

LA STÉATOHÉPATITE NON ALCOOLIQUE (NASH) : ASPECTS CLINIQUES ET BIOCHIMIQUES.

M'Bark Sadouk¹ Ph.D., CSPQ et Nada Alaaeddine² Ph.D.

¹Biochimiste clinique
Département de biochimie
Hôpital Saint-Luc, CHUM
1058, rue Saint-Denis
Montréal, QC, Canada, H2X 3J4
m'bark.sadouk.chum@ssss.gouv.qc.ca

²Professeure Assistante
Faculté de médecine et des sciences médicales
Université de Balamand
P.O. Box: 100, Tripoli, Liban
Professeure invitée au département de biochimie du CHUM

INTRODUCTION

La stéatohépatite non alcoolique (NASH pour *non alcoholic steatohepatitis*) appartient au groupe des stéatoses hépatiques d'origine autre qu'alcoolique connu sous le nom NAFLD pour *nonalcoholic fatty liver disease*. On parle de NASH lorsque la stéatose hépatique est accompagnée d'une inflammation ce qui représente de 15 à 20% des cas de NAFLD. L'inflammation se traduit par des lésions hépatocytaires et une augmentation du taux plasmatique des transaminases. La NASH demeure asymptomatique chez la majorité des patients mais peut évoluer vers une maladie hépatique terminale. Les individus atteints ne possèdent pas d'historique de consommation significative d'alcool ou d'autres causes connues d'hépatite. La NASH est fortement associée à l'obésité, au diabète de type 2 et à l'hypertriglycéridémie. Elle est souvent diagnostiquée de façon fortuite suite à des analyses de laboratoire de routine.

ÉPIDÉMIOLOGIE

La prévalence de la NASH dans la population en général est difficile à établir puisque le diagnostic définitif requiert une biopsie hépatique. Parmi les patients en ayant subi une, la NASH a été observée chez 5% d'entre eux en Occident (1) et 1,2% au Japon (2). Ces chiffres sous-estiment la vraie prévalence de la maladie si on considère le caractère épidémique de l'obésité dans le monde. La NASH est une des maladies hépatiques les plus fréquentes chez les patients consultant en clinique externe en Amérique du Nord. Environ 15 à 20% des patients atteints de NAFLD développent la NASH (3). Certains cas de cirrhose cryptogénique pourraient être dus à une NASH non diagnostiquée (4). La majorité des cas se déclarent entre 40 et 60 ans. Cependant on note dans la littérature une augmentation des cas rapportés chez les enfants. La fréquence de la NASH est plus élevée chez les femmes (65 à 83% des cas). On ignore si cette prépondérance est liée aux hormones femelles ou si elle reflète tout simplement la prévalence plus élevée de l'obésité chez le sexe féminin.

PHYSIOPATHOLOGIE

L'étiologie exacte de la NASH reste encore inconnue. La maladie peut se développer en présence de certains facteurs de risque comme l'obésité, le diabète de type 2, l'hyperlipidémie, suite à la prise de certains médicaments ou à une chirurgie ou encore de façon idiopathique (5,6). Le processus conduisant aux lésions des hépatocytes dans la NASH semble se dérouler en deux étapes (7,8).

La première étape consiste dans le développement d'une résistance à l'insuline qui conduit à la stéatose par accumulation des acides gras libres dans le foie (phénomène de sensibilisation). Cette accumulation de gras dans les hépatocytes peut être secondaire à une hyperlipidémie, au diabète et/ou à l'obésité. Chez certains patients, cette condition s'explique par l'inhibition de la bêta-oxydation des acides gras conduisant à une augmentation du transport des acides gras vers le foie et à une diminution de la synthèse ou de la sécrétion des VLDL (9). La seconde étape est reliée au stress oxydatif qui induit une peroxydation des lipides et active des cytokines pro-inflammatoires. La peroxydation des lipides résulte de l'augmentation de la bêta-oxydation des acides gras dans les mitochondries et les peroxisomes et par le système cytochrome P450, CYP2E1 et CYP4A (10). Les patients atteints de la NASH ont des taux plus élevés de CYP2E1 (11). Le stress oxydatif stimule la synthèse des cytokines via le NF-kappaB et des produits de peroxydation des lipides (malondialdéhyde et 4-hydroxynonéal) (12).

La combinaison des effets provenant de la peroxydation des lipides et de la synthèse des cytokines serait à l'origine des lésions hépatocytaires. La mort cellulaire peut se produire par un effet direct des radicaux oxygénés et du TNF-alpha (13,14). Le TGF-bêta, l'hydroxynonéal et le malondialdéhyde stimulent la synthèse du collagène et donc la fibrose. D'autres cytokines, comme l'IL-8, peuvent également jouer un rôle significatif dans le déclenchement du processus inflammatoire.

Les cytokines sont impliquées dans l'inflammation hépatique, l'apoptose et la nécrose hépatocytaires, la choléstase et la fibrose mais aussi paradoxalement dans la régénération du tissu hépatique après une lésion (15-17). Divers agents tels que les virus, l'éthanol et les toxines peuvent stimuler la production hépatique des cytokines en particulier du TNF-alpha. Il est important de signaler que le TNF-alpha intervient à un stade précoce de la cascade conduisant aux lésions hépatiques et qu'il est aussi impliqué dans le processus de cicatrisation incluant la fibrogénèse. Le TNF-alpha est impliqué dans la choléstase et induit la synthèse des protéines de la phase réactionnelle aiguë. L'effet du TNF-alpha passe par des récepteurs exprimés sur les hépatocytes et conduit à l'activation de plusieurs protéines intracellulaires qui activent à leur tour certaines kinases et protéases (18). La libération par les mitochondries de produits oxygénés et l'activation de la cytochrome C oxydase sont impliquées dans la mort cellulaire induite par le TNF (19,20).

L'effet du TNF-alpha est influencé par d'autres cytokines dans le tissu hépatique (21). Par exemple, dans des modèles de souris knock-out, un déficit en IL-6 augmente la production du TNF-alpha

et la mort des hépatocytes (16). Également, un déficit en IL-10 exacerbe les lésions hépatiques causées par le TNF-alpha chez la souris (22). Par contre, les souris déficientes en IL-12, INF-gamma ou IL-18 sont protégées contre les lésions hépatiques causées par le TNF-alpha (23-25). Le TGF-bêta libéré par les cellules de Kupffer et les hépatocytes pourrait être une des cytokines centrales impliquées dans le développement de la fibrose hépatique (33).

Chez les patients atteints de la NASH, on note une surexpression de l'ARN messager du TNF-alpha dans le foie et le tissu adipeux (26). La production du TNF-alpha pourrait résulter de la stimulation des cellules de Kupffer par la flore intestinale comme cela a été rapporté dans des modèles de rats (27) ainsi que chez des patients atteints de NASH (28). Des altérations ultrastructurales et fonctionnelles ont été observées dans les mitochondries des hépatocytes de souris génétiquement obèses ob/ob en stéatose (29,30). Cependant, le rôle du TNF-alpha n'a pas été confirmé chez ces souris comme ce fût le cas dans les modèles de rats (31). Enfin, la fréquence élevée du polymorphisme 238 du gène du TNF-alpha chez les patients atteints de NASH (31% versus 15% chez les contrôles) suggère une susceptibilité génétique à développer la NASH causée par le gène du TNF-alpha (32).

DIAGNOSTIC

Il n'existe pas d'outil clinique ou de laboratoire pour diagnostiquer définitivement la NASH. La biopsie hépatique reste la référence. Il s'agit donc, en l'absence d'une biopsie hépatique, d'un diagnostic d'exclusion où il faut éliminer toutes les autres causes d'augmentation des transaminases sériques comme l'hépatite virale, alcoolique, toxique ou auto-immune, l'hémochromatose héréditaire, la maladie de Wilson, la cirrhose biliaire primitive, la cholangite sclérosante ou un déficit en alpha 1-antitrypsine. L'échographie permet de révéler la stéatose hépatique mais ne peut spécifier le patron inflammatoire qui caractérise la NASH. En général, les patients sont asymptomatiques. Ils ont des taux élevés d'enzymes hépatiques et une hépatomégalie (34). Certains peuvent ressentir une fatigue anormale, des malaises ou une douleur abdominale. De ce fait, la NASH est souvent découverte suite à un bilan biochimique de routine. Une augmentation des taux d'AST et d'ALT est observée chez 90% des patients (35). Le ratio AST/ALT est inférieur à 1 et est plus bas que dans l'hépatite alcoolique. Les activités sériques de la phosphatase alcaline et de la GGT sont aussi parfois augmentées. La bilirubine et l'albumine sont normales sauf si la maladie progresse vers une cirrhose sévère (35). Le diagnostic est confirmé suite à l'examen d'une biopsie hépatique dont l'apparence ressemble à celle observée lors d'une hépatite alcoolique ce qui suggère des mécanismes physiopathologiques similaires. Les patients atteints de NASH présentent cependant moins d'évidences biochimiques d'une atteinte hépatique que les patients avec une hépatite alcoolique (36).

La douleur est l'effet secondaire majeur d'une biopsie hépatique. Des épisodes hémorragiques sont également assez fréquents mais une hémorragie significative se produit rarement et est alors la principale cause de décès qui est estimé à 0,2% des patients subissant une biopsie. D'autres effets secondaires sont possibles comme une fuite de bile, une péritonite, l'obstruction du canal biliaire, des fistules ou lacérations des viscères (rein droit, vésicule biliaire, côlon et pancréas). Le développement d'un outil

diagnostique non invasif et spécifique pour la NASH serait avantageux et permettrait d'éviter les inconvénients et complications de la biopsie hépatique.

TRAITEMENT

Il n'existe pas de traitement efficace reconnu pour la NASH. Les mesures qui visent à modifier les facteurs de risque sont ce qu'il y a de mieux actuellement. La réduction du poids améliore l'histologie hépatique (37,38). La perte de poids doit être modérée et graduelle parce qu'une perte trop rapide peut accélérer la progression de la maladie par accumulation du gras périphérique dans le foie. Le traitement de l'hyperinsulinisme et du diabète est un standard recommandé pour les patients atteints de NASH. Cependant, on ne sait pas comment ce traitement ralentit la progression de la maladie. L'hypolipémiant Gemfibrozil diminue le taux sérique des triglycérides et augmente la clairance des VLDL (39). Le clofibrate ne diminue pas l'activité de la NASH ni les taux sériques du cholestérol ou des triglycérides (40). D'autres interventions semblent avoir un effet hépato-protecteur telles que la prise d'acide ursodéoxycholique, la réduction du taux de fer et l'utilisation d'antioxydants. Le traitement par l'acide ursodéoxycholique, un acide biliaire naturel, améliore les taux sériques d'ALT, de phosphatase alcaline et de GGT ainsi que la stéatose (40). Les patients atteints de NASH peuvent avoir des taux élevés de ferritine. La diminution de l'apport en fer peut réduire les lésions, la fibrose et la cirrhose causées par le fer (41). La vitamine E est un important antioxydant qui pourrait réduire le stress oxydatif et les lésions hépatiques dans la NASH (9). La N-acétylcystéine diminue les taux sériques des transaminases et de la GGT chez les patients atteints de NASH et protège contre le stress oxydatif (42). Des taux plasmatiques élevés de TNF-alpha ont été rapportés dans l'hépatite alcoolique (43) et dans la NASH (44). Le niveau du TNF-alpha prédit la survie à long terme dans l'hépatite alcoolique (45) mais il n'y a pas de données pour la NASH. On peut présumer que les agents qui inhibent la production ou l'effet du TNF-alpha pourraient prévenir la progression des lésions et de la fibrose dans la NASH. Des anticorps anti-TNF-alpha ont effectivement permis de réduire la stéatose chez les rats (27).

RÉFÉRENCES

1. Propst A, Propst T, Judmaier G, Vogel W. Prognosis in nonalcoholic steatohepatitis [Letter]. *Gastroenterology* 1995;108:1607.
2. Nonomura A, Mizukami Y, Unoura M, Kobayashi K, Takeda Y, Takeda R. Clinicopathologic study of alcohol-like liver disease in non-alcoholics; non-alcoholic steatohepatitis and fibrosis. *Gastroenterol Jpn* 1992;27:521-8.
3. McCullough AJ. Update on nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol* 2002;34:255-62.
4. Caldwell SH, Oelsner DH, Iezzoni JC, Hespenheide EE, Battle EH, Driscoll CJ. Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology* 1999;29:664-9.
5. James OF, Day CP. Nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a disease of emerging identity and importance. *J Hepatol* 1998;29:495-501.

6. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998;114:842-5.
7. Chitturi S, Farrell GC. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liv Dis* 2001;21:27-41.
8. Pessayre D, Berson A, Fromenty B, Mansouri A. Mitochondria in steatohepatitis. *Semin Liv Dis* 2001;21:57-69.
9. Agrawal S, Bonkovsky HL. Management of nonalcoholic: steatohepatitis an analytic review. *J Clin Gastroenterol* 2002;35:253-61.
10. Rao MS, Reddy JK. Peroxisomal beta-oxidation and steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001;21:43-55.
11. Weltman MD, Farrell GC, Hall P, Ingelman-Sundberg M, Liddle C. Hepatic cytochrome P450 2E1 is increased in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1998;27:128-33.
12. Albrecht H, Schook LB, Jongeneel CV. Nuclear migration of NF-kappa B correlates with TNF- alpha mRNA accumulation. *J Inflamm* 1995;45:64-71.
13. Pessayre D, Haouzi D, Fau D, Robin MA, Mansouri A, Berson A. Withdrawal of life support, altruistic suicide, fratricidal killing and euthanasia by lymphocytes: different forms of drug-induced hepatic apoptosis. *J Hepatol* 1999;31:760-70.
14. Pessayre D, Mansouri A, Fromenty B. Nonalcohol steatosis and steatohepatitis.V. Mitochondrial dysfunction in steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;282:G193-9.
15. Akerman P, Cote P, Yang SQ, McClain C, Nelson S, Bagby G et al . Antibodies to tumor necrosis factor- alpha inhibit liver regeneration after partial hepatectomy. *Am J Physiol* 1992;263:G579-85.
16. Yamada Y, Kirillova I, Peschon JJ, Fausto N. Initiation of liver growth by tumor necrosis factor: deficient liver regeneration in mice lacking type I tumor necrosis factor receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:1441-6.
17. Cressman DE, Greenbaum LE, DeAngelis RA, Ciliberto G, Furth EE, Poli V et al. Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice. *Science* 1996;274:1379-83.
18. Magnusson C, Vaux DL. Signalling by CD95 and TNF receptors: not only life and death. *Immunol Cell Biol* 1999;77:41-6.
19. Schulze-Osthoff K, Bakker AC, Vanhaesebroeck B, Beyaert R, Jacob WA, Fiers W. Cytotoxic activity of tumor necrosis factor is mediated by early damage of mitochondrial functions. Evidence for the involvement of mitochondrial radical generation. *J Biol Chem* 1992;267:5317-23.
20. Higuchi M, Aggarwal BB, Yeh ET. Activation of CPP32-like protease in tumor necrosis factor-induced apoptosis is dependent on mitochondrial function. *J Clin Invest* 1997;99:1751-8.
21. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000;275:2247-50.
22. Berg DJ, Kuhn R, Rajewsky K, Muller W, Menon S, Davidson NJ et al. Interleukin-10 is a central regulator of the response to LPS in murine models of endotoxic shock and the Shwartzman reaction but not endotoxin tolerance. *J Clin Invest* 1995;96:2339-47.
23. Tanaka Y, Takahashi A, Watanabe K, Takayama K, Yahata T, Habu S et al. A pivotal role of IL-12 in Th1-dependent mouse liver injury. *Int Immunol* 1996;8:569-76.
24. Car BD, Eng VM, Schnyder B, Ozmen L, Huang S, Gallay P et al. Interferon gamma receptor deficient mice are resistant to endotoxic shock. *J Exp Med* 1994;179:1437-44.
25. Sakao Y, Takeda K, Tsutsui H, Kaisho T, Nomura F, Okamura H et al. IL-18-deficient mice are resistant to endotoxin-induced liver injury but highly susceptible to endotoxin shock. *Int Immunol* 1999;11:471-80.
26. Crespo J, Cayon A, Fernandez-Gil P, Hernandez-Guerra M, Mayorga M, Dominguez-Diez A et al. Gene expression of tumor necrosis factor alpha and TNF-receptors, p55 and p75, in nonalcoholic steatohepatitis patients. *Hepatology* 2001;34:1158-63.
27. Pappo I, Bercovier H, Berry E, Gallily R, Feigin E, Freund HR. Antitumor necrosis factor antibodies reduce hepatic steatosis during total parenteral nutrition and bowel rest in the rat. *J Parenter Enteral Nutr* 1995;19:80-2.
28. Wigg AJ, Roberts-Thomson IC, Dymock RB, McCarthy PJ, Grose RH, Cummins AG. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia, and tumor necrosis factor alpha in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2001;48:206-11.
29. Katyare SS, Howland JL. Enhanced oxidative metabolism in liver mitochondria from genetically obese mice. *Arch Biochem Biophys* 1978;188:15-20.
30. Chavin KD, Yang S, Lin HZ, Chatham J, Chacko VP, Hoek JB et al. Obesity induces expression of uncoupling protein-2 in hepatocytes and promotes liver ATP depletion. *J Biol Chem* 1999;274:5692-700.
31. Memon RA, Grunfeld C, Feingold KR. TNF-alpha is not the cause of fatty liver disease in obese diabetic mice. *Nat Med* 2001;7:2-3.
32. Valenti L, Fracanzani AL, Dongiovanni P, Santorelli G, Branchi A, Taioli E et al. Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphism and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002;122:274-80.
33. Tilg H, Diehl AM. Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2000;343:1467-76.
34. Flegal KM, Carroll MD, Kuczmarski RJ, Johnson CL. Overweight and obesity in the United States: prevalence

and trends, 1960-1994. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998;22:39-47.

35. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994;107:1103-9.
36. Neuschwander-Tetri BA. Non alcoholic steatohepatitis. *Clinics in liver disease* 1998;2:149-73.
37. Eriksson S, Eriksson KF, Bondesson L. Nonalcoholic steatohepatitis in obesity: a reversible condition. *Acta Med Scand* 1986;220:83-8.
38. Vajro P, Fontanella A, Perna C, Orso G, Tedesco M, De Vincenzo A. Persistent hyperaminotransferasemia resolving after weight reduction in obese children. *J Pediatr* 1994;125:239-41.
39. Basaranoglu M, Acbay O, Sonsuz A. A controlled trial of gemfibrozil in the treatment of patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 1999;31:384.
40. Laurin J, Lindor KD, Crippin JS, Gossard A, Gores GJ, Ludwig J et al. Ursodeoxycholic acid or clofibrate in the treatment of non-alcohol-induced steatohepatitis: a pilot study. *Hepatology* 1996;23:1464-7.
41. Brissot P. Clinical spectrum of hepatic disease in hemochromatosis. In: Barton JC, Edwards CQ, eds. *Hemochromatosis: genetics, pathophysiology, diagnosis and treatment*. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press, 2000:250-7.
42. Velussi M, Cernigoi AM, De Monte A, Dapas F, Caffau C, Zilli M. Long-term (12 months) treatment with an anti-oxidant drug (silymarin) is effective on hyporinsulinemia, exogenous insulin need, and malondialdehyde levels in cirrhotic diabetic patients. *J Hepatol* 1997;26:871-9.
43. Bird GL, Sheron N, Goka AK, Alexander GJ, Williams RS. Increased plasma tumor necrosis factor in severe alcoholic hepatitis. *Ann Intern Med* 1990;112:917-20.
44. Wigg AJ, Roberts-Thomson IC, Dymock RB, McCarthy PJ, Grose RH, Cummins AG. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia, and tumour necrosis factor alpha in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2001;48:206-211.
45. Felver ME, Mezey E, McGuire M, Mitchell MC, Herlong HF, Veech GA et al. Plasma tumor necrosis factor alpha predicts decreased long-term survival in severe alcoholic hepatitis. *Alcohol Clin Exp Res* 1990;14:255-9.

ABRÉVIATIONS

ALT :	alanine aminotransférase
AST :	aspartate aminotransférase
GGT :	gamma-glutamyltransférase
IL :	interleukine
INF :	interféron
NAFLD :	stéatose hépatique non alcoolique
NASH :	stéatohépatite non alcoolique
NF-kappaB :	facteur nucléaire kappa B
TNF :	facteur onconécrosant
TGF :	facteur de croissance transformant
VLDL :	lipoprotéine de très basse densité