rous sarcoma virus. *Virology*. févr 1961;13:158-63.
137. Tatum EL. Molecular biology, nucleic acids, and the future of medicine. *Perspect Biol Med*. 1966;10(1):19-32.
138. Sambrook J, Westphal H, Srinivasan PR, Dulbecco R. The integrated state of viral DNA in SV40-transformed cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. août 1968;60(4):1288-95.
139. Rogers S, Lowenthal A, Terheggen HG, Columbo JP. Induction of arginase activity with the Shope papilloma virus in tissue culture cells from an argininemic patient. *J Exp Med*. 1 avr 1973;137(4):1091-6.
140. Mercola KE, Stang HD, Browne J, Salser W, Cline MJ. Insertion of a new gene of viral origin into bone marrow cells of mice. *Science*. 30 mai 1980;208(4447):1033-5.
141. Beutler E. The Cline affair. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther*. nov 2001;4(5):396-7.

142. Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, Solomon D, Topalian SL, Toy ST, et al. Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report. *N Engl J Med.* 22 déc 1988;319(25):1676-80.
143. Rosenberg SA, Aebersold P, Cornetta K, Kasid A, Morgan RA, Moen R, et al. Gene Transfer into Humans — Immunotherapy of Patients with Advanced Melanoma, Using Tumor-Infiltrating Lymphocytes Modified by Retroviral Gene Transduction. *N Engl J Med.* 30 août 1990;323(9):570-8.
144. Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, de Saint Basile G, Gross F, Yvon E, Nusbaum P, et al. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science.* 28 avr 2000;288(5466):669-72.
145. Boztug K, Schmidt M, Schwarzer A, Banerjee PP, Díez IA, Dewey RA, et al. Stem-Cell Gene Therapy for the Wiskott–Aldrich Syndrome. *N Engl J Med.* 11 nov 2010;363(20):1918-27.
146. Gaspar HB. Gene therapy for ADA-SCID: defining the factors for successful outcome. *Blood.* 1 nov 2012;120(18):3628-9.
147. Yu KR, Natanson H, Dunbar CE. Gene Editing of Human Hematopoietic Stem and Progenitor Cells: Promise and Potential Hurdles. *Hum Gene Ther.* oct 2016;27(10):729-40.
148. Porteus MH, Carroll D. Gene targeting using zinc finger nucleases. *Nat Biotechnol.* août 2005;23(8):967-73.
149. Esrick EB, Lehmann LE, Biffi A, Achebe M, Brendel C, Ciuculescu MF, et al. Post-Transcriptional Genetic Silencing of BCL11A to Treat Sickle Cell Disease. *N Engl J Med.* 21 janv 2021;384(3):205-15.
150. Germino-Watnick P, Hinds M, Le A, Chu R, Liu X, Uchida N. Hematopoietic Stem Cell Gene-Addition/Editing Therapy in Sickle Cell Disease. *Cells.* 4 juin 2022;11(11):1843.
151. Mali P, Ye Z, Hommond HH, Yu X, Lin J, Chen G, et al. Improved efficiency and pace of generating induced pluripotent stem cells from human adult and fetal fibroblasts. *Stem Cells Dayt Ohio.* août 2008;26(8):1998-2005.
152. Chou BK, Mali P, Huang X, Ye Z, Dowey SN, Resar LM, et al. Efficient human iPS cell derivation by a non-integrating plasmid from blood cells with unique epigenetic and gene expression signatures. *Cell Res.* mars 2011;21(3):518-29.
153. Cottle RN, Lee CM, Bao G. Treating hemoglobinopathies using gene-correction approaches: promises and challenges. *Hum Genet.* sept 2016;135(9):993-1010.
154. Redman M, King A, Watson C, King D. What is CRISPR/Cas9? *Arch Dis Child - Educ Pract Ed.* août 2016;101(4):213-5.
155. Barrangou R, Fremaux C, Deveau H, Richards M, Boyaval P, Moineau S, et al. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science.* 23 mars 2007;315(5819):1709-12.

156. Lander ES. The Heroes of CRISPR. *Cell*. 14 janv 2016;164(1-2):18-28.
157. Jiang F, Doudna JA. CRISPR-Cas9 Structures and Mechanisms. *Annu Rev Biophys*. 22 mai 2017;46:505-29.
158. Makarova KS, Wolf YI, Alkhnbashi OS, Costa F, Shah SA, Saunders SJ, et al. An updated evolutionary classification of CRISPR-Cas systems. *Nat Rev Microbiol*. nov 2015;13(11):722-36.
159. Wang JY, Pausch P, Doudna JA. Structural biology of CRISPR-Cas immunity and genome editing enzymes. *Nat Rev Microbiol*. nov 2022;20(11):641-56.
160. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*. 17 août 2012;337(6096):816-21.
161. Yamano T, Nishimasu H, Zetsche B, Hirano H, Slaymaker IM, Li Y, et al. Crystal Structure of Cpf1 in Complex with Guide RNA and Target DNA. *Cell*. 5 mai 2016;165(4):949-62.
162. Zou J, Mali P, Huang X, Dowey SN, Cheng L. Site-specific gene correction of a point mutation in human iPSCs derived from an adult patient with sickle cell disease. *Blood*. 27 oct 2011;118(17):4599-608.
163. Yang Y, Zhang X, Yi L, Hou Z, Chen J, Kou X, et al. Naïve Induced Pluripotent Stem Cells Generated From β -Thalassemia Fibroblasts Allow Efficient Gene Correction With CRISPR/Cas9. *Stem Cells Transl Med*. janv 2016;5(1):8-19.
164. Xie F, Ye L, Chang JC, Beyer AI, Wang J, Muench MO, et al. Seamless gene correction of β -thalassemia mutations in patient-specific iPSCs using CRISPR/Cas9 and piggyBac. *Genome Res*. sept 2014;24(9):1526-33.
165. White SL, Hart K, Kohn DB. Diverse Approaches to Gene Therapy of Sickle Cell Disease. *Annu Rev Med*. 27 janv 2023;74(1):473-87.
166. Genovese P, Schirotti G, Escobar G, Tomaso TD, Firrito C, Calabria A, et al. Targeted genome editing in human repopulating haematopoietic stem cells. *Nature*. 12 juin 2014;510(7504):235-40.
167. John A, Brylka H, Wiegrefe C, Simon R, Liu P, Jüttner R, et al. Bcl11a is required for neuronal morphogenesis and sensory circuit formation in dorsal spinal cord development. *Dev Camb Engl*. mai 2012;139(10):1831-41.
168. Canver MC, Smith EC, Sher F, Pinello L, Sanjana NE, Shalem O, et al. BCL11A enhancer dissection by Cas9-mediated in situ saturating mutagenesis. *Nature*. 12 nov 2015;527(7577):192-7.
169. Bauer DE, Kamran SC, Lessard S, Xu J, Fujiwara Y, Lin C, et al. An erythroid enhancer of BCL11A subject to genetic variation determines fetal hemoglobin level. *Science*. 11 oct 2013;342(6155):253-7.

170. Tan S, Chang KH, Smith S, Chen K, Sullivan T, Zhou Q, et al. Genome Editing of the Bcl11A Erythroid Specific Enhancer in Bone Marrow Derived Hematopoietic Stem and Progenitor Cells for the Treatment of Sickle Cell Disease. *Blood*. 3 déc 2015;126(23):203.
171. Chang KH, Smith SE, Sullivan T, Chen K, Zhou Q, West JA, et al. Long-Term Engraftment and Fetal Globin Induction upon BCL11A Gene Editing in Bone-Marrow-Derived CD34+ Hematopoietic Stem and Progenitor Cells. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 17 mars 2017;4:137-48.
172. Traxler EA, Yao Y, Wang YD, Woodard KJ, Kurita R, Nakamura Y, et al. A genome-editing strategy to treat β -hemoglobinopathies that recapitulates a mutation associated with a benign genetic condition. *Nat Med*. sept 2016;22(9):987-90.
173. Ye L, Wang J, Tan Y, Beyer AI, Xie F, Muench MO, et al. Genome editing using CRISPR-Cas9 to create the HPFH genotype in HSPCs: An approach for treating sickle cell disease and β -thalassemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 20 sept 2016;113(38):10661-5.
174. LaFontaine JS, Fathe K, Smyth HDC. Delivery and therapeutic applications of gene editing technologies ZFNs, TALENs, and CRISPR/Cas9. *Int J Pharm*. 15 oct 2015;494(1):180-94.
175. Shim G, Kim D, Park GT, Jin H, Suh SK, Oh YK. Therapeutic gene editing: delivery and regulatory perspectives. *Acta Pharmacol Sin*. juin 2017;38(6):738-53.
176. Cox DBT, Platt RJ, Zhang F. Therapeutic genome editing: prospects and challenges. *Nat Med*. févr 2015;21(2):121-31.
177. Varagnolo L, Lin Q, Obier N, Plass C, Dietl J, Zenke M, et al. PRC2 inhibition counteracts the culture-associated loss of engraftment potential of human cord blood-derived hematopoietic stem and progenitor cells. *Sci Rep*. 22 juill 2015;5:12319.
178. Czechowicz A, Kraft D, Weissman IL, Bhattacharya D. Efficient transplantation via antibody-based clearance of hematopoietic stem cell niches. *Science*. 23 nov 2007;318(5854):1296-9.
179. Palchaudhuri R, Saez B, Hoggatt J, Schajnovitz A, Sykes DB, Tate TA, et al. Non-genotoxic conditioning for hematopoietic stem cell transplantation using a hematopoietic-cell-specific internalizing immunotoxin. *Nat Biotechnol*. juill 2016;34(7):738-45.
180. Sebastiano V, Maeder ML, Angstman JF, Haddad B, Khayter C, Yeo DT, et al. In situ genetic correction of the sickle cell anemia mutation in human induced pluripotent stem cells using engineered zinc finger nucleases. *Stem Cells Dayt Ohio*. nov 2011;29(11):1717-26.
181. Hoban MD, Cost GJ, Mendel MC, Romero Z, Kaufman ML, Joglekar AV, et al. Correction of the sickle cell disease mutation in human hematopoietic stem/progenitor cells. *Blood*. 23 avr 2015;125(17):2597-604.
182. Sun N, Liang J, Abil Z, Zhao H. Optimized TAL effector nucleases (TALENs) for use in treatment of sickle cell disease. *Mol Biosyst*. avr 2012;8(4):1255-63.

183. Sun N, Zhao H. Seamless correction of the sickle cell disease mutation of the HBB gene in human induced pluripotent stem cells using TALENs. *Biotechnol Bioeng.* mai 2014;111(5):1048-53.
184. Hoban MD, Lumaquin D, Kuo CY, Romero Z, Long J, Ho M, et al. CRISPR/Cas9-Mediated Correction of the Sickle Mutation in Human CD34+ cells. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther.* sept 2016;24(9):1561-9.
185. Hughes SH. Reverse Transcription of Retroviruses and LTR Retrotransposons. *Microbiol Spectr.* avr 2015;3(2):MDNA3-0027-2014.
186. Demeulemeester J, De Rijck J, Gijbbers R, Debysers Z. Retroviral integration: Site matters: Mechanisms and consequences of retroviral integration site selection. *BioEssays News Rev Mol Cell Dev Biol.* nov 2015;37(11):1202-14.
187. Milone MC, O'Doherty U. Clinical use of lentiviral vectors. *Leukemia.* juill 2018;32(7):1529-41.
188. Dull T, Zufferey R, Kelly M, Mandel RJ, Nguyen M, Trono D, et al. A third-generation lentivirus vector with a conditional packaging system. *J Virol.* nov 1998;72(11):8463-71.
189. Laetsch TW, Maude SL, Milone MC, Davis KL, Krueger J, Cardenas AM, et al. False-positive results with select HIV-1 NAT methods following lentivirus-based tisagenlecleucel therapy. *Blood.* 7 juin 2018;131(23):2596-8.
190. Pawliuk R, Westerman KA, Fabry ME, Payen E, Tighe R, Bouhassira EE, et al. Correction of sickle cell disease in transgenic mouse models by gene therapy. *Science.* 14 déc 2001;294(5550):2368-71.
191. McCune SL, Reilly MP, Chomo MJ, Asakura T, Townes TM. Recombinant human hemoglobins designed for gene therapy of sickle cell disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 11 oct 1994;91(21):9852-6.
192. Levasseur DN, Ryan TM, Reilly MP, McCune SL, Asakura T, Townes TM. A recombinant human hemoglobin with anti-sickling properties greater than fetal hemoglobin. *J Biol Chem.* 25 juin 2004;279(26):27518-24.
193. Conley CL, Weatherall DJ, Richardson SN, Shepard MK, Charache S. Hereditary persistence of fetal hemoglobin: a study of 79 affected persons in 15 Negro families in Baltimore. *Blood.* mars 1963;21:261-81.
194. Stamatoyannopoulos G, Wood WG, Papayannopoulou T, Nute PE. A new form of hereditary persistence of fetal hemoglobin in blacks and its association with sickle cell trait. *Blood.* nov 1975;46(5):683-92.
195. Hebbel RP, Boogaerts MA, Eaton JW, Steinberg MH. Erythrocyte adherence to endothelium in sickle-cell anemia. A possible determinant of disease severity. *N Engl J Med.* 1 mai 1980;302(18):992-5.
196. Moreau-Gaudry F, Xia P, Jiang G, Perelman NP, Bauer G, Ellis J, et al. High-level erythroid-specific gene expression in primary human and murine hematopoietic cells with self-inactivating lentiviral vectors. *Blood.* 1 nov 2001;98(9):2664-72.

197. Deng W, Lee J, Wang H, Miller J, Reik A, Gregory PD, et al. Controlling long-range genomic interactions at a native locus by targeted tethering of a looping factor. *Cell*. 8 juin 2012;149(6):1233-44.
198. Wilber A, Tschulena U, Hargrove PW, Kim YS, Persons DA, Barbas CF, et al. A zinc-finger transcriptional activator designed to interact with the gamma-globin gene promoters enhances fetal hemoglobin production in primary human adult erythroblasts. *Blood*. 15 avr 2010;115(15):3033-41.
199. Thein SL, Menzel S, Lathrop M, Garner C. Control of fetal hemoglobin: new insights emerging from genomics and clinical implications. *Hum Mol Genet*. 15 oct 2009;18(R2):R216-223.
200. Xu J, Peng C, Sankaran VG, Shao Z, Esrick EB, Chong BG, et al. Correction of sickle cell disease in adult mice by interference with fetal hemoglobin silencing. *Science*. 18 nov 2011;334(6058):993-6.
201. Pule GD, Ngo Bitoungui VJ, Chetcha Chemegni B, Kengne AP, Antonarakis S, Wonkam A. Association between Variants at *BCL11A* Erythroid-Specific Enhancer and Fetal Hemoglobin Levels among Sickle Cell Disease Patients in Cameroon: Implications for Future Therapeutic Interventions. *OMICS J Integr Biol*. oct 2015;19(10):627-31.
202. Funnell APW, Prontera P, Ottaviani V, Piccione M, Giambona A, Maggio A, et al. 2p15-p16.1 microdeletions encompassing and proximal to *BCL11A* are associated with elevated HbF in addition to neurologic impairment. *Blood*. 2 juill 2015;126(1):89-93.
203. Sankaran VG, Menne TF, Xu J, Akie TE, Lettre G, Van Handel B, et al. Human fetal hemoglobin expression is regulated by the developmental stage-specific repressor *BCL11A*. *Science*. 19 déc 2008;322(5909):1839-42.
204. Basak A, Hancarova M, Ulirsch JC, Balci TB, Trkova M, Pelisek M, et al. *BCL11A* deletions result in fetal hemoglobin persistence and neurodevelopmental alterations. *J Clin Invest*. juin 2015;125(6):2363-8.
205. Bianchi E, Zini R, Salati S, Tenedini E, Norfo R, Tagliafico E, et al. *c-myb* supports erythropoiesis through the transactivation of *KLF1* and *LMO2* expression. *Blood*. 25 nov 2010;116(22):e99-110.
206. Borg J, Papadopoulos P, Georgitsi M, Gutiérrez L, Grech G, Fanis P, et al. Haploinsufficiency for the erythroid transcription factor *KLF1* causes hereditary persistence of fetal hemoglobin. *Nat Genet*. sept 2010;42(9):801-5.
207. Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K, Tuschl T. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature*. 24 mai 2001;411(6836):494-8.
208. Bofill-De Ros X, Gu S. Guidelines for the optimal design of miRNA-based shRNAs. *Methods San Diego Calif*. 1 juill 2016;103:157-66.
209. Rao DD, Vorhies JS, Senzer N, Nemunaitis J. siRNA vs. shRNA: similarities and differences. *Adv Drug Deliv Rev*. 25 juill 2009;61(9):746-59.

210. Liu J, Carmell MA, Rivas FV, Marsden CG, Thomson JM, Song JJ, et al. Argonaute2 is the catalytic engine of mammalian RNAi. *Science*. 3 sept 2004;305(5689):1437-41.
211. Takekoshi KJ, Oh YH, Westerman KW, London IM, Leboulch P. Retroviral transfer of a human beta-globin/delta-globin hybrid gene linked to beta locus control region hypersensitive site 2 aimed at the gene therapy of sickle cell disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 28 mars 1995;92(7):3014-8.
212. Ribeil JA, Hacein-Bey-Abina S, Payen E, Magnani A, Semeraro M, Magrin E, et al. Gene Therapy in a Patient with Sickle Cell Disease. *N Engl J Med*. 2 mars 2017;376(9):848-55.
213. ANSM. Essais cliniques : procédure standard pour la constitution et le traitement des demandes pour des produits biologiques. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/page/essais-cliniques-procedure-standard-pour-la-constitution-et-le-traitement-des-demandes-pour-des-produits-biologiques>
214. Gavin DK. Advanced Topics: Successful Development of Quality Cell and Gene Therapy Products.
215. Wilkinson AC, Dever DP, Baik R, Camarena J, Hsu I, Charlesworth CT, et al. Cas9-AAV6 gene correction of beta-globin in autologous HSCs improves sickle cell disease erythropoiesis in mice. *Nat Commun*. 29 janv 2021;12(1):686.
216. Li Y, Maule J, Neff JL, McCall CM, Rapisardo S, Lagoo AS, et al. Myeloid neoplasms in the setting of sickle cell disease: an intrinsic association with the underlying condition rather than a coincidence; report of 4 cases and review of the literature. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. déc 2019;32(12):1712-26.
217. Leonard A, Tisdale JF. A pause in gene therapy: Reflecting on the unique challenges of sickle cell disease. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther*. 7 avr 2021;29(4):1355-6.
218. Mamcarz E, Zhou S, Lockey T, Abdelsamed H, Cross SJ, Kang G, et al. Lentiviral Gene Therapy Combined with Low-Dose Busulfan in Infants with SCID-X1. *N Engl J Med*. 18 avr 2019;380(16):1525-34.
219. Métais JY, Doerfler PA, Mayuranathan T, Bauer DE, Fowler SC, Hsieh MM, et al. Genome editing of HBG1 and HBG2 to induce fetal hemoglobin. *Blood Adv*. 12 nov 2019;3(21):3379-92.
220. Sullivan KM, Horwitz M, Osunkwo I, Shah N, Strouse JJ. Shared Decision-Making in Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Sickle Cell Disease. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. mai 2018;24(5):883-4.
221. Grimley M, Asnani M, Shrestha A, Felker S, Lutzko C, Arumugam PI, et al. Early Results from a Phase 1/2 Study of Aru-1801 Gene Therapy for Sickle Cell Disease (SCD): Manufacturing Process Enhancements Improve Efficacy of a Modified Gamma Globin Lentivirus Vector and Reduced Intensity Conditioning Transplant. *Blood*. 5 nov 2020;136(Supplement 1):20-1.
222. Vichinsky EP, Earles A, Johnson RA, Hoag MS, Williams A, Lubin B. Alloimmunization in sickle cell anemia and transfusion of racially unmatched blood. *N*

Engl J Med. 7 juin 1990;322(23):1617-21.

223. Ferguson E, Dawe-Lane E, Khan Z, Reynolds C, Davison K, Edge D, et al. Trust and distrust: Identifying recruitment targets for ethnic minority blood donors. *Transfus Med.* août 2022;32(4):276-87.
224. admin. Etablissement français du sang. 2021. Tout savoir sur les sangs rares. Disponible sur: <https://dondesang.efs.sante.fr/articles/tout-savoir-sur-les-sangs-rares>
225. Haute Autorité de Santé. La HAS recommande la généralisation du dépistage de la drépanocytose à la naissance. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3385623/fr/la-has-recommande-la-generalisation-du-depistage-de-la-drepanocytose-a-la-naissance

Université de Lille
FACULTÉ DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2022/2023

Nom : CHOPNGUI NGOUNOU

Prénom : Cindy

Titre de la thèse : Thérapie génique, une nouvelle approche de la drépanocytose

Mots-clés : drépanocytose/ thérapie génique/ anémie falciforme/ hémoglobinopathie/ addition de gène/ silençage génique

Résumé :

La drépanocytose est une hémoglobinopathie héréditaire monogénique de transmission récessive. La perte de la solubilité de l'hémoglobine S mutée provoquant une déformation des globules rouges en forme de faucilles (sickle), est à l'origine de l'hypoxie et des crises vaso-occlusives caractéristiques de cette pathologie. La prise en charge thérapeutique des patients repose sur les échanges transfusionnels, l'utilisation de l'hydroxyurée et d'antalgiques de classe III. Plus récemment, le voxelotor et le crizanlizumab ont fait leur arrivée en usage hospitalier. Dans cet arsenal thérapeutique, la thérapie génique a fait son apparition dans le traitement de la drépanocytose. La rémission des signes de la maladie chez le premier patient traité par thérapie génique en France a montré un vrai bénéfice thérapeutique et un véritable espoir thérapeutique. De manière générale, les résultats des études cliniques de thérapie génique sont plutôt prometteurs et encourageants. Le coût onéreux de la thérapie génique doit être mis en perspective avec le coût des traitements et des prises en charges évitées.

Membres du jury :

Président : Monsieur le Docteur CARNOY Christophe, Professeur des Universités, à l'Université de Lille

Assesseur : Monsieur le Docteur TAGZIRT Madjid, Maître de conférences, à l'Université de Lille

Membres extérieurs : Madame la Docteure Sandy-Caroll TCHOFFO, titulaire d'officine, à la pharmacie Moulins-Déliot à Lille

Monsieur le Docteur Thierry DZUKOU, pédiatre hospitalier, au CH Sambre Avesnois à Maubeuge