

**UNIVERSITÉ DE NANTES**

---

**FACULTÉ DE MÉDECINE**

---

Année : 2021

N° 2021-155

**THÈSE**

pour le

**DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

DES Biologie Médicale

par

Yoann PAILLER

---

Présentée et soutenue publiquement le 04 octobre 2021

---

**Étude clinico-biologique du métabolisme osseux chez le patient hémophile  
(Protocole BoHem)**

---

Présidente : Madame le Professeur Marie-Christine BÉNÉ

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Marc FOUASSIER

**UNIVERSITÉ DE NANTES**

---

**FACULTÉ DE MÉDECINE**

---

Année : 2021

N°

**THÈSE**

pour le

**DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

DES Biologie Médicale

par

Yoann PAILLER

---

Présentée et soutenue publiquement le 04 octobre 2021

---

**Étude clinico-biologique du métabolisme osseux chez le patient hémophile  
(Protocole BoHem)**

---

Présidente : Madame le Professeur Marie-Christine BÉNÉ

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Marc FOUASSIER

# REMERCIEMENTS

*A notre Pr. sidente de jury, Madame le Professeur Marie-Christine B. NÉ,*

Merci pour l'honneur que vous me faites en acceptant la pr. sidence de ce jury. Je vous remercie pour votre bienveillance à chacun de mes passages dans votre service. Je vous suis très reconnaissant pour tous les enseignements que vous nous avez transmis depuis le début de l'internat, et pour votre implication dans ma formation. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect.

*A mon Directeur de thèse, Monsieur le Docteur Marc FOUASSIER,*

Je te suis très reconnaissant d'avoir dirigé cette thèse et de m'avoir toujours soutenu et encouragé pour mener à bien ce travail. Je te remercie pour ton investissement, ta patience, ta disponibilité et tes corrections avisées tout au long de ce parcours. Au-delà de la thèse, j'ai beaucoup appris à tes côtés en hémostase en tant qu'interne et je t'en remercie.

*Aux membres du jury,*

**Monsieur le Professeur Damien MASSON,**

Merci d'avoir accepté de participer à ce jury. Il était important pour moi de finir mon cursus en t'invitant à ma thèse. Ta présence a été stimulante à un moment charnière de mon internat. Merci pour ta générosité, ta disponibilité et ta sympathie au quotidien.

**Monsieur le Professeur Dominique HEYMANN,**

Merci pour votre présence à ma soutenance de thèse et pour l'intérêt que vous portez à ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.

**Madame le Docteur Pascale GUILLOT,**

Merci d'avoir accepté de participer à ce jury. Vous me faites l'honneur de juger ce travail, auquel vous avez énormément contribué. Veuillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

**Monsieur le Docteur Marion ÉVEILLARD,**

Merci d'avoir accepté de participer à l'évaluation de ce travail. Je te remercie pour tes conseils et toutes les connaissances transmises lors de chacun de mes stages en hématologie.

Un grand merci à **Madame BODIN Sabrina**, pour votre disponibilité et votre réactivité,

Aux infirmières d'hémostase **Betty, Isabelle et Françoise** pour votre travail et votre adaptabilité au quotidien, votre disponibilité et votre gentillesse. Vous avez été d'un grand soutien et d'une aide précieuse pour la réalisation de ce projet.

**Madame GAULTIER Aurélie**, un grand merci pour vos conseils, et tout votre travail concernant les analyses statistiques.

**Cécile BRAUDEAU**, je te remercie pour ta disponibilité et ton aide apportée à ce projet, avec la réalisation des analyses multiplex.

*Aux techniciennes de RIA*, je vous remercie pour m'avoir aidé dans cette étude.

*A toute l'équipe du laboratoire d'hématologie*, biologistes et techniciennes, Merci pour l'accueil que vous m'avez toujours réservé à chacun de mes stages, ce fut un réel plaisir d'apprendre à vos côtés.

*A mes co-internes de biologie médicale*, pour toutes ces belles années d'internat passées ensemble.

*A mes amis de longue date*, les membres du VYJABOFETH (ils se reconnaîtront), malgré l'éloignement, vous êtes mon ancre bretonne depuis longtemps et pour longtemps je l'espère.

*A mes amis de la faculté de médecine de BREST*, la fameuse bande d'Ours (ils se reconnaîtront également) constituée de personnes aussi géniales qu'atypiques. Sans vous la vie manquerait de piment. Je vous remercie pour votre soutien, votre bienveillance et pour tous les bons moments passés ensemble.

*A tous mes amis de Nantes*, et tout particulièrement mes anciens colocataires, François et Paco mais également, Antoine, Alix, Marie-Sophie, Sébastien et Amélie, tant de soirées surprenantes passées à vos côtés.

**A l'ensemble de ma famille**, merci pour votre soutien et votre bienveillance depuis toujours. Je sais que vous devez être fiers et j'espère pouvoir partager cela prochainement avec vous.

*A ma famille*, mes parents, ma sœur Céline, Je ne vous remercierai jamais assez pour votre soutien infailible et indispensable pendant ces très nombreuses années d'étude. Merci d'avoir toujours été là pour moi et pour tous les bons moments passés ensemble.

A **Marion**, Merci pour tout ce chemin parcouru ensemble et pour toutes les belles choses de la vie à venir. Pour ta douceur et tes encouragements tout au long de ce travail. Ta présence et ton inconditionnel soutien me sont indispensables.

A ceux que j'ai oubliés, veuillez me pardonner.

## Liste des abréviations

<b>CCR2</b>	Chemokine-C receptor 2
<b>CD</b>	Cluster de différenciation
<b>CMF</b>	Cytométrie en flux
<b>CRC-MHC</b>	Centre de Ressources et de Compétences de la filière maladies rares « Maladies Hémorragiques Constitutionnelles »
<b>CRP</b>	C-Reactive Protein
<b>CTX</b>	Télopeptide C-terminal réticulé du collagène de type 1
<b>CX3CR1</b>	Chemokine-X3C receptor 1
<b>Dkk-1</b>	Dickkopf-related protein 1
<b>DMO</b>	Densité minérale osseuse
<b>DXA</b>	Absorptiométrie biphotonique aux rayons X (=Ostéodensitométrie)
<b>FAH</b>	Facteurs anti-hémophiliques
<b>FGF-23</b>	Fibroblast Growth Factor-23
<b>FN</b>	Femoral neck (col du fémur)
<b>FRAX</b>	Fracture Risk Assessment Tool
<b>FVIII</b>	Facteur VIII
<b>FIX</b>	Facteur IX
<b>GNEDS</b>	Groupe nantais d'éthique dans le domaine de la santé
<b>GRIO</b>	Groupe de recherche et d'information sur les ostéoporoses
<b>HA / HB</b>	Hémophilie (Hémophile) A / Hémophilie (Hémophile) B
<b>HAL</b>	Haemophilia Activities List
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Interféron-gamma
<b>IL</b>	Interleukine
<b>IMC</b>	Indice de masse corporelle
<b>ITI</b>	Induction de tolérance immune
<b>LS</b>	Lumbar spine (rachis lombaire)
<b>M-CSF</b>	Macrophage-Colony Stimulating Factor
<b>(Mo-)MDSC</b>	Myeloid-Derived Suppressor Cells (monocytaires)
<b>MFI</b>	Moyenne de fluorescence
<b>MPI</b>	Monocytes pro-inflammatoires
<b>NFS</b>	Numération formule sanguine
<b>NTX</b>	Télopeptide N-terminal réticulé du collagène de type 1

<b>OPG</b>	Ostéoprotégérine
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PAL(OS)</b>	Phosphatases alcalines (osseuses)
<b>PR</b>	Polyarthrite rhumatoïde
<b>PTH</b>	Parathormone
<b>RANK(L)</b>	Receptor Activator of Nuclear factor Kappa-B (Ligand)
<b>SOST</b>	Sclérostine
<b>TGF-β</b>	Transforming Growth Factor-béta
<b>TH</b>	Total hip (hanche totale)
<b>TNF-α</b>	Tumor Necrosis Factor-alpha
<b>TRACP(-5b)</b>	Phosphatase acide tartrate résistante (isoenzyme 5b)
<b>TSH</b>	Thyroid Stimulating Hormon
<b>VIH</b>	Virus de l'Immunodéficience Humaine
<b>VHB</b>	Virus de l'Hépatite B
<b>VHC</b>	Virus de l'Hépatite C
<b>vWF</b>	Von Willebrand Factor (Facteur de Von Willebrand)

# Table des matières

<b>Liste des figures</b> .....	<b>9</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>10</b>
<b>1 Introduction</b> .....	<b>11</b>
1.1 Hémophilie (Généralités) .....	11
1.1.1 <i>Physiopathologie</i> .....	11
1.1.2 <i>Classification de la sévérité de l'hémophilie</i> .....	12
1.1.3 <i>Épidémiologie de l'hémophilie et aspects génétiques</i> .....	13
1.1.4 <i>Aspects cliniques</i> .....	15
1.1.5 <i>Diagnostic biologique</i> .....	16
1.1.6 <i>Prise en charge thérapeutique</i> .....	17
1.1.7 <i>Pronostic et Complications principales</i> .....	19
1.2 Ostéoporose chez l'homme .....	24
1.2.1 <i>Définitions</i> .....	24
1.2.2 <i>Épidémiologie</i> .....	25
1.2.3 <i>Physiopathologie de l'ostéoporose</i> .....	26
1.2.4 <i>Diagnostic de l'ostéoporose</i> .....	30
1.2.5 <i>Prise en charge thérapeutique de l'ostéoporose masculine</i> .....	34
1.3 Hémophilie et atteinte osseuse.....	37
1.3.1 <i>Épidémiologie</i> .....	37
1.3.2 <i>Facteurs de risque de l'atteinte osseuse chez le patient hémophile</i> .....	38
1.3.3 <i>Hypothèses physiopathologiques</i> .....	40
1.3.4 <i>Prise en charge de la santé osseuse chez l'hémophilie</i> .....	42
1.4 Hémophilie : différenciation monocytaire et inflammation.....	44
1.4.1 <i>Rôle du facteur VIII dans la différenciation monocytaire - généralités sur les monocytes</i> .....	44
1.4.2 <i>Implication du facteur VIII dans l'inflammation</i> .....	46
1.4.3 <i>Polyarthrite rhumatoïde : modèle physiopathologique pour l'hémophilie</i> .....	47

1.4.4	<i>Mo-MDSC : cellules immunorégulatrices impliquées dans le métabolisme osseux</i>	48
<b>2</b>	<b>Objectifs</b>	<b>49</b>
<b>3</b>	<b>Matériel et méthodes</b>	<b>51</b>
3.1	Design de l'étude	51
3.2	Population de patients hémophiles et témoins	51
3.3	Recueil de données	52
3.3.1	<i>Données cliniques</i>	53
3.3.2	<i>Données d'ostéodensitométrie (DXA)</i>	54
3.3.3	<i>Données de cytométrie en flux (CMF)</i>	54
3.3.4	<i>Données des examens biologiques</i>	56
3.4	Analyses statistiques	58
<b>4</b>	<b>Résultats</b>	<b>60</b>
4.1	Sélection des patients	60
4.2	Caractéristiques cliniques des patients et des témoins	61
4.3	Résultats étude cas – témoins	63
4.3.1	<i>Cytologie et cytométrie en flux (CMF)</i>	63
4.3.2	<i>Biochimie, marqueurs du métabolisme osseux et cytokines</i>	64
4.4	Résultats étude avec DMO	68
4.4.1	<i>Données d'ostéodensitométrie de la cohorte avec DMO</i>	68
4.4.2	<i>DMO et facteurs de risque cliniques</i>	70
4.4.3	<i>DMO et cytométrie en flux</i>	71
4.4.4	<i>DMO et facteurs biologiques</i>	72
<b>5</b>	<b>Discussion</b>	<b>76</b>
<b>6</b>	<b>Conclusion</b>	<b>84</b>
	<b>Références bibliographiques</b>	<b>85</b>
	<b>Annexes</b>	<b>97</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Rôle des facteurs VIII et IX dans la coagulation.....	12
<b>Figure 2.</b> Distribution des génotypes du FVIII.....	14
<b>Figure 3.</b> Le processus de remodelage osseux.....	27
<b>Figure 4.</b> Rôle de la triade OPG/RANK/RANKL dans la différenciation ostéoclastique .....	28
<b>Figure 5.</b> Les principaux biomarqueurs du remodelage osseux .....	29
<b>Figure 6.</b> Images de DXA (rachis lombaire et extrémité supérieure du fémur) .....	31
<b>Figure 7.</b> Indications thérapeutiques dans l'ostéoporose masculine .....	35
<b>Figure 8.</b> Pathogénie de l'atteinte osseuse chez l'hémophile .....	39
<b>Figure 9.</b> Polarisation des macrophages sous l'effet de cytokines et influence sur le tissu osseux .....	45
<b>Figure 10.</b> Différenciation ostéoclastique .....	45
<b>Figure 11.</b> Flow chart de l'étude .....	60
<b>Figure 12.</b> Distribution de la cohorte de patients hémophiles .....	61
<b>Figure 13.</b> Prévalence de l'atteinte osseuse de la cohorte de patients hémophiles..	70
<b>Figure 14.</b> Stratégie de gating .....	99

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Corrélation entre gravité de la maladie et taux de facteurs de coagulation .....	13
<b>Tableau 2.</b> Définitions ostéodensitométriques (chez les hommes $\geq$ 50 ans).....	24
<b>Tableau 3.</b> Principales causes d'ostéoporose secondaire chez l'homme.....	26
<b>Tableau 4.</b> Définitions ostéodensitométriques (chez les hommes $<$ 50 ans).....	32
<b>Tableau 5.</b> Principaux facteurs de risque de fracture chez l'homme.....	33
<b>Tableau 6.</b> Principales études sur l'étude de la DMO dans l'hémophilie .....	37
<b>Tableau 7.</b> Caractéristiques des patients hémophiles et des témoins .....	62
<b>Tableau 8.</b> Paramètres sanguins dans le groupe hémophiles et témoins .....	63
<b>Tableau 9.</b> Différentes classes cellulaires entre patients et témoins.....	63
<b>Tableau 10.</b> Résultats des différents marqueurs de CMF .....	64
<b>Tableau 11.</b> Bilans biochimiques des patients hémophiles et des témoins .....	65
<b>Tableau 12.</b> Marqueurs du métabolisme osseux chez les patients hémophiles et les témoins.....	66
<b>Tableau 13.</b> Résultats des protéines inflammatoires des patients hémophiles et des témoins.....	67
<b>Tableau 14.</b> Données ostéodensitométriques de la cohorte totale .....	69
<b>Tableau 15.</b> Analyse sur les facteurs de risque cliniques d'une DMO basse .....	71
<b>Tableau 16.</b> Analyse bivariée : risque de DMO basse selon les données de CMF...72	
<b>Tableau 17.</b> DMO basse et bilan biochimique, analyse bivariée.....	73
<b>Tableau 18.</b> Marqueurs du métabolisme osseux et DMO en analyse bivariée .....	74
<b>Tableau 19.</b> DMO basse et marqueurs inflammatoires en analyse bivariée .....	75
<b>Tableau 20.</b> Données ostéodensitométriques chez les hémophile de moins de 50 ans.....	97
<b>Tableau 21.</b> Données ostéodensitométriques chez les hommes de 50 ans et plus..98	

# 1 Introduction

## 1.1 Hémophilie (Généralités)

### 1.1.1 *Physiopathologie*

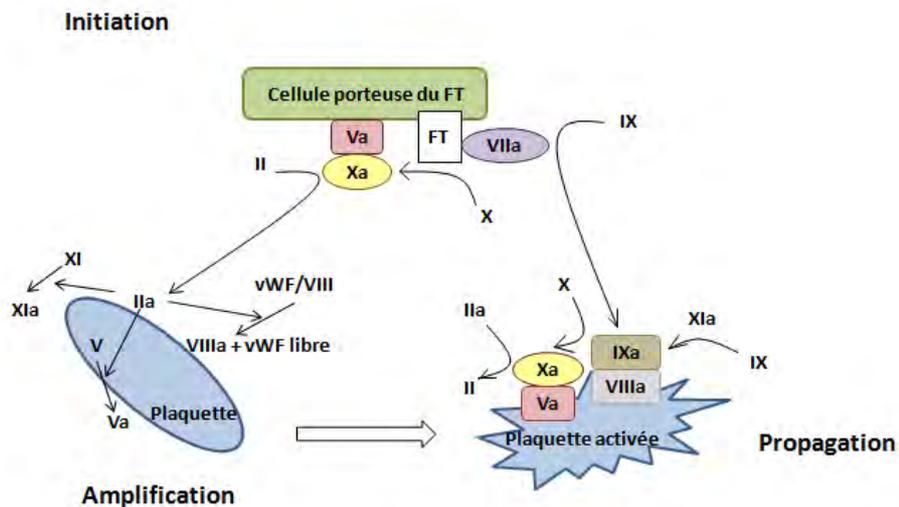
L'hémophilie congénitale est une pathologie rare de l'hémostase faisant partie des maladies hémorragiques constitutionnelles. Elle est caractérisée par un déficit plasmatique en facteurs de la coagulation, le facteur VIII pour l'hémophilie A et le facteur IX pour l'hémophilie B. Maladie récessive liée à l'X, l'hémophilie A est due à une mutation du gène du facteur VIII, localisé sur le chromosome X. Elle touche environ un garçon sur 5000 à la naissance contre 1 garçon pour 30 000 pour l'hémophilie B (1).

Les facteurs de la coagulation interviennent principalement dans la phase secondaire de l'hémostase, la coagulation plasmatique, permettant la formation d'un caillot de fibrine solide. Ce dernier permet d'arrêter les saignements en obturant une brèche vasculaire.

Le facteur VIII, aussi appelé facteur anti-hémophilique A, joue un rôle important dans le processus de coagulation, plus particulièrement dans la promotion et le maintien de l'hémostase (Figure 1). En effet, une fois activée par la thrombine, le facteur VIII agit comme cofacteur du facteur IXa. En présence de calcium et de phospholipides, ces deux facteurs forment un complexe d'activation (complexe ténase) qui permet de convertir le facteur X en sa forme activée, le facteur Xa. Ce dernier participe au complexe prothrombinase (avec son cofacteur, le facteur Va) transformant la prothrombine (facteur II) en thrombine (facteur IIa) permettant *in fine* la formation d'un caillot de fibrine.

Les facteurs VIII et IX permettent une amplification de la coagulation par la génération de fortes concentrations de thrombine via la production de facteur Xa. Le déficit de l'un de ces facteurs entraîne un défaut du complexe ténase sur la surface plaquettaire. Ce complexe défectueux ne permet pas l'activation de quantité importante de facteurs X et ne permet donc pas la génération explosive de thrombine. Il en résulte alors un caillot de fibrine instable et inefficace. L'hémophilie

entraîne donc un défaut des phases d'amplification et de propagation de la coagulation. A contrario, la voie du facteur tissulaire, qui permet l'initiation de la coagulation, n'est pas altérée au cours de cette maladie.



**Figure 1.** Rôle des facteurs VIII et IX dans la coagulation, d'après Hoffman(2)

Les facteurs VIII et IX ayant un rôle important dans la coagulation, leur déficit entraîne un risque hémorragique par défaut de la propagation et du maintien d'une hémostase correcte.

La membrane synoviale et le muscle strié expriment physiologiquement peu de facteur tissulaire. Les phases d'amplification et de propagation de la coagulation sont donc importantes pour le maintien d'une hémostase correcte dans ces tissus. Une anomalie de la coagulation par déficit en facteur VIII ou IX explique le tropisme articulaire et musculaire des saignements chez les patients hémophiles.

### 1.1.2 Classification de la sévérité de l'hémophilie

Le phénotype hémorragique est proportionnel à la profondeur du déficit en facteur de la coagulation. Le taux de facteur résiduel mesuré permet de classer les

patients hémophiles en trois stades de sévérité selon la classification internationale de l'*International Society on Thrombosis and Haemostasis* (ISTH) (3) :

- Hémophilie sévère si le taux de FVIII ou FIX est inférieur à 1,0 % du taux normal
- Hémophilie modérée si le taux de FVIII ou FIX est compris entre 1,0 % et 5,0 %
- Hémophilie mineure si le taux de FVIII ou FIX est compris entre 5,0 % et 40,0 %.

La valeur normale est définie par un taux de facteur anti-hémophilique entre 50 et 100 %, sachant que 100 % correspond à 1 UI/mL.

Dans la plupart des situations, la sévérité des saignements est corrélée au taux de facteur (Tableau 1), mais il existe de rares cas où elle peut être mise à défaut.

**Tableau 1. Corrélation entre gravité de la maladie et taux de facteurs de coagulation (4)**

Gravité	Taux de facteurs de coagulation	Manifestations hémorragiques
Sévère	< 1 IU/dL (< 0,01 IU/mL) ou < 1 % du taux normal	- Saignement spontané dans les articulations ou les muscles, principalement en l'absence d'une cause hémorragique identifiable
Modérée	1 - 5 IU/dL (0,01 – 0,05 IU/mL) ou 1 à 5 % du taux normal	- Saignement spontané occasionnel - Saignements prolongés lors de traumatisme mineur ou intervention chirurgicale
Mineure	6 - 40 IU/dL (0,06 à 0,40 IU/mL) ou 6 à 40 % du taux normal	- Saignement spontané rare - Hémorragies provoquées lors d'un traumatisme majeur ou d'une intervention chirurgicale

### 1.1.3 Épidémiologie de l'hémophilie et aspects génétiques

L'hémophilie est une maladie rare dans la population générale. La prévalence de l'hémophilie A dans le monde varie selon les pays, allant de 3 à 20 individus pour 100 000 habitants. Cette maladie constitutionnelle affecte de la même manière les différents groupes ethniques.

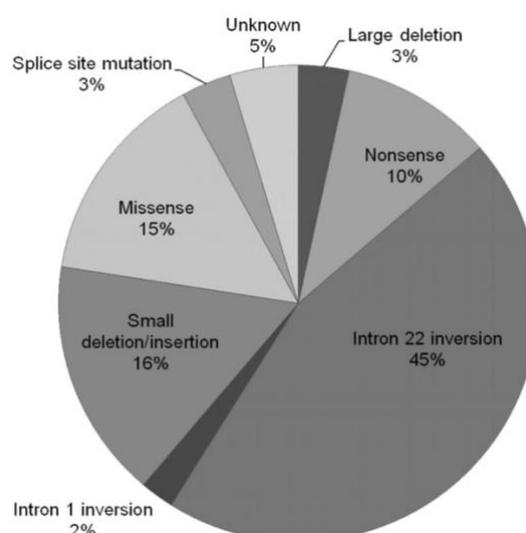
En France, d'après le réseau FranceCoag, la fréquence de la maladie est estimée à 13,6 cas pour 100 000 habitants dans la population masculine soit environ 1 naissance pour 5 000 garçons. D'après les derniers chiffres de ce réseau (5), on dénombre 6910 Hémophiles A en France (environ 81 % des hémophiles) pour 1643

Hémophiles B. La majorité des cas d'hémophilie sont des formes mineures (entre 50 et 60 %), suivis par les formes sévères (25 à 30 %) et modérées (15 à 25 %).

Sur le plan génétique, l'hémophilie est une pathologie constitutionnelle liée à l'X. Elle résulte d'une variation de séquence sur l'un des gènes F8 ou F9, situés sur le chromosome X, et codant respectivement pour les facteurs VIII ou IX. Dans environ un tiers des cas, l'hémophilie est sporadique et survient avec des mutations de novo du gène du facteur impliqué chez des individus sans histoire familiale connue (1). La transmission est récessive, liée au sexe et s'effectue par la mère de l'enfant qui est dite conductrice de l'hémophilie. Le taux de facteur chez les femmes conductrices est très variable du fait du phénomène d'inactivation aléatoire de l'X et peut donc être inférieur à la normale.

Chez les sujets atteints au sein d'une même famille, la présentation de la maladie hémophilique sera homogène dans son type (A ou B) et dans sa sévérité (sévère/modérée/mineure).

L'anomalie génétique la plus fréquemment rencontrée chez l'hémophile A sévère est une inversion entre l'intron 22 et une région télomérique du chromosome X (Figure 2). L'inversion de l'intron 1 et les délétions larges sont également à l'origine de déficits sévères en facteurs VIII. Enfin, des mutations ponctuelles sont décrites entraînant une protéine tronquée ou non fonctionnelle (mutations non-sens, mutations faux-sens). Ces anomalies sont associées à des formes le plus souvent modérées ou mineures de la maladie.



*Figure 2. Distribution des génotypes du FVIII, d'après Gouw et al.(6)*

Dans la grande majorité des cas, les déficits congénitaux en facteur IX relèvent de mutations ponctuelles. Les anomalies moléculaires du gène du FIX sont nombreuses et hétérogènes.

#### *1.1.4 Aspects cliniques*

Le facteur VIII intervenant dans la coagulation, son déficit entraîne un risque hémorragique. La symptomatologie hémorragique est variable selon le type et la sévérité de l'hémophilie, allant d'ecchymoses superficielles à des saignements menaçant le pronostic vital (hémorragie du système nerveux central par exemple).

Le phénotype hémorragique est proportionnel à la profondeur du déficit en FVIII. Plus le déficit est profond, plus le patient est symptomatique en termes de fréquence et de sévérité. Ainsi, les patients hémophiles peuvent présenter des saignements survenant de manière spontanée (pour les cas les plus sévères) ou après un challenge hémostatique (chirurgie ou traumatisme). Les sites de ces hémorragies sont typiquement les articulations (hémarthroses) et les muscles (hématomes), mais toutes les structures anatomiques sont susceptibles d'être touchées.

Les hémarthroses sont la principale manifestation hémorragique chez les hémophiles, représentant 70 à 80 % des situations hémorragiques. Les principales articulations atteintes sont des articulations synoviales de type « charnière » (n'ayant qu'un degré de liberté en flexion/extension essentiellement) : les genoux, les chevilles et les coudes. Ils apparaissent tôt au cours de la vie de l'hémophile sévère, typiquement au moment de l'acquisition de la marche concernant les membres inférieurs et se reproduisent, par la suite, spontanément ou au décours d'un traumatisme.

Les hématomes musculaires représentent 10 à 20 % des événements hémorragiques et surviennent de manière spontanée ou suite à un traumatisme parfois minime (passé inaperçu par le patient). Les localisations des hématomes les plus courants sont les zones exposées du corps : biceps, avant-bras, cuisses, mollets, hanches. Certains sites de saignements peuvent mettre en jeu le pronostic vital : tête (hématome intracrânien), cou, plancher buccal et langue (risque de compression des voies aériennes supérieures). De même, d'autres localisations hémorragiques sont à risque fonctionnel par compression de paquet vasculo-

nerveux : rachis (risque de paraplégie), périorbitaire (risque de cécité), et loges non extensibles des membres (risque de syndrome des loges).

Les autres types de manifestations hémorragiques sont des ecchymoses et des hémorragies viscérales (digestives, urinaires...) de survenues plus rares.

Une caractéristique clinique assez spécifique de l'hémophilie sévère est la survenue d'hémorragies spontanées, parfois graves, très tôt au cours de la vie (typiquement à l'âge de la marche) et plus particulièrement de siège musculaire et articulaire. Dans de rares cas, la maladie est découverte à la naissance par une hémorragie intracrânienne ou par l'apparition d'un céphalématome, notamment en cas de manœuvres instrumentales lors de l'accouchement. En l'absence de traitement substitutif régulier du facteur déficitaire, les hémophiles sévères sont à haut risque de développer une grave maladie musculo-squelettique avec atteinte musculaire et articulaire (arthropathie hémophilique). La multiplication de ces dernières sur une articulation dite « cible » entraîne une altération de la structure articulaire vers une arthropathie hémophilique.

Pour les patients hémophiles modérés, les saignements spontanés sont occasionnels et la symptomatologie hémorragique se révèle plutôt au cours d'actes chirurgicaux ou de traumatismes plus ou moins sévères. Cependant, le phénotype hémorragique est variable et se rapproche des hémophiles sévères dans certains cas avec atteinte articulaire et musculaire.

Enfin, concernant les patients atteints d'une forme mineure, les hémorragies sont essentiellement provoquées et le diagnostic est souvent retardé avec parfois une découverte fortuite lors d'un bilan d'hémostase préopératoire (Tableau 1).

Pour finir avec le versant clinique, d'après de récentes études, les patients hémophiles B semblent présenter une symptomatologie hémorragique moins sévère que ceux atteints d'une hémophile A, représentée par une fréquence de saignements moindre et un risque plus faible de complications articulaires à long terme(7).

### *1.1.5 Diagnostic biologique*

Suite à une suspicion clinique et/ou biologique, le diagnostic de la maladie est biologique avec la mise en évidence d'un déficit en facteur de la coagulation. Le bilan

d'hémostase révèle un allongement isolé du temps de céphaline activée (TCA) et/ou du temps de céphaline kaolin (TCK) avec un taux de prothrombine (TP) et de fibrinogène normal. L'exploration de l'hémostase primaire est normale avec un taux de plaquettes, un temps d'occlusion plaquettaire et un taux de facteur Willebrand dans les normes. Les dosages spécifiques des facteurs de la coagulation révèlent alors un déficit en facteur VIII (hémophilie A) ou en facteur IX (hémophilie B).

Il est nécessaire d'exclure les autres causes de déficit en facteur VIII (maladie de Willebrand, déficit combiné en facteurs V et VIII, hémophilie A acquise) ou en facteur IX (hypovitaminose K, insuffisance hépatocellulaire, hémophilie B acquise). Il est également important d'effectuer ces dosages en dehors de tout contexte inflammatoire, qui pourrait masquer la profondeur du déficit.

Enfin, la confirmation diagnostique est réalisée par un bilan génétique avec analyse du gène du FVIII ou du FIX selon le déficit. Ce bilan permet de mettre en évidence l'anomalie génétique causale de la maladie. Cette information est primordiale pour le dépistage génétique au sein de la famille du sujet atteint d'hémophilie, notamment afin de détecter les femmes conductrices. De plus, le génotypage présente un intérêt pronostique sur le risque de développer un inhibiteur et sur l'efficacité d'une éventuelle thérapie par induction de tolérance immune (voir chapitre « complications liées au traitement »).

### *1.1.6 Prise en charge thérapeutique*

La prise en charge du patient hémophile est multidisciplinaire, coordonnée par un centre de ressources et de compétences de la filière maladies rares « Maladies Hémorragiques Constitutionnelles » (CRC-MHC). Ses missions sont multiples : suivi des malades, assurer leur éducation thérapeutique, leur proposer une prise en charge psychologique, permettre une coordination des soins (programmation des soins en période péri-opératoire par exemple).

La prise en charge thérapeutique standard actuelle pour prévenir ou traiter les épisodes hémorragiques consiste en un remplacement du facteur déficient via un traitement substitutif (4). Les médicaments utilisés sont des concentrés de facteurs anti-hémophiliques (FAH) contenant du facteur VIII ou IX selon le type d'hémophilie.

Ces concentrés, administrés par voie intraveineuse, peuvent être d'origine plasmatisque (issus de donneurs de sang) ou des molécules recombinantes (élaborées par biotechnologie). Il existe plusieurs régimes d'administration des concentrés de FAH : soit un traitement à la demande (ALD) en cas d'accidents hémorragiques ou de geste invasif, soit une prophylaxie au long cours avec 1 à 3 injections intraveineuses par semaine. Cette dernière permet de maintenir un taux de facteur au-dessus de 1 % chez les hémophiles sévères (ces derniers se rapprochant ainsi cliniquement des hémophiles modérés). Pour les patients hémophiles sévères, la prophylaxie s'est imposée comme le traitement de référence dans la plupart des pays industrialisés disposant des ressources thérapeutiques. En effet, de nombreuses études ont démontré la supériorité d'un traitement prophylactique sur un traitement à la demande en termes de saignements, d'hémarthroses et donc de prévention de l'arthropathie hémophilique (8,9). On distingue plusieurs types de prophylaxie : une prophylaxie primaire, débutée précocement chez le jeune enfant avant la première hémarthrose, ou secondaire si elle est mise en place après une ou plusieurs hémarthroses. Pour les hémophiles sévères nouvellement diagnostiqués, il est recommandé de débiter une prophylaxie primaire au long cours précocement, si possible avant la première hémarthrose (10).

Par ailleurs, la desmopressine (ou Minirin®) permet aussi de corriger partiellement ou complètement le taux de facteur VIII chez l'hémophile A mineur si celui-ci est bon répondeur. Cette molécule permet de libérer dans la circulation sanguine les réserves endogènes de facteur VIII contenues dans les cellules endothéliales. Ce traitement est inefficace chez les hémophiles A modérés et sévères et n'est pas indiqué dans l'hémophilie B. L'efficacité de ce médicament est très variable d'un patient à l'autre et diminue rapidement après plusieurs prises répétées sur plusieurs jours (tachyphylaxie).

De plus, il existe des moyens hémostatiques locaux et d'autres traitements comme des antifibrinolytiques permettant de contrôler les saignements.

Plus récemment, des approches thérapeutiques innovantes sont apparues : thérapie génique, concentrés de facteurs avec demi-vie allongée et thérapeutiques non substitutives (11). Concernant les traitements non substitutifs, ces nouvelles molécules ne cherchent pas à apporter le facteur de la coagulation manquant, mais à

utiliser les protéines de l'organisme impliquées dans l'hémostase afin de rééquilibrer la balance hémostatique pour pallier le déficit en FVIII ou FIX. Les médicaments concernés sont un anticorps monoclonal (Emicizumab) et des inhibiteurs spécifiques de protéines anticoagulantes physiologiques (Fitusiran, Concizumab). À ce jour, seul l'Emicizumab est commercialisé en France. Il s'agit d'un anticorps bispécifique mimant le facteur VIII activé : il se fixe au FIXa et au FX permettant le rapprochement de ces facteurs et ainsi la génération de FXa. Il restaure donc une hémostase efficace (12). Cette molécule ne partage pas d'homologie de séquence avec le facteur VIII et n'a donc pas la même structure que lui. Il n'est donc pas ciblé par les anticorps inhibiteurs anti-FVIII et peut donc être utilisé chez l'hémophile A avec inhibiteur en prophylaxie (13). De plus, ce médicament a récemment eu l'autorisation pour prévenir les hémorragies chez les patients hémophiles A sans inhibiteur de toutes tranches d'âge. Ses principaux avantages sont une durée de vie longue (28 jours) et son mode d'administration (voie sous-cutanée). Par contre, s'il permet d'assurer, au moins en partie, le rôle hémostatique du facteur VIII, il ne peut en aucun cas assurer les potentiels rôles extra-hémostatiques de celui-ci.

### *1.1.7 Pronostic et Complications principales*

Depuis l'avènement des traitements substitutifs par concentrés de facteurs recombinants et l'amélioration de la prise en charge globale des patients hémophiles, l'espérance de vie des malades n'a cessé de progresser jusqu'à se rapprocher de celle de la population générale (14) (et ce malgré les infections chroniques à VHC et VIH contractées par de nombreux patients hémophiles dans les années 1980 - 1990).

Bien que des progrès notoires semblent possibles dans le futur, la prise en charge de la maladie s'oriente actuellement vers une amélioration de la qualité de vie globale. Pour atteindre cet objectif, plusieurs éléments semblent importants à prendre en considération : garantir une insertion sociale et professionnelle, ainsi qu'encourager une activité physique adaptée et régulière.

## - **Complications liées au traitement**

### . Infections virales chroniques

Le traitement de l'hémophilie par cryoprécipités et concentrés en facteurs d'origine plasmatique a été à l'origine de contamination virale (affaire du sang contaminé dans les années 1980). Les virus, transmis par des donneurs de plasmas infectés, étaient principalement le VIH, le VHB et le VHC.

Ces infections virales chroniques sont à l'origine d'une morbi-mortalité importante. Pour exemple, entre 1992 et 2001, le VIH était la principale cause de mortalité (26 %) des patients hémophiles aux Pays-Bas et que 22 % des décès étaient imputables au VHC (15). De plus, l'hépatite C chronique demeure l'une des principales comorbidités dans l'hémophilie (16).

Toutefois, l'utilisation de concentrés de facteurs d'origine recombinante et les nouvelles méthodes d'inactivation virale ont permis de minimiser le risque de transmission virale. Pour les personnes infectées, le VIH est maintenant bien contrôlé par les traitements antirétroviraux et les nouveaux traitements oraux contre le VHC permettent une guérison dans la plupart des cas.

### . Apparition d'un inhibiteur

L'autre principale complication des patients hémophiles liée aux thérapeutiques substitutives est l'apparition d'un inhibiteur.

Les inhibiteurs sont des allo-anticorps neutralisants qui inhibent partiellement ou complètement l'activité coagulante du facteur concerné. Par conséquent, ils rendent les injections en facteurs moins efficaces, voire totalement inefficaces. De plus, ils entraînent la neutralisation du facteur VIII natif et sont donc susceptibles de rendre sévère une hémophilie initialement mineure ou modérée.

Les inhibiteurs sont plus fréquents dans l'hémophilie A (17). Jusqu'à 30 % des hémophiles A sévères traités vont développer un inhibiteur au cours de leur vie alors que seuls 1 à 6 % des hémophiles B sont concernés.

Les facteurs de risque associés au développement des anticorps neutralisants sont principalement les antécédents familiaux d'inhibiteurs, l'origine ethnique

(Africaine), le type de mutation du gène et un traitement intensif précoce avec de fortes doses de facteurs (dans les 50 premiers jours d'exposition).

Les inhibiteurs sont détectés et titrés par méthode Bethesda de manière systématique ou devant une suspicion clinique (symptomatologie hémorragique malgré un traitement bien mené).

Cette complication a un fort impact en termes de pronostic vital, fonctionnel et de qualité de vie. En présence d'un inhibiteur et donc d'inefficacité du traitement substitutif, les manifestations hémorragiques sont plus difficiles à contrôler. Il faut alors recourir à des agents « by-passants », facteur VII activé recombinant (Novoseven®) ou concentré de facteurs activés (FEIBA®), qui ont une efficacité plus aléatoire que les FAH et qui sont plus difficiles à suivre sur le plan biologique (pas de marqueur spécifique). Hors épisode hémorragique, en prophylaxie au long cours chez l'hémophile ayant développé un inhibiteur, l'Emicizumab est indiqué.

L'éradication d'un inhibiteur repose sur la mise en place d'un traitement par Induction de Tolérance Immune (ITI) avec des injections quotidiennes de fortes doses de facteurs sur une durée prolongée permettant de moduler la réponse immunitaire.

## - **Complications ostéo-articulaires**

### . Arthropathie hémophilique

La prise en charge des patients hémophiles s'est améliorée au cours des dernières décennies avec la mise en place d'une prophylaxie au long cours permettant une diminution des saignements intra-articulaires (8). Malgré ce traitement optimal, il persiste des micro-saignements articulaires infra-cliniques. Ces saignements récurrents au sein d'une articulation cible provoquent des changements structuraux (hypertrophie synoviale et destruction progressive du cartilage articulaire puis de l'os sous-jacent) pouvant entraîner, à terme, une arthropathie hémophilique.

La physiopathologie de l'atteinte articulaire est complexe (18). Elle fait intervenir des acteurs cellulaires (synoviocytes, cellules de l'immunité innée comme les monocytes et macrophages) et moléculaires (dépôts de fer, cytokines pro-inflammatoires). La phase initiale de l'arthropathie ressemble à l'atteinte articulaire

observée au cours de la polyarthrite rhumatoïde (19). En effet, l'articulation est le siège d'une l'hypertrophie synoviale et d'une inflammation locale similaire à cette pathologie auto-immune. De même, les membranes synoviales sont le siège de cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6 et TNF- $\alpha$ ).

Les articulations les plus touchées sont les grosses articulations : les genoux, les chevilles et les coudes, mais également les hanches. L'arthropathie hémophilique est source de limitations de la mobilité articulaire, de douleurs chroniques, de gonflements et de déformations des articulations. La conséquence est également une baisse significative de l'activité physique et de la qualité de vie via un réel handicap locomoteur. Le degré d'arthropathie est plus important chez les hémophiles A que chez les hémophiles B (7).

La prise en charge de l'arthropathie hémophilique repose essentiellement sur la prévention ou le traitement des saignements articulaires par un traitement substitutif. Les traitements symptomatiques (antalgique, glaçage, infiltrations) sont indispensables pour soulager les douleurs. En dernier recours, une prise en charge chirurgicale par remplacement prothétique dans un centre expert est envisageable.

#### . Pseudotumeurs (20)

Les pseudotumeurs constituent une complication exceptionnelle et quasi spécifique de l'adulte hémophile sévère. Ces structures correspondent à des hématomes chroniques encapsulés formés d'une couche fibreuse entourant un hématome ancien non résorbé. Ils contiennent du sang partiellement dégradé, un infiltrat de cellules inflammatoires voire des calcifications et des plages d'ossification. Ces pseudotumeurs sont de taille variable et évoluent pour leur propre compte au sein d'un muscle (pseudotumeur musculaire) ou au contact d'un os (pseudotumeur osseuse). Leur risque principal est lié à leur évolutivité et les dégâts sur les tissus sains du voisinage (infiltration osseuse, envahissement des organes creux et fistulisation). De plus, ils présentent un risque de surinfection important.

Leur diagnostic repose sur la clinique et l'imagerie.

Leur prise en charge est complexe comprenant des techniques invasives (chirurgie d'exérèse) et non invasives (embolisation artérielle, radiothérapie ciblée).

## . Atteinte osseuse (ostéopénie, ostéoporose) et risque de fractures

Gallacher et al. ont été les premiers auteurs à émettre l'hypothèse que les patients hémophiles auraient un tissu osseux fragile suite à l'observation de cas de fractures de fragilité chez de jeunes hémophiles sévères (21).

Par ailleurs, plusieurs cas de fractures des os longs dans une cohorte d'enfants hémophiles indiens ont été rapportés. Ces fractures provoquées par de faibles impacts sont rares dans une population pédiatrique normale. Il a donc été suggéré que les jeunes hémophiles possédaient un faible capital osseux (22). Cette fragilité osseuse associée à un risque de chutes plus important chez les hémophiles sévères participerait à un risque de fracture plus important dans cette population que dans la population générale (23). Bien que peu de données soient disponibles, une étude récente (24) a montré que l'incidence de survenue de fracture chez les hémophiles était de 24,8 fractures pour 1 000 patients-années (contre 9,6 dans le groupe contrôle).

Les fractures, notamment de fragilité, sont source de douleurs chroniques et d'incapacité fonctionnelle, déjà fréquemment présentes chez le sujet hémophile sévère. Le risque fracturaire est donc un sujet à prendre en considération dans cette population avec une surveillance et une prise en charge renforcées de leur santé osseuse.

L'augmentation du risque de chute évoqué chez l'hémophile sévère serait due notamment aux épisodes d'hémarthroses répétées, l'arthropathie hémophilique et la détérioration globale de la fonction musculo-squelettique.

## 1.2 Ostéoporose chez l'homme

### 1.2.1 Définitions

L'ostéoporose est définie comme une « maladie diffuse du squelette caractérisée par une masse osseuse diminuée et une altération de la microarchitecture osseuse, responsable d'une fragilité osseuse exagérée et par conséquent d'un risque augmenté de fracture »(25).

Les fractures sont la complication principale de la maladie ostéoporotique, et constituent la gravité de cette pathologie. Les fractures ostéoporotiques surviennent typiquement à la suite d'un traumatisme de faible intensité comme une chute de sa hauteur. De plus, les fractures vertébrales, les fractures de l'extrémité supérieure du fémur ou de l'humérus ainsi que les fractures du bassin sont dites sévères, car elles entraînent un sur-risque de mortalité et de survenue de nouvelles fractures (26).

L'ostéoporose peut également être définie à partir des résultats d'ostéodensitométrie qui mesure la densité minérale osseuse (DMO). En 1994, des critères diagnostiques se basant sur la DMO (avec l'expression du T-score) ont été publiés par le groupe de travail de l'Organisation Mondiale de la Santé (27) (Tableau 2). Ayant initialement été adaptées pour la femme en période post-ménopause, ces définitions ont été par la suite appliquées chez l'homme de 50 ans et plus.

**Tableau 2.** Définitions ostéodensitométriques (chez les hommes  $\geq 50$  ans), selon l'OMS (27)

Statut densitométrique	Score (T-score)
Normal	T-score $\geq -1$
Ostéopénie (= masse osseuse faible)	$-1 > \text{T-score} > -2,5$
Ostéoporose	T-score $\leq -2,5$
Ostéoporose sévère	T score $\leq -2,5$ avec une ou plusieurs fractures

### 1.2.2 Épidémiologie

D'un point de vue épidémiologique, la forme la plus connue d'ostéoporose est celle de la femme après la ménopause (ostéoporose post-ménopausique).

Cependant, l'ostéoporose chez l'homme est un problème de santé publique sous-estimé, une pathologie osseuse sous-diagnostiquée et donc sous-traitée. Un homme sur cinq à partir de 50 ans présentera une fracture ostéoporotique au cours de sa vie. De plus, chez les hommes âgés, la morbidité et la mortalité associées aux fractures ostéoporotiques majeures semblent être supérieures que chez les femmes (26).

Concernant les données densitométriques, la prévalence de l'ostéoporose est de 4 % chez les hommes américains de 50 ans et plus alors que 38 % d'entre eux présentent une ostéopénie, d'après les informations collectées par la National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). À titre de comparaison, les prévalences chez la femme américaine de 50 ans et plus sont de 16 % et 61 %, respectivement, pour l'ostéoporose et l'ostéopénie (28).

L'ostéoporose masculine est principalement de cause secondaire et le plus souvent multifactorielle. Les principales étiologies d'ostéoporose secondaire sont les maladies inflammatoires avec corticothérapie au long cours, l'abus d'alcool (plus de trois unités par jour), l'hypogonadisme spontané ou iatrogène, l'hyperparathyroïdie primitive, l'hyperthyroïdie et la carence en vitamine D (29) (Tableau 3). Le risque de fracture ostéoporotique augmente avec l'accumulation de ces facteurs de risque d'ostéoporose.

Cependant, dans certains cas, il n'y a pas de cause secondaire retrouvée et l'ostéoporose est considérée comme idiopathique ou primaire.

**Tableau 3. Principales causes d'ostéoporose secondaire chez l'homme**

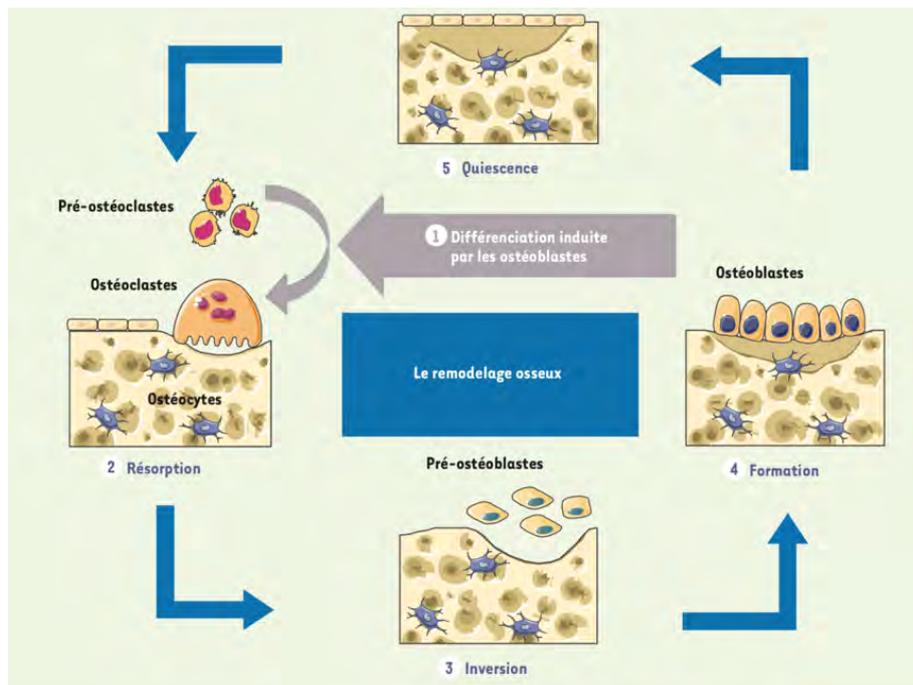
Causes communes	Causes rares
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Corticothérapie systémique au long cours</li> <li>- Consommation excessive d'alcool</li> <li>- Hypogonadisme primaire ou secondaire (ex. : anti-androgènes dans le cancer de prostate)</li> <li>- Carence en vitamine D</li> <li>- Faible apport en calcium</li> <li>- Tabagisme</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Causes endocriniennes : hyperparathyroïdie primaire, hyperthyroïdie, syndrome de Cushing</li> <li>- Troubles gastro-intestinaux : maladie cœliaque, maladies inflammatoires de l'intestin</li> <li>- Maladies inflammatoires chroniques : maladies pulmonaires chroniques, maladies articulaires, infection par le VIH</li> <li>- Insuffisance rénale chronique</li> <li>- Ostéogenèse imparfaite</li> <li>- Hypercalciurie idiopathique</li> <li>- Hémochromatose</li> <li>- Hémopathies : mastocytose, gammopathie</li> </ul>

### 1.2.3 Physiopathologie de l'ostéoporose

#### - Physiologie de l'os et remodelage osseux

Bien que d'apparence inerte, le tissu osseux est un tissu dynamique en perpétuel remaniement. En effet, le remodelage osseux est un processus permettant le remplacement du tissu osseux ancien par du nouveau tissu osseux (30). Ce mécanisme permet le remplacement de l'intégralité du squelette approximativement tous les 10 ans.

Le remodelage osseux intervient au sein d'unité du tissu osseux appelé unité de remodelage osseux (« bone remodeling unit »). Dans ces structures fonctionnelles, deux populations cellulaires spécifiques de l'os vont se succéder. Les ostéoclastes sont les premières cellules recrutées, elles permettent une résorption du tissu osseux minéralisé. Après apoptose de ces dernières, les ostéoblastes (cellules de l'ostéoformation) sont attirés sur le site de remodelage afin de former et minéraliser du nouveau tissu osseux dans la cavité de résorption. Ce processus suit une séquence précise avec dans un premier temps résorption osseuse suivie par un temps de formation d'os (Figure 3).



*Figure 3. Le processus de remodelage osseux (31)*

La masse osseuse augmente progressivement chez l'enfant et l'adolescent jusqu'à atteindre un pic de masse osseuse. Ce pic est atteint à des âges différents selon le sexe et le site osseux. Les déterminants de la masse osseuse sont majoritairement génétiques, mais aussi environnementaux (calcium, vitamine D, exercice physique).

### **- Physiopathologie de la perte osseuse liée à l'âge**

Chez l'adulte jeune, le remodelage osseux est bien équilibré avec une quantité égale d'os résorbé puis formé aboutissant au renouvellement et à la réparation du tissu osseux.

Puis, avec l'âge, le capital osseux diminue lentement chez la femme comme chez l'homme. Chez la femme, la perte osseuse s'accélère au moment de la ménopause du fait d'une carence en œstrogènes. Chez l'homme, la perte osseuse liée à l'âge survient plus tard (après 70 ans) et est accentuée par la baisse de sécrétion de testostérone (32).

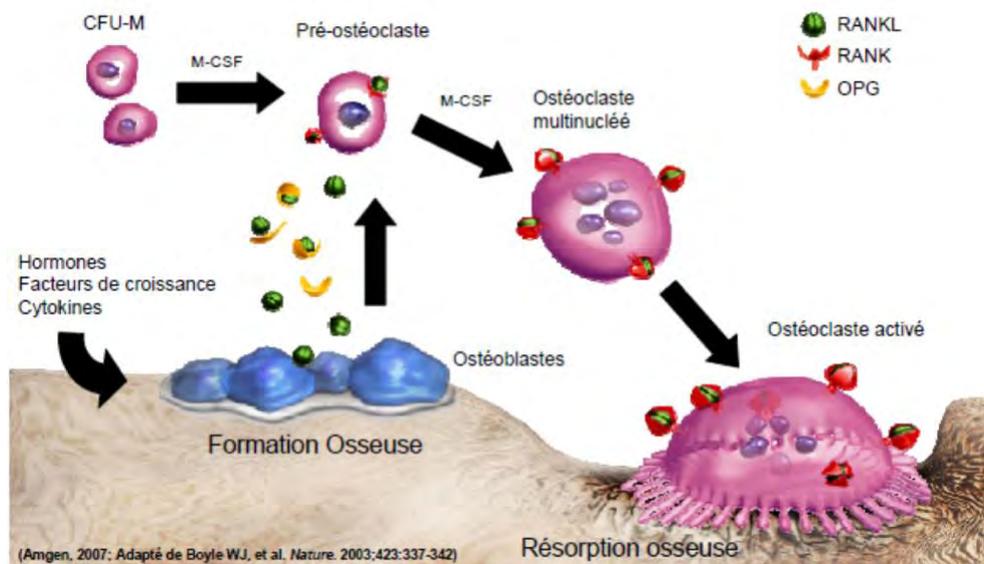
Ainsi, deux mécanismes essentiels, s'associant à divers degrés chez un individu, expliquent la survenue d'une ostéoporose primaire : l'acquisition d'un pic de

masse osseuse faible (avec le rôle important de la génétique) et la perte osseuse à l'âge adulte.

### - Régulation du remodelage osseux

Le remodelage osseux est un processus complexe finement régulé par des facteurs locaux et systémiques qui contribuent à l'homéostasie osseuse.

Parmi ces facteurs, la triade OPG/RANK/RANKL est la principale voie de régulation (33). L'interaction de RANKL avec son récepteur RANK, présent à la surface des cellules de la lignée ostéoclastique, provoque la différenciation et l'activation des précurseurs ostéoclastiques en ostéoclastes matures. À l'inverse, l'ostéoprotégérine (OPG) est une molécule anti-résorption osseuse. Elle agit comme récepteur soluble de RANKL et l'empêche donc de se fixer à son récepteur RANK (Figure 4).



**Figure 4.** Rôle de la triade OPG/RANK/RANKL dans la différenciation ostéoclastique (34)

De plus, des cytokines impliquées dans l'inflammation semblent avoir un rôle clé dans la régulation du métabolisme osseux (35). Elles agissent directement ou indirectement sur les ostéoclastes et les ostéoblastes. Les molécules en cause sont des interleukines (IL-1, IL-6, IL-10, IL-12), le TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor alpha), l'Interféron gamma (IFN- $\gamma$ ) et le M-CSF (macrophage-colony stimulating factor).

Cependant, le rôle de certaines cytokines sur le remodelage osseux semble ambivalent comme l'IL-6 qui agit comme une molécule pro- ou anti-résorptive (34).

Enfin, la formation osseuse (par les ostéoblastes) est régulée par différentes molécules comme la sclérostine et Dkk-1, qui sont des antagonistes de la voie Wnt et contrôlent négativement l'activité ostéoblastique (36).

### - Biomarqueurs du remodelage osseux

Par ailleurs, au cours du remodelage osseux, des peptides sont produits par les ostéoblastes et les ostéoclastes. Ils sont utilisés comme biomarqueurs de l'activité métabolique osseuse et classés en marqueurs d'ostéoformation et marqueurs de résorption osseuse (Figure 5).

Les marqueurs de la formation osseuse sont les phosphatases alcalines osseuses (PALOS ou BALP), l'ostéocalcine et le propeptide N-terminal du procollagène de type 1 (PINP ou P1NP). Ils reflètent l'activité des ostéoblastes et par conséquent l'ostéoformation.

A contrario, il existe plusieurs molécules reflétant la résorption osseuse dont les principales sont la phosphatase acide tartrate résistante (TRACP), sa forme 5b isoenzyme (TRACP-5b) et les télopeptides réticulés du collagène de type I (Télopeptide N-terminal réticulé du collagène de type 1 = NTX, Télopeptide C-terminal réticulé du collagène de type 1 = CTX ou Crosslaps).

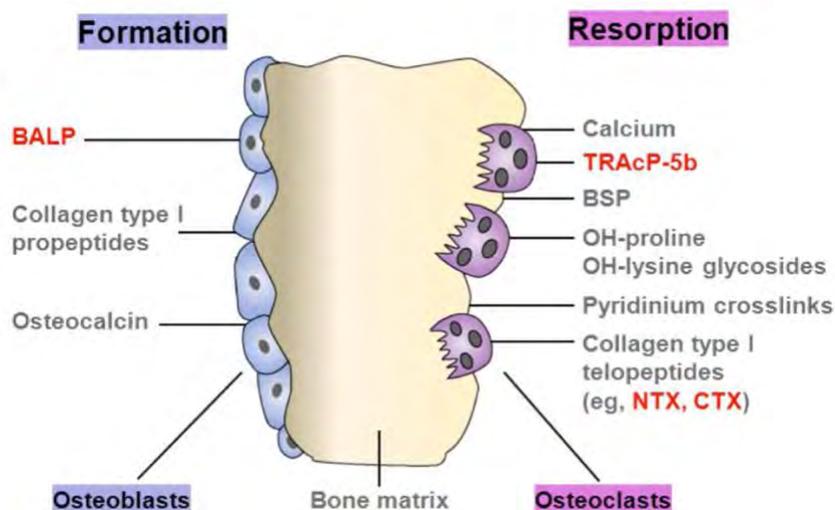


Figure 5. Les principaux biomarqueurs du remodelage osseux (adapté de Fohr et al (37))

Ces marqueurs peuvent prédire la perte osseuse, mais sont insuffisants dans l'évaluation fiable du risque de fracture. Ils ne sont donc pas recommandés dans le bilan initial de la maladie, mais ont un intérêt dans le suivi thérapeutique.

#### *1.2.4 Diagnostic de l'ostéoporose*

L'ostéoporose est une maladie osseuse diffuse évoluant à bas bruit. Son diagnostic doit être évoqué devant plusieurs situations :

- . Après toute fracture survenant après un traumatisme à bas niveau d'énergie
- . Et/ou devant la découverte d'une ostéoporose densitométrique (mesure de la DMO)
- . Et/ou en cas de facteurs de risque cliniques

##### **- Fractures ostéoporotiques**

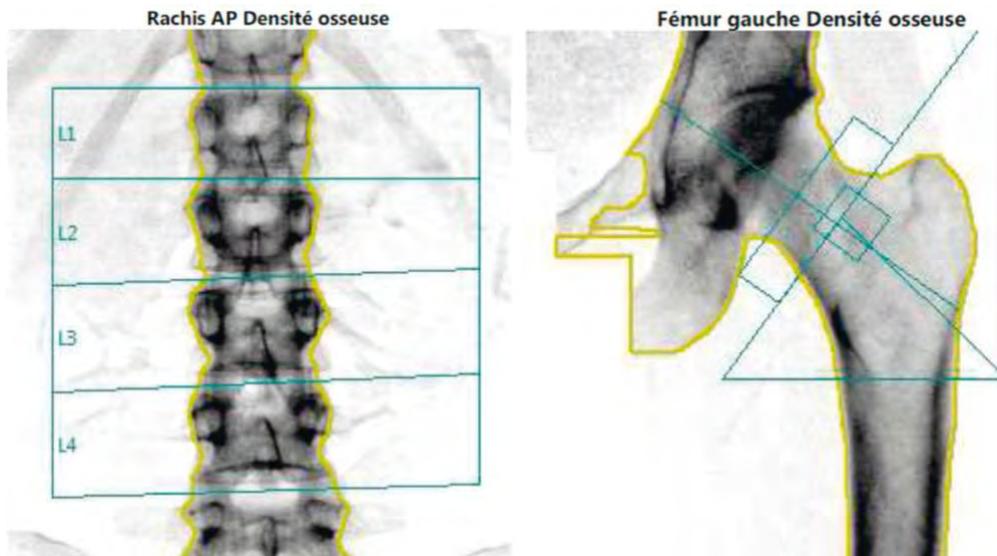
Les fractures ostéoporotiques font la gravité de l'ostéoporose chez l'homme comme chez la femme. Le diagnostic doit être évoqué devant une toute fracture survenant en dehors d'un traumatisme de forte intensité (comme sur une simple chute de sa hauteur). Les fractures de fragilité les plus fréquentes sont la fracture du poignet survenant dès 50 ans, la fracture vertébrale survenant dès 65 ans et la fracture de l'extrémité supérieure du fémur survenant dès 70 ans.

##### **- Diagnostic positif : Mesure de la densité minérale osseuse (DMO)**

Le diagnostic positif repose sur l'évaluation de la densité minérale osseuse. Celle-ci est mesurée en pratique courante par absorptiométrie biphotonique aux rayons X (DXA) qui est la technique de référence. C'est un examen rapide, peu irradiant, fiable et reproductible, qui permet de mesurer la densité du tissu minéralisé. La DXA utilise deux faisceaux de rayons X d'énergies différentes et mesure la DMO sur plusieurs sites squelettiques dont le contenu respectif en os cortical et en os trabéculaire est différent.

Selon les recommandations de la HAS 2006 (38), la mesure de la DMO chez l'homme doit être réalisée en deux sites, habituellement le rachis lombaire et la

hanche, en utilisant une courbe de référence masculine. Il est admis que l'exploration du rachis lombaire est un bon reflet de l'os trabéculaire alors que celle de l'extrémité supérieure du fémur correspond à la composante corticale de l'os (Figure 6).



*Figure 6. Images de DXA (rachis lombaire et extrémité supérieure du fémur)*

Les résultats de la DXA sont exprimés sous plusieurs valeurs :

- la densité minérale osseuse (**DMO**) est exprimée en valeur absolue en  $\text{g}/\text{cm}^2$ .
- **le Z-score** est le nombre d'écarts types entre la valeur mesurée de densité osseuse du sujet et la valeur moyenne des adultes de même sexe et même âge.
- **le T-score** est le nombre d'écarts types entre la valeur mesurée de la densité osseuse du sujet et la valeur moyenne des adultes jeunes (entre 20 et 30 ans) de même sexe au même site osseux.

L'utilisation de la DXA pour la mesure de la DMO est validée pour le diagnostic de l'ostéoporose et l'évaluation prospective du risque de fracture ostéoporotique. Il existe une relation clairement établie entre la valeur du T-score et le risque de fracture ostéoporotique : plus la valeur de T-score diminue, plus le risque de fracture ostéoporotique augmente. En effet, pour chaque réduction d'un écart-type, le risque de fracture est multiplié par deux, et d'environ 2,5 fois quand le risque de fracture de hanche est prédit par la DMO du fémur (39). La réalisation d'une DXA pour la mesure de la DMO est recommandée chez l'homme, quel que soit l'âge, lors

de la survenue d'une fracture de fragilité (ou une découverte fortuite sur des radiographies) ou devant la découverte de facteurs de risque d'ostéoporose (notamment corticothérapie au long cours et hypogonadisme prolongé) (40).

L'interprétation de la DMO se base sur le T-score pour les hommes de 50 ans et plus (Tableau 2). Chez les hommes adultes de moins de 50 ans, les définitions basées sur la DXA sont établies à partir du Z-score et il n'existe pas de critères pour une ostéoporose dite densitométrique selon la société internationale de densitométrie clinique (ISCD) en 2007 (41) (Tableau 4).

**Tableau 4. Définitions ostéodensitométriques (chez les hommes < 50 ans), selon l'ISCD (41)**

Statut densitométrique	Score (Z-score)
Normal	T-score $\geq$ -1
Low normal (normal bas)	-1 > T-score > -2
En dessous des normes attendues pour l'âge (= DMO basse = ostéopénie)	Z-score $\leq$ - 2
Ostéoporose	Pas de définition densitométrique

#### **- Facteurs de risque de fracture et évaluation du risque fracturaire**

La décision de traiter les patients ostéoporotiques est prise en fonction de l'évaluation du risque de fracture basée sur la mesure de la DMO, mais également d'autres facteurs de risque (Tableau 5) ainsi que le risque de chute, notamment chez le sujet âgé.

En effet, il convient de nuancer l'apport de la DMO pour l'évaluation du risque fracturaire. Comme vu précédemment, la baisse de la DMO comme indicateur de l'ostéoporose est importante, puisque c'est l'un des principaux déterminants du risque de fracture, mais ce n'est pas le seul.

En effet, plusieurs facteurs de risques cliniques facilement identifiables sont décrits comme l'âge, le sexe, les antécédents personnels ou familiaux de fractures de fragilité, le tabagisme et un faible IMC (Tableau 5).

**Tableau 5. Principaux facteurs de risque de fracture chez l'homme**

<b>Facteurs de risque de fracture chez l'homme</b>
- Âge élevé (> 70 ans)
- faible IMC (< 19 kg/m <sup>2</sup> )
- Antécédent personnel de fracture
- Antécédent familial de fracture par fragilité osseuse
- Tabagisme actif
- Consommation excessive d'alcool
- Corticothérapie au long cours
- Carence en vitamine D
- Immobilisation très prolongée

À partir de ces facteurs de risques, plusieurs outils d'évaluation du risque de fracture ont été développés comme le score FRAX (*Fracture Risk Assessment Tool*) qui est le plus utilisé en pratique courante (42). Cet outil évalue la probabilité à dix ans, en valeur absolue, de survenue d'une fracture de hanche et d'une fracture ostéoporotique majeure. En fonction du risque de fracture obtenu avec ce score, le clinicien peut décider d'un traitement pharmacologique pour le malade si ce risque est supérieur au seuil thérapeutique d'intervention pour l'âge du patient.

#### **- Bilan biologique : Diagnostic étiologique**

Comme évoqué auparavant, l'ostéoporose masculine est le plus souvent d'origine secondaire et il convient de rechercher systématiquement les principales causes via une évaluation clinico-biologique avant de débiter un traitement spécifique.

Devant une suspicion d'ostéoporose chez l'homme, il est donc recommandé d'effectuer un bilan biologique de première intention selon les recommandations françaises (40). Celui-ci comporte : calcémie, albuminémie, phosphatémie, créatininémie (avec estimation de la clairance), électrophorèse des protéines sériques, hémogramme, CRP, 25-OH-vitamine D, bilan hépatique (transaminases, gamma GT, phosphatases alcalines totales) et testostérone totale.

Ce bilan biologique initial permet d'écartier une autre cause de fracture (myélome), d'orienter vers une autre cause d'ostéoporose (ostéomalacie, hypogonadisme...), mais également de vérifier l'absence de contre-indication à débiter un traitement anti-ostéoporotique.

Dans un deuxième temps, l'évaluation de base pourra être complétée en fonction de l'examen clinique, notamment chez le sujet jeune, afin d'écartier des ostéopathies fragilisantes plus rares.

### *1.2.5 Prise en charge thérapeutique de l'ostéoporose masculine*

La prise en charge de l'ostéoporose chez l'homme comprend des mesures hygiéno-diététiques générales et des traitements spécifiques (40).

#### **- Les mesures hygiéno-diététiques**

Les mesures générales sont recommandées dans toutes les circonstances à risque d'ostéoporose (prévention d'une ostéoporose ou traitement d'une ostéoporose avérée).

Elles comprennent le maintien d'une activité physique régulière en charge, une bonne hygiène nutritionnelle et la prévention du risque de chutes, notamment chez le sujet âgé. De plus, l'arrêt du tabac et la diminution d'une consommation excessive d'alcool sont fortement conseillés. Il convient également d'assurer des apports suffisants en calcium (au moins 1 g par jour) et en vitamine D (concentration sérique entre 30 et 60 ng/ml) par l'alimentation et si besoin par supplémentation médicamenteuse.

Ces mesures peuvent ralentir la baisse de masse osseuse en lien avec l'âge, mais ne permettent pas de restaurer la DMO et ne sont donc pas suffisantes pour les individus à haut risque de fracture. Dans cette population, des traitements spécifiques de l'ostéoporose sont donc indispensables. Cependant, une réplétion en vitamine D est nécessaire pour une efficacité optimale des traitements anti-résorbeurs.

## - Les traitements de l'ostéoporose masculine

Concernant les traitements spécifiques, ils sont indiqués pour tout patient à haut risque de fracture en l'absence de contre-indications et après une évaluation individuelle des facteurs de risque.

La mesure de la DMO est également nécessaire avant toute décision thérapeutique et l'on peut distinguer plusieurs situations résumées dans la figure suivant :

En fonction de la diminution du T score (au site le plus bas)	Fractures sévères (fémur, vertèbres humérus, bassin, tibia proximal)	Fractures non sévères	Absence de fracture et facteurs de risque d'ostéoporose et/ou de chutes multiples)
T > -1	Avis du spécialiste	Pas de traitement	Pas de traitement
T ≤ -1 et > -2	Traitement	Avis du spécialiste	Pas de traitement
T ≤ -2 et > -3	Traitement	Traitement	Avis du spécialiste
T ≤ -3	Traitement	Traitement	Traitement

*Figure 7. Indications thérapeutiques dans l'ostéoporose masculine (40)*

Les différentes molécules utilisées dans l'ostéoporose ont démontré leur efficacité en permettant de réduire le risque de fracture vertébrale et non vertébrale.

Chez l'homme, l'efficacité et la tolérance de ces molécules semblent être comparables à celles observées chez la femme en post-ménopause. Bien qu'il y ait peu de données et d'études réalisées seulement chez l'homme, les molécules recommandées en France sont les biphosphonates, le téraparatide et le dénosumab (40).

Ces traitements agissent soit en inhibant la résorption osseuse (agents anti-résorbeurs) comme les biphosphonates ou le dénosumab, soit en stimulant sa formation pour le téraparatide.

Concernant le choix de la molécule, il est basé sur une combinaison d'éléments incluant le coût, le jugement clinique (avec l'efficacité et la sécurité de la molécule), le risque de fracture, et d'autres considérations comme la préférence du patient, l'âge et la fonction rénale.

### *Suivi de la maladie et thérapeutique*

Le suivi de la maladie ostéoporotique comprend une évaluation annuelle clinique et paraclinique. L'observance au traitement ainsi que la tolérance, sont des éléments indispensables à évaluer de même que la survenue de nouvelles fractures ou de nouveaux facteurs de risque. L'efficacité thérapeutique est objectivée par mesure de la densité osseuse 2 à 3 ans après l'instauration des thérapeutiques et à chaque fois qu'une modification de traitement est envisagée (40). La réévaluation du traitement spécifique est réalisée régulièrement et la durée de traitement est variable selon les molécules et les facteurs propres au patient (âge, antécédents de fracture, tolérance et réponse au traitement...).

## 1.3 Hémophilie et atteinte osseuse

### 1.3.1 Épidémiologie

Depuis une vingtaine d'années, à travers plusieurs études, il a été observé chez de nombreux patients hémophiles une baisse de la densité minérale osseuse (ostéopénie ou ostéoporose), que ce soit chez l'enfant (43) ou chez l'adulte (44–46).

La prévalence de cette atteinte osseuse est variable d'une étude à l'autre. Ainsi, cette diminution de la DMO était retrouvée chez 26,9 % des patients d'une cohorte de 104 hémophiles grecs adultes (44). Une étude anglaise retrouvait une prévalence comparable (30 %) dans leur population adulte (47) alors que Wallny et al. décrivait une baisse de DMO chez 69 % des patients de leur cohorte (48).

**Tableau 6. Principales études sur l'étude de la DMO dans l'hémophilie**

Études	Pays	Nombre de patients	Âge médian patients	Prévalence DMO basse patients	Nombre de témoins	Prévalence DMO basse témoins	p Value	Principal site osseux
<i>Anagnostis et al. (2012) (44)</i>	Grèce	104	45.87 ans (20-76)	28/104 (26,9%)	50	10/50 (20 %)	0.09	Hanche totale
<i>Wells et al. (2015) (47)</i>	UK	37	31 ans (18)	11/37 (29,7%)	37	6/37 (16,2%)	0,269	-
<i>Kempton et al. (2015) (45)</i>	USA	88	41 ans (32 - 52)	34/87 (42,5%)	pas de témoins	pas de témoins	-	-
<i>Nair et al. (2007) (49)</i>	Inde	50	29,5 ans (20-50)	25/50 (50%)	50	NR	<0,001	Lombaire
<i>Linari et al. (2020) (46)</i>	Italie	111	Groupe < 50 ans : 35,7 ans (20 - 49) Groupe > 50 ans : 62 ans (51 - 81)	FN : 51/111 (45,9%)	pas de témoins	pas de témoins	-	Fémoral
<i>Sossa Melo et al. (2018) (50)</i>	Colombie	90	NR	34/89 (38,2%)	90	13/90 (14,44%)	<0,01	Fémoral
<i>Ekinci et al. (2019) (51)</i>	Turquie	41	26 ans (18 - 56)	11/41 (26,8%)	40	1/40 (2,5%)	<0,001	Fémoral

Une première méta-analyse publiée en 2010 par Iorio et al. (52), analysant les données d'ostéodensitométrie chez les patients hémophiles (101 adultes et 111 enfants inclus), a confirmé l'association entre hémophilie sévère et DMO basse, par rapport à des contrôles appariés sur l'âge. Ces résultats ont été renforcés par une autre méta-analyse publiée par Paschou et al. en 2014, incluant plus de patients (499 au total) et portant sur 13 études cas-témoins (53). Enfin, une étude rétrospective a confirmé que les patients hémophiles A et B avaient un risque plus

élevé de pathologies osseuses (ostéopénie, ostéoporose, mais également de fractures) par rapport à la population générale (54).

Les patients hémophiles A et B présentent donc une diminution de la densité osseuse, tant au niveau lombaire que de la hanche, qui semble apparaître dès l'enfance. De même, tous les stades de sévérité de la maladie hémophilique semblent être à risque (45).

### *1.3.2 Facteurs de risque d'atteinte osseuse chez l'hémophile*

Bien que l'observation d'une atteinte osseuse soit fréquente chez les patients hémophiles, les mécanismes physiopathologiques sous-jacents ne sont pas encore complètement élucidés.

Cette ostéopathie systémique semble être d'origine multifactorielle (23) et plusieurs facteurs de risque cliniques ont été étudiés :

#### Arthropathie hémophilique et activité physique :

Dans un premier temps, l'hypothèse principale de l'atteinte osseuse des hémophiles a été l'arthropathie hémophilique et son degré de sévérité entraînant une sédentarité (48). Cette atteinte articulaire, spécifique du patient hémophile, entraîne une baisse de la capacité fonctionnelle à se déplacer et donc, de l'activité physique (55). La sédentarité de certains patients pourrait, en outre, être également expliquée par crainte des conséquences hémorragiques associées à l'activité physique.

Ainsi, pour certains auteurs, le manque d'effort avec charge durant l'enfance ne permet pas d'atteindre un pic de masse osseuse suffisant, généralement atteint vers 25 ans (56,57). Les patients partent donc d'emblée avec un déficit de masse osseuse se prolongeant au cours de l'âge adulte.

Cependant, l'argument d'une baisse d'activité secondaire à l'arthropathie est discutable depuis la mise sous prophylaxie systématique des hémophiles sévères depuis de nombreuses années. En effet, une étude a mis en évidence le bénéfice de la mise en place d'une prophylaxie précoce et au long cours sur la densité osseuse dans une cohorte d'hémophiles sévères (58). Ces derniers présentaient une DMO à différents sites similaire à celle d'hémophiles mineurs et il n'y avait pas de corrélation significative entre l'activité physique des patients et la densité minérale osseuse.

### Comorbidités infectieuses :

D'autres facteurs sont également incriminés dans la population hémophile comme les infections chroniques au VIH ou au VHC ainsi que leurs traitements respectifs (47,59). Ces infections chroniques, particulièrement présentes chez ces patients, sont associées à un risque indépendant de baisse de la DMO dans ces deux études et pourraient expliquer, au moins en partie, ces anomalies de la densité osseuse chez le patient hémophile.

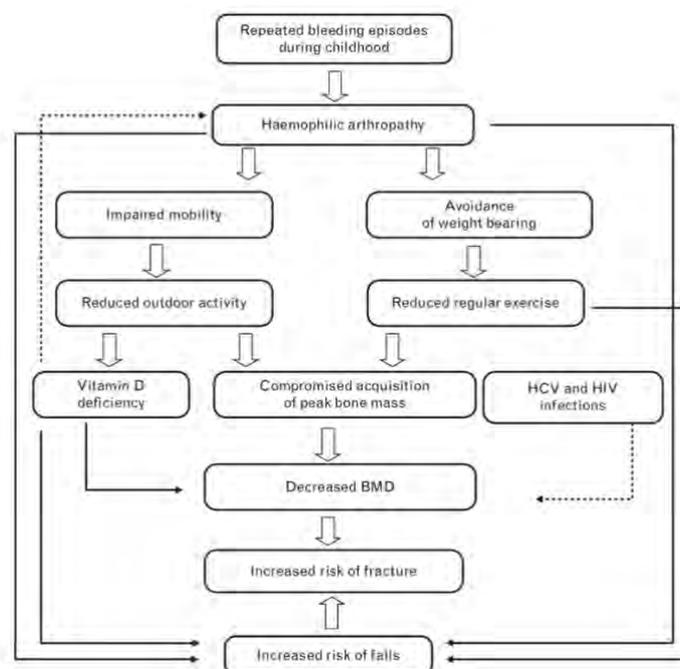
### Carence vitaminique :

De plus, il a été montré que les patients hémophiles, comme une bonne partie de la population générale, présentaient un taux important de carence en vitamine D. Dans une étude (44), la concentration en 25-OH-vitamine D étaient un facteur prédictif indépendant de baisse de la DMO chez des patients hémophiles A et B. Cependant, cela n'explique pas la différence de prévalence entre les patients hémophiles et le reste de la population.

### Masse corporelle

Enfin, un faible indice de masse corporelle (IMC) était associé à une masse osseuse plus faible chez l'hémophile pour certains auteurs (47).

Ces différents facteurs de risque sont synthétisés dans le schéma suivant (Figure 8) :



**Figure 8.** Pathogénie de l'atteinte osseuse chez l'hémophile, tiré de Anagnostis et al (23)

### 1.3.3 Hypothèses physiopathologiques

Indépendamment des facteurs de risque cliniques décrits, des études fondamentales évoquent d'autres potentiels mécanismes de l'atteinte osseuse chez l'hémophile :

#### Facteurs de croissance hématopoïétiques :

Gurevitch et al. (60) évoque une autre hypothèse expliquant l'atteinte osseuse des patients hémophiles. Selon ces auteurs, lors d'accidents hémorragiques ou de saignements à bas bruit, les pertes de sang accompagnant ces épisodes favoriseraient l'augmentation de production de facteurs de croissance hématopoïétiques. Cette augmentation entraînerait une prolifération de précurseurs hématopoïétiques avec notamment des précurseurs ostéoclastiques, induisant alors une ostéorésorption accrue.

#### Inflammation et remodelage osseux :

Par ailleurs, d'un point de vue cellulaire, le tissu osseux des hémophiles serait le lieu d'un remodelage osseux important avec une augmentation de la résorption osseuse (61). Cette augmentation de l'ostéoclastogenèse serait médiée par le rôle pivot d'un réseau de cytokines pro-inflammatoires et de facteurs d'activation des ostéoclastes, notamment l'axe RANKL/OPG (59,62). En effet, chez l'hémophile sévère, malgré une prophylaxie optimale, il persisterait des micro-saignements articulaires pouvant induire une réponse inflammatoire avec relargage de cytokines pro-inflammatoires (19). Cet environnement inflammatoire pourrait être associé à une baisse de DMO par remodelage osseux. Ainsi, une étude publiée en 2017 (63) a montré une augmentation des marqueurs d'inflammation aiguë (dont la CRP ultrasensible) chez des patients hémophiles avec divers degrés d'arthropathie hémophilique comparés à des sujets sains. Ces patients présentaient également en parallèle une augmentation des marqueurs de résorption osseuse (CTX-1). Bien que la plupart de ces patients présentaient une arthropathie hémophilique, il n'y avait de pas corrélation entre le statut articulaire clinique et les biomarqueurs.

Concernant les mécanismes de remodelage osseux, différents marqueurs ont été étudiés spécifiquement chez les patients hémophiles comme le TRACP (59), les PALOS (64), la triade RANK/RANKL/OPG (65) le CTX (66) ou la sclérostine (65). Cependant, les résultats sur ces biomarqueurs diffèrent selon les études :

augmentation de la résorption osseuse avec (62) ou sans (59) compensation de l'activité ostéoblastique, diminution de l'ostéoformation (67) ou bien un effet combiné (68) avec augmentation de l'ostéorésorption médiée par les ostéoclastes associée à une diminution de l'ostéoformation.

#### Facteur VIII :

Récemment, sur le plan moléculaire, l'interaction du FVIII avec différents tissus a permis de suggérer d'autres rôles que celui de son intervention dans la coagulation (69). Parmi ces fonctions, des données ont émergé quant à son implication dans le remodelage osseux à travers des études fondamentales sur des cultures cellulaires ou sur des modèles animaux. Ces expériences préliminaires sur la souris suggèrent qu'une augmentation de la résorption osseuse responsable de la diminution de DMO dans l'hémophilie serait due à un effet direct du déficit en facteur VIII ou XI de la coagulation (34,70,71). En effet, l'étude nantaise de Baud'huin et al. publiée en 2009 a montré qu'in vitro, le complexe FVIII/vWF inhibait l'ostéoclastogenèse de manière directe (en se fixant à RANKL) et indirecte (en renforçant l'activité de l'OPG). De plus, une autre étude publiée en 2012 (72) a prouvé qu'un déficit en facteur VIII chez la souris menait à une baisse de la DMO indépendamment des hémarthroses, de l'activité physique et des comorbidités. Enfin, Recht et al. (70) ont montré, chez des souris déficitaires en facteur VIII, une atteinte osseuse due à une augmentation de la résorption osseuse. Dans cette étude, des cytokines de l'inflammation également impliquées dans le métabolisme osseux (IL-1a et IFN- $\beta$ ) étaient diminuées. Ces résultats sous-tendent l'hypothèse que l'atteinte osseuse pourrait être médiée par un effet immunologique (inflammatoire). L'effet sur le tissu osseux d'un déficit sévère en FVIII expliquerait également le bénéfice apporté par la prophylaxie des hémophiles sévères sur leur DMO dans l'étude de Khawaji et al. (58).

#### Facteur IX :

Il y a peu de données concernant l'hémophilie B, la plupart des études ne différenciant pas le type d'hémophilie (44,47). Néanmoins, une étude expérimentale sur souris présentant un déficit en facteur IX a mis en évidence un profil ostéoporotique chez ces souris comparé à des souris non déficitaires (71). Chez l'homme, une seule étude cas – témoins intéressant des hémophiles B sévères a été publiée à notre connaissance (73). Elle montre une différence significative entre les patients et les contrôles sur les scores de DMO.

Concernant les différences de phénotype osseux entre hémophiles A et B, une étude de Linari et al. (46) publiée en 2020 a montré qu'une DMO basse au col du fémur était significativement plus fréquente chez les hémophiles A que chez les B dans la cohorte des patients de moins de 50 ans. Cette différence n'était pas retrouvée chez les patients de plus de 50 ans. Cet essai a également démontré que les hémophiles A avaient des marqueurs de résorption osseuse plus élevés que les hémophiles B. Ces données confortent celles de Recht et al. (74) qui retrouvaient également une augmentation de la résorption osseuse (mesuré par CTX-1) chez des patients hémophiles A en comparaison aux hémophiles B.

Ainsi, la physiopathologie de l'impact du FVIII et du FIX sur le remodelage osseux n'est que partiellement éclaircie.

#### La thrombine :

Dans l'hémophilie, le déficit en FVIII ou FIX engendre un défaut de génération de la thrombine. Des auteurs se sont donc intéressés au rôle de la thrombine sur l'os, mais les résultats sont contradictoires (75,76). Li et al. (75) rapporte un effet de la thrombine sur l'ostéoformation alors qu'une étude plus récente a montré une augmentation de la DMO chez des souris déficitaires du récepteur de la thrombine (76). Toutefois, on ne retrouve aucune information quant au(x) récepteur(s) en cause.

Selon l'article de synthèse de Rodriguez et al. (61), bien que l'atteinte osseuse soit multifactorielle, les mécanismes sous-jacents semblent donc être de deux sortes principalement :

- L'effet du complexe FVIII/vWF sur le remodelage osseux semble clair à travers l'axe RANKL/OPG. Le rôle de la thrombine reste incertain.
- Un effet indirect dû à un changement dans les profils cytokiniques (rôle de l'inflammation consécutive à des micro-hémorragies articulaires).

#### *1.3.4 Prise en charge de la santé osseuse chez l'hémophilie*

D'un point de vue clinique, Anagnostis et al. (77) préconise le dépistage précoce (vers 50 ans pour la première évaluation) d'une atteinte osseuse chez le

patient hémophile par mesure de la DMO par DXA. Cette mesure de DMO permettrait une prise en charge précoce et adaptée à chaque patient en fonction de son risque fracturaire.

Bien évidemment, il faut s'assurer, comme dans la population générale, que les apports en calcium sont suffisants et prescrire une supplémentation en vitamine D si une carence est retrouvée.

Par ailleurs, chez les hémophiles sévères, une prophylaxie par concentré de facteurs de la coagulation (facteur VIII ou IX selon l'hémophilie) au long cours a pu démontrer son efficacité dans la prévention de la perte osseuse et des atteintes articulaires (58).

Enfin, chez les patients hémophiles à haut risque fracturaire, des traitements plus efficaces, comme les biphosphonates, peuvent être utilisés pour améliorer la densité minérale osseuse (78).

## 1.4 Hémophilie : différenciation monocytaire et inflammation

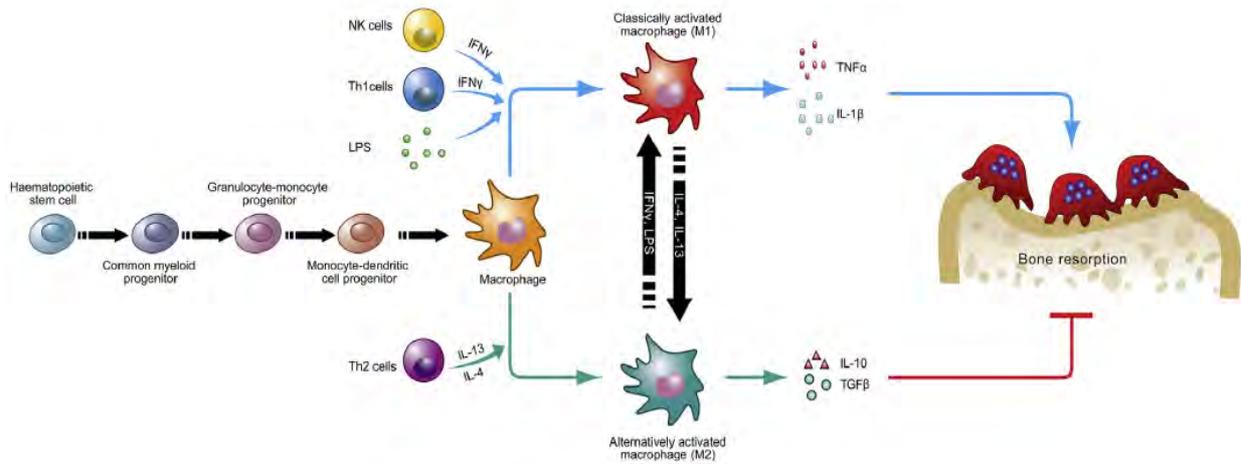
Outre son rôle certain dans l'hémostase et possible dans le remodelage osseux, le FVIII semble impliqué dans d'autres fonctions biologiques comme l'angiogenèse, l'hématopoïèse et la polarisation monocytaire/macrophagique (69).

### *1.4.1 Rôle du facteur VIII dans la différenciation monocytaire - généralités sur les monocytes*

De rares travaux suggèrent un lien entre le FVIII et la fonctionnalité des monocytes/macrophages. En effet, Knowles et al. (79) ont récemment démontré que la différenciation des macrophages et des monocytes était dérégulée chez les patients hémophiles A, en mettant notamment en évidence une dysfonction des macrophages en réponse au M-CSF. Ces auteurs ont également révélé, par comparaison à des donneurs sains, une baisse d'expression des marqueurs caractérisant les macrophages anti-inflammatoires (appelés macrophages M2) à la surface des monocytes des patients hémophiles, notamment les antigènes de différenciation CD163 et Tie2. De plus, ces résultats ont été précédés par une étude sur modèle murin de 2014 montrant également une altération de la polarisation monocytaire et macrophagique chez des souris déficitaires en FVIII après induction d'une hémarthrose (80).

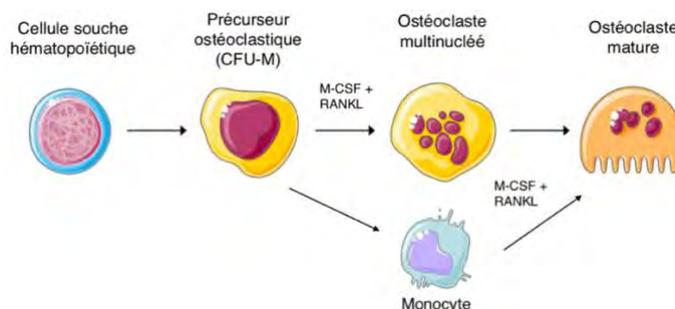
Les monocytes jouent un rôle important dans l'inflammation, notamment après une lésion vasculaire. Ces cellules sanguines, issues de la moelle osseuse, gagnent les tissus où ils se différencient en macrophages dans une trajectoire unidirectionnelle (les macrophages ne regagnent jamais la circulation sanguine). Dans les tissus, les macrophages peuvent se différencier en cellules pro-inflammatoires (macrophages M1), sous l'action de cytokines pro-inflammatoires comme l'Interféron- $\gamma$  et le TNF- $\alpha$ , ou en macrophages anti-inflammatoires (M2) sous l'influence de cytokines anti-inflammatoires comme les interleukines IL-4 et IL-13 (81). Les macrophages M1 jouent un rôle dans l'inflammation (élimination de pathogènes, présentation d'antigènes et modulation de la réponse lymphocytaire) en sécrétant notamment des cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- $\alpha$ , l'interleukine IL-6 ou encore l'IL-1 $\beta$ . Ces macrophages inflammatoires interviennent

également indirectement, par les cytokines sécrétées, dans le remodelage osseux en favorisant la résorption osseuse par les ostéoclastes (avec augmentation de leur différenciation et de leur activation). D'autre part, les macrophages M2 jouent un rôle dans la réparation tissulaire et la résolution de l'inflammation, mais également dans l'homéostasie osseuse en inhibant indirectement l'ostéoclastogénèse, *via* les cytokines IL-10 et TGF- $\beta$  (Figure 9).



**Figure 9.** Polarisation des macrophages sous l'effet de cytokines et influence sur le tissu osseux (figure issue de Gu et al.(81))

De plus, les monocytes sanguins sont impliqués dans le métabolisme osseux comme précurseurs des ostéoclastes sous l'influence d'un environnement cytokinique favorable (RANKL/M-CSF) (33). Les ostéoclastes sont donc issus de la lignée myélo-monocytaire, dont une partie, directement du pool de monocytes circulants (Figure 10).



**Figure 10.** Différenciation ostéoclastique

Selon la nomenclature de 2010 (82), les monocytes humains sanguins sont une population hétérogène pouvant être divisée en 3 sous-types en fonction de l'expression des marqueurs de surface CD14 et CD16. Le sous-type principal comprend les monocytes classiques CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>, tandis que les monocytes exprimant CD16 se distinguent entre monocytes intermédiaires (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>) et monocytes non classiques (CD14<sup>+/-</sup>CD16<sup>++</sup>).

Ces populations monocytaires semblent douées de fonctions différentes. Ainsi, le sous-type des monocytes intermédiaires aurait le potentiel inflammatoire le plus important et serait associé à des pathologies inflammatoires chroniques comme l'athérosclérose (83).

#### *1.4.2 Implication du facteur VIII dans l'inflammation*

Comme mentionné auparavant, plusieurs travaux indiquent donc que les sujets hémophiles posséderaient des monocytes sanguins présentant des caractéristiques anti-inflammatoires atténuées et seraient éventuellement atteints d'une inflammation chronique modérée (79,80). Ceci est soutenu, dans l'étude de Knowles et al. (79), par la mise évidence de taux de leptine et de CRP augmentés chez les hémophiles. De même, cette étude de 2017 (63), déjà mentionnée, révélait une augmentation de la CRP ultrasensible chez des patients hémophiles avec arthropathie hémophilique. De plus, il n'était pas retrouvé de corrélation entre la sévérité de l'arthropathie et le syndrome inflammatoire biologique. L'hypothèse d'un état pro-inflammatoire chez le patient hémophile est également soutenue par les travaux de Jardim et al. portant sur des enfants hémophiles A naïfs de tout traitement par FAH (84). Cette étude a montré une augmentation significative des taux de CXCL8, IL-6, IL-2, IL-10 et IL-17a chez les patients versus des garçons sains de même âge. Enfin, une relation entre des taux élevés de CRP et une baisse de la DMO a été retrouvée dans une cohorte de patients hémophiles. Les auteurs de ce travail évoquent l'inflammation comme principal facteur de la perte osseuse chez ces malades (50).

Il semble donc que le système de coagulation (et particulièrement le FVIII) joue un rôle dans la polarisation monocyttaire/macrophagique et l'inflammation, étroitement liées au remodelage osseux (81). Outre un rôle propre, le FVIII pourrait également

avoir un impact sur le tissu osseux indirectement par la génération de FXa et de thrombine. En effet, une étude de 2020 a montré que la thrombine par la fixation au récepteur PAR-1 induit une différenciation macrophagique vers un phénotype pro-inflammatoire M1, avec sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (85). De même, le rôle du FXa *via* son récepteur PAR-2 sur la polarisation en M1 macrophages et l'inflammation a été mis évidence dans une autre étude (86).

#### *1.4.3 Polyarthrite rhumatoïde : modèle physiopathologique pour l'hémophilie*

Des processus biologiques similaires à l'hémophilie sont observés chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR). Cette maladie auto-immune est une pathologie rhumatologique inflammatoire associée à une destruction des articulations ainsi qu'à une ostéopénie, dans laquelle le rôle de l'inflammation *via* sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et des cellules immunitaires a été clairement établi (87). Plusieurs études mettent en avant le rôle des monocytes/macrophages dans le métabolisme osseux, la résorption osseuse et la physiopathologie de la PR (81,87,88). En effet, Fukui et al (88) décrivent un déséquilibre entre les monocytes M1 et M2 chez des patients présentant une polyarthrite rhumatoïde. Cette inversion du profil monocyttaire en faveur de monocytes aux caractéristiques inflammatoires est un facteur favorisant l'ostéoclastogenèse (ratio M1/M2 directement proportionnel au nombre d'ostéoclastes). De plus, ce travail montre que ces monocytes inflammatoires sécrètent plus de cytokines pro-inflammatoires (IL-6 essentiellement). De même, l'étude des marqueurs de la résorption osseuse montre des similarités entre la PR (89) et l'hémophilie (62) notamment sur l'axe RANKL/OPG. Concernant les marqueurs de l'inflammation, Toenges et al. (90) ont montré un profil similaire de biomarqueurs (notamment CRP, leptine, IL-10 et IL-12) entre des patients hémophiles, avec et sans arthropathie, et des patients avec une PR.

Il existe donc un parallèle entre ces deux pathologies (hémophilie et PR), qui associent des processus biologiques communs incluant une inflammation chronique, une anomalie du remodelage osseux et une modification de la différenciation de la lignée monocyte/macrophage.

#### *1.4.4 Mo-MDSC : cellules immunorégulatrices impliquées dans le métabolisme osseux*

Pour finir, nous abordons également un groupe cellulaire impliqué dans des mécanismes inflammatoires, il s'agit des Myeloid-Derived Suppressive Cells (MDSC). Ces cellules d'origine myéloïde sont dotées de fonctions suppressives et sont impliquées dans des processus tumoraux principalement. Une partie de cette population est issue de la lignée granuleuse (MDSC granuleuses) tandis que l'autre partie est d'origine monocyttaire (MDSC monocytaires ou Mo-MDSC). Ces dernières cellules sont générées dans la moëlle osseuse ou mobilisées à partir de monocytes stockés dans la rate. Elles ont la capacité d'acquérir un phénotype pro-inflammatoire au sein du microenvironnement tumoral, mais également de se différencier en macrophages (91).

Ce groupe cellulaire a été étudié dans la PR et serait impliqué dans la physiopathologie de la maladie (92). Les MDSC seraient ainsi augmentés dans cette pathologie et joueraient un rôle d'immunorégulateur sur les lymphocytes T CD4 et Th17 avec des fonctions anti- et pro-inflammatoires. De plus, chez des patients avec PR, ces cellules (principalement les Mo-MDSC) auraient la capacité de se différencier en ostéoclastes et d'influencer les lymphocytes Th17 vers un phénotype favorisant l'ostéoclastogenèse médiée par RANKL (93). Ce travail a été complété par une étude sur souris révélant qu'une déplétion en Mo-MDSC amoindrissait la résorption osseuse et la sévérité de l'arthrite alors qu'un transfert de ces cellules à l'animal aggravait la maladie par augmentation des ostéoclastes (93).

À notre connaissance, aucune étude sur les MDSC monocytaires n'a été réalisée dans l'hémophilie. Il nous a paru intéressant d'évaluer cette dernière population cellulaire dans notre travail.

## **2 Objectifs**

Il existe un lien probable entre déficit en facteur de la coagulation et atteinte osseuse précoce (avec altération du métabolisme osseux) chez les patients hémophiles. Les mécanismes physiopathologiques restent incertains, mais certains travaux suggèrent que des acteurs cellulaires sanguins (monocytes) et moléculaires (cytokines inflammatoires) seraient impliqués.

Une analogie est décrite entre l'hémophilie et la polyarthrite rhumatoïde, qui est une pathologie inflammatoire avec atteinte articulaire associée à une baisse de la DMO survenant via le relargage de cytokines pro-inflammatoires (87) et l'implication des monocytes/macrophages (81). En nous basant sur ce modèle, les variations des taux de protéines inflammatoires et des populations immunitaires (monocytes sanguins et Mo-MDSC) ont été étudiées chez les patients hémophiles, afin d'évaluer leur implication potentielle dans les anomalies osseuses que présentent ces patients.

**Le but de notre étude était donc d'étudier le statut osseux de patients hémophiles adultes suivis au CRC-MHC du CHU de Nantes, de définir les facteurs de risque de baisse de densité osseuse, ainsi que de caractériser leur phénotype monocyttaire et d'évaluer les marqueurs plasmatiques potentiellement impliqués dans le métabolisme osseux.**

### **Objectifs principaux :**

- estimer la prévalence de l'atteinte osseuse (ostéopénie, ostéoporose) précoce des patients hémophiles et d'évaluer la différence de phénotype osseux selon le type et la sévérité de la maladie
- évaluer les caractéristiques des populations monocytaires et le profil inflammatoire des patients hémophiles en comparaison à des témoins sains (rôle de l'impact d'un déficit de la coagulation sur l'inflammation).

**Critères d'évaluation principaux :**

- une évaluation du phénotype osseux par mesure de la densité minérale osseuse (DMO) par ostéodensitométrie (DXA)
- une analyse par cytométrie en flux (CMF) des populations monocytaires
- une évaluation du profil inflammatoire par dosage des protéines de l'inflammation.

**Objectifs secondaires :**

- évaluer la corrélation entre les critères de jugements principaux (DMO/monocytes/protéines inflammation) afin d'expliquer un lien physiopathologique entre hémophilie et atteinte osseuse
- étudier l'impact des facteurs de risques cliniques connus d'atteinte osseuse sur le phénotype osseux (DMO) des patients hémophiles
- évaluer les mécanismes du remodelage osseux (ostéoformation et résorption osseuse) chez le patient hémophile.

**Critères de jugement secondaires :**

- le recueil des facteurs de risques cliniques d'atteinte osseuse du patient hémophile (dont une estimation de l'activité physique par auto-questionnaire)
- une analyse des biomarqueurs biochimiques du métabolisme osseux
- une étude complémentaire par CMF des Mo-MDSC.

### **3 Matériel et méthodes**

#### **3.1 Design de l'étude**

Cette étude est monocentrique, prospective, non interventionnelle, à visée épidémiologique et physiopathologique. Les données de biochimie et d'immunologie ainsi que de cytométrie en flux ont été comparées entre hémophiles et témoins sains.

La période de recrutement s'étalait de décembre 2019 à octobre 2020. Le recrutement des patients a été réalisé lors des consultations systématiques de suivi des patients hémophiles au CHU de Nantes. Il n'y avait pas de période de suivi.

Les prélèvements de ce projet de recherche ont été effectués dans le cadre d'une biocollection existante dans un programme de recherche du CHU de Nantes, intitulé : « Hémopathies Malignes et non Malignes et pathologies de l'Hémostase ».

#### **3.2 Population de patients hémophiles et témoins**

##### **Patients hémophiles :**

##### **Critères d'inclusion :**

- majeurs de sexe masculin suivis au CRC-MHC du CHU de Nantes
- présentant un diagnostic d'hémophilie A ou B, de classification sévère, modérée ou mineure selon les critères de l'ISTH, sans ou avec une prophylaxie, et sans inhibiteur actif
- bénéficiant d'un système de sécurité sociale
- ayant produits une non-opposition orale après information et fournis un consentement écrit (Annexe 3 : Fiche biocollection).

##### **Critères d'exclusion :**

- patients mineurs (< 18 ans), sous tutelle ou sous curatelle
- patients hémophiles connus avec inhibiteur actif (anti-FVIII ou anti-FIX)
- patients hémophiles traités par Emicizumab

- antécédents d'ostéoporose connue +/- traitée (par biphosphonates ou autres traitements spécifiques de l'ostéoporose)
- principales causes d'ostéoporose secondaire (critères HAS 2006 (38)) :
  - corticothérapie systémique en cours ( $\geq 3$  mois consécutifs, à une posologie  $\geq 7,5$  mg/j d'équivalent prednisone)
  - autre traitement ou affection responsable d'ostéoporose : hypogonadisme prolongé (dont l'androgénoprivation chirurgicale [orchidectomie] ou médicamenteuse [hormonothérapie dans le traitement du cancer de la prostate], hyperthyroïdie évolutive non traitée, hypercorticisme, hyperparathyroïdie primitive.

### **Témoins :**

Dix témoins de sexe masculin et d'âge similaire ont été recrutés pour cette étude. Ces derniers ne présentaient pas de symptomatologie hémorragique ni de pathologie osseuse ou inflammatoire systémique connue. La prise de traitement interférant avec le métabolisme osseux (notamment une corticothérapie au long cours) a également été vérifiée. Enfin, l'indice de masse corporelle (IMC) a été calculé pour chacun d'eux ( $IMC = \text{Poids(kg)}/\text{Taille(m)}^2$ ). Leurs prélèvements ont permis d'établir les normes du laboratoire pour la CMF ainsi que pour l'analyse des dosages des protéines spécialisées de l'inflammation et du métabolisme osseux.

### **3.3 Recueil de données**

Les données cliniques ont été recueillies au cours de la consultation au CRC-MHC du CHU de Nantes, ainsi que dans les carnets de suivi de la pathologie hémorragique, la base de soin NHEMO, les dossiers papier et informatisés des patients recrutés.

Le recueil des données de chaque personne se prêtant à la recherche a été réalisé par l'intermédiaire d'un tableur Excel dédié à la recherche respectant la loi « informatique et libertés ». Toutes les données ont été anonymisées par l'intermédiaire d'un codage.

Par ailleurs, cette étude a été approuvée par le groupe nantais d'éthique dans le domaine de la santé (GNEDS). Tous les participants ont reçu une information orale et signé un consentement (Annexes 2 à 4).

### 3.3.1 Données cliniques

Les différentes données concernant les caractéristiques cliniques générales des patients recueillies ont été :

- âge du patient
- Index de Masse Corporelle (IMC) ( $IMC = \text{Poids(kg)}/\text{Taille(m)}^2$ )
- type d'hémophilie (hémophilie A ou B)
- sévérité de la maladie (mineure/modérée/mineure)
- modalité de traitement par FAH (prophylaxie/à la demande)
- antécédent d'allo-anticorps inhibiteurs
- présence d'infections virales chroniques (VHC et VIH) ainsi que les traitements antiviraux en cours ou passés
- arthropathie des membres inférieurs (basé sur l'histoire de la maladie du patient [articulation cible, antécédents chirurgicaux de synovectomie ou de remplacement prothétique] et sur l'examen clinique)
- nombre d'articulations totales atteintes par arthropathie
- arthroplasties des membres inférieurs (prothèse totale de genou ou de hanche)
- antécédents de fractures (traumatiques, de fragilité, asymptomatiques)
- apports quotidiens en calcium (en mg/jour) basés sur un questionnaire recommandé par le GRIO (95)
- statut alcool-tabagique (tabagisme ancien ou sevré/consommation excessive d'alcool représentée par plus de 2 verres d'alcool par jour)
- score d'activité physique par questionnaire HAL (Haemophilia Activities List).

Cet auto-questionnaire Haemophilia Activities List (HAL) a été validé chez les patients hémophiles (96). Cet instrument, facile d'utilisation, permet de mesurer le degré de difficultés dans les actes simples de la vie quotidienne (fonction des bras, fonctions des jambes, soins personnels, tâches ménagères) ainsi que dans les sports et loisirs. Ces éléments sont cotés sur une échelle numérique après recodage des réponses données par le patient. Plus la valeur est faible et plus le patient est autonome dans ses activités quotidiennes. Le score total HAL varie de 42 (autonomie parfaite) à 252 (grabataire) (Annexe 5).

### 3.3.2 Données d'ostéodensitométrie (DXA)

Les examens ont été réalisés par le service de Rhumatologie du CHU de Nantes sur un seul appareil (LunarProdigy Advance, PA 41532, GE Healthcare Lunar) par le même opérateur expérimenté.

Les sites évalués ont été le rachis lombaire LS (4 premières vertèbres lombaires) et les extrémités supérieures des fémurs (cols fémoraux FN et hanche totale TH).

Les résultats recueillis pour chaque site (LS/FN/TH) étaient la densité minérale osseuse (DMO) mesurée en gramme de minéraux par centimètre carré scanné ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ), le T-score (pour les hommes de 50 ans et plus) et le Z-score (hommes de moins de 50 ans).

L'interprétation des résultats et le classement des malades ont été validés par un médecin expert en pathologies osseuses, en se basant sur les recommandations internationales citées dans l'introduction (Tableaux 2 et 4). Pour rappel, chez l'homme de 50 ans et plus, l'ostéopénie est définie par un T-score entre -1 et -2,5 alors que l'ostéoporose est définie par un T-score  $\leq -2,5$ . Pour les hommes de moins de 50 ans, l'ostéopénie correspond à un Z-score  $\leq -2$  et une DMO normale basse pour un Z-score entre -1 et -2.

L'ostéodensitométrie a été complétée par des radiographies standards du rachis afin de dépister des fractures vertébrales asymptomatiques.

### 3.3.3 Données de cytométrie en flux (CMF)

Les monocytes circulants du sang total, ainsi que les Mo-MDSC, ont été analysés en cytométrie en flux avec un instrument NAVIOS (Beckman Coulter, Miami, FL). Les données ont été analysées par le logiciel KALUZA® (Beckman Coulter). Pour chaque panel (voir ci-dessous), 200  $\mu\text{L}$  de sang total recueillis sur EDTA ont été ajoutés au mélange d'anticorps adéquat. Après une incubation de 20 minutes à 4°C et à l'abri de la lumière, les globules rouges ont été lysés par l'addition de 3mL de Versalyse® (BeckmanCoulter) pendant 20 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'acquisition des échantillons a ensuite été réalisée au cytomètre puis les listmodes ont été analysés avec le logiciel Kaluza®.

### **- Évaluation des populations monocytaires**

Pour cette analyse, un panel d'anticorps marqués a été utilisé associant les anticorps contre CD14 (APC AF700 – Beckman Coulter), CD16 (APC AF750 – Beckman Coulter), CD45 (KrO – Beckman Coulter), CD68 (AF647 – BD Biosciences, San Jose, CA), CCR2 (FITC – Biolegend, San Diego, CA), CX3CR1 (BV421 - BD Biosciences), CD163 (PerCP CY 5.5 – BD Biosciences), CD206 (PC7 — Beckman Coulter) et CD115 (PE — Biolegend).

Les populations monocytaires ont été définies par les immunophénotypes CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup> (monocytes classiques), CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> (monocytes intermédiaires) et CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup> (monocytes non classiques) comme décrits dans la nomenclature de 2010 (82).

Selon Fukui et al. (88), les marqueurs pro-inflammatoires choisis étaient CD68 et CCR2 (en plus de CD16<sup>+</sup>), et les marqueurs anti-inflammatoires étaient CX3CR1 et CD163, ainsi que le CD206. Ainsi, la population de monocytes pro-inflammatoire (MPI) était définie par l'expression à sa surface des marqueurs CD68 et CCR2.

Les résultats de CMF étaient exprimés en pourcentage (%) des monocytes totaux pour les différentes populations monocytaires (classiques, intermédiaires, non classiques) et en pourcentage des leucocytes totaux pour les monocytes pro-inflammatoires. Concernant les différents marqueurs de différenciation à la surface des monocytes, les résultats étaient intégrés en pourcentage des leucocytes totaux et en ratio de moyenne de fluorescence (MFI) : MFI des monocytes exprimant le marqueur sur la MFI de cellules n'exprimant pas le marqueur et servant de contrôle (polynucléaires neutrophiles pour tous les marqueurs excepté le CD68 où les lymphocytes ont été choisis).

### **- Évaluation des Myeloid-Derived Suppressor Cells monocytaires**

Un panel d'anticorps (kit Duraclone de Beckman Coulter) a été utilisé pour cette analyse, comprenant les marqueurs suivants : CD15 (FITC), CD14 (PE), CD33 (PC5), CD34 (PC7), CD11b (APC), DR (APC750), CD16 (PB), CD45 (KrO).

La population de Mo-MDSC était identifiée par l'immunophénotype CD14+/CD33+/CD11b+/DR- selon les recommandations (91). Le pourcentage (%) de ces cellules sur les leucocytes totaux a été recueilli.

En parallèle de la cytométrie en flux, une numération formule sanguine (NFS) a été réalisée pour chaque patient et chaque témoin. Les paramètres suivants ont été recueillis : nombre de leucocytes en G/L, taux d'hémoglobine en g/dL, taux de plaquettes en G/L et taux de monocytes en G/L. La NFS a été analysée sur la chaîne Sysmex XN (Sysmex France, Villepinte).

### *3.3.4 Données des examens biologiques*

#### **- Bilans de biochimie et hormonologie**

Pour chaque patient et témoin, il a été réalisé un bilan sanguin complet basé sur les pratiques courantes dans le cadre du bilan initial des ostéopathies fragilisantes (40).

Les dosages du versant « biochimie générale » comprenaient :

- un bilan phosphocalcique (calcémie ionisée, phosphorémie et magnésémie)
- la CRP (C-Reactive Protein)
- l'évaluation de la fonction rénale (créatinine plasmatique avec estimation du débit de filtration glomérulaire par méthode CKD-Epi)
- un bilan hépatique complet (transaminases, phosphatases alcalines, gamma-GT, bilirubines totale et directe).

Les analyses ont été réalisées sur les analyseurs Cobas C8000 (Roche Diagnostics France, Meylan) sauf la calcémie ionisée qui était effectuée sur les ABL90 ou 800 FLEX (Radiometer France, Neuilly-Plaisance).

Sur le plan « hormonologie », les analyses suivantes ont été réalisées :

- les phosphatases alcalines osseuses (PALOS)
- la TSH (Thyroid Stimulating Hormon)
- la parathormone (PTH)
- la 25-OH-vitamine D

- la testostérone totale.

La TSH et la PTH ont été dosées par électrochimiluminescence (ECLIA) sur l'automate Cobas C8000 (Roche Diagnostics France, Meylan). La vitamine D et les PALOS ont été mesurées par immunoluminométrie sur l'automate Liaison XL (Diasorin France, Antony). La testostérone totale a été dosée par méthode chromatographique (LC-MS/MS) sur le spectromètre de masse Xevo TQ-XS (Waters, Milford, MA).

En se basant sur les recommandations du GRIO (Groupe de recherche et d'information sur les ostéoporoses) (97), la carence en vitamine D était définie par une concentration en 25-OH-vitamine D inférieure à 10 ng/mL, tandis que l'insuffisance en vitamine D était retenue pour une concentration comprise entre 10 et 30 ng/mL. Les taux égaux et supérieurs à 30 ng/mL conféraient un statut normal en vitamine D.

#### **- Mesure des paramètres immunologiques et biomarqueurs osseux**

Des immunodosages par analyse multiplex des marqueurs de l'inflammation et du remodelage osseux ont été réalisés. Afin de déterminer la concentration des analytes dans les échantillons de sérum des patients et des témoins, l'analyse a été effectuée selon les recommandations du fournisseur, sur Luminex Magpix-based assay (Milliplex multiplex assay, Merck Millipore, St Quentin-en-Yvelines, France). Les mesures étaient exprimées en pg/mL. Les valeurs retrouvées en dessous du seuil de détection (données fournisseur) étaient définies comme 0 pg/mL.

Les molécules étudiées en analyse multiplex ont été : InterLeukine-1a (IL-1a), IL-1b, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12 et IL-13, M-CSF, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , leptine, sclérostine, Dkk-1, FGF-23, OPG, RANKL, TRACP-5b, TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 2 et TGF $\beta$ 3.

#### **- Évaluation du profil inflammation par mesure des cytokines de l'inflammation**

Concernant les cytokines impliquées dans l'inflammation, les principales molécules pro-inflammatoires retenues étaient l'IL-1, IL-6, l'IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , la CRP et la leptine. A contrario, les cytokines anti-inflammatoires retenues étaient les interleukines IL-4, IL-10, IL-12 et IL-13, ainsi que les TGF $\beta$ .

### - Biomarqueurs impliqués dans le métabolisme osseux

De fait de contraintes pré-analytiques (jeûne et horaire de prélèvement), il a été choisi des analyses avec des marqueurs stables dans le temps et ne nécessitant pas d'être à jeun. Ainsi, les marqueurs CTX-1 et NTX-1, habituellement utilisés en pratique clinique en Rhumatologie, n'ont pas pu être dosés.

Le marqueur utilisé pour évaluer l'ostéoformation était les phosphatases alcalines osseuses (PALOS) alors que la résorption osseuse était le reflet du dosage de TRACP-5b.

Les principaux marqueurs de régulation de l'activité ostéoclastique étaient le RANKL, l'OPG, le M-CSF, le TNF- $\alpha$  ainsi que l'IL-1 et l'IL-6.

Le Dkk-1 et la sclérostine étaient les inhibiteurs de l'activité ostéoblastique retenus pour cette étude (65).

La PTH et le FGF-23 étaient les facteurs étudiés dans la régulation du métabolisme phosphocalcique.

## 3.4 Analyses statistiques

Toutes les variables ont été décrites globalement et par sous-groupes à l'aide des effectifs et pourcentage (n (%)) de chaque modalité pour les variables qualitatives et de la médiane et du 1<sup>er</sup> et 3<sup>ème</sup> quartile (médiane [Q1 – Q3]), pour les variables quantitatives.

Des analyses bivariées entre les patients hémophiles ou les témoins, puis entre les patients ayant une DMO basse ou non, et les différents marqueurs biologiques ont été réalisées.

Pour ces analyses, des tests non paramétriques de Mann-Whitney Wilcoxon ou de Kruskal-Wallis ont été réalisés pour les variables quantitatives, et des tests de Chi 2 ou de Fisher (en fonction des effectifs) ont été réalisés pour les variables qualitatives.

Pour toutes les analyses statistiques, un  $p < 0.05$  a été considéré comme statistiquement significatif et les valeurs de  $p$  entre 0.05 et 0.1 étaient considérés comme une tendance.

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel R version 3.6.0 (R Foundation for Statistical Computing).

## 4 Résultats

### 4.1 Sélection des patients

De décembre 2019 à octobre 2020, 71 patients étaient éligibles à cette étude (Figure 11). Parmi eux, 3 patients ont été exclus de l'analyse dont 2 en raison d'une ostéoporose connue et traitée : l'un a été traité par tériparatide et était sous biphosphonate au moment de l'étude, il bénéficiait également d'une corticothérapie au long cours ; l'autre patient a reçu de 2010 à 2018 un traitement par biphosphonate. Le dernier patient exclu de ce travail était traité par Emicizumab et était polyhandicapé avec une impotence fonctionnelle majeure ne pouvant permettre la réalisation d'une ostéodensitométrie. Soixante-huit patients hémophiles adultes ont donc été inclus au cours de leur consultation de suivi au CHU de Nantes (étude cas – témoins). Parmi les malades inclus, 6 ne se sont pas présentés pour la réalisation de la DXA (3 hémophiles A sévères, 2 hémophiles B modérés et 1 hémophile A mineure). Enfin, un patient avait une hyperthyroïdie en cours de traitement et bien équilibrée : il a donc été retenu pour cette étude, car le critère d'exclusion était une hyperthyroïdie évolutive non traitée.

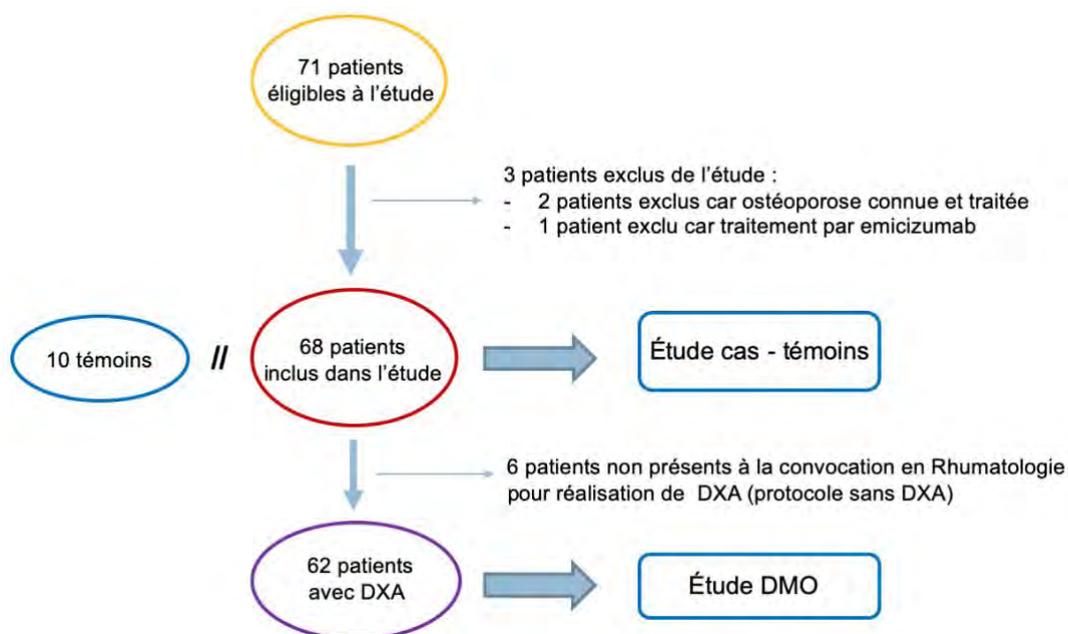
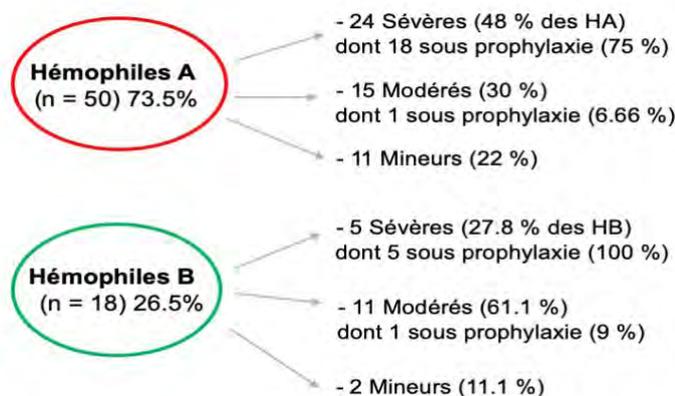


Figure 11. Flow chart de l'étude

## 4.2 Caractéristiques cliniques des patients et des témoins

Les caractéristiques cliniques des patients sont détaillées dans le tableau 7. Cinquante hémophiles A (73,5 %) et 18 hémophiles B (26,5 %) ont été inclus dans cette étude. La majorité (29 patients soit 42,7 %) présentait une hémophilie sévère alors que 26 malades (38,2 %) étaient des hémophiles modérés et 13 (19,1 %) des hémophiles mineurs. Un traitement par prophylaxie concernait surtout les hémophiles sévères (23 patients) et rarement des hémophiles modérés (2 patients). La majorité des hémophiles modérés (24 patients) et tous les hémophiles mineurs étaient tous sous traitement à la demande.

La distribution des patients en fonction du type et de la sévérité d'hémophilie était la suivante (Figure 12) :



**Figure 12.** Distribution de la cohorte de patients hémophiles

Un antécédent d'inhibiteur concernait 5 patients avec hémophilie A (4 HA sévères et 1 modéré), mais aucun hémophile B. La médiane d'âge à l'inclusion de la cohorte d'hémophiles était de 39,5 ans. L'IMC médian était de 24 kg/m<sup>2</sup> et 5 patients présentaient un faible IMC (<19 kg/m<sup>2</sup>). L'âge et l'IMC n'étaient pas différents entre les hémophiles et les témoins (Tableau 7).

Un statut séropositif au VIH était retrouvé chez 8 malades (11,8 %), tous traités par trithérapie. Concernant le VHC, environ un tiers des hémophiles (n=25) avaient une sérologie positive : 20 patients étaient guéris, 3 avaient une hépatite active sans cirrhose et 2 étaient atteints d'une cirrhose secondaire au VHC. La

présence d'une arthropathie hémophilique était fréquente au sein de la cohorte (n=38) et l'atteinte était le plus souvent poly-articulaire (n=29). Le score d'activité totale HAL médian des patients était de 68. Environ la moitié des hémophiles avaient une notion de tabagisme, mais aucun ne révélait une consommation excessive d'alcool. L'apport calcique médian était de 900 mg/jour au sein de la cohorte.

**Tableau 7. Caractéristiques des patients hémophiles et des témoins**

<b>Variables</b>	<b>Hémophiles (n=68) ; n (%), médiane [Q1 - Q3]</b>	<b>Témoins (n=10) ; n (%) ou médiane [Q1 - Q3]</b>	<b>p*</b>
<b>Âge</b> (années) - médiane [Q1 - Q3]	39.5 [31 - 51.25]	32.5 [30 - 51.25]	0.45
<b>IMC</b> (kg/m <sup>2</sup> )	24 [21.7 - 26.2]	23.1 [21.1 - 23.4]	0.11
<b>Faible IMC (&lt; 19 kg/m<sup>2</sup>)</b> – n (%)	5 (7.35 %)	0 (0.0%)	-
<b><u>Caractéristiques hémophilie</u></b>			
<b>Type</b>			
- Hémophilie A (HA)	50 (73.5 %)	-	-
- HB	18 (26.5 %)	-	-
<b>Sévérité de la maladie</b>			
- Mineure	13 (19.1 %)	-	-
- Modérée	26 (38.2 %)	-	-
- Sévère	29 (42.7 %)	-	-
<b>Modalité de traitement</b>			
- À la demande	43 (63.2 %)	-	-
- Prophylaxie	25 (36.8 %)	-	-
<b>Antécédent d'inhibiteur</b>	5 (7.4 %)	-	-
<b><u>Infections virales</u></b>			
<b>VIH positif</b>	8 (11.8 %)	-	-
<b>VHC positif</b> (sérologie positive)	25 (36.8 %)	-	-
<b><u>Statut articulaire</u></b>			
<b>Arthropathie membres inférieures</b>	38 (55.9 %)	-	-
<b>Nombre d'articulations atteintes</b>			
- Absence arthropathie	30 (44.1 %)	-	-
- Mono-articulaire	9 (13.2 %)	-	-
- Poly-articulaire (> 1 articulation)	29 (42.6 %)	-	-
<b>Arthroplastie des membres inférieurs</b>	11 (16.2 %)	-	-
<b>Score activité physique HAL</b>	68 [45.5 - 104]	-	-
<b><u>Habitudes</u></b>			
<b>Tabagisme (sevré ou actif)</b>	30/63 (47.6 %)	-	-
<b>Consommation excessive d'alcool (&gt;2 verres/jour)</b>	0 (0.0 %)	-	-
<b>Apport calcique quotidien (mg/jour)</b>	900 [600 - 1000]	-	-

Notes : Médianes présentées avec le 1<sup>er</sup> et 3<sup>ème</sup> quartile ([Q1 – Q3]), \* Test de Mann Whitney Wilcoxon.

## 4.3 Résultats étude cas – témoins

### 4.3.1 Cytologie et cytométrie en flux (CMF)

Les données globales de numération formule sanguine (NFS) ne montrent pas de différence significative entre les hémophiles et les témoins sur les leucocytes totaux, le taux d'hémoglobine, le nombre de plaquettes et le nombre de monocytes (Tableau 8).

**Tableau 8. Paramètres sanguins dans le groupe hémophiles et témoins**

Variables	Hémophiles (n=68)	Témoins (n=10)	p*
Leucocytes (G/L)	6.3 [5.2 - 7.3]	6.0 [5.4 - 6.9]	0.62
Hémoglobine (g/dL)	15.1 [14.3 - 15.6]	14.90 [14.27 - 15.57]	0.99
Plaquettes (G/L)	244 [216 - 290]	225 [219 - 241]	0.36
Monocytes (G/L)	0.50 [0.40 - 0.65]	0.62 [0.52 - 0.71]	0.12

Pour les analyses en CMF, la stratégie utilisée de sélection des fenêtres est expliquée en annexe (Figure 14).

#### - Évaluation des populations monocytaires et Mo-MDSC

Concernant l'analyse des sous-types monocytaires, il n'a pas été retrouvé de différence significative entre le groupe de patients avec hémophilie et le groupe de témoins. Par contre, une différence significative ( $p=0,025$ ) a été observée entre les patients et les contrôles, avec moins de MDSC monocytaires dans la population des hémophiles (médianes à 0,36 % versus 0,66 % chez les témoins) (Tableau 9).

**Tableau 9. Différentes classes cellulaires entre patients et témoins**

	Hémophiles (n=68) ; médiane [Q1 - Q3]	Témoins (n=10) ; médiane [Q1 - Q3]	p*
<b>Populations monocytaires</b>			
Classiques (%)	92.1 [88.6 - 94.9]	92.4 [90.9 - 92.7]	0.83
Intermédiaires (%)	4.2 [2.9 - 5.1]	3.8 [2.7 - 4.2]	0.24
Non-classiques (%)	3.9 [2.0 - 5.8]	4.3 [3.3 - 5.4]	0.51
Pro-inflammatoires – MPI (%)	5.4 [4.7 - 6.4]	5.5 [4.9 - 6.1]	0.99
<b>Mo-MDSC (%)</b>	<b>0.36 [0.23 - 0.79]</b>	<b>0.66 [0.54 - 1.01]</b>	<b>0.025</b>

Notes : Pourcentage par rapport aux monocytes totaux sauf MPI et Mo-MDSC (% des leucocytes totaux).

## - Étude des marqueurs monocytaires

En s'intéressant plus précisément aux différents marqueurs monocytaires en lien avec l'inflammation, aucune différence significative n'a été observée sur les marqueurs CD68 et CCR2 (Tableau 10). Par contre, les monocytes des hémophiles exprimaient significativement moins de CD163 que les témoins (médianes de 4,3 versus 5,5) ( $p=0,007$ ). Le CX3CR1 était significativement plus exprimé chez les hémophiles, mais son expression sur les monocytes des deux groupes était très faible (médianes à 1,3 et 1,1) ( $p=0,004$ ).

**Tableau 10. Résultats des différents marqueurs de CMF**

Marqueurs	Hémophiles (n=68) ; médiane [Q1 - Q3]	Témoins (n=10) ; médiane [Q1 - Q3]	p*
<b>Marqueurs pro-inflammatoires</b>			
<b>CD68</b>			
ratio MFI	2.8 [2.3 - 3.15]	2.6 [2.51 - 2.72]	0.31
pourcentage	6.9 [6.0 - 8.02]	6.8 [6.00 - 7.73]	0.99
<b>CCR2</b>			
ratio MFI	6.5 [5.5 - 7.14]	6.95 [6.5 - 7.5]	0.11
pourcentage	7.1 [6.4 - 8.20]	7.3 [6.7 - 8.3]	0.64
<b>Marqueurs anti-inflammatoires</b>			
<b>CD206</b>			
ratio MFI	1.0 [1.0 - 1.0]	1.0 [0.9 - 1.1]	0.92
pourcentage	6.4 [5.6 - 7.6]	6.3 [5.6 - 7.6]	0.89
<b>CX3CR1</b>			
ratio MFI	1.3 [1.2 - 1.34]	1.1 [1.1 - 1.2]	<b>0.004</b>
pourcentage	7.3 [6.3 - 8.60]	7.0 [6.4 - 7.8]	0.54
<b>CD163</b>			
ratio MFI	4.3 [3.8 - 5.1]	5.5 [4.8 - 5.8]	<b>0.007</b>
pourcentage	7.1 [6.3 - 8.1]	7.3 [6.2 - 7.8]	0.99
<b>CD115 (autre marqueur)</b>			
ratio MFI	1.9 [1.7 - 2.1]	2.0 [1.9 - 2.2]	0.26
pourcentage	7.3 [6.4 - 8.2]	7.4 [6.7 - 8.2]	0.88

Notes : données en médianes des ratios de MFI et pourcentage des leucocytes totaux.

### 4.3.2 Biochimie, marqueurs du métabolisme osseux et cytokines

Concernant l'analyse multiplex, les dosages de certains marqueurs ont été très majoritairement retrouvés inférieurs à la limite de détection ; ils étaient alors exprimés en nombre de dosages détectables et non détectables. Pour l'étude du métabolisme osseux, cela concernait RANKL, M-CSF, sclérostine et FGF-23 alors

cela s'appliquait à l'IFN- $\gamma$ , aux interleukines IL-1a, IL-1b, IL-4, IL-10, IL-12, IL-13 et au TGF- $\beta$ 3 pour l'analyse des cytokines inflammatoires.

### - Bilan de biochimie et hormonologie

Sur les paramètres biochimiques, il n'y avait aucune différence significative ni tendance mises en évidence entre le groupe hémophiles et le groupe témoins. Aucun patient n'avait d'anomalies des taux de calcium, magnésium et TSH ni d'insuffisance rénale modérée (DFG < 60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>). Trois hémophiles avaient une hypophosphorémie modérée (> 0,32 mmol/L). Quatre patients présentaient une cytolyse hépatique modérée (ALAT < 5 fois la normale) dont 2 avaient un antécédent d'hépatite C guérie et étaient également VIH+. Enfin, un hypogonadisme biologique (testostérone < 2 ng/mL) était retrouvé chez un patient (Tableau 11).

**Tableau 11. Bilans biochimiques des patients hémophiles et des témoins**

Paramètres	Patients (n=68) ; Médiane [Q1 - Q3]	Contrôles (n=10) ; Médiane [Q1 - Q3]	p*
<b>Calcémie ionisée</b> (mmol/L), vr : 1,17 - 1,29	1.25 [1.24 - 1.27]	1.26 [1.24 - 1.27]	0.56
<b>Magnésium</b> (mmol/L), vr : 0,66 - 1,07	0.82 [0.78 - 0.87]	0.84 [0.83 - 0.86]	0.30
<b>Phosphore</b> (mmol/L), vr : 0,81 - 1,45	0.95 [0.84 - 1.05]	0.98 [0.90 - 1.13]	0.48
<b>DFG</b> (CKD-EPI) (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> ), vr : 90 - 140	107.5 [92.8 - 118.3]	104.0 [98.3 - 118.8]	0.72
<b>Bilirubine totale</b> ( $\mu$ mol/L), vr : 0 - 21	8.0 [6.0 - 11.0]	8.4 [6.2 - 10.6]	0.84
<b>ASAT</b> (UI/L), vr : 0 - 51	24.1 [20.2 - 30.0]	24.2 [21.1 - 36.8]	0.66
<b>ALAT</b> (UI/L), vr : 0 - 51	25.2 [18.8 - 35.8]	28.5 [22.7 - 56.3]	0.17
<b>GGT</b> (UI/L), vr : 0 - 71	30.5 [22.0 - 47.3]	23.0 [18.3 - 30.3]	0.35
<b>PAL</b> (UI/L), vr : 55 - 129	68.4 [60.7 - 80.0]	70.1 [58.2 - 77.1]	0.90
<b>TSH</b> ( $\mu$ UI/mL), vr : 0,20 - 4,00	1.54 [1.12 - 2.08]	1.44 [1.21 - 1.67]	0.65
<b>Testostérone totale</b> (ng/mL), vr : 2,0 - 7,0	4.99 [3.79 - 6.93]	4.96 [4.52 - 5.40]	0.88

Abréviations : vr (valeurs de référence du laboratoire), DFG (débit de filtration glomérulaire), ASAT (aspartate aminotransférase), ALAT (alanine aminotransférase), GGT (gamma-glutamyl transférase).

### - Analyse des biomarqueurs du métabolisme osseux (Tableau 12)

Les taux de 25OH-vitamine D étaient significativement (p = 0,049) plus bas chez les patients hémophiles comparés au groupe contrôle (médianes à 20,1 et 28,3 ng/mL). Cependant, en analysant qualitativement selon le statut vitaminique (normal, insuffisance et carence), cette différence n'était plus retrouvée entre les 2 groupes. Comme attendu, une insuffisance en vitamine D était fréquente chez les hémophiles (43 patients soit 63,2 %) comme chez les témoins (50 %) alors qu'une

carence concernait 7 patients (10,3 %) et aucun témoin. Pour tous les autres marqueurs du métabolisme osseux, il n'y avait pas de différence significative retrouvée entre patients et témoins. Cependant, concernant RANKL, il a été mis en évidence une tendance sur le plan qualitatif (détectable/non détectable) avec plus de dosages non détectables chez les patients hémophiles (54,4 % contre 20 % pour les contrôles avec un  $p = 0,090$ ). Concernant les PALOS, 2 patients avaient des taux en dessous des valeurs de référence, mais aucun n'était au-dessus. Enfin, un seul patient avait un taux de PTH légèrement au-dessus de la normale (sans retentissement sur la calcémie) et aucun n'avait de taux abaissé.

**Tableau 12. Marqueurs du métabolisme osseux chez les patients hémophiles et les témoins**

Paramètres	Patients (n=68) ; Médiane [Q1 - Q3], n (%)	Contrôles (n=10) ; Médiane [Q1 - Q3], n (%)	p
<b>PALOS</b> ( $\mu\text{g/L}$ ), vr : 5.5 - 22.9	10.0 [7.8 - 13.2]	11.0 [9.9 - 11.8]	0.57
<b>TRACP</b>	41138 [29778 - 50435]	36064 [20795 - 49188]	0.50
<b>Régulation ostéoclastes</b>			
<b>RANKL</b> - médiane [Q1 - Q3]	0.0 [0.00 - 19.0]	11.5 [7.7 - 15.3]	0.18
non détectable - n (%)	37 (54.4 %)	2 (20.00 %)	<u>0.090</u>
détectable - n (%)	31 (45.6 %)	8 (80.00 %)	
<b>OPG</b>	410.8 [324.1 - 492.4]	340.3 [319.4 - 415.1]	0.24
<b>M-CSF</b> - médiane [Q1 - Q3]	0.00 [0.00 - 5.35]	0.00 [0.00 - 0.00]	0.104
non détectable - n (%)	44 (64.7 %)	9 (90.0 %)	0.16
détectable - n (%)	24 (35.3 %)	1 (10.0 %)	
<b>Inhibiteurs ostéoblastes</b>			
<b>Dkk-1</b>	1816.2 [1423.9 - 2237.2]	1787.5 [1602.8 - 1907.8]	0.78
<b>Sclérostine</b>			
non détectable	57 (83.8 %)	8 (80.0 %)	0.67
détectable	11 (16.2 %)	2 (20.0 %)	
<b>Métabolisme phosphocalcique</b>			
<b>PTH</b> ( $\text{pg/mL}$ ), vr : 15 - 65	33.0 [24.1 - 44.1]	29.8 [27.9 - 33.4]	0.62
<b>FGF-23</b>			
non détectable - n (%)	58 (85.3 %)	9 (90.00 %)	0.99
détectable - n (%)	10 (14.7 %)	1 (10.00 %)	
<b>Vitamine D</b> ( $\text{ng/mL}$ ), vr : 30 - 60	20.1 [15.2 - 30.7]	28.3 [20.9 - 37.1]	<b>0.049</b>
Statut normal - n (%)	18 (26.5 %)	5 (50.0 %)	0.28
Insuffisance (10 et 30 $\text{ng/mL}$ )	43 (63.2 %)	5 (50.0 %)	
Carence (<10 $\text{ng/mL}$ )	7 (10.3 %)	0 (0.0 %)	

Notes : tous les biomarqueurs en  $\text{pg/mL}$  sauf PALOS ( $\mu\text{g/L}$ ) et Vitamine D ( $\text{ng/mL}$ ) - vr (valeurs de référence du laboratoire).

### - Étude des cytokines inflammatoires (Tableau 13)

L'IL-6 était significativement ( $p = 0,0023$ ) augmentée chez les patients hémophiles comparés aux témoins (médianes 0,74  $\text{pg/mL}$  et 0,45  $\text{pg/mL}$ ). De plus, les patients présentaient des taux d'IL-12 et d'IL-13 significativement plus bas que les contrôles ( $p = 0,0026$  et  $p = 0,0023$  respectivement). Ces 2 paramètres n'étaient

plus significativement différents lorsque l'on comparait en qualitatif (détectable versus non détectable). Pour toutes les autres cytokines de l'inflammation, il n'y avait pas de différence significative entre les 2 groupes. Il est à noter toutefois une tendance à des taux de leptine plus élevés chez les hémophiles (médianes de 9177 pg/mL contre 4580).

Un syndrome inflammatoire biologique (CRP > 5 mg/L) était retrouvé chez 8 patients hémophiles (11,8 %), mais chez aucun témoin (p = 0,586).

**Tableau 13. Résultats des protéines inflammatoires des patients hémophiles et des témoins**

Paramètres (pg/mL sauf CRP)	Hémophiles (n=68) ; Médiane [Q1 - Q3], n (%)	Contrôles (n=10) ; Médiane [Q1 - Q3], n (%)	p
<b>Cytokines pro-inflammatoires</b>			
<b>IFN-<math>\gamma</math></b> - médiane [Q1 - Q3]	0.00 [0.00 - 0.32]	0.85 [0.00 - 2.25]	0.22
non détectable - n (%)	50 (73.5 %)	5 (50.0 %)	0.15
détectable	18 (26.5 %)	5 (50.0 %)	
<b>IL-1a</b>			
non détectable	55 (80.9 %)	8 (80.0 %)	1.0
détectable	13 (19.1 %)	2 (20.0 %)	
<b>IL-1b</b>	0.00 [0.00 - 3.15]	0.58 [0.00 - 4.88]	0.16
non détectable	39 (57.4 %)	3 (30.0 %)	0.17
détectable	29 (42.6 %)	7 (70.0 %)	
<b>IL-6</b>	<b>0.74 [0.44 - 1.21]</b>	<b>0.45 [0.10 - 0.59]</b>	<b>0.023</b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	9.3 [4.7 - 18.2]	16.0 [10.8 - 36.1]	0.18
<b>CRP (mg/L)</b> , vr : 0 - 5	1.4 [0.7 - 2.6]	1.1 [0.3 - 1.3]	0.19
<b>Leptine</b>	9177 [2459 - 12446]	4580 [1651 - 5132]	0.12
<b>Cytokines anti-inflammatoires</b>			
<b>IL-4</b> - médiane [Q1 - Q3]	0.00 [0.00 - 0.51]	0.00 [0.00 - 0.37]	0.75
non détectable - n (%)	43 (63.2 %)	7 (70.0 %)	1.0
détectable	25 (36.8 %)	3 (30.0 %)	
<b>IL-10</b>			
non détectable	66 (97.1 %)	10 (100 %)	
détectable	2 (2.9 %)	0 (0.0 %)	
<b>IL-12</b>	<b>0.00 [0.00 - 0.00]</b>	<b>0.49 [0.00 - 2.97]</b>	<b>0.026</b>
non détectable	54 (79.4 %)	5 (50.0 %)	<u>0.057</u>
détectable	14 (20.6 %)	5 (50.0 %)	
<b>IL-13</b>	<b>0.00 [0.00 - 4.06]</b>	<b>7.76 [0.00 - 37.13]</b>	<b>0.023</b>
non détectable	49 (72.1 %)	4 (40.0 %)	<u>0.067</u>
détectable	19 (27.9 %)	6 (60.0 %)	
<b>TGF-<math>\beta</math>1</b>	47013 [32196 - 60808]	46817 [37759 - 51287]	0.85
<b>TGF-<math>\beta</math>2</b>	1440 [1073 - 1827]	1545 [1318 - 1819]	0.38
<b>TGF-<math>\beta</math>3</b>			
non détectable	67 (98.5 %)	10 (100 %)	
détectable	1 (1.5 %)	0 (0.0 %)	

Notes : toutes les valeurs en pg/mL sauf CRP (mg/L) – vr (valeurs de référence du laboratoire) – données en Italique : analyses non réalisées (données inexploitables, car dosages majoritairement inférieurs au seuil de détection).

#### 4.4 Résultats étude avec DMO

Sur les 68 patients inclus dans notre travail, 62 ont bénéficié d'une DXA pour mesure de la DMO. Cette cohorte nous a permis de rechercher les facteurs de risque d'une diminution de la densité osseuse chez nos patients.. De plus, certaines populations cellulaires (monocytes et Mo-MDSC) et plusieurs marqueurs biologiques (métabolisme osseux, cytokines inflammatoires) potentiellement impliqués dans le métabolisme osseux ont été étudiés.

##### *4.4.1 Données d'ostéodensitométrie de la cohorte avec DMO*

Concernant l'analyse des données ostéodensitométriques, pour chaque patient, le côté retenu (hanche gauche ou droite) était celui présentant la valeur la plus basse ou bien celui n'étant pas affecté par une arthroplastie de hanche (mesure ne pouvant pas être réalisée). De plus, les patients avec une DMO basse (groupe DMO basse) ont été regroupés : les  $\geq 50$  ans avec un T-score  $< -1$  (ostéopénie et ostéoporose ensemble) et les  $< 50$  ans avec un Z-score  $\leq -2$ . Alors que le groupe DMO normale est défini par un T-score  $\geq -1$  chez les 50 ans et plus, et par un Z-score  $> -2$  chez les patients hémophiles de moins de 50 ans. Cela nous a permis de comparer ces 2 groupes.

Les données de DMO sont détaillées au total de la cohorte (Tableau 14) et par groupe d'âge : d'un côté les moins de 50 ans où le Z-score était utilisé (Tableau 20 en annexe) et de l'autre les 50 ans et plus où le T-score était privilégié (Tableau 21 en annexe). De plus, les hémophiles A et B par tranche d'âge ont été comparés.

Une baisse de la DMO (groupe DMO basse) était retrouvée chez 19 patients (30,7 % de la cohorte DMO totale) dont 11 hémophiles chez les 50 ans et plus (52,4 % de cette tranche d'âge) et 8 chez les moins de 50 ans (19,5 %).

Une différence significative au sein de la cohorte de moins de 50 ans avec une DMO abaissée chez les hémophiles B au niveau de la hanche totale (médianes à 0,92 contre 1,00 pour les patients avec HA) ( $p = 0,037$ ). De plus, les HB de moins de 50 ans avaient des DMO plus basses sur les cols fémoraux que les HA (médianes de 0,90 et 0,96 respectivement) ( $p = 0,070$ ) (Tableau 20 annexe).

Concernant les sites osseux, le col fémoral était le site le plus atteint avec 14 patients (73,7 % de la cohorte DMO basse) tandis que 13 patients (68,4 %) avaient une DMO abaissée au rachis lombaire et 11 (57,9 %) en hanche totale (Tableau 14).

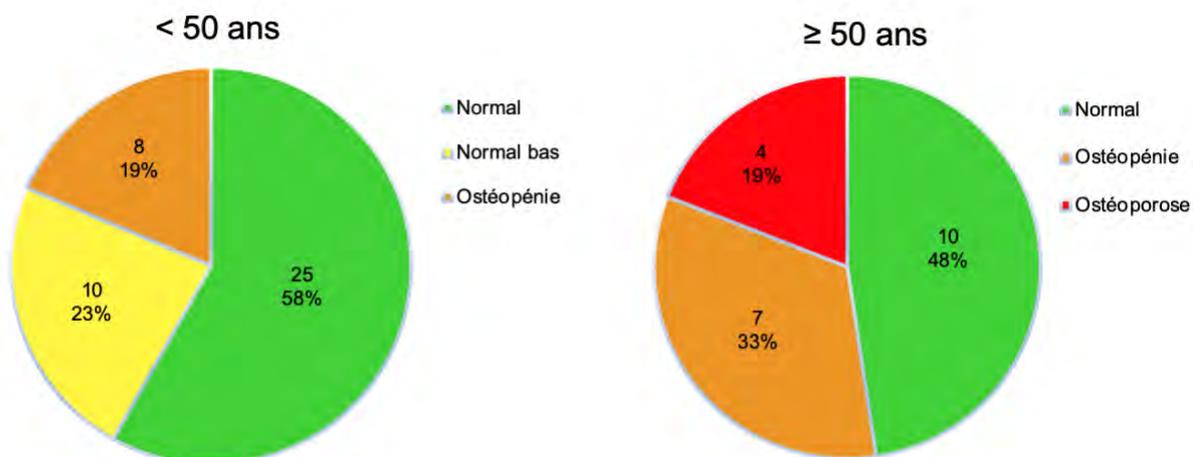
**Tableau 14. Données ostéodensitométriques de la cohorte totale**

Variables	Hémophiles avec DMO (n=62) ; Med [Q1 - Q3] ou n (%)			
	total (n=62)	HA (n= 46)	HB (n= 16)	p
<b>Âge</b>	42 [33 - 51.8]	42 [32.3 - 52.8]	40.5 [34.5 - 47]	0.96
<b>IMC</b>	24.4 [21.8 - 26.4]	24.7 [22.5 - 26.5]	22.2 [21 - 25.6]	0.24
<b>DMO rachis lombaire (LS)</b>				
- DMO (g/cm <sup>2</sup> )	1.14 [1.03 - 1.23]	1.15 [1.04 - 1.22]	1.08 [1.02 - 1.26]	0.52
- DMO basse LS - n (%)	13 (21.0 %)	10 (21.7 %)	3 (18.8 %)	1.0
<b>DMO col du fémur (FN)</b>				
- DMO (g/cm <sup>2</sup> )	0.92 [0.81 - 1.00]	0.92 [0.84 - 1.03]	0.86 [0.79 - 0.95]	0.18
- DMO basse FN	14 (22.6 %)	11 (23.9 %)	3 (18.8 %)	1.0
<b>DMO hanche totale (TH)</b>				
- DMO (g/cm <sup>2</sup> )	0.96 [0.88 - 1.04]	0.98 [0.89 - 1.06]	0.91 [0.85 - 0.97]	<u>0.073</u>
- DMO basse TH	11 (17.7 %)	8 (17.4 %)	3 (18.8 %)	1.0
<b>DMO basse n (%)</b>	<b>19 (30.7 %)</b>	<b>14 (30.4 %)</b>	<b>5 (31.3 %)</b>	1.0
DMO normale n (%)	43 (69.3 %)	32 (69.6 %)	11 (68.7 %)	
<b>Fractures : n (%)</b>				
traumatiques	19 (30.7 %)	13 (28.3 %)	6 (50 %)	0.54
de fragilité	1 (1.6 %)	1 (2.2 %)	0 (0.0 %)	NR
asymptomatique	1 (1.6 %)	1 (2.2 %)	0 (0.0 %)	NR

Notes : p : comparaison entre HA (hémophile A) et HB.

Concernant l'interprétation des scores en fonction de l'âge, les résultats de la prévalence de l'atteinte osseuse dans notre cohorte sont décrits dans la figure 13.

Pour les hommes < 50 ans (avec les critères du Z-score), le statut osseux était « en dessous des normes attendues pour l'âge » (ou ostéopénique) pour 8 patients (19 %), normal bas (« low normal ») pour 10 patients (23 %) et normal pour 25 patients (58 %). Pour les patients de 50 et plus (T-score utilisé), 4 patients (19 %) présentaient une ostéoporose, 7 (33 %) une ostéopénie et 10 hémophiles (48 %) avaient un bilan ostéodensitométrique normal.



**Figure 13.** Prévalence de l'atteinte osseuse dans la cohorte de patients hémophiles

Un antécédent de fractures était retrouvé chez 20 patients hémophiles (32 % de la cohorte DMO), dont une seule fracture de fragilité (fracture du col du fémur gauche récente sur chute de sa hauteur) chez un patient diagnostiqué ostéoporotique (Tableau 14). Un antécédent fracturaire est décrit chez 4 patients du groupe DMO basse (21 %) contre 16 patients (37 %) avec DMO normale, pas de différence significative ( $p = 0,25$ ).

#### 4.4.2 DMO et facteurs de risque cliniques

Une analyse a été réalisée en séparant la cohorte de patients hémophiles ayant eu une DXA en groupes DMO normale et DMO anormale (paramètre catégoriel).

Sur le plan clinique, une DMO basse était associée significativement avec l'âge des patients ( $p = 0,023$ ), la sévérité de la maladie avec différence sévère/non sévère ( $p = 0,0486$ ), les infections chroniques (VIH et VHC,  $p = 0,024$  et  $0,008$  respectivement) et l'arthroplastie des membres inférieurs ( $p = 0,002$ ). Nous retrouvons également une tendance proche du seuil de significativité ( $p = 0,054$ ) sur le score d'activité physique HAL (Tableau 15).

**Tableau 15. Analyse sur les facteurs de risque cliniques d'une DMO basse**

<b>Variables</b>	<b>DMO normale ;</b> n (%) ou médiane [Q1 - Q3] (n = 43)	<b>DMO basse ;</b> n (%) ou médiane [Q1 - Q3] (n = 19)	<b>p</b>
<b>Âge (années)</b>	38 [33 - 46.5]	51 [42.5 - 57]	<b>0.023</b>
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	24.7 [22.1 - 27.6]	23.6 [21 - 25.4]	0.22
<b><u>Caractéristiques hémophilie</u></b>			
<b>Type</b>			
Hémophilie A (HA) – n (%)	32 (74.4 %)	14 (73.7 %)	0.99
HB - n (%)	11 (25.6 %)	5 (26.3 %)	
<b>Sévérité de la maladie</b>			
Mineure	9 (20.9 %)	3 (15.8 %)	<u>0.076</u>
Modérée	20 (46.5 %)	4 (21.1 %)	
Sévère	14 (32.6 %)	12 (63.1 %)	
Non sévère	29 (67.4 %)	7 (36.8 %)	<b>0.0486</b>
Sévère	14 (32.6 %)	12 (63.2 %)	
<b>Modalité de traitement</b>			
À la demande	30 (69.8 %)	10 (52.6 %)	0.31
Prophylaxie	13 (30.2 %)	9 (47.4 %)	
<b>Antécédent inhibiteur</b>	2 (4.7 %)	3 (15.8 %)	0.16
<b><u>Infections virales</u></b>			
<b>VIH positif</b>	2 (4.7 %)	5 (26.3 %)	<b>0.024</b>
<b>VHC positif</b>	12 (27.9 %)	12 (63.2 %)	<b>0.008</b>
<b><u>Statut articulaire</u></b>			
<b>Arthropathie membres inférieures</b>	23 (53.5 %)	11 (57.9 %)	0.96
<b>Nombre d'articulations atteintes</b>			0.18
<b>Arthroplastie des membres inférieurs</b>	3 (7.0 %)	8 (42.1 %)	<b>0.002</b>
<b>Score activité physique HAL</b>	63.0 [42.3 - 90.3]	98.0 [56.0 - 120.5]	<u>0.054</u>
<b><u>Habitudes</u></b>			
<b>Tabagisme (sevré ou actif)</b>	19 (44.2 %)	10 (52.63 %)	0.74
<b>Apport calcique quotidien (mg/jour)</b>	900 [600 - 1000]	850 [600 - 1000]	0.89

Note : sévérité de la maladie : analyse sur 3 groupes (mineure, modérée et sévère) et sur 2 groupes (non sévère et sévère).

#### 4.4.3 DMO et cytométrie en flux

Concernant l'analyse du risque de survenue d'une DMO basse selon les résultats de la NFS et de CMF, il n'a pas été retrouvé d'association significative entre un des paramètres (notamment CD163 ou les Mo-MDSC) et le groupe DMO basse. Cependant, il y avait une tendance ( $p = 0,075$ ) que les patients présentant une DMO abaissée avaient un pourcentage supérieur de monocytes exprimant le CD68 (médianes de 7,3 contre 6,4 pour le groupe DMO normale). Par contre, il n'y avait pas de différence sur le ratio de MFI pour ce marqueur entre les 2 groupes.

**Tableau 16. Analyse bivariable du risque de DMO basse selon les données de CMF et NFS**

<b>Variabiles</b>	<b>DMO normale ; médiane [Q1 - Q3] (n = 43)</b>	<b>DMO basse ; médiane [Q1 - Q3] (n = 19)</b>	<b>p</b>
<b><u>NFS</u></b>			
Leucocytes (G/L)	6.7 [5.4 - 7.3]	6.2 [5.0 - 7.6]	0.42
Hémoglobine (g/dL)	15.1 [14.5 - 15.8]	14.7 [13.7 - 15.4]	0.104
Plaquettes (G/L)	249.0 [218.5 - 291.0]	231.0 [204.0 - 284.0]	0.45
Monocytes (G/L)	0.51 [0.41 - 0.66]	0.50 [0.41 - 0.65]	0.83
<b><u>Marqueurs CMF</u></b>			
<b>CD206</b>			
ratio MFI	1.00 [0.97 - 1.04]	1.00 [0.97 - 1.06]	0.67
pourcentage	6.0 [5.3 - 7.7]	6.7 [5.9 - 7.4]	0.31
<b>CD115</b>			
ratio MFI	1.9 [1.7 - 2.1]	2.0 [1.7 - 2.1]	0.72
pourcentage	7.3 [6.1 - 8.2]	7.8 [6.8 - 8.3]	0.25
<b>CX3CR1</b>			
ratio MFI	1.3 [1.2 - 1.3]	1.3 [1.2 - 1.4]	0.82
pourcentage	6.9 [6.1 - 8.7]	7.8 [6.9 - 8.4]	0.42
<b>CD68</b>			
ratio MFI	2.8 [2.3 - 3.0]	3.1 [2.5 - 3.6]	0.16
pourcentage	6.4 [5.9 - 8.0]	7.3 [6.9 - 8.1]	<u>0.075</u>
<b>CCR2</b>			
ratio MFI	6.7 [5.7 - 7.2]	6.3 [5.4 - 6.9]	0.30
pourcentage	6.9 [5.9 - 8.2]	7.3 [6.7 - 8.6]	0.15
<b>CD163</b>			
ratio MFI	4.4 [3.9 - 5.1]	4.2 [3.7 - 4.7]	0.20
pourcentage	6.9 [6.1 - 8.1]	7.49 [6.9 - 8.1]	0.22
<b><u>Populations cellulaires</u></b>			
Monocytes pro-inflammatoires (%)	5.4 [4.6 - 6.3]	6.0 [5.2 - 6.6]	0.16
Monocytes classiques (%)	91.5 [88.0 - 93.1]	93.0 [90.5 - 95.3]	0.12
Monocytes intermédiaires (%)	4.4 [3.3 - 5.8]	3.6 [2.6 - 4.9]	0.14
Monocytes non classiques (%)	4.3 [2.5 - 5.9]	2.8 [1.6 - 5.3]	0.30
Mo-MDSC (%)	0.34 [0.22 - 0.69]	0.67 [0.24 - 0.90]	0.30

#### 4.4.4 DMO et facteurs biologiques

##### - Bilans biochimiques (Tableau 17)

Les patients avec une DMO basse avaient significativement des taux plus bas de transaminases que les hémophiles avec DMO normale (médianes de 20,5 contre 26,2 pour les ALAT et de 20,1 versus 27,1 pour les ASAT). Parmi les 5 patients avec une cytolysse modérée, 4 ont bénéficié d'une DXA et 2 avaient une ostéopénie. Il s'agissait des 2 patients doubles séropositifs (VHC+/VIH+).

Enfin, une tendance a également été décrite concernant la testostérone. Les patients du groupe DMO basse avaient des taux supérieurs à ceux du groupe DMO normale. Le seul patient de l'étude présentant un hypogonadisme biologique avait un statut osseux normal.

**Tableau 17. DMO basse et bilan biochimique, analyse bivariée**

<b>Variabes</b>	<b>DMO normale ; médiane [Q1 - Q3] (n = 43)</b>	<b>DMO basse ; médiane [Q1 - Q3] (n = 19)</b>	<b>p</b>
<b>Calcémie ionisée</b> (mmol/L), vr : 1,17 - 1,29	1.25 [1.23 - 1.27]	1.25 [1.24 - 1.27]	0.95
<b>Magnésium</b> (mmol/L), vr : 0,66 - 1,07	0.84 [0.78 - 0.86]	0.83 [0.79 - 0.89]	0.67
<b>Phosphore</b> (mmol/L), vr : 0,81 - 1,45	0.98 [0.87 - 1.08]	0.90 [0.80 - 1.02]	<u>0.078</u>
<b>DFG (CKD-EPI)</b> (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> ), vr : 90 - 140	108.0 [92.5 - 117.0]	103.0 [87.0 - 124.0]	0.90
<b>Bilirubine totale</b> (µmol/L), vr : 0 - 21	8.0 [6.0 - 12.0]	8.0 [6.5 - 8.0]	0.51
<b>ASAT</b> (UI/L), vr : 0 - 51	26.2 [22.5 - 30.7]	20.5 [19.2 - 24.8]	<b>0.007</b>
<b>ALAT</b> (UI/L), vr : 0 - 51	27.1 [21.5 - 36.3]	20.1 [15.3 - 27.2]	<b>0.014</b>
<b>GGT</b> (UI/L), vr : 0 - 71	30.0 [23.0 - 46.5]	38.0 [21.0 - 58.0]	0.60
<b>PAL</b> (UI/L), vr : 55 - 129	68.2 [63.2 - 77.2]	65.8 [55.2 - 81.1]	0.78
<b>TSH</b> (µUI/mL), vr : 0,20 - 4,00	1.61 [1.08 - 2.10]	1.54 [1.26 - 2.04]	0.99
<b>Testostérone totale</b> (ng/mL), vr : 2,0 - 7,0	4.94 [3.98 - 6.01]	6.35 [4.72 - 7.68]	<u>0.075</u>

Abréviations : vr (valeurs de référence du laboratoire), DFG (débit de filtration glomérulaire), ASAT (aspartate aminotransférase), ALAT (alanine aminotransférase), GGT (gamma-glutamyl transférase).

#### **- Métabolisme osseux (tableau 18)**

Il n'y avait pas de différence significative entre le groupe DMO normale et le groupe DMO basse concernant les marqueurs du remodelage osseux (PALOS et TRACP), les inhibiteurs ostéoblastique, les hormones de régulation du métabolisme phosphocalcique et le statut en vitamine D.

Cependant, il a été retrouvé une différence significative concernant RANKL tant sur le plan quantitatif ( $p = 0,008$ ) que qualitatif ( $p = 0,005$ ). Les patients hémophiles avec DMO anormale avaient des taux plus bas et moins de dosages détectables que les patients avec DMO normale.

**Tableau 18. Marqueurs du métabolisme osseux et DMO en analyse bivariée**

<b>Variables</b>	<b>DMO normale ;</b> n (%) ou médiane [Q1 - Q3] (n = 43)	<b>DMO basse ;</b> n (%) ou médiane [Q1 - Q3] (n = 19)	<b>p</b>
<b>PALOS</b> (µg/L), vr : 5.5 - 22.9	10.3 [7.9 - 13.3]	10.0 [7.0 - 12.8]	0.50
<b>TRACP</b>	35020 [26942 - 48650]	42231 [32055 - 48101]	0.73
<b>Régulation ostéoclastes</b>			
<b>RANKL</b> - médiane [Q1 - Q3]	7.73 [0.00 - 21.85]	0.00 [0.00 - 0.00]	<b>0.008</b>
non détectable - n (%)	18 (41.9 %)	16 (84.2 %)	<b>0.005</b>
détectable - n (%)	25 (58.1 %)	3 (15.8 %)	
<b>OPG</b>	405.6 [314.2 - 482.8]	426.7 [367.6 - 605.9]	0.23
<b>M-CSF</b> - médiane [Q1 - Q3]			
non détectable - n (%)	27 (62.8 %)	14 (73.7 %)	0.59
détectable - n (%)	16 (37.2 %)	5 (26.3 %)	
<b>Inhibiteurs ostéoblastes</b>			
<b>Dkk-1</b>	1888.4 [1632.4 - 2205.9]	1572.9 [1172.0 - 2160.6]	0.11
<b>Sclérostine</b>			
non détectable	36 (83.7 %)	17 (89.5 %)	0.71
détectable	7 (16.3 %)	2 (10.5 %)	
<b>Métabolisme phosphocalcique</b>			
<b>PTH</b> (pg/mL), vr : 15 - 65	32.6 [22.4 - 43.9]	31.8 [24.7 - 38.2]	0.99
<b>FGF-23</b>			
non détectable	34 (79.1 %)	18 (94.7 %)	0.16
détectable	9 (20.9 %)	1 (5.3 %)	
<b>Vitamine D</b> (ng/mL), vr : 30 - 60	22.0 [15.4 - 29.7]	20.1 [17.0 - 31.1]	0.81
Statut normal - n (%)	10 (23.3 %)	6 (31.6 %)	0.35
Insuffisance (10 et 30 ng/mL)	28 (65.1 %)	13 (68.4 %)	
Carence (<10 ng/mL)	5 (11.6 %)	0 (0.00 %)	

Notes : tous les biomarqueurs en pg/mL sauf PALOS (µg/L) et Vitamine D (ng/mL) - vr (valeurs de référence du laboratoire).

### - Marqueurs de l'inflammation (Tableau 19)

Nous n'avons pas retrouvé de différence significative sur les protéines inflammatoires entre le groupe DMO basse et le groupe avec DMO normale.

Par ailleurs, les patients avec DMO anormale avaient plus de dosages en dessous du seuil de détection concernant l'IL-1a et l'IL-4, mais sans différence significative (p = 0,099 et 0,076 respectivement).

Parmi les 8 patients présentant un syndrome inflammatoire biologique, 3 d'entre eux présentaient une DMO basse dont une ostéoporose, résultat non significatif en comparaison au groupe DMO normale (p = 0,665).

**Tableau 19. DMO basse et marqueurs inflammatoires en analyse bivariée**

<b>Variables</b>	<b>DMO normale ; n (%) ou médiane [Q1 - Q3] (n = 43)</b>	<b>DMO basse ; n (%) ou médiane [Q1 - Q3] (n = 19)</b>	<b>p</b>
<b><u>Cytokines pro-inflammatoires</u></b>			
<b>IFN-<math>\gamma</math></b> - médiane [Q1 - Q3]	0.00 [0.00 - 1.33]	0.00 [0.00 - 0.00]	0.35
non détectable - n (%)	30 (69.8 %)	16 (84.2 %)	0.35
détectable - n (%)	13 (30.2 %)	3 (15.8 %)	
<b>IL-1a</b>	0.00 [0.00 - 0.00]	0.00 [0.00 - 0.00]	<u>0.099</u>
non détectable	33 (76.7 %)	18 (94.7 %)	0.15
détectable	10 (23.3 %)	1 (5.3 %)	
<b>IL-1b</b>	0.00 [0.00 - 4.09]	0.00 [0.00 - 1.67]	0.39
non détectable	23 (53.5 %)	12 (63.2 %)	0.67
détectable	20 (46.5 %)	7 (36.8 %)	
<b>IL-6</b>	0.71 [0.41 - 1.23]	0.95 [0.71 - 1.27]	0.16
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	9.3 [4.7 - 19.0]	7.8 [5.5 - 10.1]	0.28
<b>CRP (mg/L)</b> , vr : 0 - 5	1.15 [0.68 - 2.19]	1.58 [0.54 - 2.88]	0.65
<b>Leptine</b>	10573 [2262 - 17422]	5330 [3639 - 10197]	0.28
<b><u>Cytokines anti-inflammatoires</u></b>			
<b>IL-4</b> - médiane [Q1 - Q3]	0.00 [0.00 - 0.68]	0.00 [0.00 - 0.00]	<u>0.076</u>
non détectable - n (%)	26 (60.5 %)	16 (84.2 %)	0.12
détectable - n (%)	17 (39.5 %)	3 (15.8 %)	
<b>IL-12</b>	0.00 [0.00 - 0.00]	0.00 [0.00 - 0.00]	0.64
non détectable	34 (79.1 %)	16 (84.2 %)	0.74
détectable	9 (20.9 %)	3 (15.8 %)	
<b>IL-13</b>	0.00 [0.00 - 4.06]	0.00 [0.00 - 0.00]	0.32
non détectable	30 (69.8 %)	16 (84.2 %)	0.35
détectable	13 (30.2 %)	3 (15.8 %)	
<b>TGF-<math>\beta</math>1</b>	50333 [33188 - 62593]	42193 [29316 - 53789]	0.18
<b>TGF-<math>\beta</math>2</b>	1482.8 [1167 - 1888]	1236 [975 - 1608]	0.24

Notes : toutes les valeurs en pg/mL sauf CRP (mg/L) - Si peu de valeurs disponibles, résultats exprimés en détectables et non détectables- vr (valeurs de référence du laboratoire).

## 5 Discussion

Cette étude confirme donc, tout d'abord, une baisse de la densité osseuse chez les patients hémophiles par rapport à celle de sujets sains de même âge, comme cela a précédemment été rapporté dans plusieurs études cas-témoins. Une prévalence élevée d'atteinte osseuse (30,7 %) est retrouvée dans notre cohorte de patients hémophiles. Chez les sujets de 50 ans et plus, les sujets hémophiles ont plus d'ostéoporose (19 % versus 4 %) dans ce travail, comparé à la population générale (28). Cependant, les taux semblent comparables en termes d'ostéopénie (33 % versus 38 %). Ces résultats sont en adéquation avec les principales données de la littérature. Sur la tranche des moins de 50 ans, une ostéopénie était retrouvée chez 19 % des patients. Ce qui se rapproche des données (28 % de baisse de DMO) d'une étude épidémiologique sur des sujets américains de 35 à 50 ans (98).

Le site osseux principalement affecté dans notre étude est la hanche, en accord avec la littérature (44,46,50,51). Cette topographie peut être expliquée par une sédentarité liée à une arthropathie du genou ou de la cheville homolatérale. En effet, Ulivieri et al. (99) ont montré que la DMO fémorale était corrélée au statut articulaire, tandis que le site lombaire n'était pas affecté par l'arthropathie hémophilique.

Enfin, notre travail met en évidence un taux de fracture de 32 % chez les patients ayant bénéficié d'une DXA, sans qu'une DMO basse soit retrouvée comme facteur de risque spécifique. Ces données sont concordantes avec la littérature qui retrouve des taux de fracture extrêmement variables (de 4 à 37 %) (21,22,44). Concernant l'absence de lien entre DMO et risque fracturaire, cela conforte les données d'Anagnostis et al. (44).

Concernant les facteurs de risque cliniques, plusieurs critères contribuaient significativement à une baisse de DMO : l'âge, la sévérité de la maladie, les infections virales chroniques (VIH et VHC) et l'arthroplastie des membres inférieurs.

- L'âge est l'un des principaux facteurs de risque dans notre travail, ce qui est parfaitement en adéquation avec la littérature générale sur l'ostéoporose, mais également retrouvé dans les travaux sur l'hémophilie et la DMO (48,100).

- De même, la sévérité de la maladie hémophilique est confirmée comme élément clinique associé à une DMO basse, en accord avec la littérature (1,5).
- Par contre de façon intéressante, il n'y avait pas de différence selon le type d'hémophilie A ou B sur le risque de perte osseuse globale.
- Comme attendu, les infections chroniques à VHC et VIH constituaient deux des facteurs de risque importants dans notre étude. Concernant le VHC, les travaux menés chez l'hémophile sont discordants. (1,2, 13–15). Cependant, une étude plus récente a mis en avant l'impact du VHC sur le tissu osseux de patients hémophiles (101). Pour les auteurs, cet effet pourrait être dû à l'inflammation chronique sur le métabolisme osseux. Néanmoins, d'autres auteurs évoquent le rôle du traitement par ribavirine (102) ou de l'atteinte hépatique sévère au stade cirrhose (103). Concernant l'infection par le VIH, celle-ci est un facteur indépendant d'atteinte osseuse chez le patient hémophile (1,2, 13,19, 20). Plusieurs éléments semblent impliqués dans la physiopathologie de cette ostéopathie liée au VIH : l'infection virale par elle-même avec libération de cytokines pro-inflammatoires induisant une augmentation de l'activité ostéoclastique (104), mais également les traitements antirétroviraux (105).
- Un autre facteur de risque retrouvé est la présence d'arthroplastie des membres inférieurs. Contrairement à Katsarou et al. (59) ayant mis en évidence l'arthropathie comme facteur de risque indépendant d'atteinte osseuse chez l'hémophile adulte, notre étude ne retrouve pas de rôle de l'arthropathie.
- L'association entre l'activité physique et la santé osseuse est bien connue dans la population générale (106). Ce facteur clinique a également été associé à une baisse de DMO dans deux études chez des hémophiles adultes (45,47). L'impact sur le tissu osseux semble précoce et démarre dès l'enfance dans l'hémophilie (56). Dans notre étude, un lien entre DMO basse et baisse d'activité physique a été mis en évidence sans toutefois atteindre le seuil de significativité.
- L'IMC et le statut osseux sont connus pour être liés dans la population générale (107). Les études chez l'hémophile semblent contrastées : certains auteurs retrouvent une relation entre faible IMC et baisse de DMO (47,100) alors que ce lien n'était pas retrouvé dans d'autres études (44,52). Notre

étude ne révèle, quant à elle, pas d'association entre l'IMC et une baisse de DMO.

Des facteurs de risque biologiques ont également été étudiés. La majorité des paramètres étudiés se sont avérés normaux chez les patients hémophiles mis à part deux d'entre eux :

- Le déficit en vitamine D est une cause de troubles musculo-squelettiques (dont ostéopénie et ostéoporose) avec survenue d'un risque de fracture chez les enfants comme les adultes (108). Dans la population hémophilique, plusieurs études ont mis en avant une association entre baisse de DMO et déficit en vitamine D (1,4, 13). Ces études retrouvaient également des prévalences importantes de déficits en vitamine D. Notre travail a montré que les taux médians en vitamine D étaient significativement inférieurs dans la population hémophilique versus témoins, ce qui conforte les résultats antérieurs. Ce déficit en vitamine D pourrait être dû à une exposition solaire moins importante dans cette population du fait de la sédentarité sur des hémarthroses et l'arthropathie (109,110). Par contre, il n'était pas retrouvé de corrélation entre la DMO et les dosages de vitamine D.
- Enfin, les taux de transaminases étaient significativement abaissés dans le groupe DMO anormale versus DMO normale. Il y a peu d'arguments pour expliquer ce résultat, si ce n'est l'âge. En effet, les patients du groupe avec DMO basse étaient plus âgés et il existe des données concernant la diminution des transaminases avec l'âge dans une population masculine (111). Cependant, les hommes inclus dans cette dernière étude étaient tous d'un âge avancé (70 ans ou plus), ce qui ne correspond pas à notre cohorte d'hémophiles où seulement deux de nos patients étaient dans cette tranche d'âge.

Une évaluation des mécanismes biologiques potentiels en lien avec une baisse de la DMO a également été réalisée. Concernant les résultats de l'étude cas – témoin, il a été mis en évidence un profil cytokinique pro-inflammatoire de nos patients. En effet, l'IL-6, protéine inflammatoire majeure, est significativement augmentée chez nos patients hémophiles. De même, Jardim et al. (84) retrouvaient un profil immunologique pro-inflammatoire avec notamment augmentation de l'IL-6

chez des hémophiles A naïfs de tout traitement par FAH. Cela semble se confirmer expérimentalement avec une augmentation d'IL-6 dans le liquide synovial de souris hémophiles ayant subi une hémarthrose (112). Dans notre travail, une diminution significative des cytokines anti-inflammatoires IL-12 et IL-13 est également observée chez les malades par rapport aux témoins. Une étude récente par Goldscheitter et al. (66) retrouvait également un taux abaissé d'IL-12 chez l'hémophile, alors que pour d'autres auteurs (90) ce taux était augmenté. De manière intéressante, l'IL-12 est également une cytokine ayant une fonction inhibitrice sur l'activité ostéoclastique (35).

Concernant les résultats de phénotype monocyttaire, tout comme Knowles et al. (79), une diminution significative du CD163 est mise en évidence chez les hémophiles par rapport aux témoins. Ce marqueur est décrit comme anti-inflammatoire (88), ce qui corrobore un état pro-inflammatoire chez les hémophiles.

De plus, de manière surprenante, l'étude des populations cellulaires en CMF a mis en avant une diminution significative des MDSC monocytaires chez les patients hémophiles comparés aux témoins, mais sans corrélation avec la DMO. Il s'agit, à notre connaissance de la première étude, s'intéressant à cette population cellulaire chez le patient hémophile. Le rôle des MDSC dans l'inflammation est actuellement très controversé et il n'est donc pas possible de statuer sur un possible lien avec le métabolisme osseux.

Malheureusement, l'étude réalisée avec les données de DMO n'a pas permis d'associer ce profil inflammatoire avec une baisse de la DMO. Cependant, un pourcentage supérieur de monocytes exprimant le CD68 (marqueur pro-inflammatoire) est observé dans le groupe DMO basse, ainsi que plus de dosages non détectables d'IL-4 (cytokine anti-inflammatoire) dans ce même groupe. Ces résultats ont incité à faire un parallèle avec la physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde. Dans l'étude de Fukui et al. (88), un déséquilibre de la balance monocyttaire en faveur de monocytes pro-inflammatoires était un facteur contribuant *in vivo* au nombre d'ostéoclastes et donc à la résorption osseuse dans la PR. Les auteurs évoquent comme hypothèse que ce déséquilibre créerait un environnement pro-inflammatoire capable d'induire une différenciation ostéoclastique à travers la sécrétion de cytokines dont principalement l'IL-6. Ces résultats confortent l'hypothèse d'une origine inflammatoire, au moins en partie, de la perte osseuse chez le patient hémophile. Le rôle de l'inflammation a également été mis en évidence

par Sossa Melo et al. (50) qui retrouvait une augmentation de la CRP comme facteur de risque de baisse de DMO dans l'hémophilie.

L'origine de cette inflammation chez le patient hémophile pourrait être multifactorielle : épisodes hémorragiques récurrents symptomatiques comme évoqués par Jardim et al. (84) ou la persistance de micro-saignements articulaires infracliniques malgré une prophylaxie optimale (8). De plus, les infections virales chroniques, fréquentes chez ces patients, pourraient également être impliquées.

Enfin, dans notre étude, les taux de RANKL sont diminués chez l'hémophile avec une perte osseuse. Ces résultats peuvent paraître contre-intuitifs, mais la littérature sur le sujet est discordante avec une étude montrant des résultats identiques chez l'enfant (62) et une autre des résultats contraires chez l'adulte (65).

Au total, cette étude retrouve donc principalement chez l'hémophile, outre les facteurs de risque clinique traditionnellement décrits, des arguments en faveur d'un état inflammatoire. Il se manifeste par un déséquilibre des cytokines vers un profil pro-inflammatoire et une diminution des marqueurs monocytaires anti-inflammatoires. Il est donc possible que cet état pro-inflammatoire soit, au moins en partie, responsable de la perte osseuse chez le patient hémophile. Ces phénomènes inflammatoires induiraient, en se basant sur la physiopathologie de la PR (113), des modifications au niveau du remodelage osseux. La sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (dont IL-6) favoriserait la résorption osseuse par augmentation de l'activité ostéoclastique, mais inhiberait également la formation osseuse. Ce postulat s'appuie sur des études animales : les travaux de Weizmann et al. décrivent une baisse d'ostéoformation chez des souris mâles hémophiles A (114), tandis que la résorption osseuse est privilégiée dans l'étude de Recht et al. (74). De plus, un niveau abaissé d'IL-12 serait en faveur d'une augmentation de l'activité des ostéoclastes et de la résorption osseuse comme évoqué par Goldscheitter et al. (66). Enfin, Katsarou et al. (59), en faisant le parallèle avec la PR, évoquaient déjà le rôle prépondérant d'autres régulateurs de l'activité ostéoclastique que RANKL tels que les cytokines pro-inflammatoires, et notamment l'IL-6, comme principal élément stimulateur des ostéoclastes.

Notre travail portant sur le métabolisme osseux et l'hémophilie est la première étude épidémiologique réalisée en France sur la prévalence de l'atteinte osseuse chez l'hémophile. L'effectif de patients participants, bien que faible, est assez

conséquent compte tenu de la rareté de la maladie et se place parmi les grandes études prospectives sur le sujet. De plus, notre travail ne s'est pas limité à un type d'hémophilie ou à un type de sévérité de la maladie afin d'avoir une vision de l'ensemble de la population hémophilique. Ainsi, il a été observé que les hémophiles B sont également à risque d'atteinte osseuse, de même que certains patients hémophiles non sévères. Enfin, un nombre important de paramètres clinico-biologiques a été évalué permettant une approche globale du métabolisme osseux du patient hémophile.

Cette étude montre aussi quelques limites. La première est l'effectif réduit, pouvant être responsable d'un manque de puissance statistique pour certaines comparaisons. L'un des biais potentiels de notre étude est également le manque d'un groupe contrôle dans l'étude sur la DMO. Mais deux points sont importants à préciser : tout d'abord, des scores dérivés des courbes de référence issues de la population générale ont été utilisés. Deuxièmement, d'un point de vue éthique, il est difficile de réaliser un examen irradiant (même très faiblement) à de jeunes sujets sains.

De plus, la quasi-intégralité des patients hémophiles sévères inclus dans cette étude bénéficiait d'une prophylaxie par facteur VIII depuis plusieurs années et il est possible que cet apport régulier de facteur VIII ait modifié certains tests biologiques voire certains paramètres cliniques.

Par ailleurs, du fait des contraintes pré-analytiques, certaines analyses du métabolisme osseux (CTX, NTX) considérées comme très sensibles n'ont pas été retenues.

Enfin, afin d'évaluer la DMO au niveau de la hanche et du fémur, il a été décidé de considérer le côté du corps où les valeurs étaient les plus basses. Ce choix était arbitraire et la mesure a pu être faussée par la présence d'une arthroplastie de genou homolatérale. Une étude *a posteriori* sur le retentissement d'une PTG (prothèse totale de genou) sur le classement des malades a donc été menée. Sur les 19 patients avec DMO basse, sept hémophiles présentaient une PTG et ils avaient tous une baisse de la DMO (ostéopénie voire ostéoporose) du côté de la prothèse (en hanche totale et/ou col du fémur). Il est intéressant de constater que si le côté controlatéral à la PTG avait été retenu, un seul patient du groupe DMO basse aurait été éliminé.

## Perspectives

L'ostéoporose chez l'homme est une maladie méconnue, sous-diagnostiquée et donc sous-traitée. Les patients hémophiles sont une population à risque d'événements osseux (ostéopénie, ostéoporose et fractures). Le dépistage d'une baisse de DMO est donc primordial avant tout événement fracturaire qui grèverait leur qualité de vie. En ce sens, et comme évoqué par plusieurs auteurs (45,77), un dépistage précoce systématique à partir de 50 ans avec mesure de la DMO par DXA semble justifié dans cette pathologie. Avant cet âge, cette mesure s'effectuera en fonction des comorbidités et de l'atteinte articulaire du patient. Ce dépistage précoce est indispensable pour permettre une prise en charge optimale.

Par ailleurs, la prise en charge de l'atteinte osseuse chez l'hémophile ne fait pas encore l'objet de recommandations spécifiques dans cette population et est abordée dans les comorbidités liées au vieillissement dans les recommandations internationales sur l'hémophilie (4). Cette thématique mérite qu'on s'y attarde avec les données disponibles actuellement.

Concernant le traitement spécifique de l'atteinte osseuse chez l'hémophile, il convient d'envisager un traitement chez les malades ayant un haut risque fracturaire. Quelques outils, trop rares et peu connus des médecins en charge de ces patients, existent. Ainsi, l'utilisation du score de FRAX a été évaluée dans la population hémophilique et semble intéressante (64). Il existe aussi peu de données concernant la prise en charge thérapeutique chez ces patients. Une étude sur les biphosphonates a été publiée en 2013, incluant dix hémophiles (7 HA et 3HB) présentant une ostéoporose ou ostéopénie (si < 50 ans) à haut risque fracturaire (78). Ce travail a montré une bonne efficacité de l'ibandronate associé à une supplémentation en calcium et vitamine D. Une autre étude portant sur la même cohorte a décrit une augmentation de l'activité ostéoblastique par diminution des taux de DKK-1 après administration de biphosphonate (65). Quoi qu'il en soit, il s'agit de données très parcellaires et des études de plus grande ampleur sur la prise en charge thérapeutique semblent indispensables. Par ailleurs, il serait souhaitable d'adapter le traitement à la physiopathologie de la perte osseuse chez ces patients. L'étude de l'efficacité d'agents anti-résorbeurs (comme les biphosphonates ou le dénosumab) en cas d'ostéorésorption prédominante, d'une molécule anabolique

(tériparatide) en cas de baisse de formation osseuse voire de biothérapies anti-cytokine (tocilizumab) visant la composante inflammatoire semble primordiale.

La question du rôle du facteur VIII dans le métabolisme osseux reste ouverte. Son rôle dans le remodelage osseux est sous-tendu par des études animales précliniques (34,72,75,115). Cependant, il est toujours impossible de faire la part des choses entre la molécule FVIII en elle-même (34) et le défaut de génération de thrombine résultant d'un déficit en FVIII ou FIX (75), quant à la perte de densité osseuse. Il est très possible, voire probable, que ces deux mécanismes soient impliqués comme l'indique Aronovich et al. qui révèle l'importance de la signalisation FVIII/thrombine/PAR-1 dans la structure osseuse (115). De plus, comme le montrent plusieurs études, dont la nôtre, il est très probable que l'inflammation soit impliquée également dans la physiopathologie de la perte de densité osseuse du patient hémophile. À l'heure où de nouvelles molécules non substitutives sont commercialisées dans l'hémophilie comme l'Emicizumab, il est primordial d'affiner le rôle du FVIII sur le tissu osseux. En effet, il est primordial de savoir si ces produits ne contenant pas de FVIII, bien que très efficaces sur le risque hémorragique, ne seraient pas moins efficaces que le facteur VIII sur la préservation du capital osseux. Quelques éléments de réponse apparaissent avec l'étude HAVEN 3 qui montre que les marqueurs d'ostéoformation et d'ostéorésorption restent inchangés après 18 mois de prise de traitement par Emicizumab (116). Cependant, aucune donnée clinique, telle que la DMO, n'est évaluée dans cette étude complémentaire. La mesure de densité osseuse est pourtant plus fiable que les biomarqueurs dans l'évaluation du risque fracturaire. Une étude longitudinale suivant l'évolution de la densité osseuse chez les patients bénéficiant de ces nouvelles thérapeutiques doit donc être envisagée dès que possible.

## **6 Conclusion**

Notre étude est, à notre connaissance, la première étude française à s'intéresser à la santé osseuse chez les patients hémophiles adultes. Celle-ci a permis de confirmer une prévalence élevée de la perte osseuse chez le patient hémophile.

Les facteurs de risque retrouvés sont ceux déjà décrits dans la littérature, à savoir l'âge, la sévérité de l'hémophilie, un faible IMC, la séropositivité VIH et VHC, la baisse d'activité physique.

L'originalité de cette étude repose sur une évaluation cytokinique et cellulaire des paramètres inflammatoires. Ce travail met en évidence une dérégulation du profil des cytokines avec une augmentation du taux d'IL-6 ainsi qu'une diminution des taux d'IL-12 et d'IL-13 chez les patients hémophiles. De plus, l'étude du phénotype monocytaire retrouve une baisse de l'expression de CD163, apportant ainsi un argument supplémentaire en faveur d'un état pro-inflammatoire. De façon inattendue, ce travail met en évidence une diminution du taux de MDSC monocytaires chez l'hémophile, dont l'interprétation est difficile.

Cette étude a donc permis de mettre en lumière des voies intéressantes à approfondir, notamment sur les phénomènes inflammatoires. Des travaux ultérieurs sur ce lien physiopathologique ainsi que sur les modalités de prise en charge mériteraient d'être menés, si possible à travers des essais prospectifs plus conséquents en termes d'effectifs.

## Références bibliographiques

1. Mannucci PM, Tuddenham EGD. The Hemophilias — From Royal Genes to Gene Therapy. *N Engl J Med*. 7 juin 2001;344(23):1773-9.
2. Hoffman M. Remodeling the Blood Coagulation Cascade. *J Thromb Thrombolysis* [Internet]. août 2003 [cité 31 mai 2021];16(1/2):17-20. Disponible sur : <http://link.springer.com/10.1023/B:THRO.0000014588.95061.28>
3. White GC, Rosendaal F, Aledort LM, Lusher JM, Rothschild C, Ingerslev J, et al. Definitions in hemophilia. Recommendation of the scientific subcommittee on factor VIII and factor IX of the scientific and standardization committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost*. mars 2001; 85(3):560.
4. Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, Key NS, Kitchen S, Llinas A, et al. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia* [Internet]. janv 2013 [cité 9 oct 2019];19(1):e1-47. Disponible sur : <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2516.2012.02909.x>
5. Réseau Francecoag - AP - HM. Statistiques nationales. [Internet]. 2021 [cité 10 mai 2021]. Disponible sur : [https://www.francecoag.org/SiteWebPublic/public/stats/stats\\_page.jsp?stat1=on](https://www.francecoag.org/SiteWebPublic/public/stats/stats_page.jsp?stat1=on)
6. Gouw SC, van den Berg HM, Oldenburg J, Astermark J, de Groot PG, Margaglione M, et al. F8 gene mutation type and inhibitor development in patients with severe hemophilia A: systematic review and meta-analysis. *Blood*. 22 mars 2012; 119(12):2922-34.
7. Melchiorre D, Linari S, Manetti M, Romano E, Sofi F, Matucci-Cerinic M, et al. Clinical, instrumental, serological and histological findings suggest that hemophilia B may be less severe than hemophilia A. *Haematologica* [Internet]. 1 févr 2016 [cité 24 janv 2021]; 101(2):219-25. Disponible sur : <http://www.haematologica.org/cgi/doi/10.3324/haematol.2015.133462>
8. Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, Riske B, Hacker MR, Kilcoyne R, et al. Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. *N Engl J Med*. 9 août 2007; 357(6):535-44.
9. Gringeri A, Lundin B, Mackensen SV, Mantovani L, Mannucci PM. A randomized clinical trial of prophylaxis in children with hemophilia A (the ESPRIT Study). *J Thromb Haemost* [Internet]. 2011 [cité 19 août 2021]; 9(4):700-10. Disponible sur : <https://www.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1538-7836.2011.04214.x>

10. Fischer K, Collins PW, Ozelo MC, Srivastava A, Young G, Blanchette VS. When and how to start prophylaxis in boys with severe hemophilia without inhibitors: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* mai 2016;14(5):1105-9.
11. Drillaud N, Ternisien C, Trossaert M. Les traitements de l'hémophilie en 2020. *Revue de Biologie Médicale.* juill 2020;(355):1-11.
12. Kitazawa T, Igawa T, Sampei Z, Muto A, Kojima T, Soeda T, et al. A bispecific antibody to factors IXa and X restores factor VIII hemostatic activity in a hemophilia A model. *Nat Med.* oct 2012; 18(10):1570-4.
13. Oldenburg J, Mahlangu JN, Kim B, Schmitt C, Callaghan MU, Young G, et al. Efficacy of Emicizumab Prophylaxis in Hemophilia A with Inhibitors. *N Engl J Med.* 31 août 2017;377(9):809-18.
14. Darby SC, Kan SW, Spooner RJ, Giangrande PLF, Hill FGH, Hay CRM, et al. Mortality rates, life expectancy, and causes of death in people with hemophilia A or B in the United Kingdom who were not infected with HIV. *Blood.* 1 août 2007; 110(3):815-25.
15. Plug I, Van Der Bom JG, Peters M, Mauser-Bunschoten EP, De Goede-Bolder A, Heijnen L, et al. Mortality and causes of death in patients with hemophilia, 1992-2001: a prospective cohort study. *J Thromb Haemost.* mars 2006; 4(3):510-6.
16. Posthouwer D, Makris M, Yee TT, Fischer K, van Veen JJ, Griffioen A, et al. Progression to end-stage liver disease in patients with inherited bleeding disorders and hepatitis C: an international, multicenter cohort study. *Blood.* 1 mai 2007;109(9):3667-71.
17. Wight J, Paisley S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia A: a systematic review. *Haemophilia.* juill 2003; 9(4):418-35.
18. Lafeber FPJG, Miossec P, Valentino LA. Physiopathology of haemophilic arthropathy. *Haemophilia* [Internet]. juill 2008 [cité 19 sept 2019]; 14(s4):3-9. Disponible sur : <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2516.2008.01732.x>
19. Melchiorre D, Manetti M, Matucci-Cerinic M. Pathophysiology of Hemophilic Arthropathy. *J Clin Med.* 25 juin 2017;6(7).
20. Rodriguez-Merchan EC. Hemophilic Pseudotumors : Diagnosis and Management. *Arch Bone Jt Surg.* mars 2020; 8(2):121-30.
21. Gallacher SJ, Deighan C, Wallace AM, Cowan RA, Fraser WD, Fenner JA, et al. Association of severe haemophilia A with osteoporosis: a densitometric and biochemical study. *Q J Med.* mars 1994; 87(3):181-6.

22. Ghosh K, Madkaikar M, Jijina F, Shetty S. Fractures of long bones in severe haemophilia. *Haemophilia*. mai 2007;13(3):337-9.
23. Anagnostis P, Karras S, Paschou SA, Goulis DG. Haemophilia A and B as a cause for secondary osteoporosis and increased fracture risk. *Blood Coagul Fibrinolysis*. sept 2015;26(6):599-603.
24. Gay ND, Lee SC, Liel MS, Sochacki P, Recht M, Taylor JA. Increased fracture rates in people with haemophilia: a 10-year single institution retrospective analysis. *Br J Haematol* [Internet]. août 2015 [cité 24 oct 2019];170(4):584-6. Disponible sur : <http://doi.wiley.com/10.1111/bjh.13312>
25. Consensus development conference: Diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *The American Journal of Medicine* [Internet]. juin 1993 [cité 14 févr 2021];94(6):646-50. Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/000293439390218E>
26. Bliuc D, Nguyen ND, Milch VE, Nguyen TV, Eisman JA, Center JR. Mortality risk associated with low-trauma osteoporotic fracture and subsequent fracture in men and women. *JAMA*. 4 févr 2009; 301(5):513-21.
27. World Health Organization (WHO). Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis : report of a WHO study group. WHO Technical Report Series n°843. WHO, Genève, Suisse, 1994; 1-29.
28. Looker AC, Borrud LG, Dawson-Hughes B, Shepherd JA, Wright NC. Osteoporosis or low bone mass at the femur neck or lumbar spine in older adults: United States, 2005-2008. *NCHS Data Brief*. avr 2012; (93):1-8.
29. Drake MT, Murad MH, Mauck KF, Lane MA, Undavalli C, Elraiyah T, et al. Clinical review. Risk factors for low bone mass-related fractures in men: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. juin 2012; 97(6):1861-70.
30. Hattner R, Epker BN, Frost HM. Suggested Sequential Mode of Control of Changes in Cell Behaviour in Adult Bone Remodelling. *Nature* [Internet]. mai 1965 [cité 10 mai 2021];206(4983):489-90. Disponible sur : <http://www.nature.com/articles/206489a0>
31. Marie P, Halbout P. OPG/RANKL : Implication et cible thérapeutique dans l'ostéoporose. *Med Sci (Paris)* [Internet]. janv 2008 [cité 13 mai 2021]; 24(1):105-10. Disponible sur : <http://www.medecinesciences.org/10.1051/medsci/2008241105>
32. Khosla S, Riggs BL, Atkinson EJ, Oberg AL, McDaniel LJ, Holets M, et al. Effects of sex and age on bone microstructure at the ultradistal radius: a population-based noninvasive in vivo assessment. *J Bone Miner Res*. janv 2006; 21(1):124-31.

33. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* [Internet]. mai 2003 [cité 12 sept 2019];423(6937):337-42. Disponible sur : <http://www.nature.com/articles/nature01658>
34. Baud'Huin M. Systèmes vasculaires et osseux : interactions moléculaires [Internet] [Thèse de doctorat]. [Nantes, France] : Université de Nantes ; 2009 [cité 15 mai 2021]. Disponible sur : <http://archive.bu.univ-nantes.fr/pollux/show.action?id=b92e1acf-1513-4babe16-9cede2f533d1>
35. Amarasekara DS, Yun H, Kim S, Lee N, Kim H, Rho J. Regulation of Osteoclast Differentiation by Cytokine Networks. *Immune Netw* [Internet]. 2018 [cité 15 mai 2021]; 18(1):e8. Disponible sur : <https://immunetwork.org/DOIx.php?id=10.4110/in.2018.18.e8>
36. Poole KES, van Bezooijen RL, Loveridge N, Hamersma H, Papapoulos SE, Löwik CW, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *FASEB J*. nov 2005; 19(13):1842-4.
37. Fohr B, Dunstan CR, Seibel MJ. Markers of Bone Remodeling in Metastatic Bone Disease. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [Internet]. 1 nov 2003 [cité 10 mai 2021]; 88(11):5059-75. Disponible sur : <https://academic.oup.com/jcem/article/88/11/5059/2656208>
38. Recommandation : Haute Autorité de Santé. Ostéodensitométrie sur 2 sites par méthode biphotonique. [Internet]. Juin 2006 [cité 24 juin 2019]. Disponible sur : [https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/osteodensitometrie\\_rapport.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/osteodensitometrie_rapport.pdf)
39. Johnell O, Kanis JA, Oden A, Johansson H, De Laet C, Delmas P, et al. Predictive value of BMD for hip and other fractures. *J Bone Miner Res*. juill 2005; 20(7):1185-94.
40. Bouvard B, Briot K, Legrand E, Blain H, Breuil V, Chapurlat R, et al. Recommandations françaises de la prise en charge et du traitement de l'ostéoporose masculine. *Revue du Rhumatisme* [Internet]. mai 2021 [cité 21 juin 2021];88(3):173-82. Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1169833021000636>
41. Lewiecki EM, Gordon CM, Baim S, Leonard MB, Bishop NJ, Bianchi M-L, et al. International Society for Clinical Densitometry 2007 Adult and Pediatric Official Positions. *Bone* [Internet]. déc 2008 [cité 22 janv 2021]; 43(6):1115-21. Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S8756328208007126>
42. Kanis JA, Hans D, Cooper C, Baim S, Bilezikian JP, Binkley N, et al. Interpretation and use of FRAX in clinical practice. *Osteoporos Int*. sept 2011; 22(9):2395-411.
43. Barnes C, Wong P, Egan B, Speller T, Cameron F, Jones G, et al. Reduced Bone Density Among Children With Severe Hemophilia. *Pediatrics* [Internet]. 1 août 2004 [cité 2

août 2019];114(2) :e177-81. Disponible sur :  
<http://pediatrics.aappublications.org/cgi/doi/10.1542/peds.114.2.e177>

44. Anagnostis P, Vakalopoulou S, Slavakis A, Charizopoulou M, Kazantzidou E, Chrysopoulou T, et al. Reduced bone mineral density in patients with haemophilia A and B in Northern Greece. *Thromb Haemost* [Internet]. 2012 [cité 2 août 2019]; 107(03):545-51. Disponible sur : <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1160/TH11-08-05563>
45. Kempton CL, Antun A, Antonucci DM, Carpenter W, Ribeiro M, Stein S, et al. Bone density in haemophilia: a single institutional cross-sectional study. *Haemophilia*. janv 2014; 20(1):121-8.
46. Linari S, Melchiorre D, Pieri L, Tofani L, Fanelli A, Brogi M, et al. Low bone mass and hypovitaminosis D in haemophilia: A single-centre study in patients with severe and moderate haemophilia A and B. *Haemophilia* [Internet]. sept 2020 [cité 22 janv 2021];26(5):898-906. Disponible sur : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/hae.14127>
47. Wells AJ, McLaughlin P, Simmonds JV, Prouse PJ, Prelevic G, Gill S, et al. A case-control study assessing bone mineral density in severe haemophilia A in the UK. *Haemophilia*. janv 2015; 21(1):109-15.
48. Wallny TA, Scholz DT, Oldenburg J, Nicolay C, Ezziddin S, Pennekamp PH, et al. Osteoporosis in haemophilia - an underestimated comorbidity? *Haemophilia*. janv 2007; 13(1):79-84.
49. Nair AP, Jijina F, Ghosh K, Madkaikar M, Shrikhande M, Nema M. Osteoporosis in young haemophiliacs from western India. *Am J Hematol*. juin 2007;82(6):453-7.
50. Melo CLS, Wandurraga EA, Peña AM, Jiménez SI, Salazar LA, Ochoa ME, et al. Low bone mineral density and associated factors in patients with haemophilia in Colombia. *Haemophilia*. avr 2018; 24(4):222-9.
51. Ekinci O, Demircioglu S, Dogan A, Merter M, Yildiz S, Demir C. Decreased bone mineral density and associated factors in severe haemophilia A patients: A case-control study. *Haemophilia* [Internet]. sept 2019 [cité 21 avr 2021];25(5). Disponible sur : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/hae.13836>
52. Iorio A, Fabbriciani G, Marcucci M, Brozzetti M, Filipponi P. Bone mineral density in haemophilia patients. A meta-analysis. *Thromb Haemost*. mars 2010;103(3):596-603.
53. Paschou SA, Anagnostis P, Karras S, Annweiler C, Vakalopoulou S, Garipidou V, et al. Bone mineral density in men and children with haemophilia A and B: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int* [Internet]. oct 2014 [cité 8 oct 2019]; 25(10):2399-407. Disponible sur : <http://link.springer.com/10.1007/s00198-014-2773-7>

54. Booth J, Lu M, Gallo D, Ito D, Valentino LA. Increased Risk of Adverse Bone Health Outcomes in People with Bleeding Disorders. *Blood* [Internet]. 2 déc 2016 [cité 8 avr 2021]; 128(22):250-250. Disponible sur : <https://doi.org/10.1182/blood.V128.22.250.250>
55. Kovacs CS. Hemophilia, low bone mass, and osteopenia/osteoporosis. *Transfusion and Apheresis Science* [Internet]. févr 2008 [cité 18 sept 2019]; 38(1):33-40. Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473050207001772>
56. Tlacuilo-Parra A, Morales-Zambrano R, Tostado-Rabago N, Esparza-Flores MA, Lopez-Guido B, Orozco-Alcala J. Inactivity is a risk factor for low bone mineral density among haemophilic children. *Br J Haematol*. mars 2008; 140(5):562-7.
57. Forsyth AL, Quon DV, Konkle BA. Role of exercise and physical activity on haemophilic arthropathy, fall prevention and osteoporosis. *Haemophilia*. sept 2011;17(5) :e870-876.
58. Khawaji M, Åkesson K, Berntorp E. Long-term prophylaxis in severe haemophilia seems to preserve bone mineral density. *Haemophilia* [Internet]. janv 2009 [cité 7 oct 2019]; 15(1):261-6. Disponible sur : <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2516.2008.01912.x>
59. Katsarou O, Terpos E, Chatzismalis P, Provelengios S, Adraktas T, Hadjidakis D, et al. Increased bone resorption is implicated in the pathogenesis of bone loss in hemophiliacs: correlations with hemophilic arthropathy and HIV infection. *Ann Hematol*. janv 2010; 89(1):67-74.
60. Gurevitch O, Slavin S. The hematological etiology of osteoporosis. *Medical Hypotheses* [Internet]. janv 2006 [cité 18 sept 2019]; 67(4):729-35. Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306987706003045>
61. Rodriguez-Merchan EC, Valentino LA. Increased bone resorption in hemophilia. *Blood Reviews* [Internet]. janv 2019 [cité 23 oct 2019];33:6-10. Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268960X17301522>
62. Christoforidis A, Economou M, Farmaki E, Tzimouli V, Gombakis N, Athanassiou-Metaxa M. Increased osteoclastic activity as shown by increased sRANK-L/OPG ratio in boys with hemophilia. *Ann Hematol*. août 2010;89(8):837-8.
63. Hua B, Olsen EHN, Sun S, Gudme CN, Wang L, Vandahl B, et al. Serological biomarkers detect active joint destruction and inflammation in patients with haemophilic arthropathy. *Haemophilia*. juill 2017;23(4):e294-300.
64. Anagnostis P, Vakalopoulou S, Vyzantiadis T-A, Charizopoulou M, Karras S, Goulis DG, et al. The clinical utility of bone turnover markers in the evaluation of bone disease in patients with haemophilia A and B. *Haemophilia*. mars 2014;20(2):268-75.

65. Anagnostis P, Vakalopoulou S, Christoulas D, Paschou SA, Papatheodorou A, Garipidou V, et al. The role of sclerostin/dickkopf-1 and receptor activator of nuclear factor kB ligand/osteoprotegerin signalling pathways in the development of osteoporosis in patients with haemophilia A and B: A cross-sectional study. *Haemophilia* [Internet]. mars 2018 [cité 22 janv 2021];24(2):316-22. Disponible sur : <http://doi.wiley.com/10.1111/hae.13384>
66. Goldscheitter G, Recht M, Sochacki P, Manco-Johnson M, Taylor JA. Biomarkers of bone disease in persons with haemophilia. *Haemophilia* [Internet]. 27 août 2020 [cité 22 janv 2021];27(1):149-55. Disponible sur : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/hae.13986>
67. Tlacuilo-Parra A, Villela-Rodríguez J, Garibaldi-Covarrubias R, Soto-Padilla J, Orozco-Alcala J. Bone turnover markers and bone mineral density in children with haemophilia. *Haemophilia* [Internet]. juill 2011 [cité 27 janv 2021];17(4):657-61. Disponible sur : <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2516.2010.02439.x>
68. Alioglu B, Selver B, Ozsoy H, Koca G, Ozdemir M, Dallar Y. Evaluation of bone mineral density in Turkish children with severe haemophilia A: Ankara hospital experience. *Haemophilia*. janv 2012;18(1):69-74.
69. Samuelson Bannow B, Recht M, Négrier C, Hermans C, Berntorp E, Eichler H, et al. Factor VIII: Long-established role in haemophilia A and emerging evidence beyond haemostasis. *Blood Reviews*. mai 2019;35:43-50.
70. Recht M, Liel MS, Turner RT, Klein RF, Taylor JA. The bone disease associated with factor VIII deficiency in mice is secondary to increased bone resorption. *Haemophilia*. nov 2013;19(6):908-12.
71. Taves S, Sun J, Livingston EW, Chen X, Amiaud J, Brion R, et al. Hemophilia A and B mice, but not VWF<sup>-/-</sup>mice, display bone defects in congenital development and remodeling after injury. *Sci Rep* [Internet]. déc 2019 [cité 22 janv 2021];9(1):14428. Disponible sur : <http://www.nature.com/articles/s41598-019-50787-9>
72. Liel MS, Greenberg DL, Recht M, Vanek C, Klein RF, Taylor JA. Decreased bone density and bone strength in a mouse model of severe factor VIII deficiency. *Br J Haematol*. juill 2012;158(1):140-3.
73. Mansouritorghabeh H, Rezaieyazdi Z, Saadati N, Saghafi M, Mirfeizi Z, Rezai J. Reduced bone density in individuals with severe hemophilia B. *Int J Rheum Dis*. juill 2009;12(2):125-9.

74. Recht M, Carly P, Larson E, Manco-Johnson MJ, Taylor JA. Biomarkers Of Bone Disease In Subjects With Hemophilia. *Blood* [Internet]. 15 nov 2013 [cité 4 sept 2021];122(21):1113-1113. Disponible sur : <https://doi.org/10.1182/blood.V122.21.1113.1113>
75. Li G, Ryaby JT, Carney DH, Wang H. Bone formation is enhanced by thrombin-related peptide TP508 during distraction osteogenesis. *J Orthop Res.* janv 2005;23(1):196-202.
76. Tudpor K, van der Eerden BCJ, Jongwattanapisan P, Roelofs JJTH, van Leeuwen JPTM, Bindels RJM, et al. Thrombin receptor deficiency leads to a high bone mass phenotype by decreasing the RANKL/OPG ratio. *Bone.* mars 2015;72:14-22.
77. Anagnostis P, Karras SN, Goulis DG. Bone disease in patients with haemophilia A and B – where are we now? *Haemophilia* [Internet]. 2015 [cité 8 oct 2019];21(1):1-3. Disponible sur : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/hae.12551>
78. Anagnostis P, Vyzantiadis T-A, Charizopoulou M, Adamidou F, Karras S, Goulis DG, et al. The effect of monthly ibandronate on bone mineral density and bone turnover markers in patients with haemophilia A and B and increased risk for fracture. *Thromb Haemost.* août 2013;110(2):257-63.
79. Knowles L, Kagiri D, Bernard M, Schwarz E, Eichler H, Pilch J. Macrophage Polarization is Deregulated in Haemophilia. *Thromb Haemost.* févr 2019;119(02):234-45.
80. Nieuwenhuizen L, Schutgens REG, Coeleveld K, Mastbergen SC, Roosendaal G, Biesma DH, et al. Hemarthrosis in hemophilic mice results in alterations in M1-M2 monocyte/macrophage polarization. *Thrombosis Research* [Internet]. mars 2014 [cité 4 nov 2019];133(3):390-5. Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0049384813005148>
81. Gu Q, Yang H, Shi Q. Macrophages and bone inflammation. *J Orthop Translat.* juill 2017;10:86-93.
82. Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, Dalod M, Grau V, Hart DN, et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood.* 21 oct 2010;116(16):e74-80.
83. Thaler B, Hohensinner PJ, Krychtiuk KA, Matzneller P, Koller L, Brekalo M, et al. Differential in vivo activation of monocyte subsets during low-grade inflammation through experimental endotoxemia in humans. *Sci Rep.* sept 2016;6(1):30162.
84. Jardim LL, Chaves DG, Silveira-Cassette ACO, Simões E Silva AC, Santana MP, Cerqueira MH, et al. Immune status of patients with haemophilia A before exposure to factor VIII: first results from the HEMFIL study. *Br J Haematol.* sept 2017;178(6):971-8.

85. López-Zambrano M, Rodriguez-Montesinos J, Crespo-Avilan GE, Muñoz-Vega M, Preissner KT. Thrombin Promotes Macrophage Polarization into M1-Like Phenotype to Induce Inflammatory Responses. *Thromb Haemost.* avr 2020;120(4):658-70.
86. Zuo P, Zuo Z, Wang X, Chen L, Zheng Y, Ma G, et al. Factor Xa induces pro-inflammatory cytokine expression in RAW 264.7 macrophages via protease-activated receptor-2 activation. *Am J Transl Res.* 2015;7(11):2326-34.
87. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 8 déc 2011;365(23):2205-19.
88. Fukui S, Iwamoto N, Takatani A, Igawa T, Shimizu T, Umeda M, et al. M1 and M2 Monocytes in Rheumatoid Arthritis: A Contribution of Imbalance of M1/M2 Monocytes to Osteoclastogenesis. *Front Immunol.* 8 janv 2018;8:1958.
89. Geusens PP, Landewé RBM, Garnero P, Chen D, Dunstan CR, Lems WF, et al. The ratio of circulating osteoprotegerin to RANKL in early rheumatoid arthritis predicts later joint destruction. *Arthritis Rheum.* juin 2006;54(6):1772-7.
90. Toenges R, Wittenbrink A, Miesbach W. Biomarkers and immunological parameters in haemophilia and rheumatoid arthritis patients: a comparative multiplexing laboratory study. *Haemophilia* [Internet]. 18 nov 2020 [cité 22 janv 2021];hae.14200. Disponible sur : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/hae.14200>
91. Bronte V, Brandau S, Chen S-H, Colombo MP, Frey AB, Greten TF, et al. Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards. *Nat Commun* [Internet]. nov 2016 [cité 3 août 2021];7(1):12150. Disponible sur : <http://www.nature.com/articles/ncomms12150>
92. Yan L, Liang M, Yang T, Ji J, Jose Kumar Sreena GS, Hou X, et al. The Immunoregulatory Role of Myeloid-Derived Suppressor Cells in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol.* 2020;11:568362.
93. Chen S, Guo C, Wang R, Feng Z, Liu Z, Wu L, et al. Monocytic MDSCs skew Th17 cells toward a pro-osteoclastogenic phenotype and potentiate bone erosion in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 14 mai 2021;60(5):2409-20.
94. Rodeghiero F, Tosetto A, Abshire T, Arnold DM, Coller B, James P, et al. ISTH/SSC bleeding assessment tool: a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders: ISTH/SSC bleeding assessment tool. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* sept 2010;8(9):2063-5.

95. Fardellone P, Sebert JL, Bouraya M, Bonidan O, Leclercq G, Doutrelot C, et al. Evaluation of the calcium content of diet by frequential self-questionnaire. *Rev Rhum Mal Osteoartic.* févr 1991;58(2):99-103.
96. Genderen FR, Westers P, Heijnen L, Kleijn P, Berg HM, Helders PJM, et al. Measuring patients' perceptions on their functional abilities: validation of the Haemophilia Activities List. *Haemophilia* [Internet]. janv 2006 [cité 28 oct 2019];12(1):36-46. Disponible sur : <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2516.2006.01186.x>
97. Benhamou C-L, Souberbielle J-C, Cortet B, Fardellone P, Gauvain J-B, Thomas T, et al. La vitamine D chez l'adulte : recommandations du GRIO. *La Presse Médicale* [Internet]. juill 2011 [cité 17 mars 2021];40(7-8):673-82. Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0755498211002399>
98. Bass MA, Sharma A, Nahar VK, Chelf S, Zeller B, Pham L, et al. Bone Mineral Density Among Men and Women Aged 35 to 50 Years. *J Am Osteopath Assoc.* 1 juin 2019;119(6):357-63.
99. Ulivieri FM, Rebagliati GAA, Piodi LP, Solimeno LP, Pasta G, Boccalandro E, et al. Usefulness of bone microarchitectural and geometric DXA-derived parameters in haemophilic patients. *Haemophilia* [Internet]. 2018 [cité 8 oct 2019];24(6):980-7. Disponible sur : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/hae.13611>
100. Gerstner G, Damiano ML, Tom A, Worman C, Schultz W, Recht M, et al. Prevalence and risk factors associated with decreased bone mineral density in patients with haemophilia. *Haemophilia* [Internet]. mars 2009 [cité 8 oct 2019];15(2):559-65. Disponible sur : <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2516.2008.01963.x>
101. Holstein K, Witt L, Rolvien T, Amling M, Barvencik F, Matysiak A, et al. Impact of Hepatitis C Infection on Bone Microstructure of Patients with Hemophilia. *Hämostaseologie* [Internet]. 2020 [cité 19 août 2021].40(1); p. 33-52. Disponible sur : <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0040-1721588>
102. Lee J, Kim JH, Kim K, Jin HM, Lee KB, Chung DJ, et al. Ribavirin enhances osteoclast formation through osteoblasts via up-regulation of TRANCE/RANKL. *Mol Cell Biochem.* févr 2007;296(1-2):17-24.
103. Guañabens N, Parés A. Osteoporosis in chronic liver disease. *Liver Int.* mai 2018;38(5):776-85.
104. Fakruddin JM, Laurence J. HIV-1 Vpr enhances production of receptor of activated NF-kappaB ligand (RANKL) via potentiation of glucocorticoid receptor activity. *Arch Virol.* janv 2005;150(1):67-78.

105. Brown TT, Qaqish RB. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review. *AIDS*. 14 nov 2006;20(17):2165-74.
106. Tong X, Chen X, Zhang S, Huang M, Shen X, Xu J, et al. The Effect of Exercise on the Prevention of Osteoporosis and Bone Angiogenesis. *Biomed Res Int*. 2019;2019:8171897.
107. Compston JE, Flahive J, Hosmer DW, Watts NB, Siris ES, Silverman S, et al. Relationship of weight, height, and body mass index with fracture risk at different sites in postmenopausal women: the Global Longitudinal study of Osteoporosis in Women (GLOW). *J Bone Miner Res*. févr 2014;29(2):487-93.
108. Ryan JW, Anderson PH, Turner AG, Morris HA. Vitamin D activities and metabolic bone disease. *Clinica Chimica Acta* [Internet]. oct 2013 [cité 27 janv 2021];425:148-52. Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898113002921>
109. Eldash HH, Atwa ZTh, Saad MA. Vitamin D deficiency and osteoporosis in hemophilic children: an intermingled comorbidity. *Blood Coagulation & Fibrinolysis* [Internet]. janv 2017 [cité 8 avr 2021];28(1):14-8. Disponible sur : <https://journals.lww.com/00001721-201701000-00003>
110. Gamal Andrawes N, Hashem Fayek M, Salah El-Din N, Atef Mostafa R. Effect of low-dose factor VIII prophylaxis therapy on bone mineral density and 25(OH) vitamin D level in children with severe haemophilia A. *Haemophilia* [Internet]. mars 2020 [cité 22 janv 2021];26(2):325-32. Disponible sur : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/hae.13917>
111. Le Couteur DG, Blyth FM, Creasey HM, Handelsman DJ, Naganathan V, Sambrook PN, et al. The Association of Alanine Transaminase With Aging, Frailty, and Mortality. *The Journals of Gerontology: Series A* [Internet]. 1 juill 2010 [cité 23 août 2021];65A(7):712-7. Disponible sur : <https://doi.org/10.1093/gerona/glq082>
112. Øvlisen K, Kristensen AT, Jensen AL, Tranholm M. IL-1 beta, IL-6, KC and MCP-1 are elevated in synovial fluid from haemophilic mice with experimentally induced haemarthrosis. *Haemophilia*. mai 2009;15(3):802-10.
113. Coury F, Peyruchaud O, Machuca-Gayet I. Osteoimmunology of Bone Loss in Inflammatory Rheumatic Diseases. *Front Immunol* [Internet]. 3 avr 2019 [cité 2 août 2019];10:679. Disponible sur : <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2019.00679/full>

114. Weitzmann MN, Roser-Page S, Vikulina T, Weiss D, Hao L, Baldwin WH, et al. Reduced bone formation in males and increased bone resorption in females drive bone loss in hemophilia A mice. *Blood Adv.* 12 févr 2019;3(3):288-300.
115. Aronovich A, Nur Y, Shezen E, Rosen C, Zlotnikov Klionsky Y, Milman I, et al. A novel role for factor VIII and thrombin/PAR1 in regulating hematopoiesis and its interplay with the bone structure. *Blood.* 10 oct 2013;122(15):2562-71.
116. Kiialainen A, Niggli M, Kempton CL, Castaman G, Chang TY, Paz-Priel I, et al. Bone and Joint Health Markers in Persons with Hemophilia A (PwHA) Treated with Emicizumab in HAVEN 3. *Blood [Internet].* 13 nov 2019 [cité 16 mai 2021];134(Supplement\_1):626-626. Disponible sur : [https://ashpublications.org/blood/article/134/Supplement\\_1/626/426392/Bone-and-Joint-Health-Markers-in-Persons-with](https://ashpublications.org/blood/article/134/Supplement_1/626/426392/Bone-and-Joint-Health-Markers-in-Persons-with)

# Annexes

## Annexe 1 : Tableaux et figures supplémentaires

*Tableau 20. Données ostéodensitométriques chez les hémophiles de moins de 50 ans*

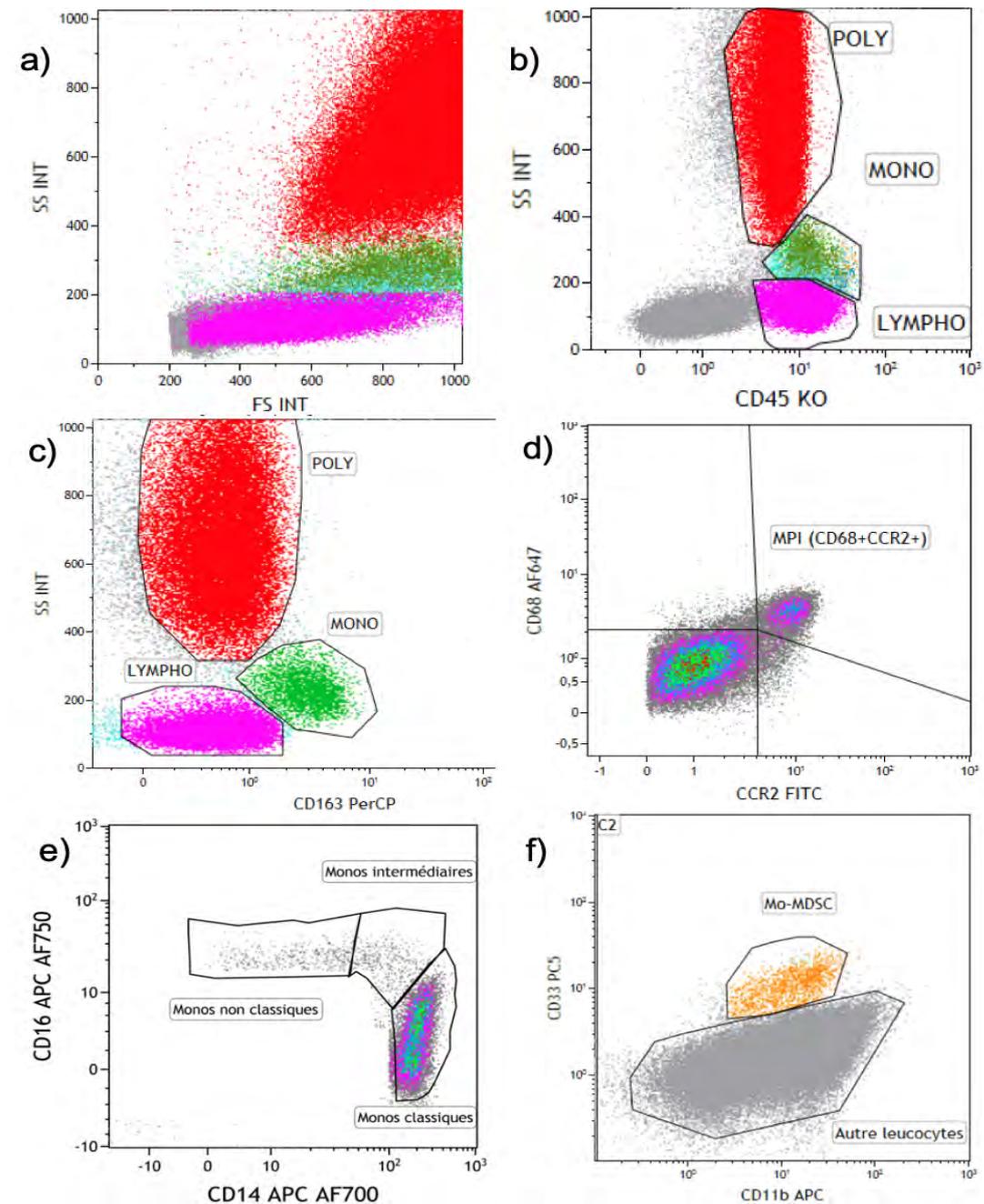
Variables	Hémophiles avec DMO (n=62) ; Med [Q1 - Q3] ou n (%)	Hémophiles avec DMO < 50 ans (n=41) ; Med [Q1 - Q3] ou n (%)			
		total (n=41)	HA (n= 28)	HB (n= 13)	p
<b>Age</b>	42 [33 - 51.75]	34 [28 - 42]	33 [26.5 - 38.5]	38 [33 - 43]	<u>0.084</u>
<b>IMC</b>	24.4 [21.8 - 26.4]	23.6 [21 - 25.4]	24.1 [20.9 - 26.2]	22.1 [21 - 23.7]	0.30
<b>DMO rachis lombaire (LS)</b>					
- DMO (g/cm <sup>2</sup> )	1.14 [1.03 - 1.23]	1.13 [1.02 - 1.21]	1.14 [1.05 - 1.21]	1.06 [0.98 - 1.15]	0.34
- Z-Scores	-0.55 [-1.40 ; 0.18]	-0.60 [-1.40 ; -0.10]	-0.55 [-1.25 ; -0.10]	-1.00 [-1.40 ; 0.00]	0.71
- DMO basse LS - n (%)	13 (21.0%)	6 (14.6%)	4 (14.3%)	2 (15.4%)	1.0
<b>DMO col du fémur (FN)</b>					
- DMO (g/cm <sup>2</sup> )	0.92 [0.81 - 1.00]	0.93 [0.840 - 1.00]	0.96 [0.86 - 1.05]	0.90 [0.81 - 0.95]	<u>0.070</u>
- Z-Scores	-0.65 [-1.30 ; -0.10]	-0.40 [-1.0 - 0.1]	-0.40 [-0.93 ; 0.13]	-0.30 [-1.30 ; -0.20]	0.39
- DMO basse FN	14 (22.6 %)	3 (7.3 %)	2 (7.1 %)	1 (7.7 %)	1.0
<b>DMO hanche totale (TH)</b>					
- DMO (g/cm <sup>2</sup> )	0.96 [0.88 - 1.04]	0.97 [0.88 - 1.04]	1.00 [0.91 - 1.08]	0.92 [0.84 - 0.97]	<b>0.037</b>
- Z-Scores	-0.40 [-0.90 ; 0.08]	-0.40 [-0.80 ; 0.1]	-0.35 [-0.73 ; 0.53]	-0.50 [-0.80 ; -0.20]	0.24
- DMO basse TH	11 (17.7 %)	3 (7.3 %)	2 (7.1 %)	1 (7.7 %)	1.0
<b>DMO basse n (%)</b>	<b>19 (30.7 %)</b>	8 (19.5 %)	5 (17.9 %)	3 (23.1 %)	0.69
DMO normale n (%)	43 (69.4 %)	33 (80.5 %)	23 (82.1 %)	10 (76.9 %)	
<b>Fractures : n (%)</b>					
- traumatiques	19 (30.7 %)	15 (36.6 %)	10 (35.7 %)	5 (38.5 %)	0.49
- de fragilité	1 (1.6 %)	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)	
- asymptomatique	1 (1.6 %)	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)	0 (0.0 %)	

**Tableau 20. Données ostéodensitométriques chez les hémophiles de 50 ans et plus**

Variables	Hémophiles avec DMO (n=62) ; Med [Q1 - Q3] ou n (%)	Hémophiles avec DMO ≥ 50 ans (n=21) ; Med [Q1 - Q3] ou n (%)			
		total (n=21)	HA (n= 18)	HB (n= 3)	p
<b>Age</b>	42 [33 - 51.8]	57 [52 - 65]	56 [51.3 - 64]	67 [62.50 - 67.50]	0.11
<b>IMC</b>	24.4 [21.8 - 26.4]	25.5 [23.8 - 27.9]	25.40 [23.9 - 27.9]	27.50 [24.7 - 33.2]	0.65
<b>DMO rachis lombaire (LS)</b>					
- DMO (g/cm <sup>2</sup> )	1.14 [1.03 - 1.23]	1.19 [1.03 - 1.34]	1.17 [1.04 - 1.32]	1.32 [1.18 - 1.36]	0.6
- T-Scores	-0.55 [-1.40 ; 0.18]	-0.30 [-1.40 ; 1.20]	-0.35 [-1.70 ; 1.08]	1.10 [-0.10 ; 1.45]	0.51
- DMO basse LS - n (%)	13 (21.0%)	7 (33.3%)	6 (33.3%)	1 (33.3%)	1.0
<b>DMO col du fémur (FN)</b>					
- DMO (g/cm <sup>2</sup> )	0.92 [0.81 - 1.00]	0.88 [0.76 - 0.96]	0.88 [0.77 - 0.96]	0.78 [0.75 - 0.89]	0.73
- T-Scores	-0.65 [-1.30 ; -0.10]	-1.10 [-2.00 ; -0.50]	-1.05 [-1.93 ; -0.50]	-1.80 [-2.05 ; -0.95]	0.72
- DMO basse FN	14 (22.6 %)	11 (52.4 %)	9 (50 %)	2 (66.7 %)	1.0
<b>DMO hanche totale (TH)</b>					
- DMO (g/cm <sup>2</sup> )	0.96 [0.88 - 1.04]	0.95 [0.87 - 1.03]	0.96 [0.88 - 1.02]	0.89 [0.87 - 0.97]	0.81
- T-Scores	-0.40 [-0.90 ; 0.08]	-0.60 [-1.30 ; 0.00]	-0.60 [-1.25 ; -0.05]	-1.10 [-1.25 ; -0.45]	0.80
- DMO basse TH	11 (17.7 %)	8 (38.1 %)	6 (33.3 %)	2 (66.7 %)	0.53
<b>DMO basse n (%)</b>	<b>19 (30.7 %)</b>	11 (52.4 %)	9 (50 %)	2 (66.7 %)	1.0
DMO normale n (%)	43 (69.4 %)	10 (47.6 %)	9 (50 %)	1 (33.3 %)	
<b>Fractures : n (%)</b>					
traumatiques	19 (30.7 %)	4 (19.1 %)	3 (16.7 %)	1 (33.3 %)	1.0
de fragilité	1 (1.6 %)	1 (4.8 %)	1 (5.6 %)	0 (0.0 %)	
asymptomatique	1 (1.6 %)	1 (4.8 %)	1 (5.6 %)	0 (0.0 %)	

- **Stratégie de fenêtrage (CMF) : exemple chez un patient (Figure 14)**

Premièrement, avec la représentation en forward scatter (FSC) sur side scatter (SSC), les débris cellulaires peuvent être éliminés. Puis, avec une fenêtre SSC/CD45, les différents leucocytes (monocytes, polynucléaires et lymphocytes) sont identifiés. Ensuite, des fenêtres avec les différents anticorps en regard du side scatter (SSC) ainsi que des fenêtres monoparamétriques par anticorps ont été utilisées pour analyser les MFI. Les monocytes pro-inflammatoires sont retrouvés sur la fenêtre CD68/CCR2. De plus, en se basant sur un histogramme CD14/CD16, les 3 populations monocytaires (classiques, intermédiaires et non classiques) ont été individualisées. Enfin, les Mo-MDSC étaient analysées avec un mix d'anticorps différent et avaient un immunophénotype CD14+/CD33+/CD11b+/DR-.



**Figure 14.** Stratégie de gating (exemple d'un patient hémophile)

- a) La fenêtre forward scatter (FSC) sur side scatter (SSC) permet d'éliminer les débris cellulaires.
- b) Sur la fenêtre SSC/CD45, les différents leucocytes (monocytes, polynucléaires et lymphocytes) sont ciblés.
- c) Fenêtre SSC/CD163 : mise en évidence de la MFI du CD163 sur les monocytes.
- d) Fenêtre CD68/CCR2 : monocytes pro-inflammatoires (MPI) CD68+ CCR2+.
- e) Fenêtre CD14/CD16 : populations monocytaires divisées en monocytes classiques (CD14+/CD16-), monocytes intermédiaires (CD14+/CD16+) et monocytes non classiques (CD14+/CD16+).
- f) Fenêtre CD33/CD11b : Mo-MDSC retrouvés CD33+/CD11b+.

## Annexe 2 : Avis du GNEDS

**AVIS**  
**Groupe Nantais d'Ethique dans le Domaine de la Santé (GNEDS)**

Nom du protocole Code et versioning	BoHem – version 3
--	-------------------

Investigateur principal	Docteur FOUASSIER
Lieu de l'étude	CRTH/CHU Nantes
Type de l'étude	Monocentrique, prospective, non contrôlée
Type patients/participants	Patients hémophiles A ou B
Nombre de patients/participants prévus	80
Objectif principal	Etude des populations monocytaires
Objectif secondaire	Recherche corrélation entre le DO, l'activité physique et le profil inflammatoire

**Documents communiqués**

Justification de l'étude	Oui
Méthodologie	Oui
Lettre d'information et lettre de consentement	Oui

**Remarque générale**

Le GNEDS formule d'abord la remarque qu'il n'a pas pour mission de donner un avis sur les aspects scientifiques du protocole, en particulier sur l'adéquation de la méthodologie aux objectifs poursuivis par l'étude. Il ne tient compte des données d'ordre scientifique et méthodologique que dans la mesure où elles ont des implications d'ordre éthique. Dans le cas présent, il se bornera à constater que les objectifs de cette étude et sa méthodologie sont conformes aux principes de l'éthique.

**Confidentialité**

Confidentialité	Oui
Anonymat	Oui
CNIL	RGPD CHU Nantes

Commentaires :

**Information et consentement**

*Consentement :*

Recueil nécessaire	Oui, biocollection existante
Type consentement préférable	Ecrit (biocollection et protocole)
Traçabilité dans le dossier	Oui

Commentaires :

*Lettre information précisant:*

Titre de l'étude	Oui
But de l'étude	Oui
Déroulement de l'étude	Oui
Prise en charge courante inchangée	Oui (tubes supplémentaires et questionnaire)
Possibilité de recevoir résultats de l'étude	Oui
Traçabilité dans le dossier	Oui

Commentaires :

**Conclusion**

Avis favorable	Oui
Révision nécessaire selon commentaires	
Avis défavorable	

GNEDS : Professeur Paul BARRIERE

Date : 17.02.20



## Annexe 3 : Fiche biocollection

 <p>CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE NANTES</p>	<b>Information sur la constitution d'une collection d'échantillons biologiques humains pour un programme de recherches intitulé Hémopathies Malignes et Non Malignes et Pathologies de l'Hémostase</b>	Date d'application: 06/05/2015 Page 1 sur 2
---	--	--

Madame, Monsieur,

Votre prise en charge peut nécessiter des **prélèvements** (prise de sang, biopsies...). Après avoir été utilisés pour votre diagnostic ou votre traitement, vos échantillons peuvent présenter un intérêt pour la recherche. Il peut s'agir de recherches liées à votre pathologie ou à d'autres domaines médicaux.

Il va ainsi vous être proposé de participer au **programme de recherches intitulé « Hémopathies Malignes et Non Malignes et Pathologies de l'Hémostase »** qui s'intéresse à la biologie des maladies du sang. Vous serez libre d'accepter ou de refuser d'y participer, sans avoir à vous justifier.

Pour les besoins de ce programme de recherches et dans la mesure où il ne comporte que **des risques négligeables**, il pourra vous être proposé un **prélèvement de sang supplémentaire**.

Ce programme de recherches nécessitera le recueil de certaines de vos **données de santé**, y compris vos origines ethniques ou raciales/géographiques, mais seulement si celles-ci présentent un intérêt justifié.

Le programme de recherches « Hémopathies Malignes et Non Malignes et Pathologies de l'Hémostase » pourra comprendre l'examen de vos caractéristiques génétiques. Mais cet examen ne constituera pas une consultation de génétique et ne servira pas à adapter votre prise en charge, ni celle de votre famille. Il ne visera pas à diagnostiquer ou confirmer une maladie génétique, mais à rechercher les caractéristiques d'un ou plusieurs gènes inconnus susceptibles d'être à l'origine d'une maladie.

De manière générale, les résultats produits par ces recherches n'apporteront pas d'informations pertinentes pour votre santé en particulier ni celle de votre famille. L'objectif de ce programme de recherches est de favoriser le développement des connaissances dans le domaine de la santé. Les résultats des recherches devront ensuite être confirmés par des études cliniques complémentaires, afin d'aboutir à de nouvelles méthodes de diagnostic, de nouveaux traitements médicaux ou chirurgicaux.

Si vous le souhaitez, vous pourrez contacter votre médecin pour être informé des **résultats globaux** de cette recherche. Bien que cela n'en soit pas l'objectif, il peut toutefois arriver que les travaux de recherche mettent en évidence de nouveaux résultats intéressant votre santé. Vous pourrez refuser d'en être tenu(e) informé(e).

### La réalisation des recherches

Les travaux de recherche seront conduits par les équipes du CHU de Nantes seules, ou en collaboration avec d'autres structures de recherche. Ces équipes pourront être **publiques** (ex : l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM), **privées, industrielles, françaises ou étrangères**. Des recherches pourront aussi être conduites par ces organismes en dehors de toute collaboration avec le CHU de Nantes. Selon votre choix, le CHU de Nantes pourra ainsi transférer gratuitement **et de manière confidentielle**, en France ou à l'étranger, vos échantillons et les données de santé associées.

Les recherches du CHU de Nantes sont réalisées dans des conditions strictes de confidentialité conformes à la réglementation. Tous les échantillons et les données associées sont systématiquement codés ou anonymisés.

### L'encadrement des recherches

Les programmes de recherches du CHU de Nantes sont déclarés au Ministère en charge de la recherche et soumis à l'avis favorable du Comité de Protection des Personnes compétent. Le traitement automatisé de vos données de santé a fait l'objet de démarches réglementaires auprès de la **Commission Nationale Informatique et Liberté (CNIL)**.

### Votre information et le recueil de votre consentement

La conservation, l'utilisation des échantillons et des données médicales collectés et leur éventuelle cession à des fins scientifiques nécessitent votre autorisation, en vertu des lois dites de « Bioéthique » et de la loi « Informatique et liberté » du 6 janvier 1978 modifiée. Vous disposez à cet égard d'un droit d'accès, d'opposition, et de rectification des données enregistrées sur informatique à tout moment, par l'intermédiaire du médecin.

**Vous pouvez poser toutes les questions nécessaires à votre médecin. Lorsque vous nous aurez fait part de votre décision, vous pourrez changer d'avis à tout moment sans que cela ne modifie votre prise en charge et ses conditions**



**Consentement pour la constitution d'une collection  
d'échantillons biologiques humains pour un programme de recherches  
intitulé Hémopathies Malignes et Non Malignes et Pathologies de  
l'Hémostase**

Date  
d'application: 06/05/2015  
Page 2 sur 2

Le CHU de Nantes réalise un programme de recherches sur les maladies du sang. Son but est d'améliorer les connaissances sur la biologie de ces maladies. Ces recherches sont réalisées à partir des échantillons disponibles au cours de votre prise en charge, ou grâce à la réalisation d'un prélèvement de sang ne comportant que des risques négligeables. Les recherches pourront également comprendre l'examen de vos caractéristiques génétiques et nécessiteront le recueil de données médicales vous concernant, y compris des informations d'origine ethnique ou raciale/géographique si les recherches le justifient. Afin de respecter la réglementation, ces données confidentielles seront codées. Sans votre consentement, vos échantillons seront détruits et aucun prélèvement de sang ne sera réalisé.

**Merci d'indiquer votre décision en complétant/annotant et signant ce document**

Je déclare avoir compris le but et les modalités de ce programme de recherches détaillé dans la lettre d'information jointe et expliqué par le médecin

**Je soussigné(e), la personne prélevée :**       Mme  M.

Nom de famille : .....

Nom de jeune fille : .....

Prénom : .....

né(e) le : |\_|\_|\_|\_|/|\_|\_|\_|\_|/|\_|\_|\_|\_|

A (lieu de naissance) : .....

**précise :**

être majeur et ne bénéficier d'aucune mesure de protection légale (tutelle, curatelle, sauvegarde de justice)

être mineur\*

bénéficier d'une mesure de protection légale :  Tutelle,  Curatelle,  Sauvegarde de justice

Si vous êtes le ou les représentants légaux (pour les mineurs, et personnes protégées par la loi), la personne de confiance désignée ou un membre de la famille (pour les situations d'urgence), merci d'indiquer votre décision en complétant/annotant et signant ce document :

<input type="checkbox"/> Mme <input type="checkbox"/> M.	<input type="checkbox"/> Mme <input type="checkbox"/> M.
Nom de famille : .....	Nom de famille : .....
Prénom : .....	Prénom : .....
Nom de jeune fille : .....	Nom de jeune fille : .....
Né(e) le :  _ _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _	Né(e) le :  _ _ _ _ / _ _ _ _ / _ _ _ _
A (lieu de naissance) : .....	A (lieu de naissance) : .....

Je suis libre de refuser ou d'accepter ma participation à ce programme de recherches et à l'utilisation des données associées à mes échantillons.  
**Ma décision n'aura aucun effet sur ma prise en charge médicale.**

Merci d'indiquer votre décision en cochant la ou les cases correspondant à votre choix

**J'accepte de faire don de mes échantillons et des données associées** codées pour le **programme de recherches « Hémopathies Malignes et Non Malignes et Pathologies de L'Hémostase »**, mené par le CHU de Nantes seul ou avec ses partenaires.

**J'accepte ou  je refuse** que mes échantillons et les données associées codées soient utilisés pour la **recherche en dehors du CHU de Nantes** et laissés à l'usage de tiers publics ou privés, **en France ou à l'étranger**, dans le respect de la réglementation pour les recherches du programme « Hémopathies Malignes et Non Malignes et Pathologies de L'Hémostase ».

**Je ne souhaite pas être informé(e)** dans le cas où les travaux de recherche mettraient en évidence de **nouveaux résultats intéressant ma santé**. Le médecin jugera par ailleurs de l'opportunité de m'en informer.

Date : .....

Signature de la personne prélevée :	Signature du médecin :	Signature des représentants légaux* :

*\*Pour les mineurs : si la mère ou le père signe seul, il s'engage à avoir obtenu l'accord de l'autre parent*

Je dispose d'un droit d'accès, d'opposition, et de rectification des données enregistrées sur informatique à tout moment, par l'intermédiaire de mon médecin. Je suis libre de revenir sur ma décision en le signifiant au secrétariat de la direction de la recherche, 5 allée de l'île Gloriette, 44 093 NANTES cedex 01 ; par téléphone : 02 53 48 28 35 ; ou par e-mail : rdrecherche@chu-nantes.fr. Préciser dans la demande de retrait de consentement le service et le nom du programme de recherche (titre en haut de page). **Ma décision n'aura aucun effet sur ma prise en charge.**

6.1.1.1.1.1.1.1

## Annexe 4 : Note d'information



**Note d'information pour la participation à la  
recherche**

**« *Hémophilie et métabolisme osseux :  
étude et des populations monocytaires et  
protéines inflammatoires* »**

**Titre abrégé : « BoHem »**

**Promoteur : CHU de Nantes**

**Ce document est remis à la personne participant à la recherche**

Madame, Monsieur,

Le Centre Hospitalier et Universitaire de Nantes souhaite mener une recherche dont il est le promoteur (c'est à dire qu'il en est responsable et qu'il l'organise).

L'objectif de la recherche est de comprendre le fonctionnement de la perte osseuse qui a pu être observée dans de nombreuses études chez les patients présentant une hémophilie. L'amélioration des connaissances dans ce domaine pourrait permettre une meilleure prise en charge diagnostique et thérapeutique des patients dans votre cas.

Pour ce faire, nous allons étudier les monocytes sanguins (une population spécifique de globules blancs) ainsi que les protéines sanguines impliquées dans l'os et l'inflammation.

La recherche va se dérouler sur une période de 1 an en recrutant des patients hémophiles se présentant dans le cadre d'une consultation de suivi de leur maladie. Lors de cette dernière, nous allons prélever des tubes de sang supplémentaires permettant de faire les analyses prévues. De plus, nous vous proposerons un questionnaire permettant d'évaluer votre activité physique. A la suite de cette rencontre, il n'y aura pas de suivi spécifique ni d'analyses ultérieures dans le cadre de cette recherche.

De plus, cette recherche est réalisée à partir de données médicales collectées au cours de votre prise en charge habituelle via votre dossier médical personnel électronique et grâce aux réponses que vous apporterez aux questionnaires qui vous seront remis. Elle pourra également comprendre les données relatives à vos habitudes de vie.

Les échantillons de sang pourront être utilisés pour d'autres recherches. C'est pourquoi un formulaire d'information et de recueil de consentement spécifique à cette biocollection vous est présenté en parallèle du présent document.

Votre participation à la recherche, au cas où vous donneriez votre accord, ne pourra vous être confirmée qu'à la condition que vous remplissiez tous les critères d'inclusion pour participer à cette recherche.

Cette recherche ne présente pas de risque pour votre santé. Les résultats qui en seront issus ne permettront pas d'apporter des informations pertinentes pour votre santé en particulier. Ils favoriseront le développement des connaissances dans le domaine de la santé osseuse chez les patients hémophiles et devront être confirmés, ensuite, par des études cliniques complémentaires, afin de permettre l'essor de nouvelles méthodes de diagnostic, ainsi qu'améliorer la prise en charge thérapeutique.

Dans le cadre de cette recherche, un traitement informatique de vos données personnelles va être mis en œuvre : cela permettra d'analyser les résultats de la recherche et de remplir l'objectif de la recherche.

Pour cela, les données vous concernant seront recueillies dans un fichier informatique auquel aura accès le Promoteur de la recherche (CHU de Nantes).

Afin d'assurer leur confidentialité, ces données seront identifiées par un numéro de code et vos initiales.

Vos données pourront, dans des conditions assurant leur confidentialité, via des plateformes ou serveurs sécurisés, faire l'objet de transferts nationaux ou internationaux (comme, par exemple, aux personnes ou sociétés agissant pour le compte du CHU, aux autorités sanitaires habilitées) pour cette étude, ou pour d'autres recherches ultérieures, exclusivement à des fins scientifiques.

Au sein de l'Europe la protection de vos données est garantie (Règlement européen UE 2016/679). Hors Europe vos données pourront être transmises dans des états n'ayant pas le même niveau d'exigence en termes de protection des données. Le cas échéant, le Promoteur prendra toutes les mesures nécessaires pour protéger les données recueillies et devra s'engager à assurer un niveau de sécurité équivalent à celui couvert par les lois françaises et européennes pour les données envoyées à l'étranger. Si vous le souhaitez, vous pouvez obtenir la copie de l'ensemble des mesures prises pour assurer l'ensemble de la protection de vos données auprès du Délégué à la Protection des Données (DPO) voir en fin de document, paragraphe « vos contacts ».

Vos données seront susceptibles d'être exploitées dans le cadre de publications ou de communications ; dans ce cas votre anonymat sera préservé.

Conformément aux dispositions de la loi relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés (loi modifiée du 6 janvier 1978), de la loi n° 2018-493 du 20 juin 2018 relative à la protection des données personnelles et du Règlement (UE) 2016/679 du Parlement européen et du Conseil du 27 avril 2016 relatif à la protection des personnes physiques à l'égard du traitement des données à caractère personnel et à la libre circulation de ces données (RGPD), vous disposez d'un droit d'accès, de rectification, de portabilité, de limitation et d'opposition du traitement de vos données personnelles. Quant au droit d'effacement, si vous décidez de retirer votre consentement pour participer à la recherche, les données obtenues avant que celui-ci n'ait été retiré seront utilisées conformément à l'article L.1122-1-1 du CSP. Les données recueillies après le retrait de votre consentement ne seront pas utilisées pour cette recherche et resteront destinées à l'usage strict du soin. Vous pouvez également porter une réclamation auprès d'une autorité de contrôle (CNIL pour la France : <https://www.cnil.fr/fr/webform/adresser-une-plainte/>).

Ces données pourront être utilisées lors de recherches ultérieures exclusivement à des fins scientifiques. Vous pouvez retirer votre consentement à cette utilisation ultérieure ou exercer votre faculté d'opposition à tout moment.

Vous pouvez également accéder directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de votre choix à l'ensemble de vos données médicales en application des dispositions de l'article L 1111-7 du Code de la Santé Publique.

Vos données seront conservées tout au long de la recherche. Après la fin de la recherche, les données seront archivées pour une durée de 15 ans, puis détruites.

L'investigateur pourra vous informer, sur votre demande, des résultats globaux de cette recherche.

Pour en savoir plus ou exercer vos droits concernant vos données, voir en fin de document, paragraphe « vos contacts ».

Cette recherche est conforme :

- à la loi « Informatique et Libertés » du 6 janvier 1978 modifiée et la loi n° 2018-493 du 20 juin 2018 relative à la protection des données personnelles

- au Règlement (UE) 2016/679 du Parlement européen et du Conseil du 27 avril 2016 relatif à la protection des personnes physiques à l'égard du traitement des données à caractère personnel et à la libre circulation de ces données (RGPD).

Ce projet ainsi que le présent document ont été présentés au Groupe Nantais d'éthique dans le domaine de la Santé.

Votre participation à cette recherche est libre. Vous pouvez refuser de participer à cette recherche, et vous pouvez à tout moment vous retirer de cette recherche, sans préjudice. Cela n'aura aucune conséquence sur la qualité des soins qui vous seront donnés ; vous devez simplement en informer l'investigateur.

## **VOS CONTACTS :**

Pour toute question concernant l'étude, retrait de consentement, ou pour exercer vos droits concernant vos données (accès, rectification, etc...), votre contact privilégié est :

**L'investigateur coordonnateur de la recherche :**

Fouassier Marc

✉ Laboratoire d'hématologie-hémostase 1 place Alexis Ricordeau, 44093 Nantes CEDEX 1

☎ 02. 40 08 40 49

Pour toute question générale sur le traitement de vos données :

**Le promoteur de la recherche, responsable du traitement :**

CHU de Nantes, direction de la recherche  
5 allée de l'île Gloriette, 44093 NANTES Cedex 1

**Le Délégué à la Protection des Données (DPO) :**

[vosdonneespersonnelles@chu-nantes.fr](mailto:vosdonneespersonnelles@chu-nantes.fr)

***(pavé à conserver si nécessaire : consentement écrit non obligatoire)***

**A compléter par la personne participant à la recherche**

Prénom/Nom : .....

J'accepte que mes données soient utilisées pour cette recherche :  **oui**       **non**

Date : ...../...../.....

Signature :



# Liste d'Activités Hémophilie

Date : .....

Patient ID: .....

Version 2.0 2015  
Version Française  
© Van Creveldkliniek  
University Medical Centre Utrecht

## Introduction

Nous vous présentons la **Liste d'Activités liées à l'Hémophilie (LAH)**. Le présent questionnaire renferme une liste de plusieurs activités qui pourraient être difficiles à accomplir par des personnes atteintes d'hémophilie. Il vise à évaluer la facilité avec laquelle vous pouvez faire ces activités.

## Généralités

Lorsque vous répondez aux questions, veuillez considérer uniquement **vos** expérience personnelle. Pour chacune des activités, on vous demande si vous avez éprouvé une difficulté quelconque à exécuter cette activité au cours du dernier mois, à cause de l'hémophilie. Vous aurez six (ou parfois sept) options de réponses différentes. Répondez à chacune des questions en cochant la case qui décrit le mieux votre situation.

### Par exemple:

Au cours du dernier mois, à cause de l'hémophilie, avez-vous eu de la difficulté à :

	Ne le fais jamais	Impossible	Toujours un problème	Souvent un problème	Parfois un problème	Rarement un problème	Jamais un problème
Utiliser les transports publics (autobus, train, métro, tram)	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>

Vous devez cocher une seule case pour chacune des questions. Choisissez l'option « Ne le fais jamais » si vous n'avez jamais accompli cette activité en particulier, ou si vous n'avez jamais eu besoin de la faire. L'option « Ne le fais jamais » est offerte seulement dans le cadre de certaines activités. Il existe une différence entre les options « impossible » et « Toujours un problème ». Dans le cas de « Toujours un problème », vous êtes en mesure d'exécuter l'activité mais avec difficultés, quant à « Impossible », vous êtes incapable d'exécuter cette activité.

Il est très important de répondre à toutes les questions même si une question vous semble sans importance dans votre cas ou que vous n'avez aucune opinion pour cette question. Si vous hésitez, essayez de cocher la réponse qui décrit le plus précisément votre situation.

Le questionnaire prendra de 5 à 10 minutes à remplir.

## Se coucher / s'asseoir / s'agenouiller / se tenir debout

Au cours du dernier mois, à cause de votre hémophilie, avez-vous eu de la difficulté à :

	Impossible	Toujours un problème	Souvent un problème	Parfois un problème	Rarement un problème	Jamais un problème
Vous asseoir (ex. : sur une chaise ou un sofa)	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Vous lever d'une chaise <i>avec</i> accoudoirs	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Vous lever d'une chaise <i>sans</i> accoudoirs	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Vous mettre à genoux / vous accroupir	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Vous pencher vers l'avant	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Vous agenouiller pour de longues périodes de temps	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Vous accroupir pour de longues périodes de temps	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Vous tenir debout pour de longues périodes de temps	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>

## Fonctionnement des Jambes

Au cours du dernier mois, à cause de votre hémophilie, avez-vous eu de la difficulté à :

	Impossible	Toujours un problème	Souvent un problème	Parfois un problème	Rarement un problème	Jamais un problème
Marcher sur de courtes distances (moins d'un kilomètre /15 minutes)	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Marcher sur de longues distances (plus d'un kilomètre /15 minutes)	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Marcher sur une surface molle (ex. : sur le sable ou dans la forêt)	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Marcher sur une surface inégale (ex. : sur des pavés, des hautes bordures de trottoir, des seuils)	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Vous promener sans vous presser (ex. : faire du lèche-vitrine)	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
<i>Monter</i> les escaliers	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
<i>Descendre</i> les escaliers	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Courir (ex. : pour attraper l'autobus)	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Sauter	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>

## Fonctionnement des Bras

Au cours du dernier mois, à cause de votre hémophilie, avez-vous eu de la difficulté à :

	Impossible	Toujours un problème	Souvent un problème	Parfois un problème	Rarement un problème	Jamais un problème
Soulever des objets lourds	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Transporter à deux bras des objets lourds	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Effectuer des mouvements demandant une dextérité fine des mains (ex. : fermer des boutons de manchette)	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Saisir un objet au-dessus de votre tête (ex.: sur le haut d'une étagère)	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>

## Utilisation des moyens de transports

Au cours du dernier mois, à cause de votre hémophilie, avez-vous eu de la difficulté à :

	Ne le fais jamais	Impossible	Toujours un problème	Souvent un problème	Parfois un problème	Rarement un problème	Jamais un problème
Faire du vélo	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Monter et descendre d'une voiture	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Utiliser les transports publics (autobus, train, métro, tram)	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>

## Soins personnels

Au cours du dernier mois, à cause de votre hémophilie, avez-vous eu de la difficulté à :

	Impossible	Toujours un problème	Souvent un problème	Parfois un problème	Rarement un problème	Jamais un problème
Vous sécher tout le corps	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Enfiler une chemise, un chandail, etc.	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Enfiler des chaussettes et des chaussures	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Mettre une cravate ou fermer le bouton supérieur d'une chemise	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Vous essuyer après être allé à la toilette	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>

## Tâches domestiques

Au cours du dernier mois, à cause de votre hémophilie, avez-vous eu de la difficulté à :

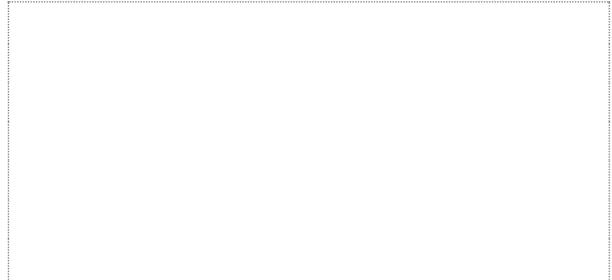
	Ne le fais jamais	Impossible	Toujours un problème	Souvent un problème	Parfois un problème	Rarement un problème	Jamais un problème
Faire les courses (épicerie, boissons, etc.)	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Laver la vaisselle, nettoyer le plan de travail	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Nettoyer la maison	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Exécuter d'autres tâches domestiques (repasser, faire les lits)	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Faire de petits travaux (à l'intérieur et autour de la maison)	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Faire du jardinage	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>

## Sports et activités de loisirs

Au cours du dernier mois, à cause de votre hémophilie, avez-vous eu de la difficulté à :

	Ne le fais jamais	Impossible	Toujours un problème	Souvent un problème	Parfois un problème	Rarement un problème	Jamais un problème
Jouer (dehors, ex. : avec vos enfants)	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Pratiquer un sport	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Sortir (théâtre / cinéma / musée / bar)	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Pratiquer des passe-temps	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Danser	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Partir en vacances (avec activités physiques)	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>
Partir en vacances (sans activité, ex. : plage/hôtel)	O <sub>8</sub>	O <sub>1</sub>	O <sub>2</sub>	O <sub>3</sub>	O <sub>4</sub>	O <sub>5</sub>	O <sub>6</sub>

**Vu, le Président du Jury,**



Professeur Marie-Christine BÉNE

**Vu, le Directeur de Thèse,**



Docteur Marc FOUASSIER

**Vu, le Doyen de la Faculté,**



Professeur Pascale JOLLIET

NOM : PAILLER

PRENOM : Yoann

**Titre de Thèse :**

**Étude clinico-biologique du métabolisme osseux chez le patient hémophile (Protocole BoHem)**

---

## RESUME

L'hémophilie, pathologie rare de l'hémostase, est associée à une baisse de la densité osseuse. **Objectifs** : déterminer la prévalence de l'atteinte osseuse chez l'hémophile et en identifier les facteurs de risque cliniques associés. Évaluer les mécanismes impliqués dans le remodelage osseux, dont les paramètres inflammatoires. **Méthodes** : Cette étude monocentrique et prospective a recueilli les données de densité minérale osseuse (DMO), de cytokines de l'inflammation, d'immunophénotypes monocytaires et de biomarqueurs osseux chez des patients hémophiles majeurs recrutés au CHU de Nantes. **Résultats** : Sur 62 patients hémophiles, 19 patients (30,7 %) avaient une baisse de la DMO. Les facteurs de risque retrouvés étaient l'âge, la sévérité de la maladie, les infections virales (VIH et VHC) et l'arthroplastie des membres inférieurs. Les patients présentaient un profil inflammatoire sur l'analyse des cytokines et des monocytes par rapport aux témoins, sans qu'un lien significatif puisse être mis en évidence avec la DMO. **Conclusion** : La prévalence d'une atteinte osseuse est élevée chez l'hémophile. Il conviendrait de prévoir un dépistage systématique de la DMO afin d'améliorer la prise en charge de la santé osseuse dans cette maladie. Le rôle de l'impact de l'inflammation sur l'os reste à définir dans cette population avant d'envisager d'éventuelles thérapeutiques ciblées.

---

## MOTS-CLES

HÉMOPHILIE - DENSITÉ MINÉRALE OSSEUSE - OSTÉOPOROSE - INFLAMMATION - CYTOKINES - IL-6 - MONOCYTES- BIOMARQUEURS OSSEUX