



**HAL**  
open science

## Etat des lieux sur la physiopathologie, le diagnostic et les traitements de la stéato-hépatite non alcoolique (NASH)

Guillaume Grzych, Lucie Bernard, Réjane Lestrelin, Anne Tailleux, Bart Staels

### ► To cite this version:

Guillaume Grzych, Lucie Bernard, Réjane Lestrelin, Anne Tailleux, Bart Staels. Etat des lieux sur la physiopathologie, le diagnostic et les traitements de la stéato-hépatite non alcoolique (NASH). *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 2023, 81 (2), pp.183-201. 10.1016/j.pharma.2022.09.005 . inserm-04023720

**HAL Id: inserm-04023720**

<https://inserm.hal.science/inserm-04023720>

Submitted on 10 Mar 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

# **Etat des lieux sur la physiopathologie, le diagnostic et les traitements de la stéato-hépatite non alcoolique (NASH)**

**Guillaume Grzych\*, Lucie Bernard\*, Réjane Lestrelin#, Anne Muhr-Tailleux#, Bart Staels#.**

**Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1011-EGID, Lille, France.**

**\*Co-Premiers Auteurs, #Co-Derniers Auteurs**

## **Résumé**

La NAFLD ou maladie du foie gras non alcoolique est une des complications de l'obésité et du diabète dont la prévalence augmente fortement. Les causes de la pathologie et de son développement vers sa forme sévère, la NASH ou stéato-hépatite non alcoolique, sont multiples et encore mal comprises. De nombreuses classes pharmacologiques différentes sont en cours d'essais cliniques pour traiter la NASH, mais aucun médicament n'existe actuellement sur le marché. De plus, le diagnostic de certitude n'est possible que par ponction d'une biopsie hépatique et analyse histologique, geste invasif et de haut risque pour le patient. Il apparait donc nécessaire de mieux comprendre l'histoire naturelle de la maladie afin d'identifier des cibles thérapeutiques, mais également d'identifier des marqueurs pour le diagnostic et le suivi de la pathologie à l'aide d'un prélèvement sanguin, qui permettront une amélioration de la prise en charge des patients.

## 1. Epidémiologie

La NAFLD (*Non Alcoholic Fatty Liver Disease*), une pathologie évolutive qui présente différents stades, allant de la stéatose isolée (NAFL) à la stéato-hépatite (NASH), est un facteur de risque pour la fibrose et la cirrhose. La NASH est la complication hépatique du syndrome métabolique. Il s'agit de **l'affection hépatique chronique la plus fréquente dans les populations occidentales**. Le diagnostic étant actuellement encore complexe à réaliser, la prévalence de la maladie reste difficile à établir et sous-estimée. Cependant, de récentes études montrent que la prévalence mondiale serait de 25% pour la NAFLD et entre 2 et 6% pour la NASH (1,2). On estime que 20% des patients avec une NAFL développeront une NASH et que 20% des patients avec une NASH évolueront vers une cirrhose, contre 4% des patients avec une NAFL simple (3). Il n'existe actuellement pas de données épidémiologiques de la NAFLD en France mais des simulations réalisées à partir de la cohorte Constances (projet visant à suivre prospectivement une cohorte généraliste de plus de 200 000 volontaires âgés de 18 à 69 ans en France) estime le nombre de personnes présentant une NAFLD à 14 millions en France, incluant plus de 900 000 NASH, 135 000 cirrhoses et 1760 carcinomes hépatiques (4).

**Dans les populations obèses et diabétiques, la prévalence de la NAFLD est plus importante** (2,5) que dans la population générale, et le diabète de type 2 (DT2) et l'obésité sont des facteurs de risque de NAFLD. La prévalence des NAFLD est importante parmi les patients diabétiques et est estimée globalement à 55% (6) avec un taux plus important en Europe (environ 68%). La prévalence globale de la NASH parmi les patients diabétiques est quant à elle estimée à 37%. La prévalence de la NAFLD est également associée à l'obésité et augmente avec l'indice de masse corporelle (IMC) (7). Les taux de prévalence de la NAFL et de la NASH sont respectivement d'environ 15 % et 3 % chez les personnes non obèses, 65 % et 20 % chez les personnes présentant une obésité (IMC entre 30,0-39,9 kg/m<sup>2</sup>), et 85 % et 40 % chez les patients en obésité sévère (IMC ≥ 40 kg/m<sup>2</sup>) (7).

**La NAFLD augmente la mortalité en favorisant l'apparition de maladies cardio-vasculaires extra-hépatiques** (8,9) **dans le contexte général du syndrome métabolique** (10,11). On retrouve chez les patients avec une NAFLD une prévalence plus importante de l'hypertension (12), de l'athérosclérose (12), de la maladie rénale (13) ou de complications cardiaques par rapport à la population générale. Par exemple, aux Etats-Unis, 68 % des patients NAFLD présentent une hypertension contre 29% dans la population générale (3). La NAFLD accroît d'un facteur 8 le risque d'augmentation de l'épaisseur intima-media témoin de l'athérosclérose (14) et d'un facteur 3 le risque d'apparition de calcification coronaire (10).

Les estimations montrent que **la prévalence de la NASH devrait augmenter de 63 % entre 2015 et 2030**. Cette pathologie devrait devenir la première cause de transplantation hépatique aux Etats-Unis dans les années à venir (15), il s'agit donc d'un enjeu majeur de santé publique.

## 2. Physiopathologie

La NAFL est généralement considérée comme bénigne. La NASH associe quant à elle la stéatose à des éléments de nécro-inflammation, considérés histologiquement comme une inflammation lobulaire et un ballonnement des hépatocytes (16,17). La NASH peut évoluer vers d'autres complications hépatiques telles que la fibrose, la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire (**Figure 1**). La progression de la NAFLD est hétérogène et une réversibilité des stades de la maladie jusqu'à la stéato-hépatite est possible. Actuellement, les facteurs qui déterminent plus particulièrement le passage de la stéatose simple à la NASH sont encore mal compris (**Figure 1**).

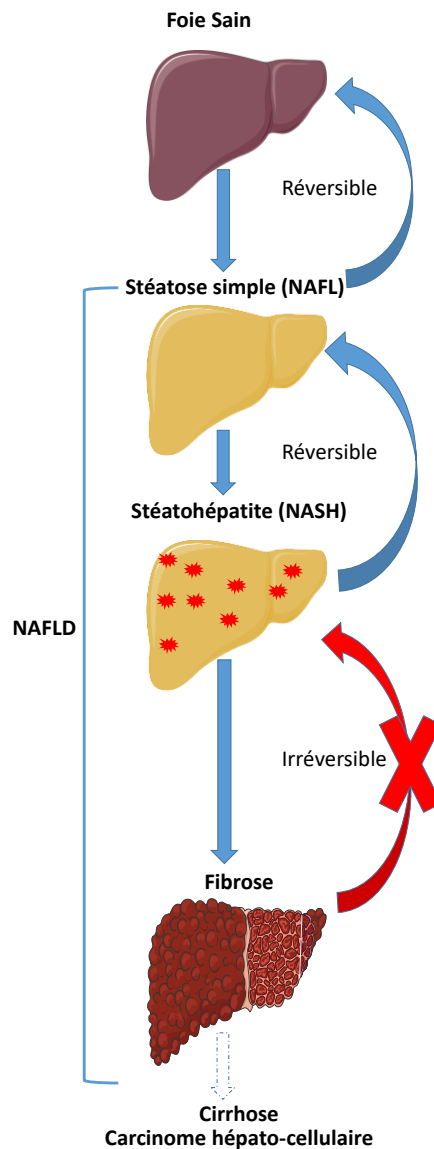
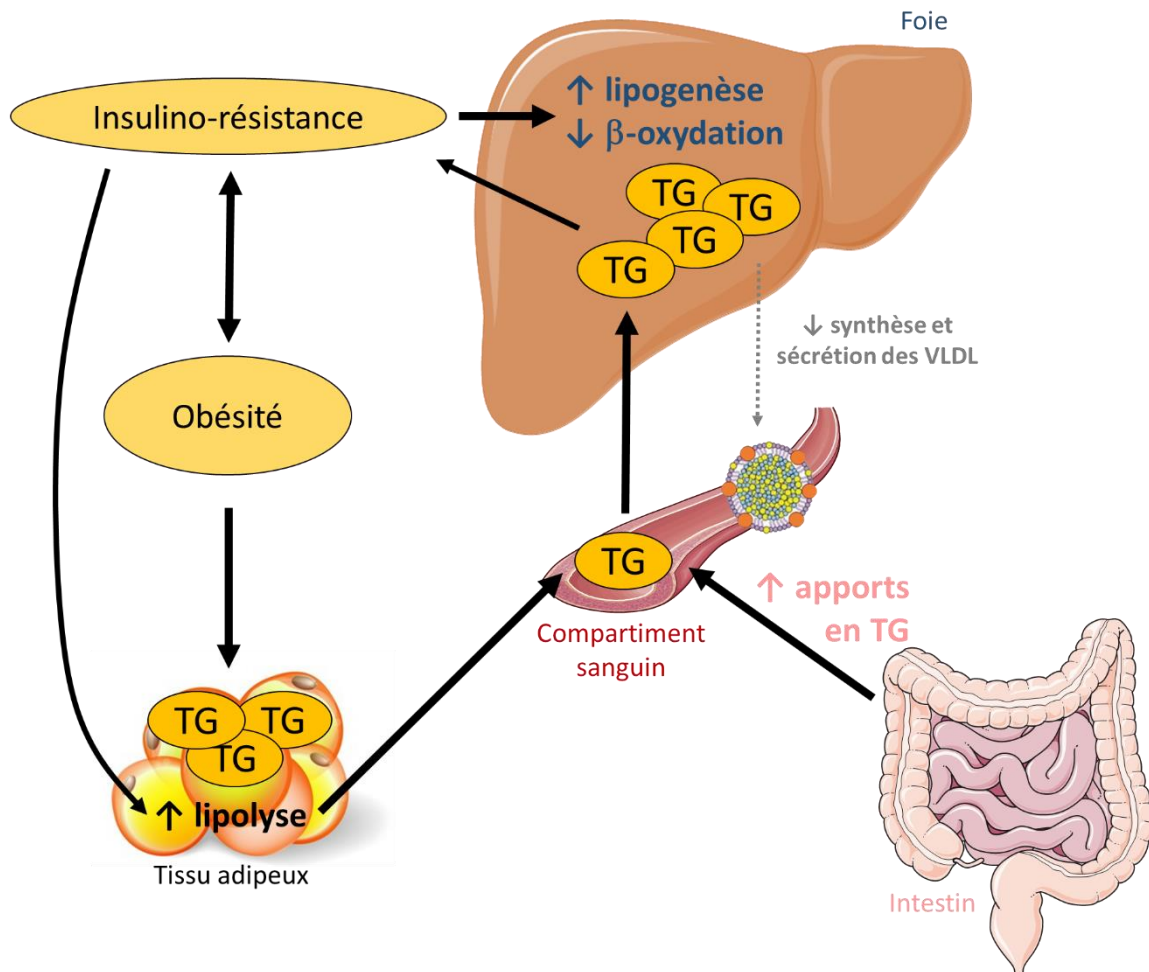


Figure 1 : Représentation de l'histoire naturelle de la NAFLD.

### a. Dérégulation métabolique et stéatose

Un dysfonctionnement métabolique joue un rôle évident dans le développement de la NAFLD (17). L'acronyme MAFLD (*Metabolic Associated Fatty Liver Disease*) a récemment été proposé pour refléter plus précisément les connaissances actuelles sur la stéatose hépatique associée à un dysfonctionnement métabolique mais comprend également les stéatoses hépatiques d'origine alcoolique (ASH) (18). La stéatose hépatique correspond à une accumulation de triglycérides (TG) dans le foie (**Figure 2**) qui ont plusieurs origines : l'intestin, le tissu adipeux et le foie lui-même. Un taux élevé de graisse corporelle et une forte densité calorique combinés à un mode de vie sédentaire conduisent à l'obésité et à l'insulino-résistance (IR) qui majorent la masse du tissu adipeux. L'IR dans le tissu adipeux augmente le flux d'acides gras libres atteignant le foie en raison d'une lipolyse

excessive (19), majorée par les adipokines. De plus, l'augmentation de la lipogenèse *de novo* (20) et la diminution de l'oxydation des acides gras exacerbent la quantité d'acides gras dans le foie (**Figure 2**).



**Figure 2 :** Mécanismes impliqués dans le développement de la stéatose hépatique. La stéatose hépatique correspond à une accumulation de triglycérides (TG) dans le foie qui ont plusieurs origines : l'intestin, le tissu adipeux et le foie lui-même.

L'accumulation de lipides dans le foie entraîne la formation de gouttelettes lipidiques intra-hépatiques qui vont avoir un impact sur la progression de la NAFLD. Les gouttelettes lipidiques sont la principale forme de stockage des lipides dans l'organisme (21). Ces gouttelettes ont une action indirecte sur les processus biochimiques utilisant les lipides comme médiateurs, tels que la régulation de la lipogenèse, la lipotoxicité, l'homéostasie énergétique et l'inflammation (22,23). La stéatose correspond à l'accumulation de ces gouttelettes lipidiques, favorisée par l'augmentation de la libération intra-hépatique d'acides gras. Il y a une augmentation des acides gras libres par le tissu adipeux qui stimule l'accumulation de triglycérides, qui sont d'abord exportés sous forme de VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*). Cependant à un certain seuil de triglycérides hépatiques, la production de VLDL n'est plus suffisante, ce qui majore l'accumulation de triglycérides hépatique (24). La stéatose contribue aussi à l'apparition des lésions hépatiques par la libération de lipides toxiques tels que le diacylglycérol (DAG) ou par l'augmentation du stress du réticulum qui entraîne une réponse pro-inflammatoire (25).

Un défaut de la β-oxydation, voie d'oxydation des acides gras, perturbe le métabolisme énergétique mitochondrial dans des conditions de jeûne et de régime hyperlipidique, ou dans des conditions pathologiques telles que le diabète et le syndrome métabolique (26). En parallèle, la β-oxydation, mais

également la glycolyse aérobie (voie d'oxydation du glucose), conduisent à la production d'acétyl-CoA. Or, en plus d'être un substrat de la production d'énergie, l'acétyl-CoA permet l'acétylation des protéines mitochondriales impliquées dans les étapes finales de la  $\beta$ -oxydation (Énoyl-CoA hydratase, 3-Hydroxyacyl-CoA déshydrogénase et Acétyl-CoA C-acyltransférase). Ainsi, un déficit de la  $\beta$ -oxydation entraîne via l'acétyl-CoA des modifications épigénétiques dans les hépatocytes (27), et cette dérégulation épigénétique favorise le développement de la NAFLD (28). Une atteinte de la  $\beta$ -oxydation peut donc avoir un impact sur la production d'énergie mais également avoir des effets sur l'expression des gènes.

Certains lipides tels que l'acide arachidonique et ses métabolites ainsi que d'autres acides gras polyinsaturés sont des ligands des récepteurs activés par les proliférateurs de peroxysomes (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor*, PPAR) qui sont des récepteurs nucléaires. Trois isoformes de PPARs existent :  $\alpha$ ,  $\beta/\delta$  et  $\gamma$ . PPAR $\alpha$  et  $\beta/\delta$  sont fortement exprimés dans les hépatocytes, contrairement à PPAR $\gamma$  dont l'expression dans les hépatocytes se retrouve en condition de stéatose (29). Les fibrates sont des agonistes de PPAR $\alpha$  utilisés dans le traitement des hypertriglycéridémies mais aussi comme outils pharmacologiques dans les travaux étudiant le rôle physiopathologique de PPAR $\alpha$ . Chez l'Humain, l'activation de PPAR $\alpha$  dans le foie est associée à une amélioration du profil lipidique avec une augmentation de la concentration du cholestérol-HDL et une diminution du cholestérol total et des triglycérides (29,30). Dans un contexte de NASH, une diminution de l'expression génique de PPAR $\alpha$  dans le foie de patients est corrélée positivement avec les lésions histologiques hépatiques. A l'inverse, la régression des lésions hépatiques chez des sujets répondants au traitement de la NASH est associée à une augmentation de l'expression de PPAR $\alpha$  et de ses gènes cibles (31). De plus, une déplétion spécifique de PPAR $\alpha$  dans le foie dans un modèle murin d'obésité favorise le développement de la NAFLD (32). Une augmentation de l'activité de PPAR $\gamma$  dans le foie chez la souris (par utilisation des agonistes de PPAR $\gamma$  que sont les glitazones : pioglitazone et rosiglitazone) améliore les lésions hépatiques de la NAFLD (stéatose, inflammation et fibrose) (33). Enfin, un traitement par rosiglitazone diminue l'apparition de la fibrose chez des souris soumises à un régime induisant la NASH (régime déficient en méthionine et choline) (34). La famille des PPARs présente donc un intérêt majeur dans la physiopathologie de la NAFLD et des études supplémentaires sont nécessaires afin de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents impliqués.

La voie de signalisation mTor (mammalian target of rapamycin) régule de nombreux processus métaboliques et physiologiques, dont la lipogénèse. L'activation de mTor entraîne une augmentation de la synthèse des lipides en régulant l'expression de nombreux gènes dont *SREBP* (*Sterol Regulatory Element-Binding Protein*). Les souris avec inactivation hépatique spécifique du complexe 1 de mTor (mTorC1) présentent une réduction de l'expression de SREBP et une diminution de la stéatose hépatique (35), ce qui suggère une implication du complexe mTORC1 dans la progression de la NAFLD (36).

Les études génomiques ont révélé que certains variants génétiques sont des déterminants forts de la NAFLD, comme le variant I148M du gène *Patatin-Like Phospholipase-3* (*PNPLA3*) ou encore le variant E167K du gène *Transmembrane 6 Superfamily 2* (*TM6SF2*) (37). Le variant de *PNPLA3* est en lien avec un remodelage des gouttelettes lipidiques (38) alors que le variant de *TM6SF2* est lié à une réduction de la sécrétion hépatique de l'apolipoprotéine B (39), ceci entraînant un développement de la stéatose hépatique.

Les modulations métaboliques en lien avec la stéatose hépatique sont donc très diverses et impliquent un grand nombre de voies dont les interconnexions ne sont pas encore totalement connues dans l'histoire naturelle de la maladie.

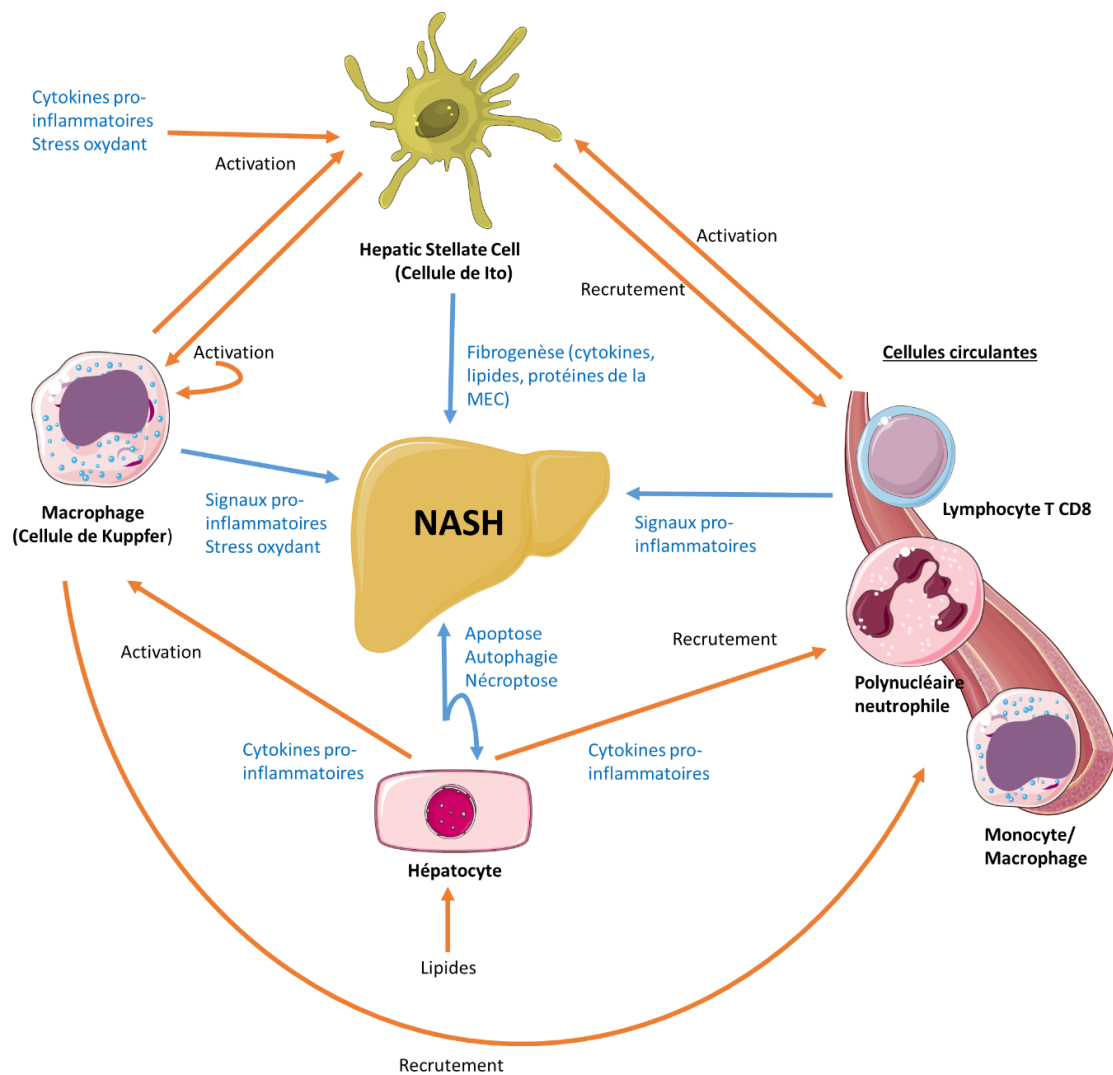
## b. Inflammation et évolution vers le stade de NASH

L'apparition d'une inflammation en plus de la stéatose hépatique entraîne le passage de la NAFL à la NASH. Cette inflammation est induite par des processus oxydatifs et des dérégulations immunitaires sous l'impulsion de signaux pro-inflammatoires pouvant faire évoluer la maladie vers la fibrose. L'apparition d'une nécro-inflammation dans la NAFL se manifeste histologiquement sous forme de recrutement et d'activation de cellules pro-inflammatoires (cellules stellaires hépatiques, lymphocytes, macrophages) et d'hépatocytes dysfonctionnels gonflés, ballonnés, pathogénomiques du stade de NASH (40).

Le stress oxydant est un déterminant majeur dans l'inflammation retrouvée dans la NASH, lié à un dysfonctionnement mitochondrial par l'accumulation d'intermédiaires lipidiques tels que certains dérivés d'acylcarnitine (41) et par la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) provenant à la fois de la  $\beta$ -oxydation et du dysfonctionnement de la chaîne respiratoire (42,43). En plus de l'inflammation, ces ERO vont promouvoir à la fois la dyslipidémie et la résistance à l'insuline, souvent associés à la NAFLD (44).

L'activation des macrophages du foie (cellules de Kupffer) et des monocytes/macrophages recrutés est associée à la progression de la NAFLD (**Figure 3**). La libération accrue d'acides gras libres par le tissu adipeux augmente la synthèse et le stockage des triglycérides dans les hépatocytes et induit la libération par les hépatocytes de cytokines pro-inflammatoires et de chimiokines de recrutement des macrophages (CCL2, CXCL10). En plus des hépatocytes, les macrophages eux-mêmes peuvent produire diverses chimiokines pour alimenter le recrutement accru de macrophages. Les cytokines produites par les macrophages (IL-6, TNF, IL-1 $\beta$ ) peuvent cibler directement les hépatocytes et favoriser la stéatose, l'inflammation et les lésions hépatocellulaires. De plus, les macrophages peuvent générer des ERO et favoriser le stress oxydant au sein du foie (45). On trouve également dans la NAFLD une augmentation des cellules dendritiques classiques, de type 1 et 2, et des cellules T CD8 cytotoxiques associées à l'inflammation lobulaire et à la ballonnisation (46).

Les cellules stellaires hépatiques (*Hepatic Stellate Cells*, HSC) ou cellules de Ito sont des cellules situées dans le parenchyme du foie. Elles sont quiescentes à l'état normal et contiennent une quantité importante de lipides sous la forme de gouttelettes lipidiques. Ces cellules jouent un rôle dans la fibrogenèse hépatique, et deviennent, lorsqu'elles sont activées, (47) des myofibroblastes qui expriment des cytokines, chimiokines et des protéines de la matrice extracellulaire (48). L'activation des HSC est donc une étape clef dans le développement de la fibrose hépatique. Elle est déclenchée principalement en réponse à des cytokines pro-inflammatoires mais également par le stress oxydant ou par certains lipides tels que le cholestérol (49). De plus, lors de leur activation, les HSC perdent leur contenu en lipides, qui se retrouvent alors dans le tissu hépatique et majorent la stéatose (50).



**Figure 3 : Mécanismes inflammatoires cellulaires impliqués dans la physiopathologie de la NAFLD. Signaux pro-inflammatoires induisant le recrutement et l'activation de cellules inflammatoires favorisant le développement de la NASH.**

La mort cellulaire des hépatocytes est également impliquée dans le développement de la NAFLD via des modulations de l'apoptose (mort cellulaire programmée en réponse au stress), l'autophagie (autophagocytose et recyclage d'éléments cellulaires), la nécroptose (nécrose programmée en réponse au stress) et la pyroptose (mort cellulaire programmée en réponse à l'entrée de pathogènes) (51). L'activation de la kinase 1 (*Apoptosis Signal-regulating Kinase 1*, ASK1) régulatrice de l'apoptose, active des voies de réponse au stress qui aggravent l'inflammation hépatique, l'apoptose et la fibrose. Comme mentionnée précédemment, la voie mTor pourrait être impliquée dans la physiopathologie de la NAFLD. En plus de son action sur la lipogenèse, l'activation de la voie mTor hépatique augmente les cytokines pro-inflammatoires et inhibe l'autophagie (52). La nécroptose dépend des activités kinases des récepteurs RIPK (*Receptor Interacting Protein Kinase*) et par opposition à l'apoptose, concerne le processus nécrotique. Il a été montré que les principales molécules de signalisation de la nécroptose, dont RIPK1, RIPK3 et MLKL, sont augmentées dans des modèles murins de NAFLD induite par un régime (53).

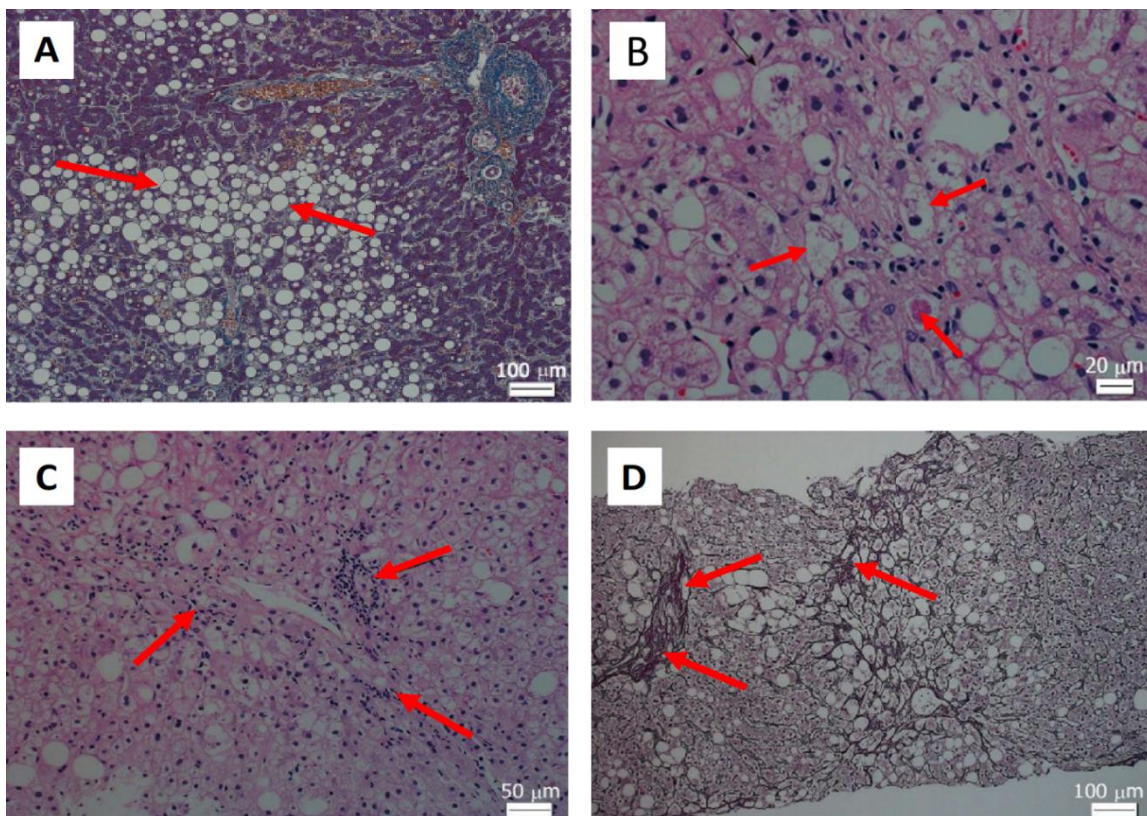


### 3. Diagnostic

#### a. Biopsie hépatique

Actuellement, le diagnostic de NASH repose principalement sur la PBH (Ponction Biopsie Hépatique), par la mise en évidence des lésions histologiques caractéristiques (stéatose, foyers nécrotico-inflammatoires, ballonnisation hépatocytaire et fibrose péri-sinusoïdale) (**Figure 4**) permettant la détermination de différents scores histologiques (54–57). Des systèmes de notation histologique ont été successivement mis au point pour la plupart des maladies chroniques du foie, tels que le score METAVIR utilisé pour les hépatites chroniques virales (58).

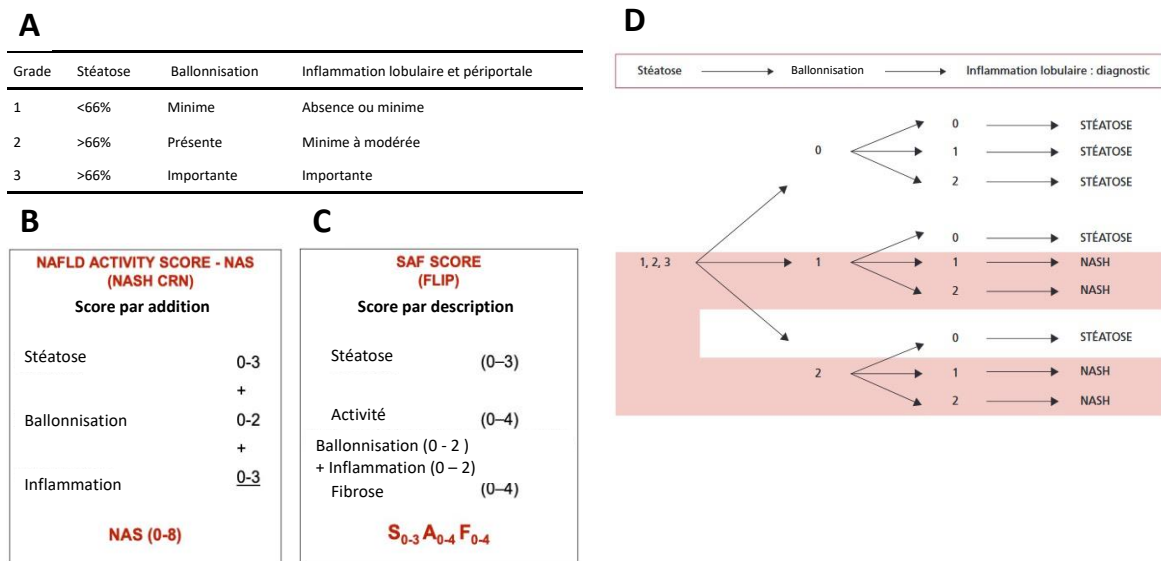
Le système de Brunt est le premier à avoir été utilisé dans le cadre des NAFLD (55) et permet l'évaluation semi-quantitative de la stéatose, du ballonnement et de l'inflammation lobulaire. Trois grades d'activité de la NAFLD sont alors définis : le grade 1 (minime) est caractérisé par la présence de stéatose <66 % sur la PBH, la ballonnisation minime et l'absence ou présence d'inflammation lobulaire ou portale minime ; le grade 2 (modéré) est caractérisé par une stéatose  $\geq 66\%$ , une ballonnisation modérée, une inflammation lobulaire modérée, et une inflammation portale minime à modérée ; et enfin le grade 3 (sévère) est caractérisé par la stéatose diffuse >66%, la ballonnisation marquée et l'inflammation lobulaire et portale importante. Cependant ce système de score ne prend pas en compte la fibrose hépatique (**Figure 5A**).



**Figure 4** : Lésions histologiques observées dans les NAFLD. Images de coupes histologiques de foie obtenues à partir de biopsie hépatique humaine. A : Stéatose hépatique, coloration au trichrome Masson, les flèches rouges indiquent les macrovésicules de stéatose. B : Ballonnisation des hépatocytes, coloration au HE (Hématoxyline/Eosine), les flèches rouges indiquent les hépatocytes ballonnés. C : Inflammation lobulaire, coloration au HE, les flèches rouges indiquent les lésions inflammatoires. D : Fibrose hépatique, coloration à la réticuline, les flèches rouges indiquent les lésions fibrotiques. Adapté de Takahashi (59).

Le score d'activité NAFLD (*NAFLD Activity Score, NAS*) a ensuite été proposé par Kleiner et Brunt du NASH CRN (*NASH Clinical Research Network*) (56). Il permet une quantification des lésions afin de déterminer une valeur comprise entre 0 et 8 par la somme non pondérée de la stéatose (0,1,2,3), du ballonnement (0,1,2) et de l'inflammation lobulaire (0,1,2,3) mais sans prendre en compte la fibrose (**Figure 5B**). Un score NAS strictement supérieur à 4 définit alors le stade de NASH. Le score NAS a été utilisé dans les essais cliniques pour l'évaluation de marqueurs non invasifs chez les patients souffrant d'obésité morbide (60). Le NAS n'est cependant pas considéré comme un outil de diagnostic, mais plutôt comme une échelle continue d'évaluation de l'activité. En effet, sans prendre en compte la présence d'une fibrose, la NASH se différencie de la NAFL simple par des marqueurs histologiques de lésions hépatiques continues (c'est-à-dire d'activité), la présence de ballonnement et d'inflammation lobulaire. Bien que la probabilité de présence de NASH augmente avec le score NAS, il existe une large zone grise (NAS 3-4) où la NASH peut ou non être présente.

Le score NAS a pour principale limite son côté purement additionnel et quantitatif. Le score SAF (Stéatose Activité Fibrose) (**Figure 5C**) combiné à l'algorithme FLIP (*Fatty Liver Inhibition of Progression*) (**Figure 5D**) a été récemment proposé et prend en compte également la fibrose. Contrairement au score NAS, le score SAF mesure la stéatose indépendamment des marqueurs de lésions cellulaires (ballonnisation et inflammation lobulaire) et permet de préciser le stade d'évolution de la pathologie. L'algorithme FLIP indique que la présence d'une stéatose sur plus de 5% de la surface des hépatocytes confirme le diagnostic de NAFLD. Le FLIP indique également que les patients ayant une NAFLD sans ballonnisation, ou avec une ballonnisation minimale et sans inflammation lobulaire, sont classés stéatose simple (NAFL). La présence d'une stéatose hépatique associée à une inflammation sévère, c'est-à-dire à une ballonnisation et/ou à une inflammation lobulaire, définit quant à elle le stade de la NASH (**Figure 5D**).



**Figure 5 : Classification histologique des NAFLD par établissement de scores (61). A : Score de Brunt ; B : Score NAFLD Activity Score (NAS) ; C : Score Stéatose Activité Fibrose (SAF) ; D : Algorithme *Fatty Liver Inhibition of Progression* (FLIP).**

Cependant, la PBH est un geste invasif pouvant induire douleurs et complications (en particulier des hémorragies) pour le patient. De plus, il existe une variabilité inter-opérateur importante lors de l'analyse histologique et la détermination des scores (62-64). Enfin, la biopsie n'est pas nécessairement représentative de l'ensemble du tissu hépatique. Il est donc important de pouvoir

proposer des alternatives à la fois pour simplifier et renforcer le diagnostic et le suivi. Dans ce contexte les tests non invasifs ont leur place.

## **b. Tests non invasifs**

Un des enjeux actuels est de pouvoir proposer des tests non invasifs pour le diagnostic et le suivi de l'évolution de la NAFLD. Ces tests sont alors évalués contre la méthode de référence qu'est la biopsie hépatique, sur des critères de performances tels que la sensibilité et la spécificité mais également selon l'indice AUROC (aire sous une courbe ROC). Cette valeur de 0 à 1 mesure l'intégralité de l'aire à deux dimensions située sous l'ensemble de la courbe ROC, traçant les valeurs des taux de vrais positifs et de faux positifs pour différents seuils de classification. Plus ce chiffre est proche de 1, plus le test est performant.

### **i. Imagerie**

L'imagerie présente plusieurs avantages dans le diagnostic des NAFLD (65). C'est une technique sans risque pour le patient, non invasive et qui permet une évaluation du foie dans son intégralité anatomique contrairement à la biopsie.

L'échographie abdominale montre que l'accumulation de graisses hépatiques entraîne une échogénicité accrue, une hépatomégalie et une mauvaise visibilité des vaisseaux intra-hépatiques. La stéatose serait détectable lorsque plus de 20 % des hépatocytes contiennent des gouttelettes de graisse histologiquement visibles (66). L'échographie présente une sensibilité de 79% et une spécificité de 86% pour la stéatose hépatique mais ne permet pas de détecter la fibrose ni de différencier la stéatose simple de la NASH.

Le scanner ou la tomodensitométrie (TDM) est plus spécifique que l'échographie dans le diagnostic de la NAFLD. La TDM mesure la NAFLD par la teneur en lipides du foie et est utilisée dans le cadre des suivis de patients (67). Cependant la TDM peut confondre le dépôt de graisse dans le foie avec d'autres molécules telles que le fer, le cuivre, le glycogène et l'amiodarone (68). La TDM présente une sensibilité de 82% et une spécificité de 100% pour la stéatose hépatique mais ne permet pas de détecter la fibrose ni de différencier la stéatose simple de la NASH.

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) permet la détection de graisse et d'eau dans le foie. L'IRM présente une sensibilité entre 76 et 90% et une spécificité entre 87 et 91% pour la stéatose hépatique, mais ne permet pas de détection de la fibrose ni de différencier la stéatose simple de la NASH.

Le Fibroscan permet la détection de la fibrose hépatique par élastométrie impulsionnelle. Il est donc capable de détecter la cirrhose du foie avec une grande précision. Les AUROC pour la détection de la fibrose intermédiaire (F2 et F3) sont respectivement de 0,84 et 0,93, et la sensibilité et la spécificité de la fibrose avancée ( $F > 3$ ) sont de 91% et 75% (69). Dans une étude portant sur 183 patients, le Fibroscan a montré une bonne capacité à discriminer la NASH de la NAFL simple parmi des patients atteints de NAFLD, avec un AUROC de 0,812 (70).

Ces méthodes permettent principalement une mise en évidence de la stéatose par détection de graisse dans le foie. Cependant les performances de ces méthodes sont très dépendantes de la variabilité inter-opérateur. De plus, la NAFLD étant très liée à l'obésité, l'excès de masse adipeuse rend le diagnostic très difficile chez le patient obèse (71).

## ii. Biomarqueurs

La recherche de biomarqueurs est un défi actuel dans la NAFLD (72). Un biomarqueur est un paramètre biologique utilisé dans le diagnostic et dans le suivi d'une pathologie donnée. Il doit répondre à certains critères afin de pouvoir être utilisable en routine : être usuellement mesurable, poser ou orienter fortement le diagnostic, permettre un suivi de l'évolution de la pathologie et présenter des variations spécifiques de la pathologie (73). L'avantage des biomarqueurs par rapport à la biopsie et à l'imagerie est l'objectivité de la méthode qui est indépendante de variabilités inter-observateurs (64).

Score	Formule
<b>FLI</b>	$\frac{e^{0,953 \cdot \log(\text{TG}) + 0,139 \cdot \text{IMC} + 0,718 \cdot \log(\text{GGT}) + 0,053 \cdot (\text{tour de taille}) - 15,745}}{1 + e^{0,953 \cdot \log(\text{TG}) + 0,139 \cdot \text{IMC} + 0,718 \cdot \log(\text{GGT}) + 0,053 \cdot (\text{tour de taille}) - 15,745}} \times 100$
<b>HSI</b>	$8 \cdot \frac{\text{ALAT}}{\text{ASAT}} + \text{IMC} (+2 \text{ pour les femmes, } +2 \text{ si diabète type 2})$
<b>SteatoTest</b>	Formule propriétaire (Bilirubine, GGT, $\alpha$ 2-macroglobuline, Haptoglobine, Apolipoprotéine A1, glycémie à jeun, triglycérides, cholestérol, ALAT, âge, sexe, poids et taille)
<b>APRI</b>	$\frac{\text{ASAT} / \text{Norme ASAT}}{\text{Plaquettes}}$
<b>FIB-4</b>	$\frac{\text{Age} \cdot \text{ASAT}}{\text{Plaquettes} \cdot \text{ALAT}}$
<b>NAFLD fibrosis score (NFS)</b>	$-1,67 + 0,037 \cdot \text{Age} + 0,094 \cdot \text{IMC} + 1,13 \cdot \text{diabète}(0,1) + 0,99 \cdot \frac{\text{ASAT}}{\text{ALAT}} - 0,013 \cdot \text{Plaquettes} - 0,66 \cdot \text{Albumine}$
<b>BARD</b>	BMI > 28 (1 point), ASAT/ALAT > 0,8 (1 point), présence de diabète de type 2 (1 point),
<b>OWLiver</b>	Formule propriétaire (triglycérides, profil lipidomique, BMI)
<b>NIS4</b>	Formule propriétaire (miR-34a-5p, YKL-40, $\alpha$ 2-macroglobuline, HbA1c)

**Tableau 1 : Scores non invasifs basés sur des marqueurs biologiques utilisés dans le diagnostic de la NAFLD.**

Outre les biomarqueurs, des variants génomiques peuvent aussi être liés à la prévalence de la NAFLD, notamment les variants de *PNPLA3* et *TM6SF2* (37), qui peuvent donc orienter le diagnostic. Cependant, la recherche de variants génétiques ne peut se faire à l'heure actuelle que dans des laboratoires spécialisés, et la pénétrance n'est pas complète. En ce sens, des scores utilisant des paramètres biologiques de routine ont été développés.

Dans l'évaluation de la stéatose hépatique, deux scores ont principalement été étudiés, le *Fatty Liver Index* (FLI) et le *Hepatic Steatosis Index* (HSI). Le FLI combine l'IMC, le tour de taille, les TG et la GGT (Gamma-Glutamyl Transférase) (74) (**Tableau 1**), et présente une exactitude (AUROC) de 0,84 pour détecter la stéatose hépatique. Une étude indépendante sur 324 patients a montré que le FLI avait une sensibilité de 76% et une spécificité de 87% dans le diagnostic de la stéatose hépatique (75). Le HSI comprend le sexe, l'alanine aminotransférase (ALT), l'aspartate aminotransférase (AST), l'IMC et le

statut diabétique (**Tableau 1**), et présente une exactitude (AUROC) de 0,81 pour détecter la stéatose hépatique (76). Cependant ces deux scores présentent des performances qui sont biaisées car ils sont comparés à l'échographie (en tant que méthode de référence), alors que l'échographie n'a pas de performances parfaites et que l'interprétation des images peut être dépendante de la variabilité inter-opérateur. Un autre score pour l'évaluation de la stéatose hépatique a été évalué contre la biopsie hépatique. Le SteatoTest combine 9 paramètres biochimiques (bilirubine totale, GGT,  $\alpha$ 2-macroglobuline, haptoglobine, ALT, cholestérol total, TG, glucose et apolipoprotéine AI) avec l'âge, le sexe et l'IMC (**Tableau 1**), et montre une exactitude (AUROC) de 0,79 (77). Cependant ce test présente un coût élevé car en plus du prix des dosages biologiques, l'utilisation de la formule est payante et déposée par Biopredictive. Enfin, pour l'évaluation de la fibrose hépatique, plusieurs scores gratuits sont disponibles, l'APRI (*AST to platelet ratio index*) qui utilise les transaminases et la numération plaquettaire, le FIB-4 (*Fibrosis-4*) qui combine le rapport des transaminases, l'âge et la numération plaquettaire (**Tableau 1**) et le *NAFLD fibrosis score* (NFS) qui combine l'âge, l'IMC, le glucose à jeun, les TG et le rapport des transaminases (ALT/AST) (78), et qui présentent des performances équivalentes (AUROC 0,84) au Fibrotest comparé à la biopsie hépatique chez les patients présentant une NAFLD (77). Des scores non invasifs ont également été proposés dans la littérature tels que le score NIS4 (79) qui utilise l'expression d'un mi-RNA et des marqueurs biologiques, et le score OWLiver (80) qui se base sur les taux de TG ainsi qu'un profil de lipides identifié par analyse métabolomique .

Concernant la recherche de biomarqueurs spécifiques de la NASH, la cytokératine 18 est un marqueur apoptotique qui a révélé prédire la NASH de façon indépendante avec une spécificité de 99,9% et une sensibilité de 85,7% sur 139 patients (69 avec et 70 sans NASH) (81). Cependant une étude indépendante menée sur 318 patients (dont 199 patients avec NASH) montre des performances moindres avec une spécificité de 68% et une sensibilité de 58% pour la détection de la NASH et une sensibilité de 54% pour la détection de la fibrose hépatique (82). Des marqueurs de l'inflammation ont également été proposés tels que le TNF, l'interleukine 8 ou le CXCL10, mais ils manquent de spécificité car ils peuvent être influencés par un processus inflammatoire systémique (83). Concernant l'étude des métabolites, les études de métabolome de patients atteints de NASH ont montré un intérêt pour le profil des acides biliaires (AB) (84) et des acides aminés (AA) (85,86). Cependant les AB et les AA sont soumis à des facteurs confondants tels que le diabète (87) et l'obésité (88), qui peuvent influencer le résultat et nécessitent un ajustement lors des études cliniques.

Il n'existe donc actuellement pas de test non invasif spécifique qui pose avec certitude le diagnostic de NASH et permette de suivre les stades de la maladie (77,89). Les stratégies diagnostiques utilisées actuellement sont donc une combinaison de méthodes qui utilisent les scores biochimiques chez les patients à risque de NAFLD pour les orienter vers un hépatologue qui utilisera alors des méthodes d'imagerie ou une biopsie pour confirmer le diagnostic. Il est donc important de pouvoir proposer des tests biochimiques performants en première ligne afin d'orienter correctement le patient dans la démarche diagnostique.

## 4. Traitements

### a. Chirurgie bariatrique

La cirrhose associée à la NAFLD fait partie des trois premières indications de transplantation hépatique avec le carcinome hépato-cellulaire et les hépatites virales (90). Cependant il s'agit d'une intervention lourde dont la liste des patients éligibles en attente s'allonge. La NAFLD étant très liée à l'obésité et au syndrome métabolique, la prise en charge repose donc principalement sur la correction des facteurs du syndrome métabolique et plus particulièrement la restriction calorique et la perte de poids. La prise

en charge repose sur la mise en place de règles hygiéno-diététiques (RHD) strictes (91). Le manque d'observance et donc d'efficacité à long terme des RHD nécessite d'envisager d'autres approches thérapeutiques. Actuellement seule la chirurgie bariatrique a montré des résultats efficaces. Plusieurs types de chirurgie bariatrique existent, notamment la gastrectomie partielle, la pose d'un anneau gastrique ou le bypass gastrique (Roux en Y Gastric Bypass, RYGB). Dans le traitement de l'obésité, un suivi de patients (hors contexte de NAFLD) pendant 5 ans a montré une efficacité plus importante de la chirurgie bariatrique que des traitements pharmacologiques dans la régulation des composants du syndrome métabolique, suggérant des améliorations métaboliques globales (92). De plus, il a été montré une efficacité plus importante du bypass gastrique par rapport à la pose d'un anneau gastrique (93). La chirurgie bariatrique entraîne des modifications métaboliques durables qui précèdent la perte de poids (94). Dans un modèle de mini porc non obèse, la chirurgie bariatrique améliore l'insulino-résistance par une augmentation du *glucagon-like peptide-1* (GLP-1) (95) et une modulation du transporteur sodium-glucose, confirmée chez des patients ayant bénéficié d'une chirurgie bariatrique (96), ceci indiquant une amélioration de l'homéostasie glucidique pour ce type de chirurgie. Une méta-analyse du métabolome de patients ayant subi une chirurgie (RYGB), réalisée à partir de sérums et d'échantillons de tissus (97), montre des modifications du profil des lipides (avec principalement diminution des acides gras libres et de l'acide palmitique, pro-inflammatoire) (98), des métabolites du microbiote (diminution du p-crésol et de l'acide hippurique, témoin de la dégradation des protéines par le microbiote) mais également des altérations importantes du profil des AA avec en particulier une diminution des AA ramifiés (99,100). Donc la chirurgie bariatrique permet une amélioration métabolique chez les patients obèses et peut avoir un intérêt dans le cadre de la prise en charge de la NAFLD.

Une étude réalisée au CHU de Lille a montré que, un an après la chirurgie bariatrique, une résolution de la NASH a été observée pour 85% des patients (101), avec une plus grande proportion pour les NASH modérées (94%) par rapport aux NASH sévères (70%). Les patients présentaient une perte de poids significative et une résolution de la NASH plus importante avec le bypass gastrique comparé à la pose d'un anneau gastrique. Les améliorations métaboliques observées après bypass gastrique sont une normalisation du lipidogramme, une amélioration de l'insulino-résistance et une diminution de l'inflammation visible en histologie (102). La chirurgie bariatrique reste cependant une intervention lourde, risquée pour le patient et pouvant entraîner des complications telles que des déficits nutritionnels (103,104), des calculs biliaires (105), des complications péri-opératoires (106) et des altérations de la qualité de vie (107,108). Des alternatives thérapeutiques ont donc un intérêt majeur dans la prise en charge de la NASH.

## **b. Traitements pharmacologiques**

A ce jour, il n'existe aucun médicament sur le marché permettant de soigner spécifiquement les NAFLD/NASH. Cependant, les mécanismes impliqués dans l'apparition et la progression de la pathologie sont communs à de nombreuses maladies métaboliques et cardiovasculaires. Ainsi, certains médicaments destinés au traitement de l'obésité, du syndrome métabolique, des dyslipidémies, de l'hypertension artérielle et/ou du diabète de type 2 sont en cours d'essai clinique dans le contexte des NAFLD/NASH. En plus du repositionnement de ces molécules, de nouvelles molécules ciblant d'autres voies mécanistiques sont également en cours d'étude (109–111). Ainsi, on compte à ce jour 11 classes pharmacologiques ayant atteint la phase 3 des études cliniques contre le traitement de les NAFLD/NASH, dont 2 sans effets significatifs (**Tableau 2**).

## Traitements de la NAFLD

Non pharmacologiques	Pharmacologiques
<p>Règles hygiéno-diététiques</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Exercice physique</li> <li>• Régime alimentaire</li> </ul> <p>Chirurgie</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Chirurgie bariatrique</li> <li>• Greffe hépatique</li> </ul>	<p>Agonistes du récepteur FXR</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Acide obéticholique (Phase 3 terminée)</li> <li>• Cilofexor, Tropifexor, MET409, EDP-305, EYP001, MET642, TERN-101 (Phases 2)</li> </ul> <p>Agonistes des récepteurs PPARs</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• PPAR<math>\gamma</math> (TZD) : Pioglitazone (Phase 4)</li> <li>• PPAR<math>\alpha</math> : Pemafibrate (Phase 2)</li> <li>• PPAR<math>\alpha/\gamma</math> : Saroglitazar (Phase 3)</li> <li>• PPAR<math>\alpha/\delta</math> : Elafibranor (Phase 3 arrêtée)</li> <li>• PPAR<math>\alpha/\gamma/\delta</math> : Lanifibranor (Phase 3)</li> </ul> <p>Inhibiteur du MPC (TZD seconde génération)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• MSDC-0602K (Phase 3)</li> </ul> <p>Analogues de FGF21</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Efruxifermin (Phase 3)</li> <li>• Pegbelfermin (Phase 2)</li> </ul> <p>Analogues du GLP-1</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sémaglutide (Phase 3)</li> <li>• Liraglutide (Phase 2)</li> </ul> <p>Antioxydants</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vitamine E (Phase 3)</li> </ul> <p>Inhibiteurs du co-transporteur SGLT2</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dapagliflozine (Phase 3)</li> </ul> <p>Inhibiteur de la SCD1</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aramchol (Phase 3)</li> </ul> <p>Agonistes du récepteur THR<math>\beta</math></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resmetirom (Phase 3)</li> <li>• VK2809 (Phase 2)</li> </ul> <p>Inhibiteur des récepteurs CCR2/5</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cenicriviroc (Phase 3 arrêtée)</li> </ul> <p>Inhibiteur de l'ASK1</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Selonsertib (Phase 3 arrêtée)</li> </ul>

**Tableau 2 : Prises en charge actuelles des NAFLD : principales cibles thérapeutiques et molécules en essais cliniques de phase 3.** FXR : *Farnesoid X Receptor*, PPAR : *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor*, TZD : thiazolidinedione, MPC : transporteur mitochondrial du pyruvate, FGF21 : *Fibroblast Growth Factor 21*, GLP-1 : *Glucagon-Like Peptide-1*, SGLT2 :

*Sodium-dependent GLucose co-Transporter-2*, SCD1 : *Stearoyl coA Desaturase 1*, THR $\beta$  : récepteur  $\beta$ -sélectif aux hormones thyroïdiennes, CCR2/5 : récepteurs aux chimiokines C-C 2 et 5, ASK1 : *Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1*.

### **i. Les agonistes du récepteur FXR**

L'acide obéticholique (OCA) est un dérivé d'acide biliaire, agoniste du récepteur FXR (*Farnesoid X receptor*), utilisé en deuxième intention dans le traitement de la cholangite biliaire primitive en association avec l'acide ursodésoxycholique (un acide biliaire naturel hydrophile). L'OCA diminue le glucose hépatique et le métabolisme des lipides, via la diminution de SREBP1c. Il permet également la réduction de la production de des acides biliaires, en augmentant FGF19 (*Fibroblast Growth Factor 19*) dans l'intestin, qui inhibe la CYP7A1, l'enzyme hépatique de la conversion du cholestérol en acide biliaire. L'OCA peut cependant être responsable de prurit, fatigue, étourdissements et douleurs abdominales. Des études ont montré son efficacité dans le traitement de la NASH. En effet, l'étude FLINT de phase 2b portant sur des patients atteints de NASH non cirrhotiques a montré qu'un traitement durant 72 semaines par l'OCA améliorait la stéatose hépatique, l'inflammation lobulaire, le ballonnement des hépatocytes et la fibrose (112). Son efficacité sur la fibrose a également été montrée dans les premiers résultats de l'étude REGENERATE de phase 3 (NCT02548351), réalisée chez 1968 patients atteints de NASH fibrosée non cirrhotique (113). Cependant, l'OCA a également favorisé l'apparition de prurits et de désordres lipidiques chez les patients, avec une augmentation du cholestérol LDL (*Low density lipoprotein*), VLDL, et une diminution du cholestérol HDL. Ainsi, une autre étude appelée CONTROL s'est intéressée à la co-administration de l'OCA et d'une statine (traitement hypolipidémiant utilisé dans les dyslipidémies), et a pu montrer chez les patients NASH traités par l'OCA que l'Atorvastatine permettait de contrer l'augmentation du cholestérol LDL (114). Enfin, l'étude de phase 3 REVERSE (NCT03439254) actuellement en cours vise à évaluer l'efficacité et la sécurité de l'OCA chez les patients atteints de cirrhose compensée suite à une NASH.

D'autres agonistes de FXR sont en essai clinique pour la prise en charge de la NASH, notamment dans l'objectif (encore non atteint à ce jour) de diminuer les effets secondaires du traitement. Des associations de plusieurs molécules incluant des agonistes de FXR sont également étudiées, dans le but d'obtenir une action synergique des différentes classes pharmacologiques.

### **ii. Les agonistes des récepteurs PPARs**

Comme décrit précédemment, les récepteurs PPARs jouent un rôle protecteur clé dans la physiopathologie de la NAFLD/NASH.

De nombreuses études précliniques ont notamment montré l'efficacité des fibrates, agonistes de PPAR $\alpha$  initialement utilisés dans le traitement des dyslipidémies, sur la NASH. Ainsi, le pemafibrate (ou K-877) a été testé dans l'étude SPPARM $\alpha$  de phase 2 (NCT03350165) chez les patients NAFLD, et induit une diminution des taux d'aminotransférases et de cholestérol LDL, ainsi qu'une amélioration de l'élasticité du foie mesurée par ERM (élastographie par résonance magnétique) (115).

PPAR $\gamma$  est ciblé par ses agonistes, les TZDs (thiazolidinediones) ou glitazones, dont fait partie la pioglitazone, traitement utilisé dans le diabète de type 2 (116). Chez les patients NASH et diabétiques, un traitement par la pioglitazone induit une amélioration de la sensibilité à l'insuline, une diminution des taux d'ALT et d'AST, ainsi qu'une diminution de la stéatose hépatique, de l'inflammation, du ballonnement des hépatocytes et du score NAS de gravité de la maladie après analyses histologiques,



avec une tendance à l'amélioration de la fibrose (phase 4 : NCT00227110) (117). Egalement, une étude portant sur des patients NASH et diabétiques sous régime hypocalorique montre qu'un traitement par la pioglitazone diminue le score NAS sans aggraver la fibrose (analyses histologiques), et induit la résolution de la NASH chez 51% des patients de l'étude (phase 4 : NCT00994682) (118). Egalement, une étude portant sur des patients NASH non diabétiques a montré un effet bénéfique de la pioglitazone sur la souffrance hépatocellulaire et sur la fibrose (119).

En stimulant PPAR $\gamma$ , les TZDs favorisent cependant la rétention des fluides, la perte osseuse, et accentuent la prise de poids. En effet, les TZDs permettent la redistribution des graisses abdominales, dont les graisses hépatiques, vers les graisses sous-cutanées. Afin de pallier ces effets indésirables, des TZDs de seconde génération ont été mises au point, dont fait partie le MSDC-0602K. Il permet d'inhiber le transporteur mitochondrial du pyruvate (MPC), en activant le moins possible le récepteur PPAR $\gamma$ . Le MPC est un complexe protéique qui régule l'entrée du pyruvate dans la mitochondrie et dont l'inhibition favorise la sensibilité à l'insuline. Les résultats de l'étude EMINENCE de phase 2 (NCT02784444) réalisée chez des patients NASH diabétiques montrent que le MSDC-0602K diminue les marqueurs sanguins de lésions hépatiques et améliore le métabolisme du glucose (120). L'étude de phase 3 MMONARCH-1 (NCT03970031) est en cours chez les patients NAFLD/NASH et diabétiques.

Le saroglitazar est un agoniste double des récepteurs PPAR $\alpha/\gamma$ . Il est approuvé en Inde dans le traitement du diabète de type 2 et de la dyslipidémie, car il permet une diminution des taux de triglycérides et de glucose dans le sang. L'étude indienne EVIDENCES I de phase 2 a montré que le saroglitazar diminuait les taux d'enzymes hépatiques et de lipides chez les patients NAFLD. Ensuite, l'étude EVIDENCES II de phase 3 s'est intéressée à l'effet du saroglitazar sur les patients NASH, et a montré une amélioration des paramètres histologiques, menant à la mise sur le marché du médicament pour le traitement de la NASH en Inde. En parallèle, l'étude EVIDENCES IV de phase 2 (NCT03061721) aux Etats-Unis a montré l'efficacité du saroglitazar sur les paramètres sanguins de souffrance hépatique et les paramètres lipidiques chez les patients NAFLD et NASH (121). D'autres études de phase 2 portant également sur le saroglitazar sont en cours : une étude menée chez les patients NASH et fibrosés (NCT05011305) et l'étude EVIDENCES VI (NCT03863574) menée chez les patients NASH. Enfin, une étude de phase 3 (NCT04193982) est en cours, afin d'étudier l'effet de la combinaison du saroglitazar et de la vitamine E chez les patients NAFLD et NASH, en comparaison de l'application de règles hygiéno-diététiques seules.

L'élafibranor (ou GFT505) est également un agoniste double, mais des récepteurs PPAR $\alpha/\delta$ . PPAR $\delta$  (aussi appelé PPAR $\beta$  chez le rongeur) est impliqué dans la régulation de l'homéostasie énergétique en augmentant la sensibilité à l'insuline, l'oxydation des acides gras, le taux de cholestérol HDL, et en diminuant l'adiposité, les taux de triglycérides et l'inflammation. Une étude pilote de phase 2 (NCT01271777) menée sur des patients obèses a montré un effet bénéfique de l'élafibranor sur les taux de triglycérides, de cholestérol LDL et d'adiponectine, et sur l'insulino-résistance, de manière a priori hépato-spécifique (122). L'étude GOLDEN-505 de phase 2 a donc été menée sur 184 patients NASH, et a montré sur le plan histologique une amélioration de la stéatose, de l'inflammation et de la fibrose chez les patients les plus atteints, sans effets secondaires importants (123). Ainsi, l'étude RESOLVE-IT de phase 3 (NCT02704403) menée sur 1070 patients a été lancée. Cependant, les patients traités par l'élafibranor n'ont pas montré de résolution significative de la NASH par rapport aux patients sous placebo. Cet échec pourrait cependant être dû à une dose insuffisante d'élafibranor administrée aux patients, ce qui pourrait faire l'objet d'un nouvel essai clinique. L'élafibranor est toujours en cours d'étude dans le traitement de la cholangite biliaire primitive .

Le lanifibranor (ou IVA337) est un pan-agoniste PPAR, qui cible donc les 3 isoformes PPAR $\alpha/\gamma/\delta$ . Il possède des propriétés anti-fibrotiques, anti-inflammatoires et permet de diminuer le taux de triglycérides, d'augmenter le taux de cholestérol HDL et d'améliorer la sensibilité à l'insuline. L'étude NATIVE de phase 2b (NCT03008070) menée chez les patients NASH a montré après analyse histologique une diminution du score SAF de gravité de la NASH d'au moins 2 points, sans aggravation de la fibrose (124). Face à ces résultats très prometteurs, l'étude NATIVE3 de phase 3 (NCT04849728) menée chez les patients NASH et fibrosés a été lancée.

### iii. Les analogues de FGF21

Le FGF21 (*Fibroblast Growth Factor 21*) est produit dans le foie suite à l'activation du récepteur PPAR $\alpha$  lors d'un jeûne ou de la présence d'acides gras libres. Sa sécrétion permet d'inhiber la lipolyse, d'augmenter l'adipogenèse, de favoriser la recapture du glucose et des lipides, et d'accentuer la dépense énergétique (125). Il favorise la recapture du glucose notamment par le muscle squelettique et le tissu adipeux brun, ce qui accentue la sensibilité à l'insuline et améliore le métabolisme du glucose (126). Aussi, le FGF21 diminue la lipogenèse hépatique, favorise l'oxydation des acides gras et réduit la fibrose hépatique.

L'éfruxifermin (ou AKR-001), analogue de FGF21, a été testé chez les patients NASH dans l'étude BALANCED de phase 2a (NCT03976401). Les résultats ont montré une diminution du contenu en graisses hépatiques et une amélioration de la fibrose (127). L'étude HARMONY (NCT04767529) de phase 2b, qui sera suivie par une étude de phase 3, est en cours afin de tester l'efficacité de la molécule chez les patients NASH. De même, l'étude SYMMETRY (NCT05039450) de phase 2b s'intéressera aux effets du traitement par l'éfruxifermin des patients NASH atteints de cirrhose compensée.

D'autres analogues FGF21 sont actuellement en cours d'étude chez les patients NASH, de même que des analogues de FGF19, sécrété en réponse à l'activation de FXR dans l'intestin et qui favorise la glycogénèse hépatique et inhibe la néoglucogénèse.

### iv. Les analogues du GLP-1

Le GLP-1 (*Glucagon-Like Peptide 1*) est une hormone incrépine, sécrétée par les cellules entéro-endocrines de type L de l'intestin suite à un repas. En activant son récepteur, le GLP-1 permet d'augmenter la sécrétion glucose-dépendante de l'insuline, d'inhiber la sécrétion de glucagon et de ralentir la vidange gastrique ce qui majore l'effet anorexigène central et accentue la sensation de satiété. Cette voie est ciblée dans le traitement du diabète de type 2 grâce à 2 classes de médicaments : les inhibiteurs de la DPP4 (dipeptidyl peptidase 4) et les incréтино-mimétiques. Les premiers permettent d'inhiber l'enzyme à l'origine de la dégradation des incrétones, prolongeant ainsi leurs effets. Les seconds correspondent aux analogues du GLP-1, non hydrolysables, qui miment l'action des incrétones, comme le liraglutide et le sémaglutide. Les effets indésirables de ces analogues sont principalement des troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhée, constipation).

Une étude de phase 2 a été menée chez des patients NASH présentant un stade 2 ou 3 de fibrose (NCT02970942) avec le sémaglutide, et a montré au niveau histologique, une résolution significativement plus importante de la NASH chez les patients traités comparés aux patients sous placebo, sans aggravation de la fibrose (128). Une étude de phase 3 sera effectuée sur des patients NASH non cirrhotiques. Egalement, le sémaglutide est en cours d'essai clinique de phase 3 dans le traitement des NAFLD/NASH (NCT04822181). Concernant les combinaisons de traitement, une étude de phase 2a a été conduite sur des patients NASH avec un stade de fibrose de 2 ou 3 (NCT03987074)

afin d'évaluer l'efficacité du sémaglutide en association au cilofexor (un agoniste du récepteur aux acides biliaires FXR) et/ou au firsocostat (un inhibiteur de l'acétyl-coA carboxylase), et a montré une plus grande efficacité des combinaisons de traitements en comparaison du sémaglutide seul sur la stéatose et la souffrance hépatique. Ainsi, une étude de phase 2b impliquant les mêmes stratégies thérapeutiques est en cours de planification pour des patients NASH atteints de cirrhose compensée. Enfin, la co-administration du sémaglutide et du NNC0194 0499, un nouvel analogue de FGF21 ayant un effet sur l'obésité, et la co-administration du sémaglutide et du cagrilintide (ou NNC0174 0833), un analogue de l'amyline à action prolongée visant à diminuer le poids corporel, sont en étude de phase 2 (NCT05016882) dans le traitement des patients NASH.

## **v. La vitamine E**

La vitamine E est un antioxydant retrouvé principalement dans les fruits et légumes. Sa structure moléculaire lui permet de neutraliser les radicaux libres et les ROS en donnant à ces composés un hydrogène de son groupement hydroxyle. La vitamine E régule également la réponse à l'inflammation, l'agrégation plaquettaire, la signalisation et la prolifération cellulaire. De nombreuses études in vivo suggèrent que la vitamine E pourrait améliorer les NAFLD/NASH en diminuant l'accumulation des lipides, la peroxydation lipidique, l'insulino-résistance, l'inflammation et la stéatose. Cependant, de hautes doses de vitamine E prédisposeraient au risque de survenu d'un AVC (Accident Vasculaire Cérébral) hémorragique. Aussi sa prescription doit être contrôlée (129).

Une étude effectuée sur des patients NASH atteints de diabète de type 2 (NCT01002547) a montré une amélioration des paramètres histologiques du foie grâce à un traitement par la pioglitazone combinée à la vitamine E (130). Ainsi, une étude de phase 3 (PIVENS) a testé l'efficacité de la vitamine E contre la pioglitazone et contre le placebo chez des patients non diabétiques atteints de NASH (NCT00063622). Cette étude a montré une amélioration des paramètres histologiques du foie grâce à la vitamine E (43% des patients contre 19% des patients sous placebo), et une tendance à l'amélioration pour la pioglitazone (34% des patients). Les deux traitements montrent en revanche une amélioration significative de la sévérité de la stéatose hépatique, de l'inflammation lobulaire et du ballonnement cellulaire, mais pas de la fibrose (131).

Une autre étude (TONIC) de phase 3 (NCT00063635) incluant des enfants et des adolescents atteints de NASH montre également une amélioration du score NAS et du ballonnement cellulaire suite au traitement par la vitamine E ou au traitement par la metformine (un biguanide utilisé en première intention dans le traitement du diabète de type 2) en comparaison du placebo. Cependant, les traitements n'ont pas permis, l'un comme l'autre, de diminuer le taux d'ALT et d'améliorer la stéatose, l'inflammation et la fibrose (132).

Une étude clinique de phase 4 (NCT00160407) incluant des patients NAFLD a comparé l'effet de la vitamine E en monothérapie ou associée à l'orlistat, un traitement anti-obésité (133). Cependant, aucune différence n'a été observée entre les deux groupes : la stéatose hépatique, l'inflammation et le score NAS ont été améliorés de la même manière pour les deux types de thérapie, ne montrant pas d'effet bénéfique de la combinaison des deux molécules.

## **vi. Les inhibiteurs du co-transporteur SGLT2**

Les inhibiteurs du SGLT2 (*Sodium-dependent GLucose coTransporter-2*), aussi appelés gliflozines, sont des hypoglycémisants utilisés dans le traitement du diabète de type 2 (134). L'inhibition de ce co-transporteur empêche la réabsorption rénale du glucose et du sodium dans le tube contourné proximal rénal. L'excrétion urinaire du glucose est ainsi favorisée, ce qui améliore le contrôle de la glycémie et

facilite la perte de poids. Ces molécules ne doivent pas être utilisées en cas d'insuffisance rénale, et peuvent favoriser le développement d'infections urogénitales et entraîner une réduction du volume intravasculaire (vertiges, hypotension) ainsi que des troubles de la diurèse osmotique (polyurie, bouche sèche).

L'effet de la dapagliflozine a été étudié chez des patients diabétiques atteints de NAFLD. Après 6 mois de traitement, les patients présentaient une diminution de la graisse viscérale et de la stéatose, et une meilleure élasticité du foie (135). Une autre étude effectuée sur des patients diabétiques et NASH montre également un effet bénéfique du traitement par la dapagliflozine sur la perte de poids et la graisse viscérale (136). Cette molécule est actuellement en cours d'essai clinique de phase 3 : l'étude DEAN (NCT03723252) recrute des patients atteints de NASH afin de tester l'efficacité et la sécurité de la dapagliflozine sur les paramètres histologiques de la maladie.

#### **vii. L'inhibiteur de SCD1**

Plusieurs enzymes du métabolisme seraient impliquées dans la lipotoxicité. Par exemple, la SCD1 (*Stearoyl CoA Desaturase 1*), qui intervient dans la synthèse des acides gras insaturés afin notamment de synthétiser les triglycérides et les phospholipides. Cette enzyme est augmentée au cours de la NASH, et favorise alors la lipogénèse et inhibe la voie de la  $\beta$ -oxydation des acides gras. Notamment, il a été montré que des souris déficientes en SCD1 et sous régime NASH étaient protégées contre la stéatose hépatique (137).

L'aramchol est un inhibiteur partiel de la SCD1. L'étude ARREST de phase 2b (NCT02279524) s'est intéressée au traitement des patients en surpoids et diabétiques atteints de NASH par l'aramchol, et a montré une diminution du contenu en graisses hépatiques, une résolution de la NASH sans aggravation de la fibrose et une amélioration de la fibrose sans aggravation de la NASH au niveau histologique (138). L'étude ARMOR de phase 3 (NCT04104321) ciblant les patients NASH atteints de fibrose est actuellement en cours.

#### **viii. Les agonistes du récepteur THR $\beta$**

Le récepteur  $\beta$ -sélectif aux hormones thyroïdiennes (THR $\beta$ ), principalement exprimé dans le foie, joue un rôle essentiel dans le métabolisme lipidique et la protection contre la lipotoxicité. Le resmetirom, un agoniste sélectif du récepteur, a été développé initialement afin de cibler la dyslipidémie. Dans une étude de phase 2 (NCT02912260) menée sur des patients NASH, un traitement par le resmetirom pendant 3 mois a conduit à une diminution du contenu en graisses hépatiques, de l'inflammation et du score de NAS (analyse histologique) (139). Suite à ces résultats encourageants, l'étude MAESTRO-NASH (NCT03900429) de phase 3 est actuellement menée sur des patients NASH et fibrosés. Les données les plus récentes de cette étude, obtenues après 3 mois de traitement, montrent une diminution du contenu en graisses et prédisent une résolution de la NASH et une réduction de la fibrose.

#### **ix. L'inhibiteur des récepteurs CCR2 et CCR5**

Le cénicriviroc est un agent anti-viral, inhibiteur des récepteurs aux chimiokines CCR2 et CCR5, développé au départ dans le traitement des patients VIH-1 (Virus Immunodéficient Humain 1). En effet, son action permet d'empêcher le virus du VIH d'utiliser le CCR5 pour entrer dans les cellules, et de

diminuer les propriétés pro-inflammatoires du CCR2. Mais en parallèle, dans des modèles d'induction de la stéatose et de la fibrose in vivo, cette molécule a montré également un effet sur l'amélioration des paramètres histologiques du foie (140). Ces observations ont permis de développer l'étude clinique CENTAUR (NCT02217475) de phase 2b, qui a évalué l'efficacité et la sécurité du traitement chez des patients atteints de NASH, et qui a montré un effet au niveau histologique sur l'amélioration de la fibrose sans aggravation de la NASH (141). Ainsi, une étude de phase 3 nommée AURORA (NCT03028740) a été lancée pour le traitement des patients NASH atteints de fibrose, mais n'a montré aucun effet significatif sur l'amélioration de la fibrose. Egalement, l'étude TANDEM (NCT03517540) de phase 2b a été réalisée afin de tester l'efficacité du cénicriviroc combiné au tropifexor, un agoniste de FXR, chez les patients NASH atteints de fibrose, et la publication de ces résultats est attendue (142).

#### **x. L'inhibiteur de l'ASK1**

Le selonsertib est un inhibiteur de l'ASK1 (*Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1*), un membre de la famille des MAP (*Mitogen Activated Protein*) kinases activé par le stress et l'inflammation, impliqué dans la différenciation cellulaire et l'apoptose, qui joue un rôle dans le diabète, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, la polyarthrite rhumatoïde et le cancer. Les études STELLAR-3 (NCT03053050) et STELLAR-4 (NCT03053063) se sont intéressées aux patients NASH, atteints respectivement de fibrose de stade 3, ou de fibrose compensée et de fibrose de stade 4. Pour ces études, l'objectif principal d'amélioration de la fibrose sans aggravation de la NASH grâce au traitement par le selonsertib n'a pas été atteint, entraînant l'arrêt de l'étude (143).

#### **c. Perspectives thérapeutiques**

Des alternatives thérapeutiques sont testées dans la NASH, telles que les régimes alimentaires spécifiques (144) ou encore la phytothérapie (145), et montrent des résultats encourageants.

Comme il a été décrit précédemment, le respect de règles hygiéno-diététiques associant exercice physique (146) et régime alimentaire a montré des améliorations chez les patients atteints de NAFLD (147). Dans ce contexte, plusieurs types de régimes alimentaires spécifiques ont été évalués. Une perte de poids par régime hypocalorique avec diminution des sucres simples montre une amélioration chez les patients atteints de NAFLD. En effet, pour améliorer les lésions, les acides gras saturés doivent être diminués, car contrairement aux graisses insaturées et aux glucides, ils augmentent la lipogenèse *de novo* et la teneur en graisses du foie (148). Un régime isocalorique n'induisant pas de diminution de poids, à très faible teneur en glucides et associé à une forte teneur en lipides et en protéines, a montré une réduction de la lipogenèse hépatique *de novo*, une augmentation de l'oxydation des acides gras et une réduction significative du contenu hépatique en lipides (149). Ce régime isocalorique a également modifié la composition et la fonction du microbiote intestinal et pourrait contribuer à l'amélioration de l'état métabolique général et à la diminution des lésions hépatiques (149). Le régime cétogène est un régime alimentaire à très basse teneur en glucides avec un apport important de lipides et de protéines utilisés pour la perte de poids. Il a été démontré chez l'humain que ce régime cétogène améliore la NASH, (150) et même si la perte de poids apparaît comme un impact bénéfique évident sur la régression de la NASH, certains mécanismes métaboliques sous-jacents restent inconnus. Le régime cétogène induit une protéolyse altérant le métabolome et plus particulièrement le pool d'acides aminés à l'origine d'altérations métaboliques impliquant des voies physiopathologiques de la NAFLD non encore élucidées (151).

En phytothérapie, les extraits de plantes utilisés dans le cadre de la NAFLD ont principalement un rôle anti-inflammatoire. Plusieurs essais cliniques sont actuellement enregistrés concernant la phytothérapie pour le traitement de la NAFLD. Le gingembre pour son activité anti-oxydante, est actuellement évalué dans la NAFLD (152) (NCT02535195). La berbérine, issue de la pharmacopée asiatique, a montré à la fois dans un modèle murin et chez des patients atteints de NAFLD une atténuation de la stéatose hépatique par modulation de la voie AMPK-SCD1 (153) (NCT04049396, NCT03198572). La curcumine, un polyphénol extrait du curcumin, possède des propriétés anti-inflammatoires et anti-oxydantes et a montré une amélioration biologique (avec baisse des transaminases et amélioration du lipidogramme) chez les patients NAFLD ainsi qu'une diminution de la stéatose (154) (NCT03864783). La silymarine, anti-oxydant extrait du chardon-Marie (NCT02006498), a montré lors d'un essai clinique une amélioration biologique par diminution des transaminases plasmatiques par rapport au groupe témoin (155).

En absence de preuves formelles de ces alternatives et perspectives thérapeutiques, il est nécessaire d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques et voies physiopathologiques impliquées dans la NASH.

## 5. Conclusion et perspectives

La NASH est une pathologie chronique complexe. Les mécanismes impliqués dans son développement et sa progression sont multiples. Certaines voies et acteurs mis en évidence sont aujourd'hui des cibles thérapeutiques potentielles, ainsi, plusieurs monothérapies ayant atteint la phase 3 des essais cliniques montrent déjà de réels effets dans le traitement de la NASH. Néanmoins, l'utilisation d'une molécule unique ciblant une voie particulière sera probablement insuffisante pour traiter la maladie dans son ensemble. L'intérêt se porte donc aujourd'hui sur l'association de plusieurs classes pharmacologiques, dans l'intention d'obtenir des effets synergiques en ciblant différentes voies métaboliques. Certains traitements pharmacologiques en échec de phase 2 ou 3 pourraient alors se révéler bénéfiques au sein d'une combinaison de plusieurs composés.

La présence de fibrose constitue un paramètre essentiel dans l'estimation de la gravité de la NASH. Or, les traitements actuellement testés sont peu nombreux à posséder des effets anti-fibrotiques, et se concentrent davantage sur les paramètres de stéatose et/ou d'inflammation. Afin de traiter activement la NASH, il sera nécessaire de mettre au point des molécules ou des associations de molécules ciblant efficacement la fibrose.

Afin de poursuivre l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles, une meilleure compréhension de la physiopathologie de la NASH reste nécessaire. Dans ce but, de nouvelles stratégies analytiques appelées « omics » sont actuellement développées chez les patients NAFLD/NASH. Ces techniques permettent une exploration globale de la biologie des systèmes et la mise en évidence de profils spécifiques à chaque individu, qui peuvent être des profils transcriptomiques, protéomiques ou encore métabolomiques. L'étude de ces données dans le cadre de la NASH permettrait de découvrir ou de préciser les mécanismes de la pathologie, afin de développer de nouvelles molécules thérapeutiques potentielles. En parallèle, les « omics » pourraient aussi mettre en évidence de nouveaux marqueurs spécifiques de la maladie. La recherche de ces marqueurs chez chaque individu simplifierait le diagnostic et donnerait aussi une estimation plus juste du grade de la NASH. Grâce à la précision du diagnostic, les praticiens seraient en mesure de choisir la stratégie thérapeutique la plus adaptée à chaque patient, afin d'adopter une médecine personnalisée et une santé de précision.

## 6. Références bibliographiques

1. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016;64(1):73–84.
2. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018 Jan;15(1):11–20.
3. Sheka AC, Adeyi O, Thompson J, Hameed B, Crawford PA, Ikramuddin S. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Review. *JAMA*. 2020 Mar 24;323(12):1175–83.
4. La santé de 200 000 volontaires suivie par l'Inserm [Internet]. Salle de presse | Inserm. 2019 [cited 2020 Sep 11]. Available from: <https://presse.inserm.fr/la-sante-de-200-000-volontaires-suivie-par-linserm/34933/>
5. Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease – A global public health perspective. *J Hepatol*. 2019 Mar 1;70(3):531–44.
6. Younossi ZM, Golabi P, Avila L de, Paik JM, Srishord M, Fukui N, et al. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. 2019 Oct 1;71(4):793–801.
7. Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Biochemical, Metabolic and Clinical Implications. *Hepatol Baltim Md*. 2010 Feb;51(2):679–89.
8. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: Natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med*. 2011 Dec 1;43(8):617–49.
9. Leake I. NAFLD and risk of cardiovascular disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019 Dec;16(12):706–706.
10. Lonardo A, Ballestri S, Targher G, Loria P. Diagnosis and management of cardiovascular risk in nonalcoholic fatty liver disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015 May 4;9(5):629–50.
11. Armstrong MJ, Adams LA, Canbay A, Syn WK. Extrahepatic complications of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2014;59(3):1174–97.
12. Lonardo A, Nascimbeni F, Mantovani A, Targher G. Hypertension, diabetes, atherosclerosis and NASH: Cause or consequence? *J Hepatol*. 2018 Feb 1;68(2):335–52.
13. Sirota JC, McFann K, Targher G, Chonchol M, Jalal DI. Association between Nonalcoholic Liver Disease and Chronic Kidney Disease: An Ultrasound Analysis from NHANES 1988–1994. *Am J Nephrol*. 2012;36(5):466–71.
14. Herinirina NF, Rajaonarison LHNON, Herijoelison AR, Ahmad A. Epaisseur de l'intima-média carotidienne et facteurs de risque cardio-vasculaires. *Pan Afr Med J*. 2015 Jun 24;21.
15. Estes C, Razavi H, Loomba R, Younossi Z, Sanyal AJ. Modeling the epidemic of nonalcoholic fatty liver disease demonstrates an exponential increase in burden of disease. *Hepatol Baltim Md*. 2018 Jan;67(1):123–33.
16. Haas JT, Francque S, Staels B. Pathophysiology and Mechanisms of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Annu Rev Physiol*. 2016;78(1):181–205.
17. Rinella ME. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review. *JAMA*. 2015 Jun 9;313(22):2263–73.
18. Eslam M, Sanyal AJ, George J. MAFLD: A consensus-driven proposed nomenclature for metabolic associated fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2020 Feb 7;0(0).
19. Parker R. The role of adipose tissue in fatty liver diseases. *Liver Res*. 2018 Mar 1;2(1):35–42.
20. Chiu S, Mulligan K, Schwarz JM. Dietary carbohydrates and fatty liver disease: de novo lipogenesis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2018 Jul;21(4):277–82.

21. Baumann K. Lipid droplets from the inside. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2018 Aug;19(8):486–7.
22. Jarc E, Petan T. A twist of FATE: Lipid droplets and inflammatory lipid mediators. *Biochimie.* 2020 Feb 1;169:69–87.
23. Olzmann JA, Carvalho P. Dynamics and functions of lipid droplets. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019 Mar;20(3):137–55.
24. Deprince A, Haas JT, Staels B. Dysregulated lipid metabolism links NAFLD to cardiovascular disease. *Mol Metab.* 2020 Dec;42:101092.
25. Gluchowski NL, Becuwe M, Walther TC, Farese RV. Lipid droplets and liver disease: from basic biology to clinical implications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017 Jun;14(6):343–55.
26. Pougovkina O, te Brinke H, Ofman R, van Cruchten AG, Kulik W, Wanders RJA, et al. Mitochondrial protein acetylation is driven by acetyl-CoA from fatty acid oxidation. *Hum Mol Genet.* 2014 Jul 1;23(13):3513–22.
27. McDonnell E, Crown SB, Fox DB, Kitir B, Ilkayeva OR, Olsen CA, et al. Lipids Reprogram Metabolism to Become a Major Carbon Source for Histone Acetylation. *Cell Rep.* 2016 Nov 1;17(6):1463–72.
28. Lee JH, Friso S, Choi SW. Epigenetic Mechanisms Underlying the Link between Non-Alcoholic Fatty Liver Diseases and Nutrition. *Nutrients.* 2014 Aug 21;6(8):3303–25.
29. Tailleux A, Wouters K, Staels B. Roles of PPARs in NAFLD: Potential therapeutic targets. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Cell Biol Lipids.* 2012 May 1;1821(5):809–18.
30. Chinetti G, Lestavel S, Bocher V, Remaley AT, Neve B, Torra IP, et al. PPAR- $\alpha$  and PPAR- $\gamma$  activators induce cholesterol removal from human macrophage foam cells through stimulation of the ABCA1 pathway. *Nat Med.* 2001 Jan;7(1):53–8.
31. Francque S, Verrijken A, Caron S, Prawitt J, Paumelle R, Derudas B, et al. PPAR $\alpha$  gene expression correlates with severity and histological treatment response in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* 2015 Jul 1;63(1):164–73.
32. Régnier M, Polizzi A, Smati S, Lukowicz C, Fougerat A, Lippi Y, et al. Hepatocyte-specific deletion of Ppar $\alpha$  promotes NAFLD in the context of obesity. *Sci Rep.* 2020 Apr 16;10(1):6489.
33. Nan YM, Han F, Kong LB, Zhao SX, Wang RQ, Wu WJ, et al. Adenovirus-mediated peroxisome proliferator activated receptor gamma overexpression prevents nutritional fibrotic steatohepatitis in mice. *Scand J Gastroenterol.* 2011 Mar 1;46(3):358–69.
34. Wu CW, Chu ESH, Lam CNY, Cheng ASL, Lee CW, Wong VWS, et al. PPAR $\gamma$  is essential for protection against nonalcoholic steatohepatitis. *Gene Ther.* 2010 Jun;17(6):790–8.
35. Peterson TR, Sengupta SS, Harris TE, Carmack AE, Kang SA, Balderas E, et al. mTOR Complex 1 Regulates Lipin 1 Localization to Control the SREBP Pathway. *Cell.* 2011 Aug 5;146(3):408–20.
36. Chen H. Nutrient mTORC1 signaling contributes to hepatic lipid metabolism in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Res.* 2020 Mar 1;4(1):15–22.
37. Eslam M, Valenti L, Romeo S. Genetics and epigenetics of NAFLD and NASH: Clinical impact. *J Hepatol.* 2018 Feb 1;68(2):268–79.
38. Sliz E, Sebert S, Würtz P, Kangas AJ, Soininen P, Lehtimäki T, et al. NAFLD risk alleles in PNPLA3, TM6SF2, GCKR and LYPLAL1 show divergent metabolic effects. *Hum Mol Genet.* 2018 Jun 15;27(12):2214–23.
39. Prill S, Caddeo A, Baselli G, Jamialahmadi O, Dongiovanni P, Rametta R, et al. The TM6SF2 E167K genetic variant induces lipid biosynthesis and reduces apolipoprotein B secretion in human hepatic 3D spheroids. *Sci Rep.* 2019 Aug 12;9(1):11585.
40. Machado MV, Michelotti GA, Pereira T de A, Boursier J, Kruger L, Swiderska-Syn M, et al. Reduced lipopoptosis, hedgehog pathway activation and fibrosis in caspase-2 deficient mice with non-alcoholic steatohepatitis. *Gut.* 2015 Jul 1;64(7):1148–57.
41. Peng KY, Watt MJ, Rensen S, Greve JW, Huynh K, Jayawardana KS, et al. Mitochondrial dysfunction-related lipid changes occur in nonalcoholic fatty liver disease progression. *J Lipid Res.* 2018 Jan 10;59(10):1977–86.



42. Masarone M, Rosato V, Dallio M, Gravina AG, Aglitti A, Loguercio C, et al. Role of Oxidative Stress in Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2018 Jun 11;2018.
43. Vercesi AE, Castilho RF, Kowaltowski AJ, de Oliveira HCF, de Souza-Pinto NC, Figueira TR, et al. Mitochondrial calcium transport and the redox nature of the calcium-induced membrane permeability transition. *Free Radic Biol Med*. 2018 Dec 1;129:1–24.
44. Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury. *Antioxid Redox Signal*. 2014 Mar 1;20(7):1126–67.
45. Oates JR, McKell MC, Moreno-Fernandez ME, Damen MSMA, Deepe GS, Qualls JE, et al. Macrophage Function in the Pathogenesis of Non-alcoholic Fatty Liver Disease: The Mac Attack. *Front Immunol*. 2019 Dec 12;10.
46. Haas JT, Vonghia L, Mogilenko DA, Verrijken A, Molendi-Coste O, Fleury S, et al. Transcriptional Network Analysis Implicates Altered Hepatic Immune Function in NASH development and resolution. *Nat Metab*. 2019 Jun;1(6):604–14.
47. Hoffmann C, Djerir NEH, Danckaert A, Fernandes J, Roux P, Charrueau C, et al. Hepatic stellate cell hypertrophy is associated with metabolic liver fibrosis. *Sci Rep*. 2020 Mar 2;10.
48. Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017 Jul;14(7):397–411.
49. Hou W, Syn WK. Role of Metabolism in Hepatic Stellate Cell Activation and Fibrogenesis. *Front Cell Dev Biol*. 2018;6.
50. Bobowski-Gerard M, Zummo FP, Staels B, Lefebvre P, Eeckhoutte J. Retinoids Issued from Hepatic Stellate Cell Lipid Droplet Loss as Potential Signaling Molecules Orchestrating a Multicellular Liver Injury Response. *Cells*. 2018 Sep 13;7(9).
51. Schuster S, Cabrera D, Arrese M, Feldstein AE. Triggering and resolution of inflammation in NASH. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018 Jun;15(6):349–64.
52. Wang Y, Shi M, Fu H, Xu H, Wei J, Wang T, et al. Mammalian target of the rapamycin pathway is involved in non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Med Rep*. 2010 Nov 1;3(6):909–15.
53. Afonso MB, Rodrigues PM, Carvalho T, Caridade M, Borralho P, Cortez-Pinto H, et al. Necroptosis is a key pathogenic event in human and experimental murine models of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Sci*. 2015 Oct 1;129(8):721–39.
54. Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Predictors of Nonalcoholic Steatohepatitis and Liver Fibrosis in the Severely Obese. *Gastroenterology*. 2001 Jul 1;121(1):91–100.
55. Brunt EM, Janney CG, Bisceglie AMD, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*. 1999 Sep;94(9):2467–74.
56. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005 Jun 1;41(6):1313–21.
57. Bedossa P. Current histological classification of NAFLD: strength and limitations. *Hepatol Int*. 2013 Dec 1;7(2):765–70.
58. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1996;24(2):289–93.
59. Takahashi Y, Fukusato T. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol*. 2014 Nov 14;20(42):15539–48.
60. Campos GM, Bambha K, Vittinghoff E, Rabl C, Posselt AM, Ciofica R, et al. A clinical scoring system for predicting nonalcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients. *Hepatology*. 2008;47(6):1916–23.

61. Bedossa P, Poitou C, Veyrie N, Bouillot JL, Basdevant A, Paradis V, et al. Histopathological algorithm and scoring system for evaluation of liver lesions in morbidly obese patients. *Hepatology*. 2012;56(5):1751–9.
62. Winkfield B, Aubé C, Burtin P, Calès P. Inter-observer and intra-observer variability in hepatology. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003 Sep;15(9):959–66.
63. Pournik O, Alavian SM, Ghalichi L, Seifizarei B, Mehrnoush L, Aslani A, et al. Inter-observer and Intra-observer Agreement in Pathological Evaluation of Non-alcoholic Fatty Liver Disease Suspected Liver Biopsies. *Hepat Mon*. 2014 Jan 3;14(1).
64. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, et al. Sampling Variability of Liver Biopsy in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2005 Jun 1;128(7):1898–906.
65. Li Q, Dhyani M, Grajo JR, Sirlin C, Samir AE. Current status of imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*. 2018 Aug 27;10(8):530–42.
66. Shannon A, Alkhouri N, Carter-Kent C, Monti L, Devito R, Lopez R, et al. Ultrasonographic Quantitative Estimation of Hepatic Steatosis in Children with Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011 Aug;53(2):190–5.
67. Pickhardt PJ, Hahn L, del Rio AM, Park SH, Reeder SB, Said A. Natural History of Hepatic Steatosis: Observed Outcomes for Subsequent Liver and Cardiovascular Complications. *Am J Roentgenol*. 2014 Mar 24;202(4):752–8.
68. Fritz GA, Schoellnast H, Deutschmann HA, Wiltgen M, Brader P, Berghold A, et al. Density Histogram Analysis of Unenhanced Hepatic Computed Tomography in Patients With Diffuse Liver Diseases. *J Comput Assist Tomogr*. 2006 Apr;30(2):201–5.
69. Friedrich-Rust M, Wunder K, Kriener S, Sotoudeh F, Richter S, Bojunga J, et al. Liver Fibrosis in Viral Hepatitis: Noninvasive Assessment with Acoustic Radiation Force Impulse Imaging versus Transient Elastography. *Radiology*. 2009 Aug 1;252(2):595–604.
70. Lee HW, Park SY, Kim SU, Jang JY, Park H, Kim JK, et al. Discrimination of Nonalcoholic Steatohepatitis Using Transient Elastography in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *PLOS ONE*. 2016 Jun 10;11(6):e0157358.
71. Caussy C, Chen J, Alquraish MH, Cepin S, Nguyen P, Hernandez C, et al. Association Between Obesity and Discordance in Fibrosis Stage Determination by Magnetic Resonance vs Transient Elastography in Patients With Nonalcoholic Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018 Dec 1;16(12):1974–1982.e7.
72. Wong VW, Adams LA, de Lédinghen V, Wong GLH, Sookoian S. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH — current progress and future promise. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018 Aug;15(8):461–78.
73. Mamas M, Dunn WB, Neyses L, Goodacre R. The role of metabolites and metabolomics in clinically applicable biomarkers of disease. *Arch Toxicol*. 2011 Jan;85(1):5–17.
74. Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol*. 2006 Dec;6(1):1–7.
75. Fedchuk L, Nascimbeni F, Pais R, Charlotte F, Housset C, Ratziu V. Performance and limitations of steatosis biomarkers in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;40(10):1209–22.
76. Lee JH, Kim D, Kim HJ, Lee CH, Yang JI, Kim W, et al. Hepatic steatosis index: A simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis*. 2010 Jul 1;42(7):503–8.
77. Poynard T, Lassailly G, Diaz E, Clement K, Caiazzo R, Tordjman J, et al. Performance of Biomarkers FibroTest, ActiTest, SteatoTest, and NashTest in Patients with Severe Obesity: Meta Analysis of Individual Patient Data. *PLoS ONE*. 2012 Mar 14;7(3).

78. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: A noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*. 2007;45(4):846–54.
79. Drolz A, Wolter S, Wehmeyer MH, Piecha F, Horvatits T, Schulze Zur Wiesch J, et al. Performance of non-invasive fibrosis scores in non-alcoholic fatty liver disease with and without morbid obesity. *Int J Obes* 2005. 2021 Oct;45(10):2197–204.
80. Bril F, Millán L, Kalavalapalli S, McPhaul MJ, Caulfield MP, Martinez-Arranz I, et al. Use of a metabolomic approach to non-invasively diagnose non-alcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. 2018 Jul;20(7):1702–9.
81. Feldstein AE, Wieckowska A, Lopez AR, Liu YC, Zein NN, McCullough AJ. Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarker for nonalcoholic steatohepatitis: A multicenter validation study. *Hepatology* Baltim Md. 2009 Oct;50(4):1072–8.
82. Cusi K, Chang Z, Harrison S, Lomonaco R, Bril F, Orsak B, et al. Limited value of plasma cytokeratin-18 as a biomarker for NASH and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2014 Jan 1;60(1):167–74.
83. Ajmera V, Perito ER, Bass NM, Terrault NA, Yates KP, Gill R, et al. Novel plasma biomarkers associated with liver disease severity in adults with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2017;65(1):65–77.
84. Puri P, Daita K, Joyce A, Mirshahi F, Santhekadur PK, Cazanave S, et al. The presence and severity of nonalcoholic steatohepatitis is associated with specific changes in circulating bile acids. *Hepatology*. 67(2):534–48.
85. Lake AD, Novak P, Shipkova P, Aranibar N, Robertson DG, Reily MD, et al. Branched chain amino acid metabolism profiles in progressive human nonalcoholic fatty liver disease. *Amino Acids*. 2015 Mar;47(3):603–15.
86. Gaggini M, Carli F, Rosso C, Buzzigoli E, Marietti M, Latta VD, et al. Altered amino acid concentrations in NAFLD: Impact of obesity and insulin resistance. *Hepatology*. 2018 Jan 1;67(1):145–58.
87. Newgard CB, An J, Bain JR, Muehlbauer MJ, Stevens RD, Lien LF, et al. A Branched-Chain Amino Acid-Related Metabolic Signature that Differentiates Obese and Lean Humans and Contributes to Insulin Resistance. *Cell Metab*. 2009 Apr;9(4):311–26.
88. Chávez-Talavera O, Haas J, Grzych G, Tailleux A, Staels B. Bile acid alterations in nonalcoholic fatty liver disease, obesity, insulin resistance and type 2 diabetes: what do the human studies tell? *Curr Opin Lipidol*. 2019 Jun;30(3):244–54.
89. Francque S, Vonghia L. The future of diagnosing NASH - could a simple blood test be the key? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017 Sep 1;0(0):1–3.
90. Wang X, Li J, Riaz DR, Shi G, Liu C, Dai Y. Outcomes of Liver Transplantation for Nonalcoholic Steatohepatitis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014 Mar 1;12(3):394-402.e1.
91. Wong VWS, Chan RSM, Wong GLH, Cheung BHK, Chu WCW, Yeung DKW, et al. Community-based lifestyle modification programme for non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *J Hepatol*. 2013 Sep;59(3):536–42.
92. Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP, Wolski K, Aminian A, Brethauer SA, et al. Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy for Diabetes — 5-Year Outcomes. *N Engl J Med*. 2017 Feb 15;376(7):641–51.
93. Salminen P, Helmiö M, Ovaska J, Juuti A, Leivonen M, Peromaa-Haavisto P, et al. Effect of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy vs Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass on Weight Loss at 5 Years Among Patients With Morbid Obesity: The SLEEVEPASS Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2018 Jan 16;319(3):241–54.

94. Cornejo-Pareja I, Clemente-Postigo M, Tinahones FJ. Metabolic and Endocrine Consequences of Bariatric Surgery. *Front Endocrinol.* 2019 Sep 19;10.
95. Verhaeghe R, Zerrweck C, Hubert T, Tréchet B, Gmyr V, D'Herbomez M, et al. Gastric Bypass Increases Postprandial Insulin and GLP-1 in Nonobese Minipigs. *Eur Surg Res.* 2014;52(1–2):41–9.
96. Baud G, Daoudi M, Hubert T, Raverdy V, Pigeyre M, Hervieux E, et al. Bile Diversion in Roux-en-Y Gastric Bypass Modulates Sodium-Dependent Glucose Intestinal Uptake. *Cell Metab.* 2016 Mar 8;23(3):547–53.
97. Samczuk P, Ciborowski M, Kretowski A. Application of Metabolomics to Study Effects of Bariatric Surgery. *J Diabetes Res.* 2018 Mar 11;2018.
98. Luo P, Yu H, Zhao X, Bao Y, Hong CS, Zhang P, et al. Metabolomics Study of Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery (RYGB) to Treat Type 2 Diabetes Patients Based on Ultraperformance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *J Proteome Res.* 2016 Apr 1;15(4):1288–99.
99. Bojsen-Møller KN, Jacobsen SH, Dirksen C, Jørgensen NB, Reitelseder S, Jensen JEB, et al. Accelerated protein digestion and amino acid absorption after Roux-en-Y gastric bypass. *Am J Clin Nutr.* 2015 Sep 1;102(3):600–7.
100. Magkos F, Bradley D, Schweitzer GG, Finck BN, Eagon JC, Ilkayeva O, et al. Effect of Roux-en-Y Gastric Bypass and Laparoscopic Adjustable Gastric Banding on Branched-Chain Amino Acid Metabolism. *Diabetes.* 2013 Aug 1;62(8):2757–61.
101. Lassailly G, Caiazzo R, Buob D, Pigeyre M, Verkindt H, Labreuche J, et al. Bariatric Surgery Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis in Morbidly Obese Patients. *Gastroenterology.* 2015 Aug 1;149(2):379–88.
102. Laursen TL, Hagemann CA, Wei C, Kazankov K, Thomsen KL, Knop FK, et al. Bariatric surgery in patients with non-alcoholic fatty liver disease - from pathophysiology to clinical effects. *World J Hepatol.* 2019 Feb 27;11(2):138–49.
103. Alvarez-Leite JI. Nutrient deficiencies secondary to bariatric surgery. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2004 Sep;7(5):569–75.
104. Nielsen JB, Pedersen AM, Gribsholt SB, Svensson E, Richelsen B. Prevalence, severity, and predictors of symptoms of dumping and hypoglycemia after Roux-en-Y gastric bypass. *Surg Obes Relat Dis.* 2016 Sep 1;12(8):1562–8.
105. Nagem RG, Lázaro-da-Silva A, de Oliveira RM, Morato VG. Gallstone-related complications after Roux-en-Y gastric bypass: a prospective study. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2012 Dec 1;11(6):630–5.
106. Coffin B, Maunoury V, Pattou F, Hébuterne X, Schneider S, Coupaye M, et al. Impact of Intra-gastric Balloon Before Laparoscopic Gastric Bypass on Patients with Super Obesity: a Randomized Multicenter Study. *Obes Surg.* 2017 Apr 1;27(4):902–9.
107. Justinussen T, Madsbad S, Holst JJ, Bojsen-Møller KN. Pros and cons of Roux en-Y gastric bypass surgery in obese patients with type 2 diabetes. *Expert Rev Endocrinol Metab.* 2019 Jul 4;14(4):243–57.
108. Bettini S, Belligoli A, Fabris R, Busetto L. Diet approach before and after bariatric surgery. *Rev Endocr Metab Disord.* 2020 Jul 31;3(21):297–306.
109. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatol Baltim Md.* 2018 Jan;67(1):328–57.
110. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: From pathophysiology to therapeutics. *Metabolism.* 2019 Mar;92:82–97.
111. Fraile JM, Palliyil S, Barelle C, Porter AJ, Kovaleva M. Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH) - A Review of a Crowded Clinical Landscape, Driven by a Complex Disease. *Drug Des Devel Ther.* 2021;15:3997–4009.

112. Neuschwander-Tetri BA, Loomba R, Sanyal AJ, Lavine JE, Van Natta ML, Abdelmalek MF, et al. Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non-cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 2015 Mar 14;385(9972):956–65.
113. Younossi ZM, Golabi P, de Avila L, Paik JM, Srishord M, Fukui N, et al. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. 2019 Oct;71(4):793–801.
114. Pockros PJ, Fuchs M, Freilich B, Schiff E, Kohli A, Lawitz EJ, et al. CONTROL: A randomized phase 2 study of obeticholic acid and atorvastatin on lipoproteins in nonalcoholic steatohepatitis patients. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. 2019 Nov;39(11):2082–93.
115. Nakajima A, Eguchi Y, Yoneda M, Imajo K, Tamaki N, Suganami H, et al. Randomised clinical trial: Pemafibrate, a novel selective peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  modulator (SPPARM $\alpha$ ), versus placebo in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2021 Nov;54(10):1263–77.
116. Soccio RE, Chen ER, Lazar MA. Thiazolidinediones and the promise of insulin sensitization in type 2 diabetes. *Cell Metab*. 2014 Oct 7;20(4):573–91.
117. Belfort R, Harrison SA, Brown K, Darland C, Finch J, Hardies J, et al. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2006 Nov 30;355(22):2297–307.
118. Cusi K, Orsak B, Bril F, Lomonaco R, Hecht J, Ortiz-Lopez C, et al. Long-Term Pioglitazone Treatment for Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis and Prediabetes or Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized Trial. *Ann Intern Med*. 2016 Sep 6;165(5):305–15.
119. Aithal GP, Thomas JA, Kaye PV, Lawson A, Ryder SD, Spendlove I, et al. Randomized, placebo-controlled trial of pioglitazone in nondiabetic subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2008 Oct;135(4):1176–84.
120. Harrison SA, Alkhoury N, Davison BA, Sanyal A, Edwards C, Colca JR, et al. Insulin sensitizer MSDC-0602K in non-alcoholic steatohepatitis: A randomized, double-blind, placebo-controlled phase IIb study. *J Hepatol*. 2020 Apr;72(4):613–26.
121. Gawrieh S, Nouredin M, Loo N, Mohseni R, Awasty V, Cusi K, et al. Saroglitazar, a PPAR- $\alpha/\gamma$  Agonist, for Treatment of NAFLD: A Randomized Controlled Double-Blind Phase 2 Trial. *Hepatol Baltim Md*. 2021 Oct;74(4):1809–24.
122. Cariou B, Hanf R, Lambert-Porcheron S, Zaïr Y, Sauvinet V, Noël B, et al. Dual peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha/\delta$  agonist GFT505 improves hepatic and peripheral insulin sensitivity in abdominally obese subjects. *Diabetes Care*. 2013 Oct;36(10):2923–30.
123. Ratziu V, Harrison SA, Francque S, Bedossa P, Lehert P, Serfaty L, et al. Elafibranor, an Agonist of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\alpha$  and - $\delta$ , Induces Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis Without Fibrosis Worsening. *Gastroenterology*. 2016 May;150(5):1147-1159.e5.
124. Francque SM, Bedossa P, Ratziu V, Anstee QM, Bugianesi E, Sanyal AJ, et al. A Randomized, Controlled Trial of the Pan-PPAR Agonist Lanifibranor in NASH. *N Engl J Med*. 2021 Oct 21;385(17):1547–58.
125. Henriksson E, Andersen B. FGF19 and FGF21 for the Treatment of NASH—Two Sides of the Same Coin? Differential and Overlapping Effects of FGF19 and FGF21 From Mice to Human. *Front Endocrinol*. 2020;11:601349.
126. Kharitonov A, Shiyanova TL, Koester A, Ford AM, Micanovic R, Galbreath EJ, et al. FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J Clin Invest*. 2005 Jun;115(6):1627–35.
127. Harrison SA, Ruane PJ, Freilich BL, Neff G, Patil R, Behling CA, et al. Efruxifermin in non-alcoholic steatohepatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 2a trial. *Nat Med*. 2021 Jul;27(7):1262–71.

128. Newsome PN, Buchholtz K, Cusi K, Linder M, Okanoue T, Ratzu V, et al. A Placebo-Controlled Trial of Subcutaneous Semaglutide in Nonalcoholic Steatohepatitis. *N Engl J Med.* 2021 Mar 25;384(12):1113–24.
129. Nagashimada M, Ota T. Role of vitamin E in nonalcoholic fatty liver disease. *IUBMB Life.* 2019 Apr;71(4):516–22.
130. Bril F, Biernacki DM, Kalavalapalli S, Lomonaco R, Subbarayan SK, Lai J, et al. Role of Vitamin E for Nonalcoholic Steatohepatitis in Patients With Type 2 Diabetes: A Randomized Controlled Trial. *Diabetes Care.* 2019 Aug;42(8):1481–8.
131. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, et al. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med.* 2010 May 6;362(18):1675–85.
132. Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, Molleston JP, Murray KF, Rosenthal P, et al. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *JAMA.* 2011 Apr 27;305(16):1659–68.
133. Harrison SA, Fecht W, Brunt EM, Neuschwander-Tetri BA. Orlistat for overweight subjects with nonalcoholic steatohepatitis: A randomized, prospective trial. *Hepatology.* 2009 Jan;49(1):80–6.
134. Upadhyay J, Polyzos SA, Perakakis N, Thakkar B, Paschou SA, Katsiki N, et al. Pharmacotherapy of type 2 diabetes: An update. *Metabolism.* 2018 Jan;78:13–42.
135. Shimizu M, Suzuki K, Kato K, Jojima T, Iijima T, Murohisa T, et al. Evaluation of the effects of dapagliflozin, a sodium-glucose co-transporter-2 inhibitor, on hepatic steatosis and fibrosis using transient elastography in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetes Obes Metab.* 2019 Feb;21(2):285–92.
136. Tobita H, Sato S, Miyake T, Ishihara S, Kinoshita Y. Effects of Dapagliflozin on Body Composition and Liver Tests in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis Associated with Type 2 Diabetes Mellitus: A Prospective, Open-label, Uncontrolled Study. *Curr Ther Res Clin Exp.* 2017;87:13–9.
137. Miyazaki M, Flowers MT, Sampath H, Chu K, Otzelberger C, Liu X, et al. Hepatic stearyl-CoA desaturase-1 deficiency protects mice from carbohydrate-induced adiposity and hepatic steatosis. *Cell Metab.* 2007 Dec;6(6):484–96.
138. Ratzu V, de Guevara L, Safadi R, Poordad F, Fuster F, Flores-Figueroa J, et al. Aramchol in patients with nonalcoholic steatohepatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2b trial. *Nat Med.* 2021 Oct;27(10):1825–35.
139. Harrison SA, Bashir MR, Guy CD, Zhou R, Moylan CA, Frias JP, et al. Resmetirom (MGL-3196) for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Lond Engl.* 2019 Nov 30;394(10213):2012–24.
140. Lefebvre E, Moyle G, Reshef R, Richman LP, Thompson M, Hong F, et al. Antifibrotic Effects of the Dual CCR2/CCR5 Antagonist Cenicriviroc in Animal Models of Liver and Kidney Fibrosis. *PLoS One.* 2016;11(6):e0158156.
141. Ratzu V, Sanyal A, Harrison SA, Wong VWS, Francque S, Goodman Z, et al. Cenicriviroc Treatment for Adults With Nonalcoholic Steatohepatitis and Fibrosis: Final Analysis of the Phase 2b CENTAUR Study. *Hepatology.* 2020 Sep;72(3):892–905.
142. Pedrosa M, Seyedkazemi S, Francque S, Sanyal A, Rinella M, Charlton M, et al. A randomized, double-blind, multicenter, phase 2b study to evaluate the safety and efficacy of a combination of tropifexor and cenicriviroc in patients with nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis: Study design of the TANDEM trial. *Contemp Clin Trials.* 2020 Jan;88:105889.
143. Harrison SA, Wong VWS, Okanoue T, Bzowej N, Vuppalanchi R, Younes Z, et al. Selonsertib for patients with bridging fibrosis or compensated cirrhosis due to NASH: Results from randomized phase III STELLAR trials. *J Hepatology.* 2020 Jul;73(1):26–39.

144. Perito ER, Rodriguez LA, Lustig RH. Dietary treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Curr Opin Gastroenterol.* 2013 Mar;29(2):170–6.
145. Xu Y, Guo W, Zhang C, Chen F, Tan HY, Li S, et al. Herbal Medicine in the Treatment of Non-Alcoholic Fatty Liver Diseases-Efficacy, Action Mechanism, and Clinical Application. *Front Pharmacol.* 2020;11:601.
146. Keating SE, Hackett DA, George J, Johnson NA. Exercise and non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol.* 2012 Jul 1;57(1):157–66.
147. Hallsworth K, Adams LA. Lifestyle modification in NAFLD/NASH: Facts and figures. *JHEP Rep.* 2019 Nov 5;1(6):468–79.
148. Luukkonen PK, Sädevirta S, Zhou Y, Kayser B, Ali A, Ahonen L, et al. Saturated Fat Is More Metabolically Harmful for the Human Liver Than Unsaturated Fat or Simple Sugars. *Diabetes Care.* 2018 Aug;41(8):1732–9.
149. Mardinoglu A, Wu H, Bjornson E, Zhang C, Hakkarainen A, Räsänen SM, et al. An Integrated Understanding of the Rapid Metabolic Benefits of a Carbohydrate-Restricted Diet on Hepatic Steatosis in Humans. *Cell Metab.* 2018 Mar 6;27(3):559-571.e5.
150. Watanabe M, Tozzi R, Risi R, Tuccinardi D, Mariani S, Basciani S, et al. Beneficial effects of the ketogenic diet on nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review of the literature. *Obes Rev.* 2020 Aug 1;21(8):e13024.
151. Nakao R, Abe T, Yamamoto S, Oishi K. Ketogenic diet induces skeletal muscle atrophy via reducing muscle protein synthesis and possibly activating proteolysis in mice. *Sci Rep.* 2019 Dec 23;9.
152. Si W, Chen YP, Zhang J, Chen ZY, Chung HY. Antioxidant activities of ginger extract and its constituents toward lipids. *Food Chem.* 2018 Jan 15;239:1117–25.
153. Zhu X, Bian H, Wang L, Sun X, Xu X, Yan H, et al. Berberine attenuates nonalcoholic hepatic steatosis through the AMPK-SREBP-1c-SCD1 pathway. *Free Radic Biol Med.* 2019 Sep 1;141:192–204.
154. Liu K, Luo M, Wei S. The Bioprotective Effects of Polyphenols on Metabolic Syndrome against Oxidative Stress: Evidences and Perspectives. *Oxid Med Cell Longev.* 2019 Nov 30;2019.
155. Solhi H, Ghahremani R, Kazemifar AM, Hoseini Yazdi Z. Silymarin in treatment of non-alcoholic steatohepatitis: A randomized clinical trial. *Casp J Intern Med.* 2014;5(1):9–12.