

THÈSE
POUR LE DIPLOME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 11 septembre 2019
Par M^{lle} Marine ANDRES

LA VOIE UNFOLDED PROTEIN RESPONSE
COMME NOUVELLE CIBLE THÉRAPEUTIQUE
DANS LE TRAITEMENT DE LA STÉATOHÉPATITE
NON ALCOOLIQUE

Membres du jury :

Président : M^{me} le Docteur Malika BALDUYCK, Maître de Conférences, Laboratoire de Biochimie, Faculté de Pharmacie, Université de Lille - Praticien Hospitalier, CHRU de Lille

Directeur de thèse : M^{me} le Professeur Rebecca DEPRez-POULAIN, Professeur des Universités, Laboratoire de Chimie Thérapeutique, Faculté de Pharmacie, Université de Lille

Assesseur(s) : M^{me} le Docteur Catherine DACQUET, Directeur de Projet de Recherche, Pôle d'Innovation Thérapeutique Cardio-Métabolisme, Institut de Recherches Servier



Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Damien CUNY
Vice-présidente Formation :	Lynne FRANJIÉ
Vice-président Recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président Relations Internationales :	François-Olivier SEYS
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-Doyen et Assesseur à la Recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux Relations Internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur à la Vie de la Faculté et aux Relations avec le Monde Professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la Pédagogie :	Benjamin BERTIN
Assesseur à la Scolarité :	Christophe BOCHU
Responsable des Services :	Cyrille PORTA

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	ICPAL
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Onco et Neurochimie
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	ICPAL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Lab. de Médicaments et Molécules
Mme	DEPREZ	Rebecca	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNE	Benoît	Bactériologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Onco et Neurochimie
M.	MILLET	Régis	ICPAL
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY	Anne Catherine	Législation
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHÉRAERT	Eric	Législation
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Lab. de Médicaments et Molécules

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mme	CHARTON	Julie	Lab. de Médicaments et Molécules
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
Mme	DUTOUT- AGOURIDAS	Laurence	Onco et Neurochimie
M.	EL BAKALI	Jamal	Onco et Neurochimie
M.	FARCE	Amaury	ICPAL
Mme	FLIPO	Marion	Lab. de Médicaments et Molécules
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	FURMAN	Christophe	ICPAL
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	ICPAL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Onco et Neurochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie

M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RAVEZ	Séverine	Onco et Neurochimie
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	YOUS	Saïd	Onco et Neurochimie
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Hai Pascal	Lab. Médicaments et Molécules
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie

Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

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

REMERCIEMENTS

À ma directrice de thèse, Madame Rébecca Deprez-Poulain, Professeur des Universités en Chimie Thérapeutique, pour votre confiance, vos conseils et votre soutien tout au long de mon cursus universitaire, ainsi que dans la réalisation de ce travail.

À Madame Malika Balduyck, Maître de Conférences en Biochimie, pour me faire l'honneur d'accepter de présider le jury de cette thèse et pour votre bienveillance en m'accompagnant dans l'encadrement des Travaux Pratiques de Biochimie. Vous êtes pour moi un modèle d'enseignant rigoureux et passionné, autant auprès de vos étudiants que de vos patients.

À Madame Catherine Dacquet, Docteur et Directeur de Projet de Recherche chez Servier, d'avoir gracieusement accepté de faire partie de ce jury de thèse. Merci de donner de votre temps pour juger mon travail avec un regard différent de celui de la recherche académique, ce qui est constructif pour moi.

À mes tuteurs, Steve Lancel et Nathalie Hennuyer, pour leur accompagnement dans la réalisation de ma thèse de sciences et pour leur soutien et leur compréhension dans la rédaction de ce manuscrit. Merci Joël pour m'avoir fait découvrir la Recherche et m'avoir donné l'envie d'étudier la NASH. Merci à Carole Bélanger et Julie Rainard pour leur confiance et leur accueil lors de mes stages à GENFIT et en Écosse.

À mes collègues de l'U1177 et de l'U1011, et plus particulièrement à Audrey et Quentin pour leur soutien au quotidien et ces bons moments de distraction en dehors de la rédaction. Un grand merci à Laëtitia, avec qui je partage depuis plusieurs années : les cours, les stages, le boulot... Et même la rédaction de notre thèse d'exercice ! Merci pour ton soutien et pour ces séances de motivation à la rédaction, sans lesquelles je n'aurais pas pu terminer ce travail.

À mes amis de la Fac, notamment Eline et Xavier, Sophie, Iris, Henriette, Amaury et Adeline, Romain et Juliette... Merci pour ces bons moments passés sur les bancs de la fac et en dehors pendant ces six années d'études.

À mes amis d'enfance, ou plutôt d'adolescence, Victoria, Léa, Odile, Juliette, Simon, Antoine, Grégoire, Maxence, Ambroise, Benjamin, Hugo... Merci pour votre amitié fraternelle et constante malgré les années qui passent et la distance. Un grand merci à Pauline, pour son soutien, sa gentillesse et son amitié immuable.

À ma famille et ma belle-famille, mes mamies, mes oncles et tantes, cousins et cousines pour votre présence et votre amour, qui comptent beaucoup pour moi et qui ont fait de moi la personne que je suis. Merci Maman pour ton éducation, ta force et ton dévouement face aux difficultés d'une mère seule. Merci à mon grand-père, qui m'a particulièrement soutenue et encouragée dans mes études, et qui je l'espère est toujours fier de moi de là où il est.

À Martin, merci pour ton soutien, ta compréhension, ta patience, ta sincérité et pour l'amour que tu m'offres depuis plus de 5 ans. Merci de m'avoir toujours encouragée et épaulée. Je suis fière de l'homme et du pharmacien que tu es devenu à mes côtés. Je t'aime.

SOMMAIRE

TABLE DES ABRÉVIATIONS	15
INTRODUCTION.....	17
PARTIE 1 : LA STÉATOHÉPATITE NON ALCOOLIQUE (NASH).....	19
I. Le foie : un organe extraordinaire, indispensable à la survie de l'organisme et au métabolisme.....	20
1. Anatomie d'un organe extraordinaire	20
2. Le foie : un organe multifonctionnel.....	23
a. Le foie : une plateforme métabolique	23
b. Le foie : un lieu de stockage.....	26
c. Le foie : une usine de production.....	26
d. Le foie : une station de traitement des déchets	27
II. Définition des pathologies en lien avec la NAFLD : obésité, syndrome métabolique et diabète.....	28
1. L'obésité	28
2. Le syndrome métabolique	28
3. Le diabète de type 2.....	29
III. Définition de la maladie du foie gras (NAFLD) et de la stéatohépatite non alcoolique (NASH).....	30
IV. Epidémiologie de la NAFLD	31
V. Etiologies et facteurs de risque de la NAFLD	33
VI. Physiopathologie de la NASH	34
1. Hépatocytes et stéatose hépatique	34
2. Prédisposition génétique	36
3. Cellules de Kupffer et inflammation	36
4. Cellules stellaires hépatiques et fibrose	37
5. Signaux extra-hépatiques.....	37
a. Rôle du tissu adipeux.....	37
b. Rôle du microbiote intestinal.....	38
c. Rôle du muscle squelettique	38
VII. Présentation clinique, biologique et diagnostic de la NASH.....	39
1. Présentation clinique	39
2. Présentation biologique.....	40
3. Méthodes de diagnostic.....	40
d. Diagnostic par imagerie	41
a. Diagnostic histologique	43
b. Les marqueurs de diagnostic non-invasifs.....	46
VIII. Pronostic et conséquences physiopathologiques de la NASH.....	49
1. Complications hépatiques.....	49
2. Complications extra-hépatiques	49
IX. Modèles animaux de la NASH	50
1. Modèles diététiques.....	50
2. Modèle chimique	51
3. Modèles génétiques.....	51
X. Traitements actuels de la NASH.....	53

1.	Modification des habitudes de vie	53
2.	Chirurgie de l'obésité	54
3.	Nouvelles approches thérapeutiques	55
a.	Antioxydants.....	55
b.	Agents antidiabétiques sensibilisants à l'insuline et hypoglycémiantes	56
i.	Metformine	56
ii.	Thiazolidinediones.....	56
iii.	Autres agonistes PPAR.....	57
iv.	Agonistes FXR.....	57
c.	Agents hypolipémiants	58
d.	Agents anti-inflammatoires et anti-fibrotiques	58
4.	Transplantation hépatique.....	59

PARTIE 2 : LE STRESS DU RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE ET LA VOIE UNFOLDED PROTEIN

RESPONSE (UPR)	61
I. Le réticulum endoplasmique, un organe multifonctionnel	62
1. Description anatomique.....	62
2. Multiples fonctions du réticulum endoplasmique.....	63
II. Le stress du réticulum endoplasmique et la voie de réponse aux protéines mal conformées.. ..	66
III. Les acteurs clés de la voie UPR dans la transduction du signal de stress réticulaire.....	67
1. La protéine chaperonne réticulaire GRP78/BiP	68
2. La voie IRE1 α - XBP1	71
3. La voie PERK - ATF4	73
4. La voie ATF6.....	75
IV. Autres régulateurs de l'activation de la voie UPR.....	77
V. Conséquences paradoxales de l'activation de la voie UPR : équilibre entre survie et mort cellulaire	78
1. Mécanismes de l'UPR « adaptatif »	79
2. Mécanismes de l'UPR « terminal »	80
e. Mécanismes de l'apoptose induits par CHOP	80
f. Mécanismes de l'apoptose induits par la voie IRE1	82
3. Cinétique du contrôle du destin cellulaire	83
VI. Outils pharmacologiques pour induire un stress réticulaire et mimer l'activation de la voie UPR.....	85
1. Inhibition de la glycosylation des protéines.....	85
2. Inhibition des flux calciques	85
3. Inhibition du protéasome.....	86
4. Agents réducteurs	87
5. Inhibition du transport des protéines	87

PARTIE 3 : LA VOIE UPR DANS LE DÉVELOPPEMENT DE LA NASH : UNE NOUVELLE CIBLE

THÉRAPEUTIQUE ?	89
I. Implication de la voie UPR dans la physiopathologie de la NASH	90
1. Voie UPR, maladies métaboliques et NAFLD	90
2. Stress du RE et métabolisme hépatique des lipides	91
a. Le stress réticulaire peut empêcher l'accumulation hépatique de lipides	92
b. Le stress réticulaire ou une perturbation de l'UPR adaptatif peut favoriser l'accumulation hépatique de lipides	93

i.	Stress réticulaire et lipogenèse de novo	94
ii.	Stress réticulaire et synthèse des triglycérides	95
iii.	Stress réticulaire et sécrétion des VLDL	95
iv.	Stress réticulaire et bêta-oxydation des acides gras	96
v.	Stress réticulaire et autophagie	97
vi.	Stress réticulaire et lipolyse périphérique	97
c.	L'accumulation de lipides hépatiques induit un stress réticulaire	98
3.	Stress du RE, métabolisme du glucose et insulino-résistance	100
4.	Stress du RE et inflammation	102
II.	L'ER stress et la voie UPR comme cible thérapeutique dans le traitement de la NASH	104
1.	Agents ciblant directement l'UPR avec une efficacité non prouvée dans la NASH	104
a.	Modulateurs de la voie IRE1	105
i.	Inhibiteurs du domaine RNase d'IRE1 α : 4 μ 8c, STF-083010, MKC-3946 et toyocamycine	106
ii.	Inhibiteurs du domaine kinase d'IRE1 α et activateurs de l'activité RNase (inhibiteurs de kinase de type I) : APY29 et sunitinib	107
iii.	Inhibiteurs du domaine kinase et de l'activité RNase d'IRE1 (Inhibiteurs de kinase de type II) : compound 3 et KIRA6	107
b.	Modulateurs de la voie PERK	109
i.	Inhibiteurs de PERK : GSK2606414 et GSK2656157	109
ii.	Inhibiteurs de la phosphorylation d'eIF2 α : ISRIB	110
iii.	Inhibiteurs de la déphosphorylation d'eIF2 α : salubrinal, guanabenz et sephin I	111
c.	Modulateurs de la voie ATF6	113
i.	Inhibiteurs de la voie ATF6 : ceapins, nelfinavir et mélatonine	113
ii.	Activateurs de la voie ATF6 : compound 147	114
d.	Modulateurs des chaperonnes et protéines mal conformées	115
iii.	Modulateurs de BiP	115
iv.	Chaperonnes chimiques	116
2.	Agents ayant une efficacité dans la NASH en partie liée à une modulation de l'ER stress	118
a.	Les agonistes GLP-1 : liraglutide, exenatide et exendin-4	118
b.	L'inhibiteur ASK1 : selonsertib	119
c.	L'activateur Nrf2 : oltipraz	119
	CONCLUSION	121
	BIBLIOGRAPHIE	123

TABLE DES ABRÉVIATIONS

ACC	<i>Acetyl CoA Carboxylase</i>
ADP	<i>Adénosine diphosphate</i>
ALAT	<i>Alanine aminotransférase</i>
ARN(m)	<i>Acide ribonucléique (messenger)</i>
ASAT	<i>Aspartate aminotransférase</i>
ASK1	<i>Apoptosis signal-regulating kinase 1</i>
ATF6	<i>Activating transcription factor 6</i>
ATP	<i>Adénosine triphosphate</i>
AVC	<i>Accident Vasculaire Cérébral</i>
BiP	<i>Binding immunoglobulin protein</i>
BSEP	<i>Bile salt export pump</i>
bZIP	<i>Basic leucine zipper</i>
CCl₄	<i>Tétrachlorométhane</i>
CCR2/5	<i>C-C chemokine receptor type 2/5</i>
CHOP	<i>CCAAT/enhancer-binding protein homologous protein</i>
CK18	<i>Cytokératine 18</i>
CoA	<i>Coenzyme A</i>
COPII	<i>Coat Protein II</i>
CPEB4	<i>Cytoplasmic poly-adenylation element-binding 4</i>
CREBH	<i>cAMP responsive element binding protein H</i>
CRP	<i>Protéine C réactive</i>
DGAT	<i>Diacylglycerol O-acyltransferase</i>
DNAJB9	<i>DnaJ homolog subfamily B member 9</i>
EDEM	<i>Endoplasmic reticulum-degradation enhancing α-mannosidase-like protein</i>
eIF2α	<i>Eukaryotic translation initiation factor 2α</i>
ERAD	<i>Endoplasmic reticulum-associated degradation</i>
ERdj4	<i>Endoplasmic reticulum DNA J domain-containing protein 4</i>
ERO1	<i>Endoplasmic reticulum oxidoreductin 1</i>
ERSE	<i>Endoplasmic reticulum stress response element</i>
ER stress	<i>Stress réticulaire</i>
FAS	<i>Fatty acid synthase</i>
FBPase	<i>Fructose-1,6-bisphosphatase</i>
FGF-21	<i>Fibroblast growth factor 21</i>
FKBP	<i>FK506-binding protein</i>
FoxO1	<i>Forkhead box protein O1</i>
FXR	<i>Farnesoid X receptor</i>
G6Pase	<i>Glucose-6-phosphatase</i>
GADD34	<i>Growth arrest and DNA-damage-inducible protein 34</i>
GGT	<i>γ-glutamyl transférase</i>
GLP-1	<i>Glucagon-like peptide 1</i>
GLUT2	<i>Glucose Transporter 2</i>
GRP78/94	<i>Glucose-Regulated Protein 78 kDa/94 kDa</i>
GWAS	<i>Genome-wide association study</i>
HFD	<i>High-fat diet</i>
HMG-CoA	<i>3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A</i>
HSP	<i>Heat shock protein</i>

HSPA5	<i>Heat shock protein family A member 5</i>
IC₅₀	Concentration inhibitrice médiane
IGF-1	<i>Insulin like Growth Factor 1</i>
IL	Interleukine
INSIG	<i>Insulin induced gene</i>
IRE1	<i>Inositol-requiring enzyme 1</i>
IRS1	<i>Insulin receptor substrate 1</i>
JNK	<i>c-Jun N-terminal kinase</i>
K_D	Constante de dissociation
kDa	Kilodalton
LPS	Lipopolysaccharide
MAMs	<i>Mitochondrial-associated ER membranes</i>
MCD	<i>Methionine and choline-deficient</i>
MRP2	<i>Multidrug Resistance-associated Protein 2</i>
NASH	<i>Non-alcoholic steatohepatitis</i>
NAFLD	<i>Non-alcoholic fatty liver disease</i>
NFκB	<i>Nuclear Factor kappa B</i>
NLRP3	<i>NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3</i>
Nrf2	<i>Nuclear factor-erythroid-derived 2-related factor 2</i>
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
p58^{IPK}	<i>Protein kinase inhibitor of 58 kDa</i>
PC	Phosphatidylcholine
PDI	Protéine disulfure isomérase
PDIA 3/4	<i>Protein Disulfide Isomerase family A member 3/4</i>
PE	Phosphatidyléthanolamine
PEPCK	Phosphoénolpyruvate carboxykinase
PERK	<i>Protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase</i>
PKB	Protéine kinase B
PNPLA3	<i>Patatin-like phospholipase domain-containing 3</i>
PP1c	<i>Protein phosphatase 1 catalytic subunit</i>
PPAR	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor</i>
PPI	Peptidyl Prolyl Isomérases
RE	Réticulum endoplasmique
REG	Réticulum endoplasmique granuleux
REL	Réticulum endoplasmique lisse
RIDD	<i>Regulated IRE1-dependent RNA degradation</i>
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
SCD1	<i>Stearoyl-CoA desaturase 1</i>
SERCA	<i>Sarco/endoplasmic reticulum calcium ATPase</i>
SREBP	<i>Sterol regulatory element-binding protein</i>
TLR	<i>Toll-like receptors</i>
TRAF2	<i>TNF receptor-associated factor 2</i>
TRB3	<i>Tribbles-related protein 3</i>
UGT1A1	<i>Uridine diphosphate GlucuronosylTransférase family 1 member A1</i>
UPR	<i>Unfolded Protein Response</i>
UPRE	<i>Unfolded Protein Response Elements</i>
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>
XBP1 (s/u)	<i>X-box Binding Protein 1 (spliced/unspliced)</i>

INTRODUCTION

Ces dernières décennies, le mode de vie de la société a considérablement évolué vers une sédentarité accrue et une alimentation industrielle hypercalorique, riche en graisses saturées et en sucres rapides. Cette évolution est notamment visible au travers de l'essor de la restauration rapide (« fast-food ») dans les pays industrialisés et à revenus élevés, mais dont la tendance se propage également dans le monde entier. Ce changement dans les habitudes de vie, provoquant un déséquilibre entre les apports nutritionnels et la dépense énergétique, a amplifié l'apparition de maladies métaboliques telles que l'obésité et le diabète. Par ailleurs, ces pathologies sont qualifiées d'épidémies mondiales puisqu'elles ont subi une ascension fulgurante ces quarante dernières années. En effet, depuis 1975, la prévalence de l'obésité a presque triplé et touche actuellement 650 millions d'adultes dans le monde selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé)¹. De la même manière, entre 1980 et 2014, la prévalence du diabète a doublé, évoluant de 108 millions à 422 millions d'adultes touchés dans le monde².

Le foie, un organe central dans la régulation du métabolisme, peut être particulièrement touché par ces perturbations métaboliques. Longtemps ignorée, la « maladie du foie gras » ou NAFLD (*Non-alcoholic fatty liver disease*) est largement associée à l'épidémie d'obésité et de diabète. Cette pathologie se manifeste de la simple stéatose à la stéatohépatite non alcoolique (NASH) et peut évoluer en cirrhose voire en cancer du foie. Elle est caractérisée par une accumulation anormale de lipides au sein des hépatocytes, pouvant s'accompagner d'une inflammation et de dommages hépatiques. La NAFLD va devenir la maladie chronique du foie la plus courante dans le monde et représente un enjeu de santé publique majeur. Pour autant, la pathogenèse de la NAFLD est encore obscure et les mécanismes physiopathologiques n'ont pas été complètement élucidés à l'heure actuelle. C'est pourquoi, malheureusement, aucun traitement n'est disponible actuellement sur le marché pour traiter ce type de pathologie.

La NAFLD est associée à une perturbation de l'homéostasie du réticulum endoplasmique (RE) dans les cellules du foie, pouvant causer un stress réticulaire, également appelé « *ER stress* ». Face à ce stress réticulaire, une voie de signalisation adaptative appelée *Unfolded Protein Response* (UPR) est initiée dans les cellules afin de rétablir l'homéostasie du RE. Cependant, l'*ER stress* peut contribuer au développement de la stéatose et favoriser la progression de la stéatose vers la NASH. En effet, lorsque la voie UPR est activée de manière

chronique ou inadaptée, ses réponses physiologiques peuvent devenir des conséquences pathologiques (stéatose, insulino-résistance, inflammation, apoptose), communes avec la physiopathologie de la NASH.

Par conséquent, sachant qu'actuellement aucun traitement n'est disponible pour la NASH, et à la lumière de leur lien avec la NAFLD, l'*ER stress* et la voie UPR pourraient représenter une cible thérapeutique intéressante dans le traitement de cette pathologie.

Ainsi, l'objectif de ce travail sera tout d'abord de décrire la NAFLD ainsi que la voie UPR, pour ensuite mettre en évidence le rôle de l'*ER stress* dans le développement de la NAFLD et discuter des possibles interventions pharmacologiques pour cibler l'*ER stress* dans ce contexte pathologique.

**PARTIE 1 : LA STÉATOHÉPATITE
NON ALCOOLIQUE (NASH)**

I. Le foie : un organe extraordinaire, indispensable à la survie de l'organisme et au métabolisme

1. Anatomie d'un organe extraordinaire

Le foie, situé dans l'abdomen et plus précisément dans la région hypochondriaque droite et épigastrique, est l'organe interne le plus volumineux de l'organisme puisqu'il représente environ 2% du poids du corps avec une masse de 1,5 kg chez l'adulte en moyenne. Il est composé de 2 lobes principaux, séparés par le ligament falciforme : le lobe droit (environ 75% du volume) et le lobe gauche (environ 25% du volume). C'est la glande la plus volumineuse de l'organisme, traduisant son implication dans plus de 500 fonctions chimiques essentielles, ce qui le rend indispensable à la survie. D'ailleurs, le foie possède la capacité exceptionnelle de se régénérer rapidement après résection partielle. En effet, lorsqu'une hépatectomie de 70% de la masse du foie est réalisée chez le rat ou la souris, une récupération intégrale de la masse initiale du foie est observée en 7 à 10 jours^{3,4}. En outre, le foie est également capable d'adapter son poids en fonction de son environnement et de la taille de son hôte lors d'une transplantation^{5,6,7}.

Le foie est l'un des organes les plus densément vascularisés du corps humain. Il contient plus de 10% du volume sanguin total et il est traversé par 1,5L de sang par minute en moyenne chez l'adulte. C'est le seul organe qui reçoit le sang de deux sources. De la circulation générale d'une part via l'artère hépatique, constituant 20 à 25% de l'apport sanguin et provenant du tronc coélique qui est une branche de l'aorte abdominale, apportant le sang riche en oxygène nécessaire au fonctionnement des cellules du foie. Et du tractus digestif d'autre part via la veine porte, constituant 75 à 80% de l'apport sanguin et amenant le sang riche en nutriments et autres substances absorbés notamment par l'intestin grêle ou le gros intestin lors de la digestion et destinés au métabolisme. Cette double irrigation sanguine se divise ensuite en une multitude de capillaires à l'intérieur du foie et se mélange dans chaque lobule sous forme de sinusoides, pour ensuite rejoindre la circulation générale via la veine sus-hépatique et la veine cave inférieure (*Figure 1*). La vascularisation importante du foie permet de traiter de gros volumes de sang pour en réguler sa composition et participer à la détoxification de l'organisme.

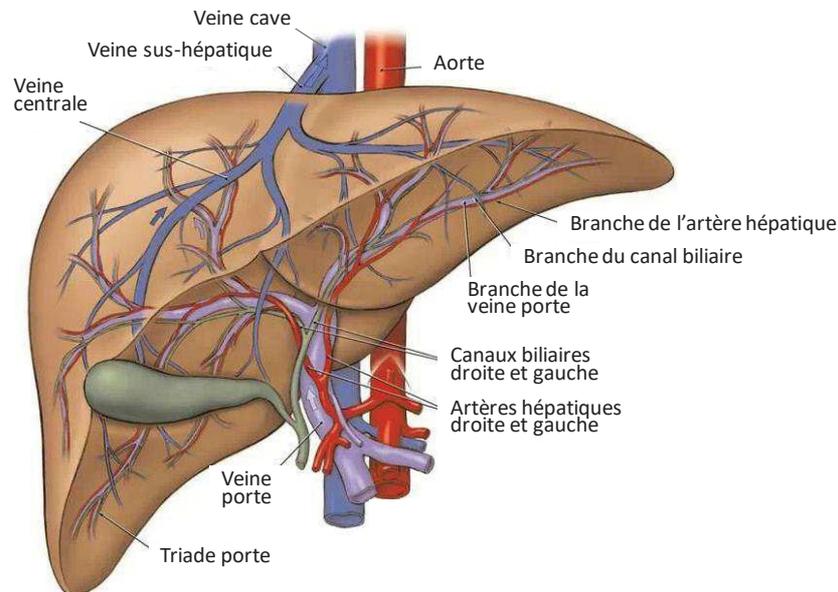


Figure 1 : Schéma des circulations sanguines et biliaires du foie

La plupart des fonctions hépatiques sont assurées par les hépatocytes, des cellules polyvalentes arrangées en unités fonctionnelles hexagonales hautement organisées appelées lobules. Les hépatocytes représentent environ 80% de la masse hépatique et forment le parenchyme hépatique. Les autres cellules du foie sont principalement représentées par les cellules sinusoidales (cellules endothéliales), les cellules de Kupffer (macrophages résidents) et les cellules stellaires ou cellules de Ito, impliquées dans le stockage de la vitamine A et la production de tissu fibreux lors d'un processus inflammatoire. Les hépatocytes ont une polarité particulière pour des cellules épithéliales, adaptée aux nombreux échanges qu'elles réalisent dans leur fonction de synthèse et de sécrétion de macromolécules. Le pôle apical (ou pôle biliaire) est impliqué dans la fonction exocrine afin de sécréter la bile dans le canalicule biliaire, formé par des jonctions serrées entre les hépatocytes adjacents. Le pôle basolatéral (ou pôle vasculaire) est impliqué dans la fonction endocrine en permettant les échanges avec les sinusoides sanguins dont l'endothélium est fenêtré (*Figure 2*).

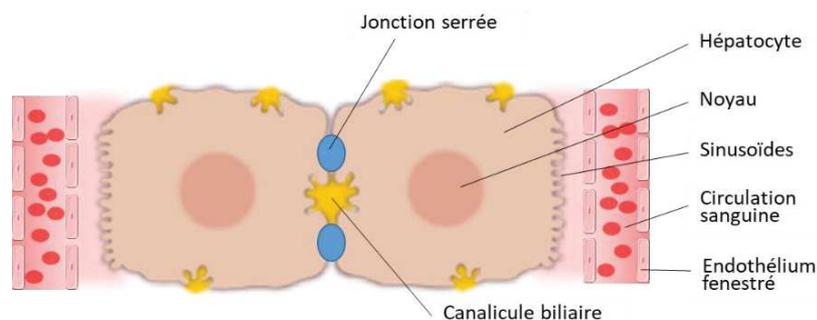


Figure 2 : Schéma de la polarisation des hépatocytes

Dans un lobule, les hépatocytes en travées d'une à deux cellules d'épaisseur rayonnent autour d'une veine centrale ou veine centrolobulaire, envoyant le sang provenant de la veine porte et traité par les hépatocytes vers la circulation systémique par l'intermédiaire des veines sus-hépatiques : la circulation sanguine s'effectue donc de manière centripète au sein du lobule (*Figure 3*).

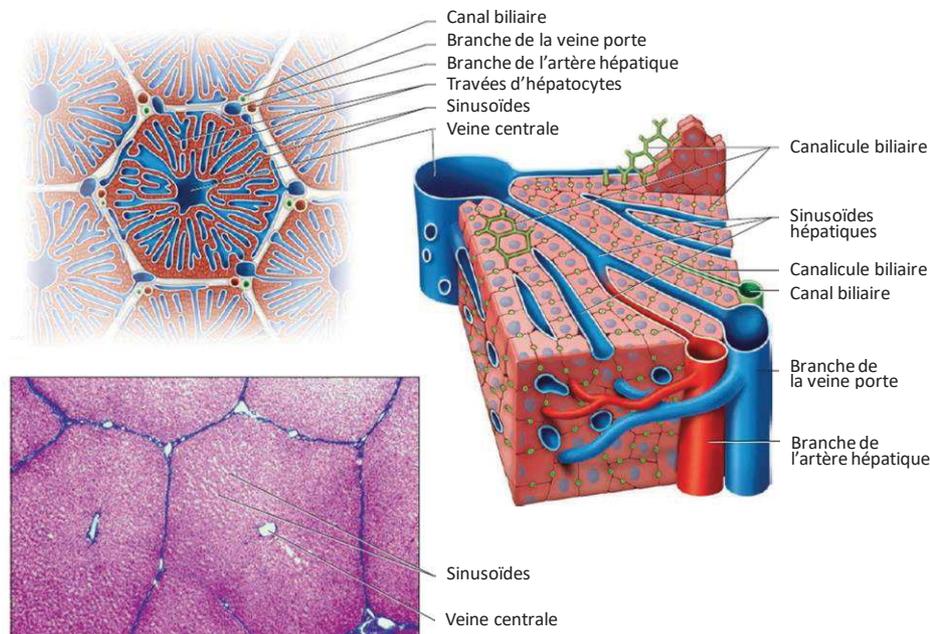


Figure 3 : Anatomie d'un lobule hépatique

Une autre fonction majeure des hépatocytes est la synthèse de la bile (800 à 1000 ml par jour), un liquide jaune-verdâtre contenant un mélange d'eau à 97%, d'électrolytes (Na^+ , Cl^- , HCO_3^- , K^+ , Ca^{2+}), de sels biliaires, de cholestérol et de déchets tels que la bilirubine (produit de dégradation de l'hémoglobine). La bile produite en permanence par les hépatocytes, et régulée par les repas, circule au sein du lobule dans le sens inverse du sang (flux centrifuge) par un réseau de canalicules biliaires pour se diriger vers les canaux biliaires, localisés dans les espaces interlobulaires (ou espaces porte). Elle peut alors, en fonction des besoins, se déverser directement dans le duodénum par la voie biliaire principale via les canaux hépatiques puis le canal cholédoque ou alors être refoulée et stockée dans la vésicule biliaire pour être déversée par la voie biliaire accessoire via le canal cystique rejoignant le canal cholédoque. La bile ainsi déversée au niveau du sphincter d'Oddi dans le duodénum au moment des repas permet alors de favoriser la digestion, notamment des lipides (*Figure 4*). Enfin, les acides biliaires ainsi sécrétés possèdent la particularité de pouvoir subir un cycle entéro-hépatique, où la majorité de ceux-ci sont renvoyés vers le foie par la veine porte grâce une réabsorption active au niveau de l'iléon (97%) pour être recyclés et sécrétés à nouveau dans la bile, alors que la minorité d'entre eux sont éliminés dans les fèces (3%).

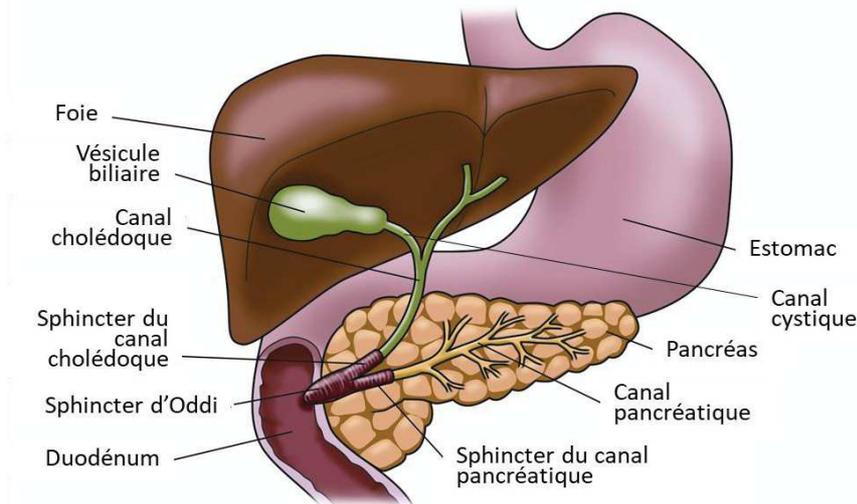


Figure 4 : Schéma de la circulation biliaire

2. Le foie : un organe multifonctionnel

Au travers de l'exploration de l'organisation structurale et anatomique du foie, il est maintenant facile d'imaginer les nombreuses fonctions vitales que cet organe peut exercer. Le foie se situant au centre de l'organisme et étant le premier organe que vont rencontrer les nutriments absorbés au niveau de l'intestin, il est souvent qualifié de carrefour métabolique. Il a ainsi la capacité de capter facilement les stimuli environnementaux, ce qui lui permet de répondre rapidement via la synthèse et le relargage de diverses macromolécules dans le sang ou la bile, dans le but de maintenir l'homéostasie de l'organisme.

a. Le foie : une plateforme métabolique

Le foie intervient au niveau du métabolisme des glucides, des lipides, des protéines et des acides biliaires notamment en réponse aux apports alimentaires grâce au flux sanguin intestinal amenant les nutriments vers le foie par la veine porte, mais également en réponse au relargage de ces substances dans la circulation générale par d'autres organes. De plus, afin de réaliser ses fonctions métaboliques, il est sensible (au même titre que le muscle ou le tissu adipeux) aux hormones respectivement hypo- et hyperglycémiantes, l'insuline et le glucagon, sécrétées alternativement par les cellules β et α du pancréas en fonction de l'apport alimentaire afin de réguler l'homéostasie glucidique.

Lors d'un apport alimentaire, le glucose sanguin est rapidement capté par les cellules bêta-pancréatiques. Le glucose est phosphorylé par la glucokinase puis dégradé par la voie de la glycolyse en pyruvate. Le pyruvate entre ensuite dans la chaîne respiratoire mitochondriale pour permettre la synthèse d'ATP. Ainsi, une élévation du ratio ATP/ADP entraîne l'exocytose

de l'insuline dans la circulation sanguine par les cellules β -pancréatiques afin d'agir sur les tissus insulino-sensibles : muscles, tissu adipeux et foie.

En réponse à cette sécrétion d'insuline, les hépatocytes sont ainsi capables de capter les sucres simples issus de l'alimentation et apportés des intestins par la veine porte pour les stocker sous forme de glycogène. La transformation du glucose en glycogène permet ainsi de constituer une réserve d'énergie considérable pour protéger l'organisme : c'est la glycogénogenèse. Au contraire, sous l'effet du glucagon lors d'un jeûne, les hépatocytes sont capables de mettre à disposition cette réserve par la dépolymérisation du glycogène en glucose (glycogénolyse) et de le libérer dans la circulation sanguine. Si les réserves en glycogène sont épuisées (en cas de jeûne prolongé), le foie possède une voie métabolique particulière, la néoglucogenèse (ou gluconéogenèse), lui permettant de néo-synthétiser du glucose afin de subvenir aux besoins des cellules glucodépendantes. La néoglucogenèse est réalisée principalement dans le foie (90%), et minoritairement dans les reins (10%), notamment grâce à la présence des enzymes PEPCK (Phosphoénolpyruvate carboxykinase), FBPase (Fructose-1,6-bisphosphatase) et G6Pase (Glucose-6-phosphatase) (*Figure 5*).

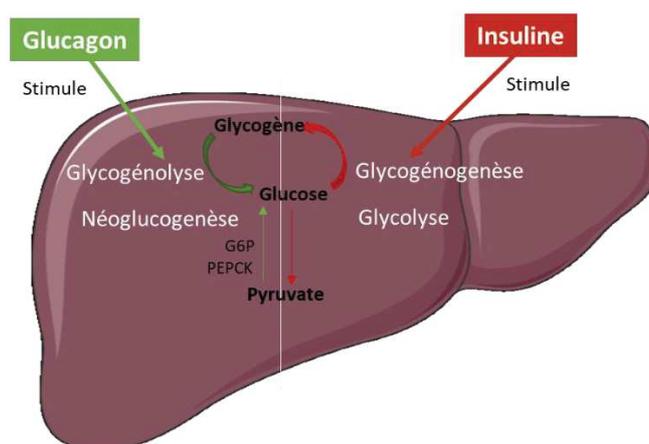


Figure 5 : Régulation du métabolisme du glucose dans le foie par l'insuline et le glucagon

Il existe plusieurs précurseurs pour cette voie de biosynthèse du glucose par le foie. Le pyruvate issu de la glycolyse ; le lactate d'origine musculaire formé lors de la glycolyse anaérobie et pouvant être converti à nouveau en pyruvate dans le foie par le cycle de Cori ; le glycérol issu de l'hydrolyse des triglycérides dans le tissu adipeux ; et enfin certains acides aminés qualifiés de « glucoformateurs » (notamment l'alanine pour le foie) lorsque toutes les autres ressources d'énergie ont été consommées. Plus précisément, le squelette carboné des acides aminés « glucoformateurs » provenant des muscles peut être converti en intermédiaires métaboliques précurseurs de la formation de glucose tels que le pyruvate, l' α -cétooglutarate, le succinyl CoA, le fumarate ou l'oxaloacétate (*Figure 6*).

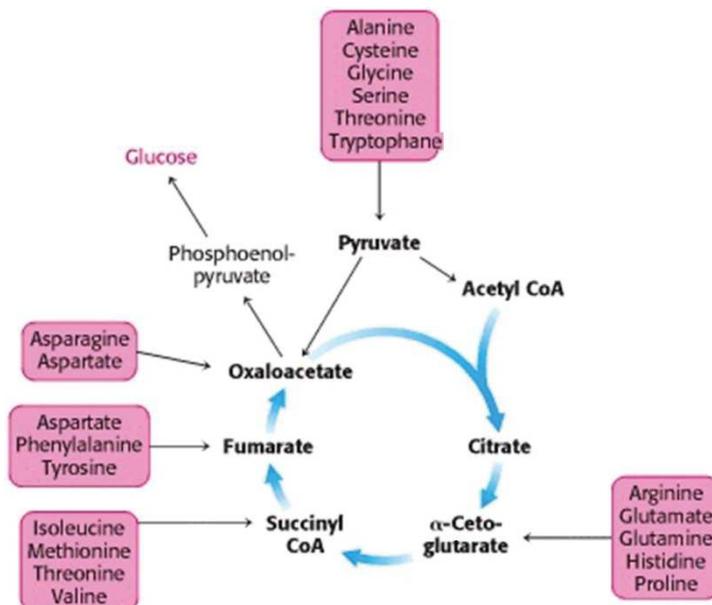


Figure 6 : Acides aminés glucoformateurs et intermédiaires métaboliques pour la néoglucogenèse

Le foie est également capable de stocker de l'énergie sous forme de triglycérides, à partir des acides gras issus de la digestion parvenus au foie grâce à leur solubilisation par les acides biliaires. En fonction des besoins, les hépatocytes mettent à disposition cette réserve d'acides gras en libérant les triglycérides dans la circulation sous forme de VLDL, qui pourront ensuite être captés et stockés dans le tissu adipeux. Cette réserve d'énergie peut également être utilisée après le clivage des liaisons entre les trois acides gras et la molécule de glycérol puis la β -oxydation des acides gras en Acétyl-CoA suite à plusieurs cycles de 4 réactions enzymatiques (déshydrogénation, hydratation, oxydation et thiololyse) qui se déroulent dans la matrice mitochondriale.

De plus, le foie participe au métabolisme des protéines issues de la digestion pour les convertir en acides aminés. Le foie est également le lieu le plus important pour la synthèse des acides aminés non-essentiels, notamment par réaction de transamination où un α -amino-acide est produit à partir d'un α -cétoacide grâce à une aminotransférase (ou transaminase). Le foie utilise les acides aminés pour produire d'autres protéines ou alors comme source d'énergie cellulaire par réactions de déamination oxydative et formation d'un cétoacide pouvant être oxydé pour libérer de l'ATP.

Enfin, le foie est également impliqué dans le métabolisme des acides biliaires puisqu'il est capable de les néo-synthétiser à partir de l'oxydation du cholestérol ou de les recycler via le cycle entéro-hépatique et de les relarguer dans la bile, notamment via le transporteur ATP-dépendant BSEP (*Bile Salt Export Pump*) en fonction des besoins.

b. Le foie : un lieu de stockage

Outre le stockage des glucides et lipides respectivement sous forme de glycogène et de triglycérides, le foie est également un lieu de stockage pour d'autres éléments indispensables tels que certains sels minéraux, oligo-éléments (fer, cuivre) et vitamines, issus de l'alimentation. Grâce aux sels biliaires, facilitant la solubilisation des nutriments lipophiles dans l'intestin via la formation de micelles, le foie est capable de capter les vitamines liposolubles (vitamines A, D, K) absorbées dans les intestins afin de les stocker pour les mettre à disposition en fonction des besoins. Par exemple, la vitamine A est stockée dans les cellules stellaires, dont l'appellation provient de leur forme étoilée. Le foie est également un lieu de stockage pour la vitamine B₁₂, une vitamine hydrosoluble, cofacteur de nombreuses réactions métaboliques et indispensable au bon fonctionnement du système nerveux ainsi qu'à la synthèse des hématies dans la moelle osseuse.

c. Le foie : une usine de production

Le foie est une véritable usine métabolique qui fabrique des éléments essentiels au bon fonctionnement de l'organisme. A partir des acides aminés, des acides gras, des minéraux et oligo-éléments issus de l'alimentation, le foie synthétise de très nombreuses protéines, ainsi que du cholestérol et des phospholipides nécessaires aux structures membranaires et sécrétés via les lipoprotéines.

Parmi les nombreuses protéines produites par le foie, on retrouve : la majorité des protéines plasmatiques telles que l'albumine (représentant plus de 40% de la synthèse protéique hépatique) permettant le maintien de la pression osmotique et le transport de diverses macromolécules ; les protéines du système immunitaire (protéine C réactive (CRP), orosomucoïde, opsonine, protéines complément) ; certaines hormones et facteurs de croissance (*Insulin Growth Factor 1*, thrombopoïétine, angiotensine) ; des facteurs circulants et anticoagulants (prothrombine, fibrinogène, antithrombine, α 2-macroglobuline) ; ainsi que la totalité des globines (hémoglobine, globulines, haptoglobine...) impliquées notamment dans l'oxygénation de l'organisme et les réactions inflammatoires.

Le foie synthétise également d'autres protéines de transport que l'albumine telles que la transferrine, la céruloplasmine et la transcobalamine qui transportent respectivement le fer, le cuivre et la vitamine B₁₂ dans le sang. Enfin, le foie est le seul lieu de production des facteurs de la coagulation (excepté pour le facteur VIII), indispensables aux cascades enzymatiques lors du phénomène d'hémostase.

d. Le foie : une station de traitement des déchets

Le foie est le lieu de détoxification par excellence, telle une usine de traitement des déchets pour l'organisme. Il possède une grande capacité métabolique afin de transformer les éléments potentiellement toxiques véhiculés par le sang pour les éliminer facilement hors de l'organisme. Ces éléments toxiques peuvent provenir directement des déchets métaboliques produits par l'organisme (source endogène) ou être apportés de l'alimentation (source exogène). Ils concernent également les micro-organismes pathogènes (virus, bactéries, champignons...) et les substances actives assimilées lors de la prise de médicaments.

La bilirubine issue de la dégradation de l'hème contenue dans l'hémoglobine des hématies est éliminée en grande partie par le foie grâce à une réaction de glucuronidation réalisée par UGT1A1 (*UDP-glycosyltransferase 1 polypeptide A1*), afin d'être sécrétée dans la bile par transport actif via des transporteurs ATP-dépendants tels que MRP2 (*Multidrug Resistance-associated Protein 2*)⁸.

Les déchets métaboliques tels que l'ammoniaque neurotoxique (NH₃) et les acides aminés sont convertis en urée grâce aux enzymes du cycle de l'urée afin d'être éliminés dans l'urine par le rein. Grâce à ses cellules immunitaires résidentes, les cellules de Kupffer, le foie participe à la détection et par conséquent l'élimination des micro-organismes pathogènes. De même, le foie filtre le sang pour le débarrasser des vieilles cellules, des cellules mortes ou encore des cellules cancéreuses grâce à leur reconnaissance par ces macrophages résidents.

Concernant les xénobiotiques, les composés hydrosolubles sont éliminés dans les urines par filtration simple au niveau du rein alors que les composés liposolubles doivent subir une biotransformation afin d'être inactivés pharmacologiquement et d'être éliminés dans le sang puis par les reins. Ainsi, ces derniers sont convertis en molécules plus hydrosolubles afin de faciliter leur élimination grâce à deux types de réactions enzymatiques, qui se produisent principalement dans le foie. Les réactions de phase I sont des réactions d'oxydoréduction afin de fonctionnaliser les molécules et de les rendre plus polaires et en général moins actives. Elles sont réalisées par des enzymes microsomaux localisées au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique lisse, dont les plus importantes et les plus abondantes sont des mono-oxygénases de la famille des cytochromes P450. Ces molécules ainsi hydroxylées subissent ensuite des réactions de phase II, qui sont des réactions de conjugaison avec des substances endogènes telles que l'acide glucuronique, le glutathion, des sulfates et certains acides aminés. Ces réactions permettent ainsi d'augmenter l'hydrosolubilité des molécules et de faciliter leur élimination dans les urines.

II. Définition des pathologies en lien avec la NAFLD : obésité, syndrome métabolique et diabète

Depuis la moitié du XX^{ème} siècle, les habitudes de vies de la population mondiale ont radicalement changé vers une sédentarité accrue, une urbanisation croissante et une alimentation déséquilibrée avec une consommation d'aliments riches en graisses saturées, en sucres rapides et en sel (*fast-foods...*). Ce mode de vie adopté essentiellement dans les pays développés est responsable d'un ensemble de perturbations métaboliques qui ont engendré un essor de la prévalence des pathologies métaboliques chroniques telles que le diabète de type 2, l'obésité et le syndrome métabolique.

Dans ce contexte, le foie étant un organe clé du métabolisme, il peut être particulièrement sensible à ces déséquilibres entraînant une perte de sensibilité à l'insuline. Cela peut alors favoriser le développement de maladies du foie « gras » ou NAFLD (*Non alcoholic fatty liver diseases*), telles que la stéatohépatite non alcoolique, communément appelée NASH (*Non-alcoholic steatohepatitis*).

1. L'obésité

L'obésité est une condition pathologique caractérisée par une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle représentant un risque pour la santé. Elle résulte notamment d'un déséquilibre en l'apport calorique et la dépense énergétique sur le long terme. Elle est établie lorsque l'indice de masse corporelle (IMC) est supérieur ou égal à 30, correspondant au rapport entre le poids (en kg) et le carré de la taille (en mètres) de l'individu. Initialement considérée comme un problème propre aux pays riches, l'obésité augmente désormais de façon spectaculaire dans les pays à faible ou moyen revenu, surtout en milieu urbain. Cet état multifactoriel est considéré alors comme une pandémie, puisque sa prévalence a triplé au niveau mondial entre 1975 et 2016, pour atteindre 13% de la population adulte mondiale¹. Les traitements pharmacologiques de l'obésité (Orlistat, Rimonabant, Sibutramine...) sont peu nombreux et la plupart d'entre eux ont été retirés du marché à cause d'une efficacité modeste sur le long terme.

2. Le syndrome métabolique

Le syndrome métabolique n'est pas une maladie en soi, mais correspond à un ensemble d'anomalies métaboliques asymptomatiques, dont les mécanismes physiopathologiques ne sont pas encore élucidés, résultant de la prévalence élevée de l'obésité. La définition clinique exacte du syndrome métabolique diffère selon les pays et les

organismes de santé, ce qui complique son diagnostic, mais la Fédération Internationale du Diabète (*International Federation of Diabetes*, IFD) a établi un consensus en réunissant un grand nombre d'experts en 2006. Ce consensus a abouti à une définition globale, permettant d'établir le diagnostic lorsqu'une personne présente une obésité centrale (définie par le tour de taille supérieur à 102 cm chez l'homme et 88 cm chez la femme, et en considérant l'origine ethnique) associée à deux des quatre facteurs ci-dessous (*Tableau 1*) :

Tableau 1 : Facteurs associés à la définition du syndrome métabolique

Taux élevé de triglycérides	> 150 mg/dL (1,7 mmol/L) <i>Ou traitement spécifique de ce trouble lipidique</i>
Faibles taux de cholestérol HDL	< 40 mg/dL (1,03 mmol/L) chez les hommes < 50 mg/dL (1,29 mmol/L) chez les femmes <i>Ou traitement spécifique de ce trouble lipidique</i>
Hypertension artérielle	Systolique \geq 130 mmHg ou diastolique \geq 85 mmHg <i>Ou traitement d'une hypertension diagnostiquée précédemment</i>
Taux élevé de glycémie à jeun	> 100 mg/dL (5,5 mmol/L) <i>Ou diabète de type 2 diagnostiqué précédemment</i>

HDL : High density lipoprotein

La prévalence du syndrome métabolique étant dépendante de sa définition, de l'année de l'étude, de l'âge et du sexe de la population, il est difficile d'établir un réel dénombrement des personnes atteintes dans le monde. Globalement, il est estimé qu'environ 25% de la population adulte mondiale est touchée par cette condition, avec une prévalence atteignant 30% aux États-Unis. Actuellement, en dehors des mesures hygiéno-diététiques, et le contrôle des facteurs de risque individuels, il n'existe aucun traitement pharmaceutique spécifique du syndrome métabolique.

3. Le diabète de type 2

Le diabète de type 2 ou diabète non-insulinodépendant, représentant 90 à 95% des cas de diabète, est une maladie métabolique chronique caractérisée par une hyperglycémie à jeun (≥ 7 mmol/L ou 1,26 g/L). Il résulte de la combinaison malheureuse d'une résistance à l'insuline couplée à une défaillance des cellules β -pancréatiques. La résistance à l'insuline est un état pathologique dans lequel l'insuline produit des effets moindres par rapport à ceux attendus. Cela se traduit notamment par une diminution de la captation du glucose par le muscle et le tissu adipeux, une augmentation de la néoglucogenèse hépatique et une augmentation de la lipolyse du tissu adipeux.

Le diabète de type 2 est une épidémie mondiale et l'une des maladies chroniques les plus répandues, avec 422 millions d'adultes touchés dans le monde en 2014, en comparaison

avec 108 millions de cas en 1980, et une prévalence ayant augmenté de 4,7% à 8,5% en 35 ans². En France, 3,3 millions de personnes sont atteintes, soit 7,3% de la population adulte⁹. Ces chiffres sont estimés sans compter les nombreux diabétiques qui s'ignorent, ainsi que le nombre croissant d'enfants atteints. Au cours de ces dernières décennies, sa prévalence a connu une ascension fulgurante dans les pays à revenus faibles et moyens en comparaison aux pays à revenus élevés. Selon l'OMS, le développement du diabète de type 2 est d'origine polygénique et environnementale, lié à l'obésité et le surpoids (en particulier l'obésité abdominale), le manque d'activité physique, ainsi qu'une alimentation déséquilibrée, riche en acides gras saturés et pauvre en polysaccharides non amidonnés. Les complications du diabète sont nombreuses, liées à une glucotoxicité sur le long terme, et se divisent notamment en complications microvasculaires (rétinopathies, néphropathies, neuropathies périphériques...) et macrovasculaires (infarctus, AVC...).

III. Définition de la maladie du foie gras (NAFLD) et de la stéatohépatite non alcoolique (NASH)

La stéatohépatite non alcoolique (NASH), et communément appelée maladie du soda, est une « maladie du foie gras », ou *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD). Cette appellation regroupe un éventail de désordres hépatiques, où la présence d'une accumulation anormale de lipides dans le foie (>5%) n'est pas liée aux autres causes connues de foie gras telles que la consommation excessive d'alcool, une hépatite virale ou auto-immune ou encore un traitement médicamenteux ; mais liée au mode de vie. Les troubles hépatiques concernés sont divers, de la simple accumulation de lipides (principalement triglycérides) dans les hépatocytes (stéatose), à laquelle peut s'ajouter une inflammation (stéatohépatite), voire une fibrose entraînant progressivement une cirrhose et pouvant potentiellement aboutir à un carcinome hépatocellulaire (Figure 7).

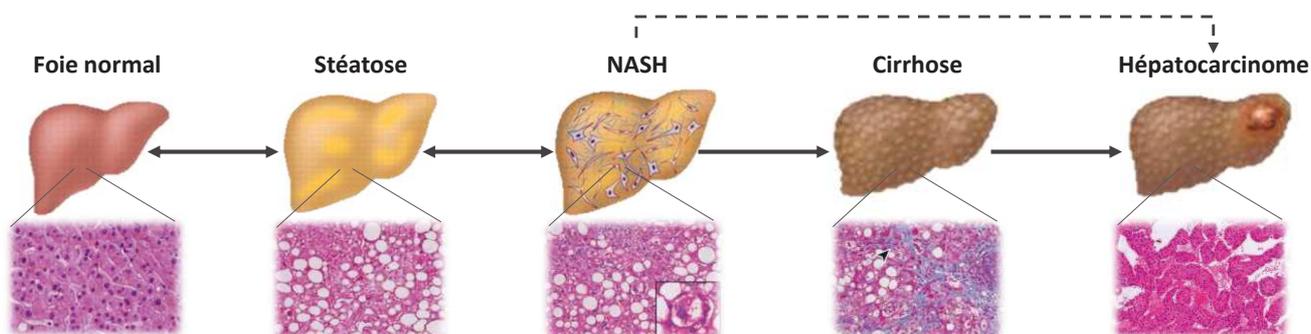


Figure 7 : Spectre des différentes hépatopathies rencontrées dans la NAFLD et illustration histologique

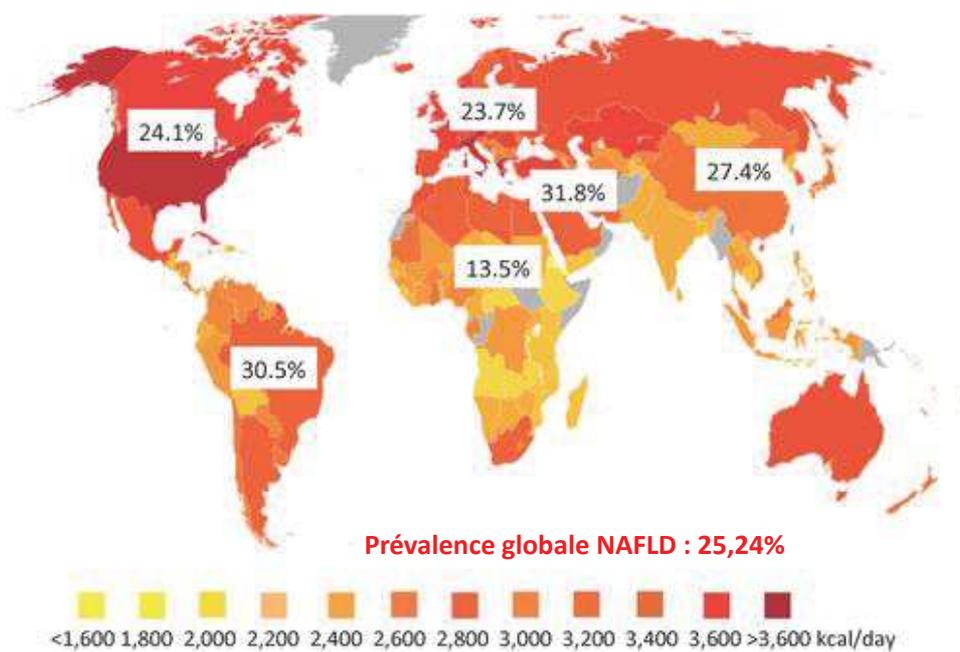
La stéatohépatite non alcoolique (NASH), ou stéatohépatite métabolique, est caractérisée par une stéatose associée à une inflammation, une ballonnisation des hépatocytes et éventuellement une fibrose, qui peut à terme évoluer en cirrhose. Ce dernier stade est irréversible, c'est pourquoi la NASH est devenue la seconde cause d'indication pour une transplantation hépatique aux Etats-Unis. Il est même estimé qu'elle pourrait rapidement se placer en tête de la liste d'attente de transplantation et devancer les indications dans le cadre d'une hépatite C, puisque les inscriptions concernant des patients atteints NASH ont presque triplé entre 2004 et 2013, alors que celles concernant l'hépatite C sont restées constantes¹⁰.

IV. Epidémiologie de la NAFLD

La NAFLD représente la maladie hépatique la plus courante dans le monde. La prévalence de la NAFLD est en augmentation dans presque toutes les régions du monde, parallèlement à l'épidémie d'obésité. Les pays occidentaux et industrialisés sont les plus concernés, mais elle touche aussi de plus en plus les enfants dans les pays en voie de développement, atteints de malnutrition. Une méta-analyse de 2016 réalisée par Younossi et al.¹¹ sur différentes études d'épidémiologie de la NAFLD depuis 1989 et regroupant plus de 8,5 millions d'individus a montré que dans le monde, la maladie du foie gras touche environ 1/4 de la population adulte, et sa prévalence augmente avec l'âge. Ils ont également observé une plus forte proportion de personnes atteintes au Moyen-Orient (32%) et en Amérique du Sud (31%) alors qu'une plus faible proportion en Afrique (14%) a été mesurée en comparaison à celle de l'Europe (24%) et de l'Amérique du Nord (24%) (*Figure 8*). Une prévalence d'environ 60% de NASH a été estimée parmi les patients atteints de NAFLD ayant eu une biopsie hépatique sur indication clinique. Dans la population générale, la prévalence de la NASH a été estimée de 1,5 à 6,45%¹¹. Cependant, compte tenu de la nécessité d'une confirmation histologique du diagnostic de la NASH, il est difficile d'avoir une estimation réelle de la prévalence de la NASH dans la population générale. La NAFLD touche principalement les adultes entre 40 et 60 ans, avec un risque deux fois supérieur pour les hommes par rapport aux femmes¹². Cependant, après 60 ans les femmes semblent d'avantage touchées.

Aux Etats-Unis, la NAFLD touche environ 25% de la population (soit 100 millions de personnes) et environ 5% de la population est atteinte de la NASH. Concernant la France, très peu de données épidémiologiques sur la NASH sont disponibles. Dans une récente cohorte rassemblant 200 000 volontaires français, il semblerait par extension que près d'un français sur 5, soit 8 millions de français, seraient atteints de NAFLD, dont 2,8% atteints de NASH¹³.

Younossi et al. ont observé une prévalence moyenne de la NAFLD en Europe similaire à celle des Etats-Unis, avec une variation entre 5% et 44% en fonction des pays¹³. Cette fréquence rejoint celle des Etats-Unis puisque le mode de vie Européen se tourne vers le modèle Américain. De plus, aux Etats-Unis, la prévalence de ces pathologies varie en fonction de l'éthnicité, puisqu'elles touchent particulièrement les populations Hispaniques (45%), en comparaison aux populations blanches (33%) et aux Afro-Américains (24%). Ceci peut en partie être expliqué par une plus forte prévalence de l'obésité et de l'insulinorésistance dans ce groupe ethnique¹⁴.



*Figure 8 : Prévalence de la NAFLD et apports caloriques journaliers dans le monde
D'après Rinella & Charlton, Hepatology, 64(1) 19-22, 2016*

Ainsi, l'obésité est un facteur de risque majeur de développement de la NAFLD et de la NASH, et l'obésité caractérisée de « centrale », incluse dans les critères de diagnostic du syndrome métabolique, est principalement associée aux maladies du foie gras, en partie car elle favorise l'installation d'une insulinorésistance au niveau de l'organisme. D'ailleurs, dans les études de Younossi et al.^{11,13}, une obésité était présente dans 51% des individus atteints de NAFLD et 82% de ceux atteints de NASH. En outre, 23% et 47% des patients ayant respectivement une NAFLD ou une NASH étaient également atteints de diabète de type 2.

Cependant, compte-tenu de la complexité du diagnostic et de la multiplicité des critères, la prévalence de la NAFLD et de la NASH dans la population générale est difficile à mesurer et celle-ci est probablement largement sous-estimée.

V. Etiologies et facteurs de risque de la NAFLD

La NAFLD est souvent liée à une alimentation hypercalorique, riche en sucres simples (en particulier le fructose) et en acides gras à longue chaîne saturés, en association avec un mode de vie sédentaire et une faible activité physique¹⁵. Cette exposition prolongée à des stimuli toxiques provoque à terme des dérèglements métaboliques. Ainsi, la NAFLD est étroitement associée à des maladies métaboliques : obésité, hyperlipidémie, diabète de type 2 ou insulino-résistance. Elle représente également la manifestation hépatique du syndrome métabolique. De plus, d'autres conditions variées sont également associées à la NAFLD : syndrome des ovaires polykystiques, hypothyroïdisme, syndrome de l'apnée du sommeil, insuffisance pituitaire, hypogonadisme, résection pancréatique-duodénale ou encore le psoriasis.

La corrélation entre l'obésité et l'augmentation concomitante de la prévalence et de la sévérité de la NAFLD est bien décrite dans la littérature scientifique. On estime que dans la population obèse, environ 80% des patients sont atteints de NAFLD et 25% des patients sont atteints de NASH, alors que dans la population générale, la NAFLD et la NASH touchent respectivement 25% et moins de 10% de la population. Cette proportion est encore plus importante chez patients atteints d'obésité morbide, puisque 90% d'entre eux sont touchés par la NAFLD¹⁶. En effet, l'adiposité viscérale est considérablement associée au développement de la NASH¹⁷. De plus, les éléments du syndrome métabolique (obésité centrale, hypertriglycéridémie, glycémie à jeun élevée...) font partie des plus grands facteurs de risque de développement de NAFLD.

La corrélation entre la NAFLD et le diabète de type 2 est moins flagrante et plus difficile à étudier car les méthodologies des études sont variables. Toutefois, des études ont montré qu'une NAFLD pouvait toucher jusqu'à 70% des patients diabétiques¹⁶. De plus, 20% des patients diabétiques asymptomatiques peuvent être diagnostiqués comme présentant une NASH par biopsie. Il existe une association bidirectionnelle entre la NAFLD et le diabète de type 2. D'ailleurs, ces deux pathologies peuvent se développer presque simultanément chez un patient, ce qui peut confondre la prévalence de la NAFLD dans la population de diabétiques et celle du diabète de type 2 dans les populations atteintes de NAFLD. Egalement, le diabète semble jouer un rôle prépondérant dans la progression de la NAFLD et augmente le risque de développement de formes plus sévères, incluant la fibrose, la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire¹⁸ (*Figure 9*).

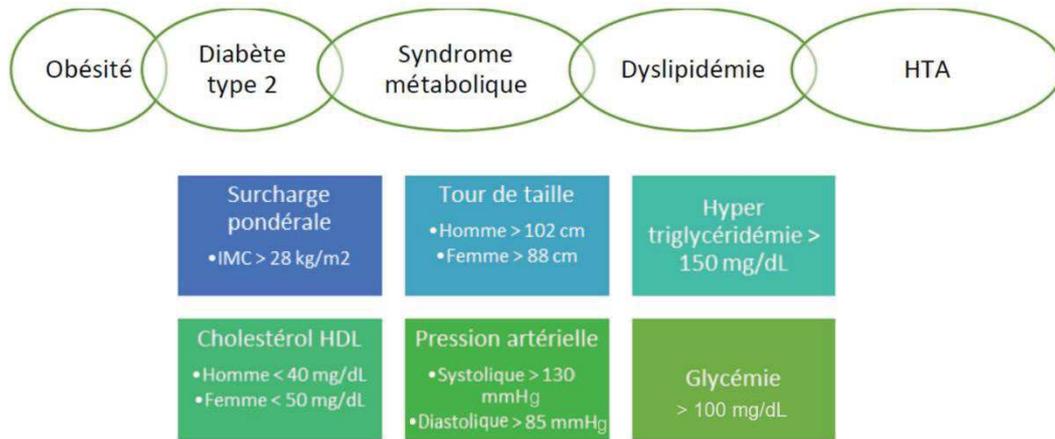


Figure 9 : Facteurs de risque les plus représentés pour le développement des NAFLD

Outre les perturbations métaboliques, des traitements pharmacologiques peuvent également favoriser le développement d'une stéatohépatite. Par exemple, l'amiodarone et le tamoxifène ont été identifiés comme traitements causaux d'une stéatohépatite. De plus, les corticostéroïdes et les œstrogènes peuvent accélérer la NASH chez des personnes prédisposées en exacerbant l'insulinorésistance, l'obésité abdominale, le diabète ou l'hypertriglycéridémie. Aussi, le méthotrexate pourrait être responsable d'une aggravation de la fibrose hépatique dans la NASH. Ces stéatohépatites sont liées à une exposition prolongée (supérieure à 6 mois) et à une possible accumulation du médicament induisant notamment une atteinte mitochondriale et la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS)¹⁹.

VI. Physiopathologie de la NASH

Bien que de grands progrès aient été accomplis depuis que la NASH ait été décrite pour la première fois par Ludwig et al. en 1980²⁰, la pathogenèse n'a pas encore été clairement élucidée. Il semblerait que le développement de la NASH implique non seulement l'action des hépatocytes mais aussi d'autres types cellulaires hépatiques, et d'autres organes (*Figure 11*).

1. Hépatocytes et stéatose hépatique

Evidemment, la stéatose hépatique, caractérisée par l'accumulation d'acides gras (triglycérides) sous forme de gouttelettes dans le cytoplasme des hépatocytes, représente un événement fondamental dans le développement de la NASH. Elle résulte principalement d'un désordre au niveau du métabolisme lipidique. Cette accumulation peut être attribuable à une lipogenèse accrue, une mauvaise excrétion des lipides, ou encore une diminution de la β -oxydation des acides gras libres dans les hépatocytes. Il est estimé que chez les patients atteints de NAFLD, 15% du contenu en triglycérides hépatiques provient de l'alimentation,

60% du tissu adipeux et 25% résulte des hépatocytes eux-mêmes via la lipogenèse *de novo*²¹. La lipogenèse *de novo* est activée par l'expression de nombreuses enzymes lipogéniques sous le contrôle de facteurs de transcription, tels que SREBP-1c²². De plus, la stéatose et le développement de la NASH sont associés à l'insulinorésistance, affaiblissant la β -oxydation des acides gras par le foie, et favorisant un afflux excessif d'acides gras libres du tissu adipeux vers le foie. Il est également reconnu qu'une simple stéatose aura souvent une tendance significative à progresser vers une NASH, cependant les mécanismes sous-jacents n'ont pas encore été complètement élucidés²³. Probablement, un déséquilibre entre les voies d'apports ainsi que leurs voies cataboliques ou d'export d'acides gras serait à l'origine de la progression de la NAFLD en NASH. Notamment, un défaut de la sécrétion des triglycérides sous forme de VLDL a été identifié comme facteur contributif majeur aux lésions hépatiques²⁴.

Ainsi, une théorie a initialement été suggérée par Day et James²⁵ sur le modèle d'une double cause dans le développement de la NASH : c'est la « *two-hit hypothesis* ». Selon ce modèle, la stéatose hépatique résultant de l'insulinorésistance et d'un excès d'acides gras dans les hépatocytes représente le premier « *hit* ». Celui-ci sensibilise le foie à des événements postérieurs représentant le deuxième « *hit* » et aboutissant à une inflammation, une lésion hépatique et éventuellement à une fibrose. Ce deuxième choc favorise donc la progression de la stéatose vers la NASH et comprend le stress oxydatif, la dysfonction mitochondriale ou encore le **stress réticulaire** (Figure 10).

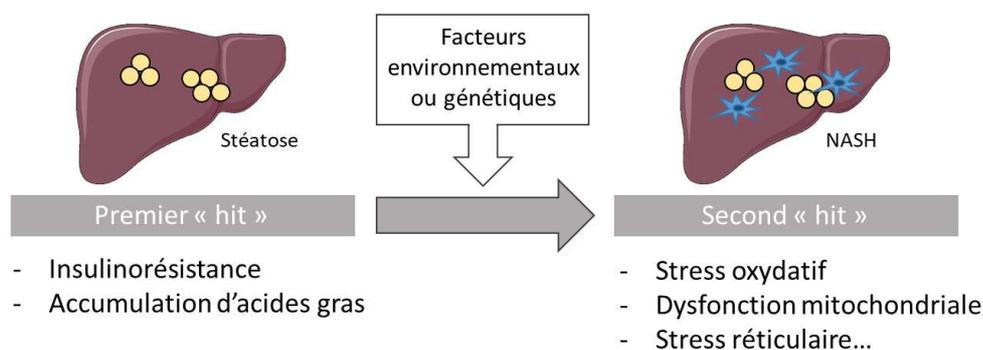


Figure 10 : Schéma simplifié de la théorie "two-hit hypothesis" dans la physiopathologie de la NASH

Cette hypothèse signifie donc que l'accumulation de triglycérides est nécessaire au développement de la NASH. Cependant, des études ont montré que cette accumulation n'est pas pathologique en soi. Ceci pourrait même jouer un rôle protecteur dans les hépatocytes contre la lipotoxicité induite par d'autres acides gras et métabolites tels que le diacylglycérol, les céramides et les acylcarnitines. Ainsi, une autre hypothèse a été proposée, excluant les triglycérides dans la contribution aux dommages hépatiques, à l'inflammation et à la fibrose²³.

En outre, avec l'identification croissante de nouveaux facteurs contributifs, le développement de la NASH a clairement été qualifié de multifactoriel, ce qui a fait évoluer les théories vers l'hypothèse de causes parallèles multiples, ou « multiple parallel hits hypothesis »²⁶. Dans ce modèle, les causes parallèles peuvent être une perturbation du métabolisme lipidique, une lipotoxicité, un stress oxydatif, une dysfonction mitochondriale, un stress réticulaire, une perturbation du microbiote intestinal, un dérèglement cytokinique ou adipokinique ou encore une prédisposition génétique.

2. Prédisposition génétique

Parmi les facteurs de prédisposition génétique identifiés par les études GWAS (*Genome-wide association study*) la mutation rs738409 du gène PNPLA3 (*Patatin-like phospholipase domain-containing 3*), codant pour la protéine adiponutrine, a été identifiée comme facteur de risque majeur de développement de la NAFLD. Ce polymorphisme résulte d'une mutation faux-sens où une isoleucine a été remplacée par une méthionine au niveau du codon 148 du gène (I148M). Cette protéine est exprimée dans le foie et le tissu adipeux et est localisée à la membrane du réticulum endoplasmique et à la surface des gouttelettes lipidiques. Son rôle dans la physiopathologie de la NAFLD reste méconnu puisque les souris déficientes ne développent ni stéatose ni dommages hépatiques. Cependant, des études *in vitro* ont suggéré que PNPLA3 serait un gène cible de SREBP-1c, et jouerait un rôle dans l'accumulation des lipides. La mutation I148M de PNPLA3 résulte en une perte de ses activités de phospholipase, triglycérides lipase et acylglycérol transacylase, impliquées dans le remodelage des gouttelettes lipidiques et la sécrétion de VLDL. Dans ces études GWAS, d'autres variants ont été associés aux NAFLD tels que la mutation E167K dans le gène TM6SF2 (*Transmembrane 6 superfamily member 2*), induisant également une réduction de la sécrétion de VLDL²³. La progression de la NAFLD a également été corrélée à FDFT1 (*Farnesyl transferase 1*), une protéine impliquée dans la biosynthèse du cholestérol. Enfin, le gène EFCAB4B (*EF-hand calcium binding domain 4B*), codant pour une protéine impliquée dans le transport du calcium et l'immunité adaptative, a été associé à l'inflammation lobulaire dans la NASH²⁷. Cette liste n'est pas exhaustive et de nombreux autres gènes ont été associés à la NAFLD.

3. Cellules de Kupffer et inflammation

Le système immunitaire attire de plus en plus l'attention dans la pathogenèse de la NAFLD et de la NASH. Les macrophages résidents du foie, les cellules de Kupffer, semblent jouer un rôle prépondérant dans le développement de la NASH. En effet, de nombreux stimuli

associés aux maladies métaboliques pourraient activer ces cellules. Ces stimuli sont variés et regroupent une augmentation de la captation de cholestérol, les acides gras saturés, les lipides peroxydés, les substances issues du microbiote, ou encore les ROS. Par conséquent, l'activation des cellules de Kupffer favorise la production de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF α (*Tumor necrosis factor α*) et l'IL-1 β (Interleukine-1 β) participant aux dommages hépatiques via le recrutement d'autres cellules inflammatoires telles que les lymphocytes T cytotoxiques²⁸.

4. Cellules stellaires hépatiques et fibrose

Le développement de la fibrose est attribuable à l'activation des cellules stellaires hépatiques. Une fois activées, ces cellules analogues aux fibroblastes se différencient, prolifèrent et sécrètent du collagène ainsi que d'autres constituants de la matrice extracellulaire qui s'accumulent et s'associent en fibrilles. Ceci contribue au remplacement du tissu fonctionnel par du tissu fibreux, réduisant la fonction et l'élasticité hépatique. Les mécanismes conduisant à l'activation de ces cellules ne sont pas encore complètement élucidés. Leur activation pourrait notamment être induite par les cytokines pro-inflammatoires sécrétées par les cellules de Kupffer ou d'autres cellules immunitaires. D'autres signaux pro-fibrotiques tels que le TGF- β (*Transforming growth factor β*), la leptine et le PDGF pourraient conduire à leur activation. Egalement, elles pourraient directement être activées par les stimuli inflammatoires puisqu'elles expriment les récepteurs de l'immunité innée Toll-like (TLR)²⁹. En retour, les cellules stellaires seraient capables de participer à l'amplification de la réponse inflammatoire initiale ainsi qu'à la résolution de l'inflammation en sécrétant respectivement de l'IL-6 et de l'IL-10^{30,31}.

5. Signaux extra-hépatiques

a. Rôle du tissu adipeux

D'une part, il a été observé que les patients atteints de NAFLD présentaient un élargissement et une hypertrophie du tissu adipeux associés à un excès de stockage d'acides gras entraînant une insulino-résistance et une sécrétion altérée d'adipokines (TNF- α , IL-6, adiponectine, leptine). De plus, la masse du tissu adipeux et l'insulino-résistance sont fortement corrélées à la sévérité de la NASH³². L'insulino-résistance est responsable d'une lipolyse accrue résultant en un relargage important d'acides gras libres dans la circulation et captés par le foie. La surcharge hépatique en acide gras est d'autant plus amplifiée par un défaut de sécrétion de l'adiponectine, impliquée dans l'oxydation des acides

gras dans le foie. En outre, une altération de la sécrétion de leptine est responsable d'une dérégulation de la balance énergétique au niveau du système nerveux central³³. De plus, le tissu adipeux est une source importante de signaux inflammatoires en cas d'obésité puisque les patients obèses ont des taux sériques élevés de TNF α , IL-6 et IL-1 β produits par le tissu adipeux, ce qui peut contribuer à l'évolution de la NAFLD en NASH, et à la fibrose³⁴.

b. Rôle du microbiote intestinal

De récentes études chez l'homme et la souris ont montré que la NAFLD était associée à une composition altérée du microbiote intestinal. De plus, une augmentation de la perméabilité intestinale est associée à l'obésité et à la NAFLD, cependant il n'est pas encore certain que ce soit une cause ou une conséquence de la maladie³⁵. Les effets du microbiote sur le métabolisme hépatique pourraient être médiés par une altération de sa diversité, avec une augmentation de la production de lipopolysaccharide (LPS), d'acides gras libres à chaîne courte (acétate, propionate et butyrate) et d'éthanol, une modification des acides biliaires, ainsi qu'une réduction de la production de choline, favorisant le développement de la stéatose hépatique²³. De plus, les interactions entre le foie et les intestins via la circulation entéro-hépatique des acides biliaires, régulant l'homéostasie lipidique et la sensibilité à l'insuline, pourraient également être impliquées dans la NAFLD. En effet, il semblerait que l'obésité ou le diabète seraient associés à une diminution de l'activité du récepteur hépatique des acides biliaires, FXR (*Farnesoid X receptor*), ainsi qu'à une altération du métabolisme des acides biliaires, ce qui pourrait interférer avec le métabolisme hépatique des lipides³⁶.

c. Rôle du muscle squelettique

Le muscle squelettique, responsable notamment de la captation de 80% du glucose post-prandial, joue un rôle important dans la balance énergétique, ce qui pourrait avoir des conséquences dans les NAFLD. La résistance à l'insuline du muscle a été proposée comme un mécanisme majeur de contribution à la pathogenèse des NAFLD, dû à une diminution de l'utilisation du glucose plasmatique et de la dépense énergétique³⁷. De plus, de nombreux signaux de communication entre le foie et le muscle ont été identifiés, notamment concernant la production hépatique du facteur hépato-protecteur FGF-21 (*Fibroblast growth factor 21*)³⁸. Par ailleurs, des taux supérieurs de FGF-21 ont été observés chez des patients atteints de NAFLD et de NASH par rapport aux patients sains, suggérant que la NASH pourrait être la conséquence d'une résistance au FGF-21³⁹.

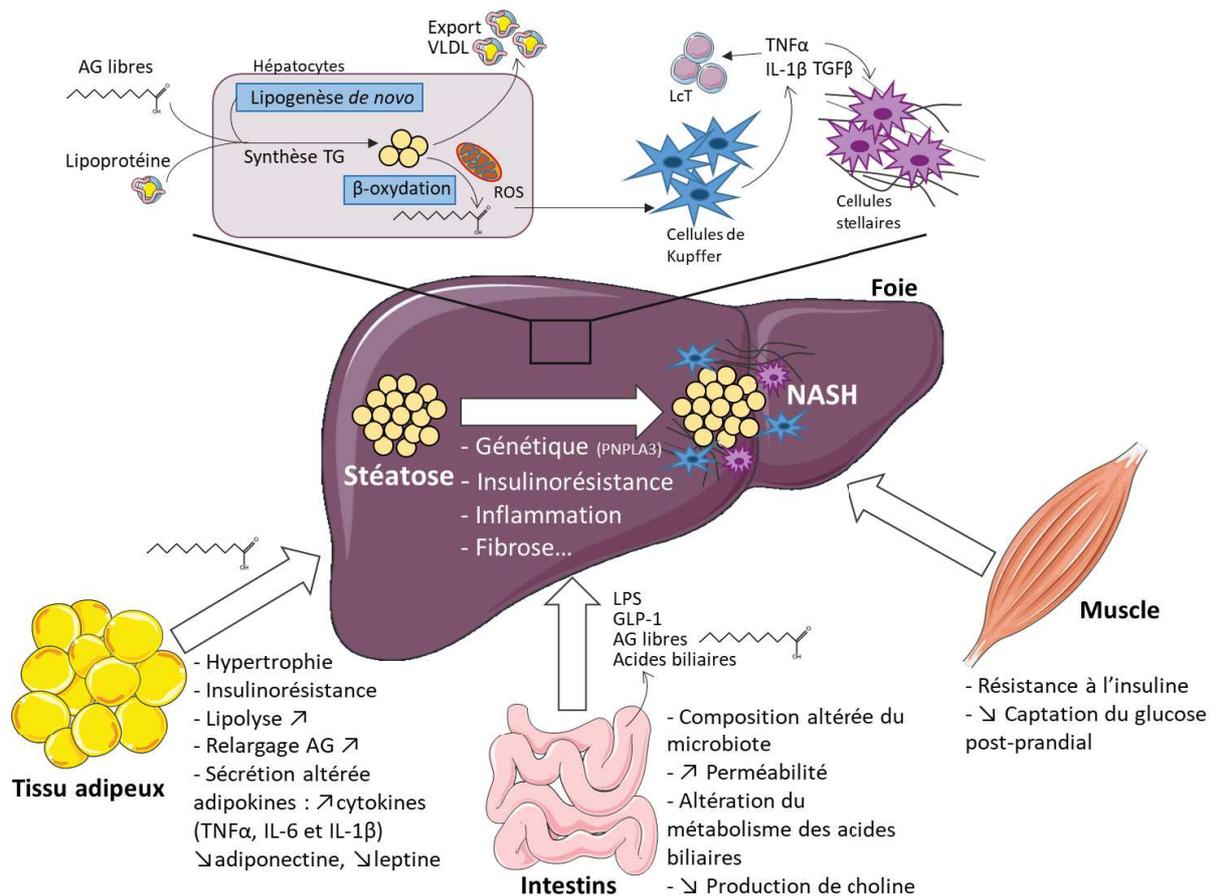


Figure 11 : Schéma simplifié de la pathogenèse de la NASH présentant les principaux organes et acteurs cellulaires et moléculaires impliqués dans le développement de la pathologie.

VII. Présentation clinique, biologique et diagnostic de la NASH

La NASH étant une affection silencieuse dans la plupart des cas, sa découverte est souvent accidentelle, au détour d'une imagerie ou d'une analyse de sang. De plus, un terrain de surpoids, de diabète de type 2, d'obésité abdominale, une dyslipidémie ou un syndrome d'apnée du sommeil peuvent être le signe d'une NAFLD. En outre, le diagnostic précoce de la NAFLD est nécessaire chez les patients présentant des anomalies métaboliques, puisqu'ils ont un risque supérieur de développer des lésions fibrotiques sévères et une cirrhose.

1. Présentation clinique

La grande difficulté du diagnostic de la NASH est le fait qu'elle soit asymptomatique dans la plupart des cas, et que les signes cliniques sont aspécifiques et peuvent être attribuables à d'autres pathologies hépatiques. C'est pourquoi le diagnostic est plutôt différentiel en excluant les autres causes de pathologies hépatiques : consommation d'alcool excessive (supérieure à 20g/j pour les femmes, 30g/j pour les hommes), présence d'infection par le virus de l'hépatite B ou C, ou encore maladie auto-immune, génétique ou d'origine toxique.

En outre, certains patients peuvent présenter une asthénie, une sensation de malaise ou d'inconfort au niveau de l'hypochondre droit. Parfois, l'examen médical peut également révéler une hépatomégalie⁴⁰. Des signes d'hypertension portale (splénomégalie, cytopénie) et de cirrhose (jaunisse, troubles digestifs, urines foncées) peuvent finalement apparaître mais principalement en cas de stade avancé de la maladie, ce qui ne facilite pas le diagnostic. De plus, il existe une hétérogénéité en clinique puisque qu'il est possible que des patients ayant une cirrhose consécutive à une NASH soient asymptomatiques.

2. Présentation biologique

Les anomalies biologiques les plus communes sont des augmentations chroniques modérées (entre 2 à 5 fois la limite supérieure et moins de 10 fois la norme) et asymptomatiques des aminotransférases ALAT (alanine aminotransférase) et ASAT (aspartate aminotransférase). Ces aminotransférases, ou transaminases, sont des marqueurs de cytolysse notamment hépatique. Néanmoins, sachant que les taux plasmatiques de ces enzymes tendent à fluctuer, il est possible qu'ils soient normaux alors que le patient est atteint d'une pathologie hépatique. C'est pourquoi leurs mesures doivent être répétées pour confirmer une éventuelle élévation, notamment chez les patients à risque de NAFLD présentant des résultats normaux. Le rapport entre ASAT/ALAT peut permettre de différencier la NASH de la ASH, puisque celui-ci est généralement supérieur à 1 en cas de NASH, contrairement à la ASH. De plus, les phosphatases alcalines et la γ -glutamyl transférase (GGT), localisées initialement dans la membrane des hépatocytes, peuvent parfois avoir leur taux plasmatique augmenté en cas de NASH. Une thrombocytopénie, une hyperferritinémie, une hyperbilirubinémie ou une hypoalbuminémie peuvent également être constatées en cas de cirrhose.

3. Méthodes de diagnostic

Le terme « NASH » a été utilisé pour la première fois en 1980 pour décrire un état stéatosique et inflammatoire au niveau du foie, non lié à la consommation excessive d'alcool, chez des patients présentant une obésité modérée et/ou un diabète de type 2, et dont l'histologie hépatique était relativement similaire à celle de la stéatohépatite alcoolique²⁰.

Le diagnostic doit être suspecté chez les patients présentant des facteurs de risques (obésité, diabète de type 2, dyslipidémie) et des marqueurs de cytolysse inexplicée (élévation des transaminases pendant plus de 6 mois) suggérant une hépatopathie. Un programme de dépistage du NASH dans la population générale n'étant pas recommandé, l'objectif principal est de dépister les patients les plus à risque de NASH et de complications hépatiques.

d. Diagnostic par imagerie ⁴¹⁻⁴³

L'imagerie est très utile pour une évaluation non-invasive de la stéatose ou de la fibrose associées aux maladies hépatiques.

D'une part, pour le diagnostic de la stéatose, l'échographie reste la procédure idéale pour un diagnostic de première intention chez une large population à risque. Elle permet d'évaluer la taille, la forme ainsi que le flux sanguin du foie, mais n'est pas quantitative. Ainsi, l'observation d'une hépatomégalie ou d'un foie hyperéchogène (brillant) à l'échographie peut être attribuable à une stéatose hépatique (Figure 12). Cette technique a l'avantage d'être peu coûteuse, facile à mettre en œuvre, et elle permet de mettre en évidence les stéatoses modérées à sévères (sensibilité 80%, spécificité 86%). Cependant, elle est peu fiable pour la mise en évidence des stéatoses légères et le diagnostic est opérateur-dépendant.



Figure 12 : Observation par échographie d'un foie normal (A) en comparaison avec un foie stéatosique (B) où l'on peut observer une légère hyperéchogénicité du parenchyme par rapport au rein droit adjacent. D'après Patel et al., *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 5(1), 91–104 (2011)

En outre, la tomodensitométrie (*computed tomography, CT*, en anglais), ou scanner, permet une détection quantitative d'une stéatose hépatique en comparant l'atténuation du foie par rapport à celle de la rate (Figure 13). Cet outil est utile pour détecter la stéatose à condition qu'elle soit modérée ou sévère, avec une sensibilité de 82% et une spécificité de 100%. Mais cette technique présente un coût plus élevé et un risque d'irradiation. C'est pourquoi elle est plutôt réservée à l'évaluation des candidats au don lors d'une transplantation hépatique.

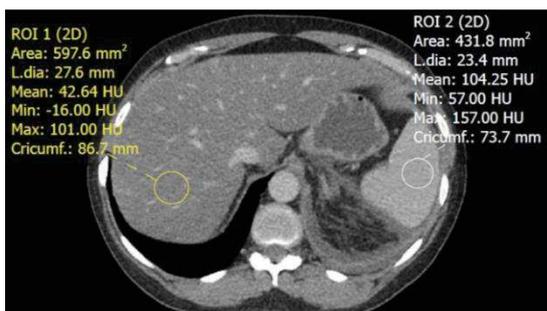


Figure 13 : Observation par tomodensitométrie d'un foie stéatosique. Le foie a une atténuation de 42,64 HU (Hounsfield units) et la rate a une atténuation de 104,25 HU. Une différence d'atténuation de 62 HU est fortement évocatrice d'une NAFLD (doit être supérieure à 20 HU) D'après Li et al., *World J Hepatol.*, 10(8), 530-542 (2018)

Également, la spectroscopie à résonance magnétique, et plus particulièrement l'imagerie par résonance magnétique (IRM, ou *magnetic resonance imaging, MRI*, en anglais) peut être utilisée pour identifier une stéatose hépatique (Figure 14). Par ailleurs, l'IRM est largement utilisée dans les études cliniques sur les NAFLD comme méthode non-invasive de référence pour la quantification de la stéatose hépatique. L'IRM est fiable et reproductible, elle est plus sensible (jusqu'à 90%), elle permet même de détecter une légère stéatose et est capable de calculer un pourcentage de graisse composant le foie (pathologique si supérieur à 5%). Son coût étant plus élevé, elle est plutôt réservée au suivi de l'efficacité du traitement chez les patients atteints de NAFLD.

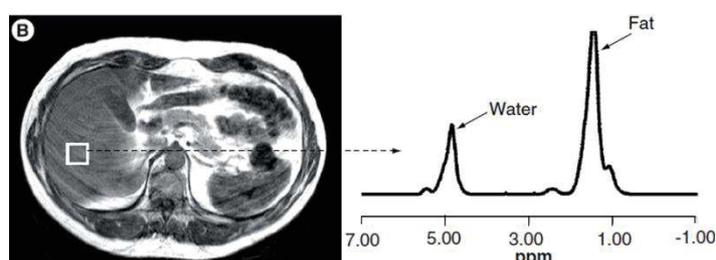


Figure 14 : Observation par IRM du foie d'un patient atteint d'une stéatose et spectre RMN ¹H correspondant. Le ratio entre le pic de graisse (fat) à 1,3 ppm et le pic d'eau (water) à 4,7 ppm permet de quantifier le contenu en lipides hépatiques. D'après Patel et al., Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol. 5(1), 91-104 (2011)

D'autre part, le suivi de l'évolution de la maladie et de la fibrose chez les patients est habituellement réalisé grâce à l'évaluation du degré de raideur du foie par élastographie ultrasonore (USE), ou élastographie par résonance magnétique (MRE), ou encore par élastographie transitoire (TE). Ces techniques permettent de différencier une NASH d'une simple stéatose avec une bonne sensibilité (94%), spécificité (73%) et fiabilité grâce à la mesure de la vitesse d'une onde de cisaillement se propageant à travers le foie. En particulier, l'Elastographie Impulsionnelle à Vibration Contrôlée (VCTE) est une technique prometteuse pour l'évaluation de la fibrose. Par ailleurs, cette méthode non-invasive, également appelée FibroScan® et commercialisée par Echosens, a été récemment approuvée par la FDA (*Food and Drug Administration*) pour son utilisation chez les adultes et les enfants ayant une maladie hépatique (Figure 15).

Cependant, ces tests ne permettent pas d'identifier l'inflammation typique de la NASH et ne permettent pas de différencier la NASH des autres causes de stéatose hépatique.



Figure 15 : Présentation et principe du FibroScan® (Adapté du site internet www.hepatoweb.com)

a. Diagnostic histologique ^{44,45}

Actuellement, la ponction-biopsie hépatique (PBH) est encore la référence absolue pour le diagnostic de la NAFLD. Elle permet d'apprécier les degrés de stéatose, de fibrose et d'inflammation. Le diagnostic histologique de la NASH est ainsi basé sur trois anomalies majeures : stéatose, ballonisation et inflammation lobulaire. Ces anomalies histologiques sont quantifiables sous forme de score appelé NAS (*NAFLD Activity Score*), basé sur le « *NASH Clinical Research Network's Scoring System* »⁴⁴ (Tableau 2).

La stéatose peut être microvésiculaire ou macrovésiculaire en fonction de la taille des gouttelettes lipidiques à l'intérieur des hépatocytes (Figure 16). Les microgouttelettes sont considérées comme plus actives métaboliquement, alors que les macrogouttelettes indiquent un stade plus avancé de la maladie. Dans le cas de la NASH, et contrairement à la stéatose associée à l'hépatite C, la stéatose est systématisée localisée à la région centrolobulaire.

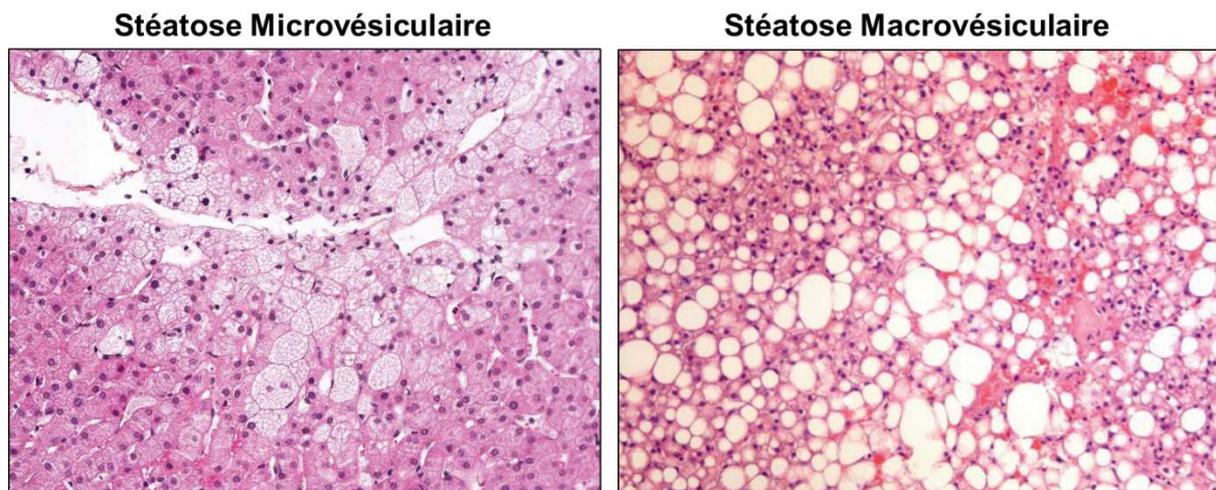


Figure 16 : Présentation histologique d'une stéatose microvésiculaire (gauche) et macrovésiculaire (droite)

La ballonisation correspond à un gonflement des hépatocytes où l'augmentation de leur taille est associée à une clarification du cytoplasme et à des noyaux repoussés à la périphérie des cellules. C'est la manifestation d'une perturbation des microtubules, signe de lésion cellulaire sévère. Dans les hépatocytes ballonisés peuvent se développer des corps de Mallory-Denk. Ce sont des agrégats protéiques intra-cytoplasmiques irréguliers, composés de filaments intermédiaires endommagés de cytokératine, hyperphosphorylés et ubiquitynés, associés à des protéines de choc thermique. Ces formations sont chimiotactiques, et les hépatocytes affectés peuvent être entourés de polynucléaires neutrophiles.

L'inflammation lobulaire est caractérisée par une infiltration de cellules inflammatoires en général mononuclées (lymphocytes, macrophages), parfois associées à quelques polynucléaires neutrophiles. Elle peut se localiser dans l'espace porte, à la jonction

entre l'espace porte et le lobule ou au sein du lobule. Elle se quantifie en fonction du nombre de foyers inflammatoires observés au grossissement 20X. Une nécrose hépatocytaire provoquant une lésion focale peut également être observée, sans topographie préférentielle.

Ces lésions nécrotico-inflammatoires peuvent être accompagnées de fibrose, liée à une activation des cellules stellaires. La fibrose induite par la NASH est similaire à celle des maladies alcooliques du foie. Elle est prédominante dans les régions centrolobulaires, induisant un épaissement de la paroi veineuse, mais peut aussi se développer précocement dans la zone portale et périportale. La fibrose associée à une stéatose est un facteur de risque d'une évolution en cirrhose.

En conséquence, grâce au système NAS de quantification histologique de la NASH, les patients peuvent être classés dans trois catégories en additionnant les scores de stéatose, de ballonisation et d'inflammation lobulaire (*Tableau 3*). Ceci est également souvent associé à un score de fibrose (*Tableau 4*). Des exemples de coupes histologiques de stéatose, ballonisation, corps de Mallory et de stades de fibrose sont présentés dans la *figure 17*.

Tableau 2 : Description des paramètres pour le calcul du NAFLD activity score (NAS)

Paramètre	Score	Observations
Stéatose	0	< 5%
	1	5-33%
	2	> 33-66%
	3	> 66%
Inflammation lobulaire	0	Aucune
	1	< 2 foyers (au grossissement x20)
	2	2-4 foyers (au grossissement x20)
	3	> 4 foyers (au grossissement x20)
Ballonisation des hépatocytes	0	Aucune
	1	Faible
	2	Importante

D'après Brunt et al., Am J Gastroenterol, 1999 94(9):2467-74

Tableau 3 : Diagnostic histologique de la NASH en fonction du score NAS

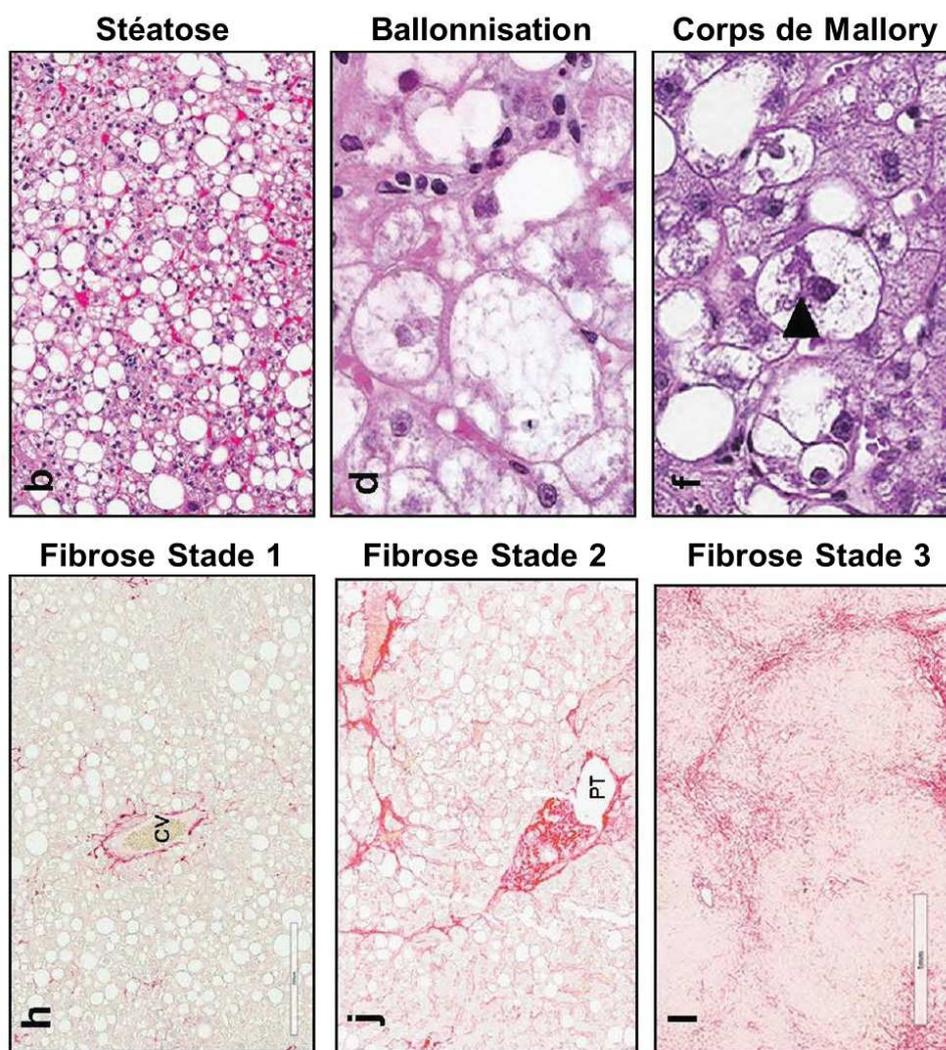
Score NAS	Diagnostic
< 3	Pas de NASH
3 - 4	NASH « borderline »
≥ 5	Présence d'une NASH

D'après Brunt et al., Am J Gastroenterol, 1999 94(9):2467-74

Tableau 4 : Description des paramètres histologiques pour déterminer le stade de fibrose

Stade	Observations histologiques
1	Fibrose périsinusoïdale focale ou extensive
2	Fibrose périsinusoïdale focale ou extensive et fibrose portale
3	Fibrose périsinusoïdale et fibrose portale en pont
4	Cirrhose

D'après Brunt et al., Am J Gastroenterol, 1999 94(9):2467-74



*Figure 17 : Présentations histologiques de la stéatose, de la ballonnisation, des corps de Mallory et des différents stades de fibrose observés à la suite de biopsies hépatiques chez l'homme
D'après Asgharpour et al., J. Hepatology, 2016 65(3):579-88*

Ce système d'évaluation de la NASH n'a initialement pas été développé pour le diagnostic mais plutôt en tant que critère d'évaluation de la progression ou la régression de la NASH dans le cadre des études cliniques. En outre, la fiabilité du NAS score et ses valeurs seuils sont remises en question, notamment car il n'est pas toujours corrélé à la progression de la fibrose lors de biopsies répétées et ne permet pas de prédire la mortalité^{44,46}.

Cette méthode de diagnostic par biopsie hépatique comporte d'importantes limites. Outre l'invasivité et le risque inhérent de complications, le risque d'erreur de diagnostic est très important en fonction de l'échantillon prélevé et de l'observateur. De plus, un inconfort ou une douleur sont ressentis par 84% des patients à la suite d'une biopsie hépatique. Enfin, des complications sévères peuvent être rencontrées : des saignements majeurs nécessitant une transfusion sanguine, une infection ou encore un décès dans 0,3% des cas²⁷. Ainsi, de nombreuses méthodes non-invasives ont été développées pour évaluer la présence de la NASH, tout en évitant les complications associées au diagnostic histologique. Ces méthodes non invasives sont en constante évolution et tendent à remplacer la biopsie hépatique.

b. Les marqueurs de diagnostic non-invasifs

Sachant que dans la plupart des cas, la NASH est asymptomatique, l'identification de critères de diagnostic et de classification fiables est primordiale. Actuellement, aucun modèle de diagnostic non-invasif pour la NASH n'a été validé dans des études à long terme. Cependant, une variété de marqueurs non-invasifs sont disponibles pour aider les cliniciens dans leur prise de décision et leur diagnostic. Par exemple, l'utilisation de marqueurs de fibrose pourrait être un moyen simple pour le dépistage des patients à risque. Des modèles prédictifs cliniques sont basés sur une combinaison de données cliniques et des résultats d'analyses de laboratoire, et sont détaillés dans le *tableau 5*^{27,47,48}. De plus, des modèles de diagnostic non-invasifs de la fibrose ont été développés et sont décrits dans le *Tableau 6*^{27,47,48}.

Cependant, ces méthodes prédictives sont controversées car en général celles-ci ne permettent seulement de mesurer qu'un paramètre (i.e. stéatose ou NASH ou fibrose) et de séparer les patients en catégories (i.e. NASH versus pas de NASH, fibrose avancée versus pas de fibrose)⁴⁸. A ce jour, ces méthodes non-invasives étant en plein développement et pas encore assez fiables, elles ne peuvent malheureusement pas complètement remplacer la biopsie hépatique, qui reste nécessaire pour confirmer le diagnostic chez les patients à haut risque de NASH ou de fibrose avancée⁴⁷.

Pour conclure, l'Association Européenne pour l'étude du foie (European Association for the Study of the Liver, EASL), en coopération avec l'Association Européenne pour l'étude du diabète (European Association for the Study of Diabetes, EASD) et l'Association Européenne pour l'étude de l'obésité (European Association for the Study of Obesity, EASO) ont émis en 2016 des recommandations générales (guidelines) afin d'aider les praticiens dans la prise en charge des patients atteints de NAFLD⁴⁹. Dans ces guidelines, un arbre décisionnel est disponible afin d'harmoniser et de faciliter la prise de décision des médecins qui suspectent une NAFLD chez leurs patients (Figure 18).

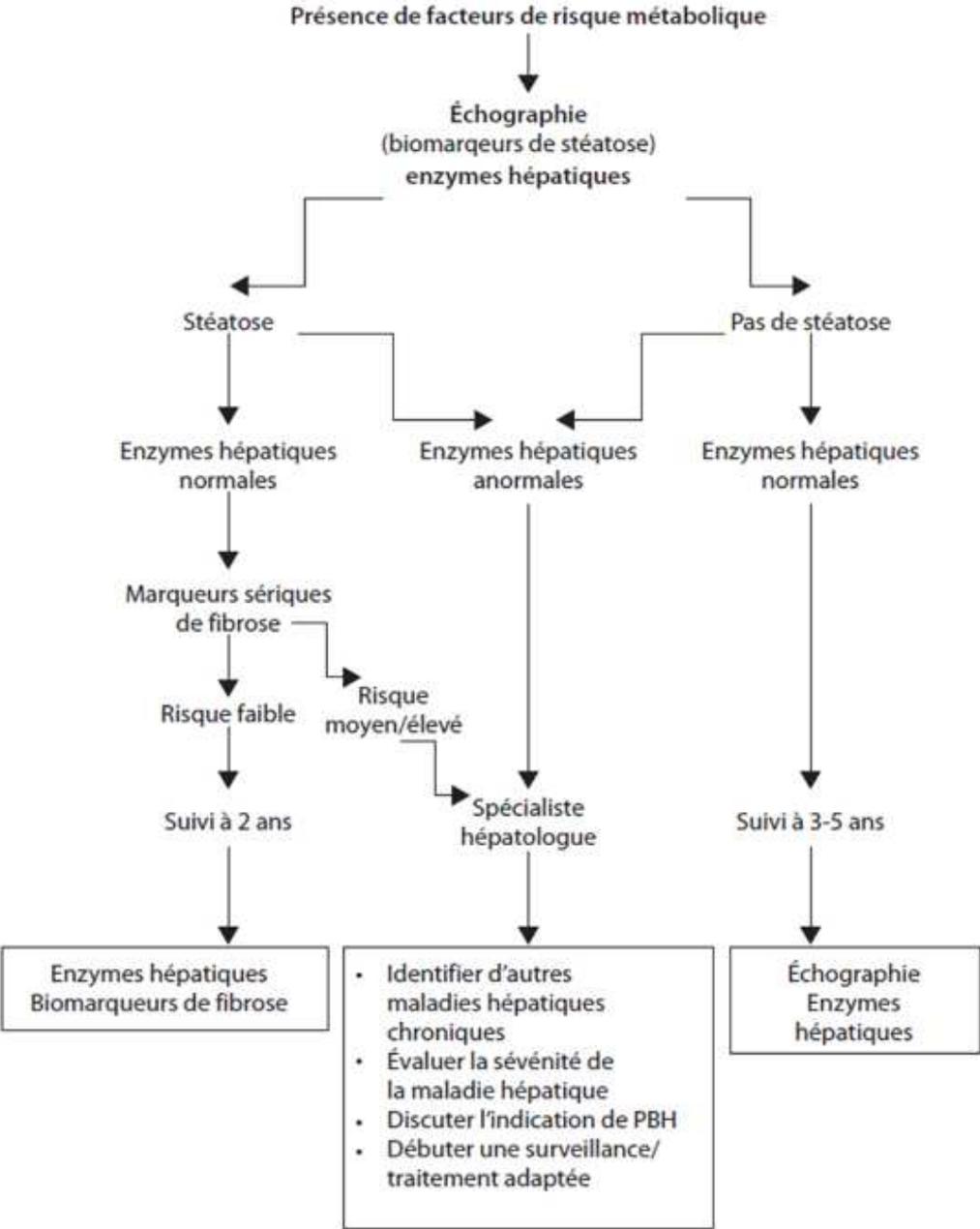


Figure 18 : Arbre décisionnel pour le diagnostic et la surveillance de la gravité de la maladie en présence de facteurs de risque métaboliques de la NAFLD établi par l'EASL, l'EASD et l'EASO.

Tableau 5 : Modèles prédictifs cliniques et biomarqueurs pour le diagnostic de la NASH

Nom	Paramètres étudiés	AUROC	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Références
HAIR test (Chez les patients atteints d'obésité morbide)	Hypertension, ALAT (>40UI/L), insulino-résistance	0,90	80%	89%	-	-	Dixon et al, 2001 ⁵⁰
NASH Clinical Scoring System (Patients en obésité morbide)	Diabète de type 2, hypertension, ASAT (>27IU/L), ALAT (>27IU/L), apnée du sommeil, origine ethnique	0,80	22%	99%	-	-	Campos et al, 2008 ⁵¹
NASH Predictive Index (NPI)	Age, sexe, IMC, HOMA-IR, log(ASATxALAT)	0,86	56%	100%	-	-	Zein et al, 2007 ⁵²
NASHTest™ (Société BioPredictive)	Age, sexe, poids, taille, cholestérol sérique, triglycérides, α 2-macroglobuline, apolipoprotéine A1, haptoglobine, GGT, ALAT, ASAT, bilirubine totale	0,78	33%	94%	66%	81%	Poynard et al, 2006 ⁵³
Nice Model (Patients en obésité morbide)	CK18, ALAT, syndrome métabolique	0,83-0,88	84%	86%	44%	98%	Anty et al, 2010 ⁵⁴
NAFLD Diagnostic Panel	Diabète de type 2, sexe, IMC, triglycérides, M30, M65+M30	0,81	-	-	-	-	Younossi et al, 2011 ⁵⁵
oxNASH	Age, IMC, ASAT, ratio acide 13-hydroxyoctadécadiénoïque/acide linoléique	-	84%	63%	-	-	Feldstein et al, 2010 ⁵⁶

Tableau 6 : Modèles prédictifs cliniques et biomarqueurs pour le diagnostic de la fibrose

Nom	Paramètres étudiés	AUROC	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Références
BARD Test	IMC, ratio ASAT/ALAT, diabète de type 2	0,77	-	-	-	96%	Harrison et al, 2008 ⁵⁷
NAFLD Fibrosis Score (NFS)	Age, IMC, hyperglycémie à jeun, numération plaquettaire, taux d'albumine, ratio ASAT/ALAT	0,85	82%	77%	56%	93%	Angulo et al, 2007 ⁵⁸
FIB-4 (développé pour l'hépatite C initialement)	Age, numération plaquettaire, ALAT, ASAT	0,86	74%	87%	61%	92%	Vallet-Pichard et al, 2007 ⁵⁹
ELF (Enhanced Liver Fibrosis) Panel (Approuvé récemment comme test commercial en Europe : ELF Test)	Acide hyaluronique, peptide N-terminal du procollagène III, TIMP1	0,90	80%	90%	71%	94%	Guha et al, 2008 ⁶⁰
FibroTest™ (Société BioPredictive)	Haptoglobine, bilirubine totale, GGT, α 2-macroglobuline, apolipoprotéine A1 + ajustement sur le sexe et l'âge	0,88	>0,3: 92% >0,7: 25%	>0,3: 71% >0,7: 97%	>0,3: 33% >0,7: 60%	>0,3: 98% >0,7: 89%	Ratziu et al, 2006 ⁶¹

AUROC : Area under ROC curve (mesure de la précision du test, idéalement AUROC=1) ; VPN : Valeur prédictive négative ; VPP : Valeur prédictive positive ; CK18 : Cytokératine 18 ; M30 : fragments de CK18, M65+M30 : fragments et forme totale de CK18 ; HOMA-IR : Homeostatic model assessment of insulin resistance (index d'insulino-résistance) ; TIMP1 : Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1
Adaptés de Fazel et al (2016), Haas et al (2016) et Alkhouri et McCullough (2012)

VIII. Pronostic et conséquences physiopathologiques de la NASH

La NAFLD était autrefois considérés comme une affection relativement bénigne. Cependant, des études à la fin des années 1980 ont révélé sa potentielle progression vers la cirrhose et l'hépatocarcinome. Malgré un bon pronostic lorsque la stéatose est optiquement isolée, les patients atteints de NAFLD ont un risque de mortalité globale accru, principalement de cause hépatique (cancer) et cardiovasculaire⁶². Selon la méta-analyse de Younossi et al., le taux de mortalité de cause hépatique et de mortalité globale a été estimé respectivement de 0,77 et 11,77 pour 1000 patients par an atteints de NAFLD, et de 15,44 et 25,56 pour 1000 patients par an pour ceux atteints de NASH¹¹. Le taux de survie à 5 et 10 ans des patients atteints de NASH peut atteindre 67% et 59% respectivement, si les décès attribuables aux comorbidités du diabète et de l'obésité sont inclus⁶³.

1. Complications hépatiques

Alors que la mortalité de cause hépatique est la 12^{ème} cause de décès dans la population générale, c'est la 2^{ème} ou 3^{ème} cause de décès parmi les patients atteints de NAFLD. Les patients atteints de NASH ont un risque de décès de cause hépatique 10 fois plus élevé que ceux atteints de NAFLD⁶⁴. La présence de fibrose est un indicateur important de cirrhose et de mortalité liée à la NAFLD. La NASH évolue chez environ 1/3 des patients à travers différents degrés de fibrose vers une cirrhose et favorise l'apparition d'un carcinome hépatocellulaire. Cependant, l'apparition du carcinome hépatocellulaire n'est pas forcément dépendante de la cirrhose⁶⁵. Aux Etats-Unis, la NAFLD et la NASH sont la 2^{nde} cause de carcinome hépatocellulaire, et cette incidence a augmenté de 9% par an⁶⁶. Le taux d'incidence d'hépatocarcinome actuel parmi les patients atteints de NAFLD est de 0,44 pour 1000 personnes par an. Des études rétrospectives ont montré qu'après 9 ans, une fibrose se développait chez 23% des patients et une cirrhose était observée chez 12% d'entre eux après 8 ans. Après 17 ans de suivi, une insuffisance hépatique touchait 3% des patients. En dernier recours, une transplantation hépatique est nécessaire chez 1 à 2% de patients atteints de cirrhose, mais une récurrence de la NAFLD après transplantation peut parfois être observée⁶³.

2. Complications extra-hépatiques

Les causes de mortalité les plus associées aux patients atteints de NAFLD sont les maladies cardiovasculaires, indépendamment des autres comorbidités métaboliques. Le risque de décès par maladie coronaire est environ deux fois plus important chez les patients

atteints de NASH en comparaison aux patients atteints de NAFLD. Aussi, les patients atteints de NAFLD sont deux fois plus à risque de développer une insuffisance rénale chronique⁶².

L'association de multiples comorbidités n'est pas surprenante compte tenu du caractère systémique du diabète ou du syndrome métabolique avec lesquels la NAFLD est étroitement liée⁶⁴. Ainsi, les NAFLD, les maladies cardiovasculaires et l'insuffisance rénale chronique font partie d'un système multi-organes avec des interactions complexes et de multiples relations de cause à effet. D'autres syndromes moins reconnus semblent également être associés à la NAFLD : l'apnée du sommeil, les cancers colorectaux, l'ostéoporose, le psoriasis ou encore des endocrinopathies telles que le syndrome des ovaires polykystiques⁶⁷.

IX. Modèles animaux de la NASH

Malgré les progrès récents, il existe encore actuellement un manque de reproduction de certains aspects essentiels de la physiopathologie humaine dans les modèles animaux de NASH. Idéalement, le modèle animal devrait développer tous les stades d'évolution de la NASH dans un contexte d'obésité et d'insulinorésistance. Mais pour l'instant, aucun modèle génétique ou diététique seul ne permet de reproduire la NAFLD, la NASH, la fibrose, et les stades ultimes de cirrhose et d'hépatocarcinome. C'est pourquoi, en pratique les recherches thérapeutiques sont focalisées sur un aspect de la NAFLD en choisissant le modèle le plus approprié pour l'étude de ce paramètre. Également, il est courant qu'un modèle génétique soit combiné à un régime afin de reproduire davantage de traits de la pathologie. Dans la plupart de ces régimes une élévation de certains marqueurs de l'ER stress a pu être constatée mais ces données restent à être confirmées. Seuls les modèles les plus communément utilisés seront décrits dans ce travail (*Tableau 7*).

1. Modèles diététiques

L'alimentation étant largement impliquée dans le développement et la progression de la NASH, des régimes enrichis en graisses (*high-fat diet*, HFD) ou en sucres (*high-glucose/sucrose/fructose diet*) ou une combinaison des deux (*western diet*, WD) ont été développés afin de reproduire les conditions métaboliques de développement de la NASH. L'apparition des différents éléments de la NASH peut être variable en fonction des régimes, de la durée de ceux-ci et de l'espèce ou la souche utilisée comme modèle.

Le régime *high-fat*, est très aléatoire en fonction de sa composition (45 à 75% de graisses), de l'espèce, de la souche et même du sexe de l'animal. Les souris de souche C57Bl6/J

sont plus insulino-résistantes que les C57Bl6/N, et les souris mâles sont en général plus sensibles à ce régime que les femelles^{68,69}. Il induit une NASH en 3 semaines chez le rat, alors qu'il faut attendre 16 semaines chez la souris⁷⁰. Ce modèle est insuffisant pour reproduire l'inflammation et la ballonnisation, mais il peut être associé à un régime riche en sucres et/ou en cholestérol (*high-fat, high-sugar, ± high-cholestérol*) afin d'obtenir un effet cumulatif mais cela ne permet pas d'induire une fibrose notable.

En outre, le régime MCD (*methionine and choline-deficient*) est l'un des régimes les plus utilisés pour induire un phénotype de NASH sévère en peu de temps. Ce régime, riche en sucrose (40%), modéré en graisses (10 à 20%) mais déficient en méthionine et choline induit rapidement une NASH et une fibrose modérée. Ce régime ne cause pas d'insulino-résistance et provoque une perte de poids souvent sévère (plus de 20%). Ainsi, l'utilisation de ce modèle est limitée par sa disparité avec le contexte du NASH humain^{48,70}.

Un régime *Western diet* a été développée dans le but de mimer au mieux des habitudes alimentaires des pays occidentaux (fast-foods, sodas...). Ce régime peut être de composition très variable mais il est généralement riche en graisses (saturées et/ou trans et/ou cholestérol) et en sucre de table (saccharose). Le contenu de ce régime étant très hétérogène, ses conséquences sont variables mais il peut induire NASH et même parfois une fibrose après un régime prolongé (16 mois)⁷¹. Ce modèle est donc difficile à mettre en œuvre en pratique compte-tenu de sa durée et de son hétérogénéité qualitative et quantitative.

2. Modèle chimique

Compte-tenu de la difficulté d'induire une fibrose hépatique avec un délai raisonnable dans les modèles diététiques, un modèle de fibrose induite chimiquement par du tétrachlorométhane (CCl₄) a été développé par injection intra-péritonéale de CCl₄. Utilisé seul, le CCl₄ est suffisant pour induire une stéatose et une fibrose, c'est pourquoi il peut être un bon modèle pour l'étude spécifique des mécanismes de la fibrogenèse. Cependant, ce modèle est loin de la physiopathologie de la NASH, c'est pourquoi il est souvent combiné à un modèle diététique. Il est à noter que la fibrose induite par le CCl₄ est réversible, comme dans le cas de la NASH chez l'homme.⁷²

3. Modèles génétiques

Les progrès en matière de manipulation génétique ont permis de générer des modèles expérimentaux variés chez les rongeurs. Ces modèles sont utiles pour l'étude de voies de signalisation spécifiques et des mécanismes par lesquels ils altèrent l'homéostasie

métabolique dans le foie, ainsi que les conséquences de ces dérégulations. L'ajout d'un régime modifié est souvent nécessaire pour induire les changements histopathologiques et biochimiques de la NASH chez ces rongeurs. Les modèles génétiques les plus représentés sont les modèles *ob/ob* et *db/db*, caractérisés par une mutation du gène de la leptine ou du récepteur à la leptine, respectivement. La leptine est une protéine sécrétée par le tissu adipeux qui réduit l'appétit et maintient ainsi l'homéostasie énergétique. Ainsi, les souris *ob/ob* et *db/db* sont hyperphagiques et particulièrement obèses, elles présentent les symptômes d'une insulino-résistance sévère, une hyperlipidémie, et développent une NAFLD avec une inflammation modérée^{73,74}. Contrairement aux souris *db/db*, les souris *ob/ob* déficientes en leptine sont résistantes au développement de la fibrose⁷⁵. Les souris *foz/foz*, possèdent une mutation dans le gène *Alms1* (*Alstrom syndrome 1*) codant pour une protéine impliquée dans la fonction ciliaire. Elles deviennent hyperphagiques, obèses et diabétiques à l'âge de 5 à 6 mois⁷⁶. De la même manière que pour les modèles de déficience en signalisation de la leptine, le modèle *foz/foz* nécessite un stimulus additionnel diététique ou chimique pour progresser de la stéatose vers la stéatohépatite^{48,73}.

Tableau 7 : Exemples de modèles animaux de NASH et conséquences physiopathologiques

	Prise de poids	Insulino-résistance	Stéatose	NASH	Fibrose	ER stress
Modèles diététiques						
HFD	✓	✓	✓	Modérée	Modérée	✓
HFD + high-sugar (+cholesterol)	✓	✓	✓	✓	Modérée	✓
MCD diet	✗ Diminution sévère	✗	✓	✓ 4 à 6 semaines	Modérée	✓
Western diet	✓	✓	✓	✓	Fonction de la composition	✓
Modèle chimique						
CCl ₄	✗ Diminution	✗	✓	✓ sans ballonnisation	✓++	✓
Modèles génétiques						
<i>ob/ob</i>	✓++	✓ sévère	✓	Pas spontanée	✗ Résistant	✓
<i>db/db</i>	✓	✓	✓	Pas spontanée	✗ Possible avec régime ou CCl ₄	✓
<i>Foz/foz</i>	✓	✓	✓	Pas spontanée	✗ Possible avec régime ou CCl ₄	?

✓ : Présence, ✗ : Absence, ++ : importante, ? : inconnu

Adapté de Lebeau-pin C et al. ⁷⁷

X. Traitements actuels de la NASH

Actuellement, il n'existe aucune thérapie médicamenteuse approuvée dans le traitement de la NASH, alors qu'elle représente la seconde indication de transplantation hépatique aux Etats-Unis¹⁰. La mise en place de mesures hygiéno-diététiques constitue pour l'instant la seule intervention efficace pour freiner son évolution. Par conséquent, on observe un intérêt grandissant dans la recherche et le développement de nouvelles molécules et l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques qui pourraient affecter sa progression.

1. Modification des habitudes de vie

La modification des habitudes de vie des patients, généralement à l'origine ou ayant favorisé l'apparition de la NAFLD, est une stratégie primordiale et efficace, à condition qu'elle soit bien respectée. Il est fortement recommandé aux patients atteints de NASH ou de NAFLD d'avoir une meilleure hygiène de vie afin de perdre du poids, en adoptant un régime alimentaire adapté et en pratiquant une activité physique régulière.

En effet, une perte de poids, même modérée, permet de réduire de nombreux effets du syndrome métabolique et s'accompagne d'une mobilisation des graisses du foie et d'une amélioration de l'histologie hépatique. Une perte de poids de 5 à 10% est nécessaire pour réduire la stéatose hépatique, et plus de 10% de perte de poids est nécessaire pour améliorer les aspects de la NASH. Il est conseillé de perdre ce poids de manière régulière sur une période de 6 mois, puis d'entrer dans une phase de stabilisation.

Ainsi, il est nécessaire d'adopter un régime alimentaire adapté (hypocalorique) et personnalisé par rapport à la dépense énergétique, avec les conseils d'un diététicien. Il sera notamment conseillé d'éviter les apports en sucres (fructose, saccharose) et en graisses saturées présentes principalement dans les sodas, plats préparés, fast-foods et viandes. En contrepartie, il faut augmenter les apports en acides gras polyinsaturés (oméga-3, 6 et 9), contenus dans les huiles végétales, les oléagineux (amandes, noisettes, noix de cajou) et les poissons gras (sardines, maquereaux, saumon). Les sucres complexes, surtout sous forme brute et non raffinée (céréales complètes, légumineuses) seront à privilégier.

Une activité physique régulière, d'intensité modérée (marche rapide) pendant au moins 30 minutes plusieurs jours par semaine, ou 75 minutes d'activité intense par semaine, ou une combinaison des deux est recommandée. Les patients sont encouragés à augmenter graduellement leur niveau d'activité physique. Il a été démontré que l'activité physique permet d'améliorer la sensibilité à l'insuline et l'état du foie⁷⁸.

Cependant, ces objectifs sont souvent difficiles à atteindre chez des patients qui sont obèses et qui peuvent avoir d'autres comorbidités limitant leur activité physique. C'est pourquoi ces mesures sont souvent insuffisantes pour atteindre l'objectif de perte de poids, et le recours à la chirurgie de l'obésité est envisagé.

2. Chirurgie de l'obésité

En cas d'échec des mesures hygiéno-diététiques dans l'objectif de perte de poids, une chirurgie bariatrique est envisagée. En effet, face aux difficultés des patients dans l'application de ces mesures, le recours à la chirurgie bariatrique est devenu très fréquent pour traiter l'obésité (avec ou sans comorbidités) puisqu'elle permet une perte de poids importante et permanente associée à une amélioration des paramètres métaboliques. Parmi les différents types de chirurgie bariatrique, la plus communément appliquée et la plus efficace dans la NASH est le bypass gastrique (ou *Roux-en-Y gastric bypass*) qui consiste à réduire le volume de l'estomac et à le relier à la partie moyenne de l'intestin (jéjunum) de manière à limiter le transit intestinal des aliments (Figure 19).

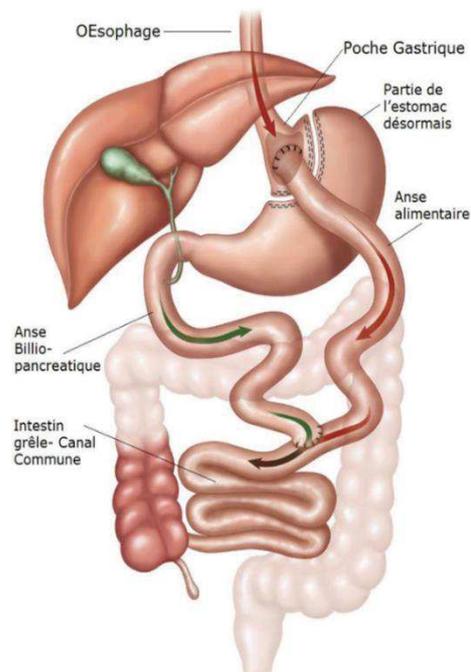


Figure 19 : Anatomie de l'appareil digestif, circulation des aliments (flèche rouge) et de la bile (flèche verte) après bypass gastrique de type « Roux-en-Y »

Cela limite la quantité de nourriture ingérée, accélère la sensation de satiété, diminue l'absorption des nutriments et permet de perdre 70 à 80% du poids excédentaire. Son efficacité dans le traitement de la NASH chez les patients obèses a été prouvée, notamment grâce à l'amélioration des paramètres métaboliques et de l'histologie hépatique. Une régression de la fibrose a même pu être observée chez certains patients⁷⁹.

Cependant, la sécurité et les effets à long terme doivent encore être analysés prudemment afin d'établir les conditions pour lesquelles la chirurgie bariatrique pourrait représenter la principale stratégie thérapeutique pour la NASH. Outre les complications inhérentes à l'opération chirurgicale (fistule, infection, ulcère, hémorragie digestive...), cette chirurgie est associée à un risque de carence en vitamines et minéraux, notamment en fer, en calcium, et en vitamines B9, B12 et D. Elle est également associée à des troubles intestinaux (constipation ou diarrhée), en fonction de la longueur d'intestin court-circuité. Une autre complication bien connue est le « *dumping syndrome* », caractérisée par une sensation de

malaise hypoglycémique (palpitations, maux de tête, nausées, sueurs froides...) se produisant 15 à 30 minutes après le repas, liée à l'arrivée massive d'aliments sucrés et gras dans l'intestin. Il est ainsi conseillé de manger très lentement et de supprimer les desserts très sucrés et les aliments très gras. Cette opération exige à long terme une prise continue des médicaments pour supprimer l'acidité gastrique de la classe des inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) ainsi que des compléments alimentaires pour corriger les éventuelles carences en vitamines et minéraux. Les risques et complications de la chirurgie bariatrique doivent ainsi être mis en balance avec ceux de l'obésité en elle-même (indépendamment de son inconfort) et de ses co-morbidités. Ainsi, bien qu'une amélioration de la NASH est généralement observée après une perte de poids importante liée à la chirurgie bariatrique, son efficacité et sa place thérapeutique dans le traitement de la NASH n'est pas encore claire⁸⁰.

3. Nouvelles approches thérapeutiques

Actuellement, aucun traitement n'a été approuvé par une autorité compétente pour le traitement de la NASH. La NASH étant liée à une dérégulation de nombreux paramètres métaboliques, la plupart des explorations thérapeutiques se sont focalisées sur l'amélioration d'un des paramètres associés à la NAFLD (glycémie, triglycérides, cholestérol, inflammation). Cependant ces stratégies se sont montrées inefficaces dans l'amélioration de l'histologie hépatique, en particulier la fibrose. Sachant que la NASH est multifactorielle, la combinaison de plusieurs stratégies thérapeutiques pourrait permettre d'améliorer plusieurs aspects de la NASH, mais ceci amènerait inéluctablement à une multiplication des effets indésirables. Ainsi, une molécule possédant des effets multiples sur les différentes causes de la NASH pourrait représenter le candidat médicament idéal. Dans cette partie, seules les stratégies thérapeutiques les plus décrites ou les plus prometteuses seront développées.

a. Antioxydants

Présentement, la supplémentation en vitamine E est considérée comme la stratégie thérapeutique de première intention dans le contrôle de la NASH lorsque les modifications des habitudes de vie se sont montrés insuffisants ou inefficaces. La vitamine E est une vitamine liposoluble ayant un puissant pouvoir antioxydant recommandée par L'AASLD (*American Association for the Study of Liver Diseases*) à une dose de 800 IU par jour (supérieure à la dose usuelle)⁸¹. Une étude clinique pionnière randomisée et en double aveugle (NCT00063622), évaluant l'effet de la vitamine E chez des patients non-diabétiques atteints de NASH pendant 2 ans, a montré son efficacité dans l'amélioration des paramètres biologiques et histologiques

de la NASH. En effet, la vitamine E a permis de diminuer les transaminases (ASAT et ALAT, $p < 0,001$) et d'améliorer la résolution de la NASH ($p = 0,001$) avec une réduction de la stéatose ($p = 0,005$) et de l'inflammation ($p = 0,02$). Cependant, cette thérapie n'a pas été efficace pour améliorer le score de fibrose ($p = 0,24$) et aucun effet n'a été observé sur le taux de triglycérides, de cholestérol, l'insulinorésistance, le poids, le tour de taille ou encore l'IMC⁸². De plus, la sécurité à long terme de l'utilisation de la vitamine E est discutée car certaines études ont montré un risque accru de cancer de la prostate et d'AVC hémorragique^{83,84}.

b. Agents antidiabétiques sensibilisants à l'insuline et hypoglycémiants

i. Metformine

La metformine diminue la néoglucogenèse hépatique, améliore la captation du glucose par les muscles, et favorise la β -oxydation des acides gras au détriment de la production de triglycérides. Ce traitement de première ligne du diabète de type 2 est bien toléré et permettrait d'améliorer l'insulinosensibilité des patients atteints de NAFLD, grâce à son effet stimulateur de la voie AMPK. Dans le modèle de souris *ob/ob*, la metformine a permis une amélioration de la stéatose ainsi qu'une diminution du taux d'ALAT et de l'expression hépatique de $\text{TNF}\alpha$ ⁸⁵. Une méta-analyse a également montré que la metformine permettait de normaliser significativement les taux de transaminases comparé à un régime seul, et de diminuer la stéatose⁸⁶. La metformine permet également une perte de poids. Cependant, d'autres études n'ont pas mis en évidence de bénéfice de la metformine sur les paramètres histologiques dans la NASH. C'est pourquoi des études supplémentaires à plus grande échelle et à plus long terme sont nécessaires pour évaluer l'utilité de ce traitement dans la NASH.

ii. Thiazolidinediones

Les thiazolidinediones (ou glitazones) sont une classe d'antidiabétiques oraux qui ont une action agoniste sur les récepteurs $\text{PPAR}\gamma$ (*Peroxisome proliferator-activated receptor γ*), impliqués dans le stockage des acides gras notamment au niveau du tissu adipeux en activant des gènes impliqués dans la captation des lipides et l'adipogenèse. En outre, ils redistribuent la graisse hépatique et musculaire vers le tissu adipeux et améliorent l'insulinorésistance périphérique, notamment grâce à une augmentation des taux circulants d'adiponectine. De nombreuses études cliniques ont évalué l'utilité des thiazolidinediones, et notamment la pioglitazone (ACTOS), dans le traitement de la NASH. L'efficacité de la pioglitazone (30 mg/jour) a été évaluée chez des patients atteints de NASH pendant 2 ans⁸². Dans cette étude, la

pioglitazone n'a pas satisfait le critère principal de diminution de 2 points du score de NAFLD (NAS), en dépit d'une réduction des transaminases, de la stéatose, de l'inflammation et de la ballonnisation. De plus, l'utilisation des thiazolidinediones dans la NASH à long terme est limitée à cause de leurs effets indésirables : prise de poids, risque accru de fractures (notamment chez la femme âgée)⁸⁷, rétention d'eau et insuffisance cardiaque congestive⁸⁸. En outre, la rosiglitazone (AVANDIA) et la pioglitazone ont été retirées du marché français en 2010 et 2011 à cause d'un risque accru de cancer de la vessie⁸⁹ ou d'infarctus du myocarde⁹⁰, respectivement. Puisqu'une thérapie à long terme est nécessaire chez les patients atteints de NASH, ces effets indésirables limitent l'intérêt de ces agents dans la thérapie de la NASH.

iii. Autres agonistes PPAR

Afin de combiner les effets positifs de la stimulation des récepteurs PPAR, GENFIT a développé elafibranor (GFT-505), un agoniste mixte PPAR α / δ . Ce composé a montré un effet anti-inflammatoire et anti-fibrotique prometteur lors de l'étude clinique GOLDEN-505 de phase IIb (NCT01694849)⁹¹. En effet, elafibranor a permis d'améliorer la sensibilité à l'insuline hépatique et périphérique chez les individus obèses, de diminuer les taux des transaminases et d'améliorer le profil lipidique (diminution des triglycérides, cholestérol total et LDL et augmentation des HDL), ainsi que de diminuer les marqueurs sériques d'inflammation, de stéatose et de fibrose. Après une analyse post-hoc réalisée sur les patients ayant un score NAS supérieur ou égal à 4, cette molécule a également montré une amélioration de l'histologie de la NASH par rapport au placebo. De plus, le traitement fut bien toléré et aucun décès ni problème cardiovasculaire n'a été engendré. Ces effets sur la NASH seront étudiés à plus grande ampleur lors d'une étude de phase III multicentrique et internationale RESOLVE-IT (NCT02704403), actuellement en cours.

Ainsi, compte-tenu de ces résultats encourageants, elafibranor a obtenu la désignation de « *Fast track* » (développement accéléré) par la FDA en 2014.

iv. Agonistes FXR

Le récepteur nucléaire aux acides biliaires intracellulaire FXR (*Farnesoid X Receptor*) freine la synthèse des acides biliaires, et diminue la néoglucogenèse, la lipogenèse et la stéatose hépatique ce qui participe à une amélioration de la sensibilité à l'insuline. Un agoniste FXR synthétique dérivé d'acide biliaire, l'acide obéticholique (OCA, INT-747 ou OCALIVA), développé par Intercept, a récemment révélé des effets prometteurs chez les

patients atteints de NASH sans cirrhose lors de l'étude clinique de phase IIb FLINT (NCT01265498)⁹². Dans cette étude, l'acide obéticholique a permis d'améliorer l'histologie hépatique des patients atteints de NASH ($p=0,0002$) et d'améliorer le score de fibrose ($p=0,004$). Cependant, un prurit a été rencontré chez 23% des patients, aboutissant à un arrêt du traitement dans certains cas. De plus, une aggravation des paramètres lipidiques, mais réversible, a également été observée chez les patients. Compte-tenu des effets prometteurs de cette molécule dans l'amélioration de l'histologie de la NASH, celle-ci sera testée prochainement dans l'essai clinique de phase III REGENERATE (NCT02548351) afin d'évaluer l'efficacité d'une plus faible dose par rapport à la dose initiale, afin d'améliorer sa tolérance.

De plus, à la suite des résultats de l'essai clinique FLINT, l'OCA a obtenu par la FDA le statut de « *breakthrough therapy* » (thérapie de rupture).

c. Agents hypolipémiants

Les statines sont une classe de molécules hypocholestérolémiantes par inhibition compétitive d'une enzyme clé de la synthèse du cholestérol, l'hydroxyméthylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) réductase. Malgré l'identification des dyslipidémies comme facteurs de risque, peu d'études ont été réalisées concernant l'utilisation des statines dans la NASH. Dans une cohorte de 1201 patients, une étude a montré une diminution de la stéatose ($p=0,004$), de l'inflammation ($p<0,001$), et de la fibrose ($p=0,017$) chez certains patients traités par des statines⁹³. Cependant, l'obtention de données plus robustes reste nécessaire pour encourager l'utilisation des statines dans la prévention ou le traitement de la NASH.

Les fibrates sont une classe de molécules agonistes du récepteur nucléaire PPAR α largement utilisées dans le traitement de l'hypertriglycéridémie. Ces molécules n'ont pourtant montré aucun effet bénéfique sur la NASH. Ce résultat pourrait être attribuable à l'étendue de l'expression de ce récepteur dans d'autres tissus que le foie⁹⁴.

L'ézétimibe, une molécule empêchant l'absorption intestinale du cholestérol et des phytostérols par inhibition du transporteur des stérols Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) n'a pas non plus montré d'amélioration des paramètres de la NASH⁹⁵.

d. Agents anti-inflammatoires et anti-fibrotiques

Les cellules inflammatoires jouent un rôle prépondérant dans l'évolution de la stéatose vers la NASH et le développement de la fibrose, en activant les cellules stellaires. Certaines de ces interactions sont médiées par l'activation des récepteurs aux chimiokines CCR2 (C-C

chemokine receptor type 2) et CCR5 (*C-C chemokine receptor type 5*). Cenicriviroc est un antagoniste mixte CCR2/CCR5 développé initialement par Tobia Therapeutics (racheté par Allergan). Cette molécule a récemment montré une amélioration du score de fibrose d'au moins un point après un an ($p=0,02$), en corrélation avec une diminution des marqueurs sériques de l'inflammation, dans une étude clinique de phase IIb (CENTAUR) chez des patients atteints de NASH avec une fibrose⁹⁶. Cependant, après deux ans de traitement, l'amélioration de la fibrose n'était plus significativement différente du groupe placebo. Cette molécule est actuellement en étude clinique de phase III (AURORA), afin d'évaluer son efficacité anti-fibrotique et sa sécurité à plus grande échelle et à long terme. De plus, suite aux résultats encourageants de son étude clinique de phase IIb, le cenicriviroc a obtenu la désignation de « Fast Track » par la FDA en 2015.

Un autre agent anti-inflammatoire et anti-fibrotique, le selonsertib (GS-4997), développé par Gilead Sciences semble prometteur et est actuellement en études clinique et a obtenu la désignation « *Fast Track* » par la FDA en 2014. C'est un inhibiteur d'ASK1 (*Apoptosis signal-regulating kinase 1*), une Serine/Thréonine (Ser/Thr) kinase pouvant induire la phosphorylation de p38 MAPK (*Mitogen activated protein kinase*) et de JNK, entraînant une aggravation de l'inflammation, de l'apoptose et de la fibrose du tissu hépatique. Lors d'une étude clinique de phase II (NCT02466516), le selonsertib a permis d'améliorer significativement la fibrose à court terme chez certains patients atteints de NASH avec une fibrose modérée à sévère⁹⁷. Étant donné l'expression ubiquitaire de ces kinases et leur rôle vital dans le maintien des défenses des tissus, l'efficacité et la sécurité d'emploi de cet inhibiteur ont été évaluées à plus grande échelle dans des études cliniques de phase III dans la NASH (STELLAR 3, NCT03053050 et STELLAR 4, NCT03053063). Malheureusement, les résultats de cette étude ont été décevants puisque le traitement avec le selonsertib s'est montré inefficace pour réduire la fibrose après 48 semaines de traitement^{98,99}.

4. Transplantation hépatique

En dernier recours, la transplantation hépatique est à discuter en cas de cirrhose décompensée ou de carcinome hépatocellulaire. Une obésité morbide ou les comorbidités cardio-vasculaires de la NAFLD peuvent cependant constituer des contre-indications à la transplantation. Une prise en charge de la prise de poids et des effets secondaires métaboliques des médicaments anti-rejet est primordiale. Malheureusement, cette ultime solution peut être temporaire, puisqu'une récurrence de la NAFLD sur le transplant hépatique n'est pas rare.

**PARTIE 2 : LE STRESS DU RÉTICULUM
ENDOPLASMIQUE ET LA VOIE UNFOLDED
PROTEIN RESPONSE (UPR)**

I. Le réticulum endoplasmique, un organite multifonctionnel

1. Description anatomique

Le réticulum endoplasmique (RE), du latin *reticulum* : « réseau » et endoplasmique « à l'intérieur du cytoplasme », est un système endomembranaire propre aux cellules eucaryotes formé par un ensemble de canalicules membranaires communiquant entre eux, en continuité avec la membrane externe du noyau et s'étendant dans tout le cytoplasme. Cet organite interagit avec de nombreux constituants de la cellule tels que l'appareil de Golgi, la membrane plasmique ainsi que la mitochondrie et les peroxysomes pour exercer ses fonctions régulatrices majeures au sein de la cellule. On distingue deux types de réticulum endoplasmiques, dont la quantité varie en fonction du type cellulaire : le réticulum endoplasmique qualifié de rugueux ou granuleux (REG) puisqu'il est constellé de ribosomes ; et le réticulum endoplasmique lisse (REL), dépourvu de ribosomes (*Figure 20*).

La composition de la membrane du RE est particulière, avec un faible ratio cholestérol/phospholipides et un faible contenu en acides gras libres saturés, ce qui lui confère une grande finesse et fluidité.

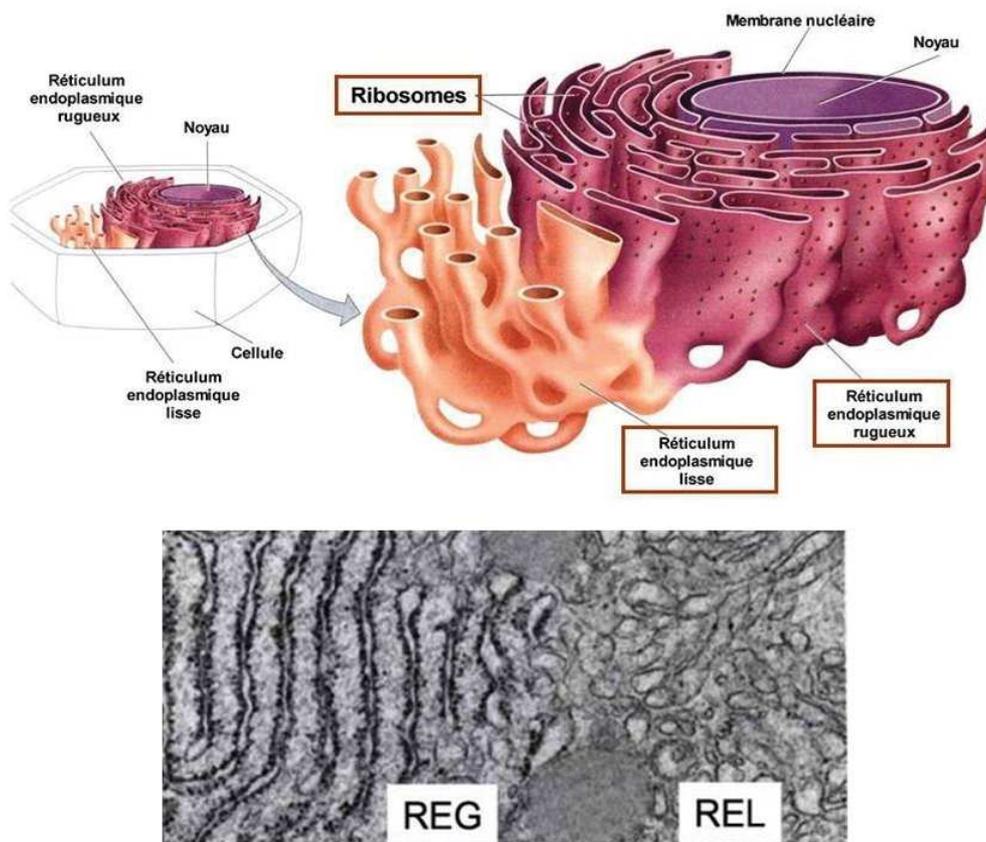


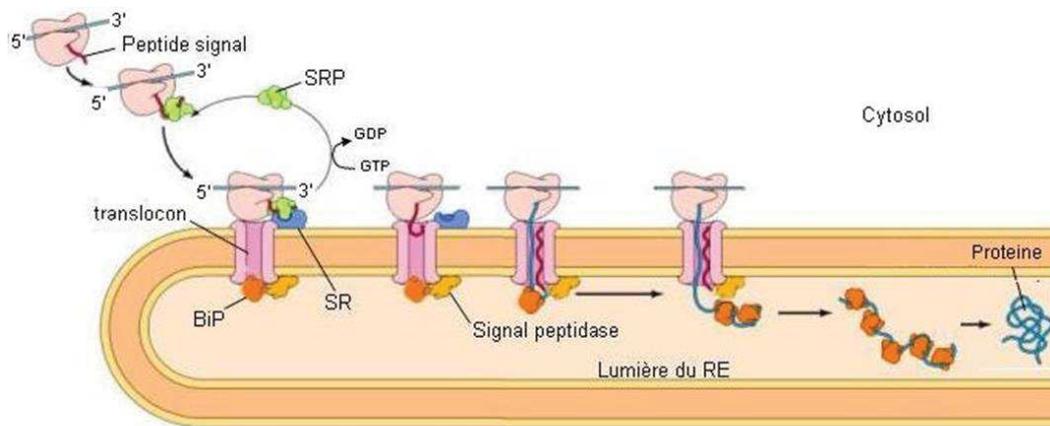
Figure 20 : Schéma des différents types de réticulum endoplasmique à l'intérieur d'une cellule (en haut) et aspect en microscopie électronique (en bas)

2. Multiples fonctions du réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique lisse (REL), formé par un réseau de tubules courts et de vésicules arrondies, est notamment impliqué dans la synthèse des lipides (phospholipides membranaires, cholestérol...) et des hormones stéroïdes, la détoxification, ainsi que la régulation et le stockage du calcium intracellulaire.

Le réticulum endoplasmique granuleux (REG), constitué d'un nombre variable de citernes (5 à 10) communiquant entre elles et avec le REL et situé à proximité du noyau, joue un rôle majeur dans la biosynthèse des protéines grâce à la présence de nombreux ribosomes à sa surface externe, lui donnant cet aspect rugueux. Le REG orchestre donc des fonctions essentielles de synthèse, repliement (grâce à la présence de foldases et de protéines chaperonnes), assemblage, contrôle qualité, modifications post-traductionnelles (glycosylation, formation de ponts disulfures ou cis-trans isomérisation) des protéines nouvellement synthétisées. Le REG, responsable du transport d'au moins un tiers des protéines, régule ainsi l'homéostasie des protéines (ou protéostasie) nécessaires aux différentes organelles de la cellule ou de l'espace extracellulaire, c'est-à-dire aussi bien les protéines cytosoliques, transmembranaires et excrétées.

La synthèse des protéines par le REG est un processus complexe à l'origine de toutes les fonctions cellulaires. Le cycle de vie d'une protéine démarre dans le ribosome, où les peptides sont formés à partir de la traduction des ARN messagers (ARNm) matures, issus de l'activation de la transcription des gènes en réponse aux stimuli intra- ou extra-cellulaires. Alors que les protéines dirigées vers le noyau, la mitochondrie ou les peroxysomes sont traduites par des ribosomes libres dans le cytosol ; les protéines sécrétées, destinées à la membrane plasmique, ou transportées par des vésicules de sécrétion ou dans des endosomes sont traduites au niveau des ribosomes présents sur la membrane du RE, et subissent une insertion co-traductionnelle. Avant d'être sécrétés, les polypeptides nouvellement formés subissent des modifications post-traductionnelles et acquièrent leur conformation définitive dans le RE, grâce à la présence d'une séquence particulière sur leur extrémité N-terminale (N-ter) appelée peptide signal, reconnue par SRP (*Signal Recognition Particule*). SRP facilite ainsi l'entrée des polypeptides dans le RE grâce à sa reconnaissance par le SR (*SRP Receptor*) et l'ancrage du ribosome au complexe translocon, formant un pore à travers la membrane du RE. Dans la lumière du RE, le peptide signal est alors clivé par une protéine signal peptidase et la protéine libérée peut alors être modifiée, assemblée et repliée pour atteindre sa conformation native (*Figure 21*).



Molecular Biology of the Cell

Figure 21 : Mécanismes de l'insertion co-traductionnelle des protéines dans le RE

SRP : Signal Recognition Particule, SR : SRP Receptor, RE : Réticulum Endoplasmique, BiP : Binding-immunoglobulin Protein

Les protéines acquièrent ainsi leur conformation définitive pour exercer leur fonction grâce à une combinaison de modifications post-traductionnelles, incluant la formation de ponts disulfures, la glycosylation par les glycosyltransférases, ainsi que l'action combinée de nombreuses protéines chaperonnes résidentes.

D'une part, la formation des ponts disulfures entre les résidus cystéine des protéines est réalisée par des protéines de la famille des protéines disulfure isomérases : PDIA3 (ERp57) et PDIA4 (ERp72) notamment, assistées par des oxydoréductases telles que ERO1 ainsi que des lectines calnexine et calréticuline qui reconnaissent particulièrement les glycoprotéines et participent au contrôle qualité des protéines.

D'autre part, l'isomérisation cis-trans, une autre modification post-traductionnelle majeure caractérisée par le passage de la forme *cis* vers la forme *trans* de certains liens peptidiques précédant une proline, est catalysée par les protéines de la famille des peptidyl prolyl isomérases (PPI) telles que les cyclophilines, les FKBP (*FK506-binding proteins*) et les parvulines (Pin1).

Elles sont complétées par l'action d'autres chaperonnes réticulaires qui reconnaissent les régions mal repliées des protéines exhibant des résidus hydrophobes dont la plus abondante est BiP/GRP78 (*Binding-immunoglobulin protein/Glucose-regulated protein 78 kDa*), une protéine homologue aux chaperonnes cytoplasmiques de type HSP70 (*heat shock protein 70*), qui est l'une des premières chaperonnes rencontrées par les protéines natives non glycosylées. BiP est assistée par des co-facteurs tels que DnaJB9 (ou ERdj4) permettant l'hydrolyse de l'ATP nécessaire à son activité ATPase. D'autres chaperonnes homologues aux HSP70 telles que GRP94 (*Glucose-regulated protein 94 kDa*) peuvent former des complexes similaires à BiP, mais à des stades plus avancés du repliement des protéines (Figure 22).

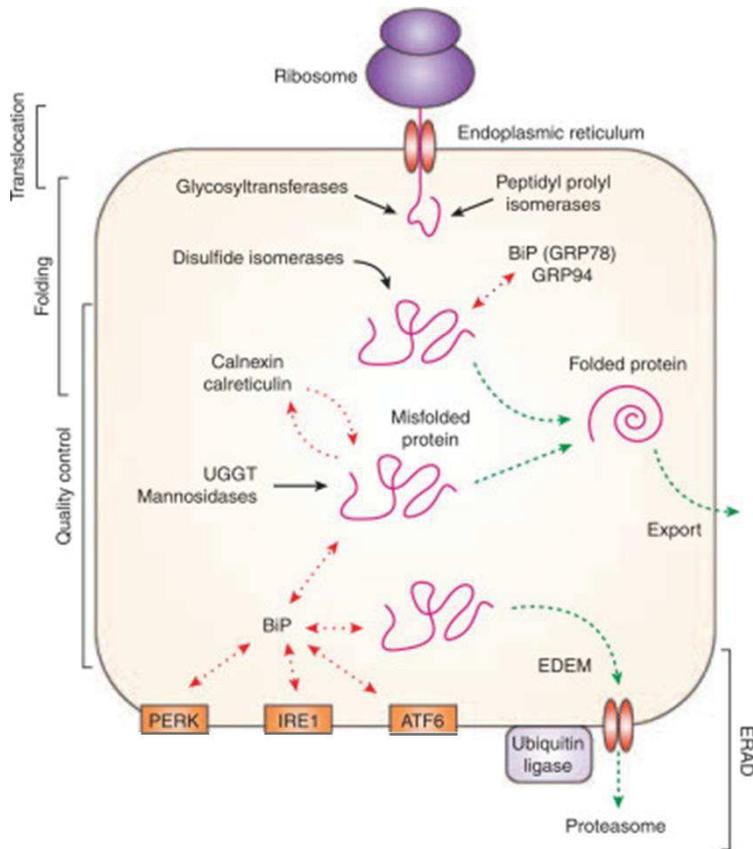


Figure 22 : Les différentes protéines chaperonnes du réticulum endoplasmique, et leur rôle dans la translocation, le repliement (folding), le contrôle qualité (quality control) et la dégradation (ERAD) des protéines entrant dans le RE.

Les flèches noires représentent les réactions enzymatiques, les flèches en points rouges les interactions et les flèches en pointillés verts les transports

D'après Cybulsky AV., *Kidney international*, 77(3), 187-193 (2010)

En outre, ces modifications post-traductionnelles des protéines dans le RE sont permises grâce à un environnement tout particulier propice au bon repliement des protéines qui diffère du cytosol de par son milieu oxydant, favorisant la formation de ponts disulfures (notamment grâce aux PDI), ainsi qu'une concentration élevée en calcium, de l'ordre du millimolaire, essentiel pour la fonction d'une majorité des chaperonnes réticulaires.

Ainsi, les protéines correctement repliées sont exportées vers le Golgi pour être ensuite réparties dans les différents compartiments cellulaires, sécrétées vers l'espace extracellulaire ou exportées vers le RE pour être recyclées. Ainsi, le repliement des protéines est un processus complexe et consommateur d'énergie, qui nécessite une action concertée entre différentes organelles et protéines de différents compartiments cellulaires, ainsi que des ressources provenant de multiples voies métaboliques. Si malgré la combinaison de tous ces éléments favorables au bon repliement des protéines, certaines d'entre-elles sont dépliées, mal pliées ou agrégées, celles-ci sont alors rétro-transloquées vers le cytosol pour être poly-ubiquitinylées et dégradées par le protéasome 26S. Dans le cas de larges agrégats ou de complexes protéiques, la taille du pore de rétro-translocation et du protéasome 26S étant trop petite pour leur dégradation, ils sont éliminés via un processus d'autophagie.

Les hépatocytes étant des cellules spécialisées dans la production de nombreuses protéines sécrétées, notamment les protéines plasmatiques (albumine, facteurs de

coagulation, hormones, apolipoprotéines...), et le lieu de détoxification majeur de l'organisme, ces cellules sont particulièrement riches en réticulum endoplasmique lisse et rugueux, dont les membranes représentent plus de la moitié des bicouches lipidiques de la cellule entière. De plus, le foie étant un organe central de l'organisme de par sa situation anatomique, son extraordinaire polyvalence métabolique et sa spécialité de détoxification, les cellules hépatiques peuvent alors être particulièrement sensibles aux changements et stimuli de l'environnement extra- ou intracellulaire, pouvant affecter l'efficacité de repliement des protéines et l'homéostasie réticulaire.

II. Le stress du réticulum endoplasmique et la voie de réponse aux protéines mal conformées

Lorsque survient un déséquilibre de la balance entre la capacité de repliement du RE et la charge de protéines clientes à replier, des protéines mal repliées s'accumulent dans la lumière du RE et induisent une perte de l'homéostasie réticulaire responsable d'un stress.

Le stress réticulaire peut être induit à la suite d'un très grand nombre d'événements intrinsèques ou extrinsèques. Les facteurs intrinsèques peuvent être représentés par un accroissement du taux de synthèse protéique lors de la stimulation par des facteurs de croissance, lors de la prolifération ou de la différenciation cellulaire ; une mutation génétique entraînant une altération du repliement de la protéine (exemple : mutation de l' α 1-antitrypsine) ou un défaut dans la voie UPR (s'il n'est pas létal) ; une anomalie de la dégradation des protéines (système ubiquitine-protéasome) ; un déficit d'autophagie ; une déplétion en phospholipides de la membrane réticulaire ou une accumulation de cholestérol conduisant à une perte de la flexibilité membranaire... Plus souvent, le mauvais repliement des protéines est causé par des changements de l'environnement tels qu'une privation d'énergie ; un excès ou une privation en nutriments ; une dérégulation des taux calciques ou de l'homéostasie redox ; une hypoxie ; une infection virale ; un phénomène inflammatoire ; ou encore certains agents pharmacologiques (exemple : Bortezomib).

La transduction de ce signal de stress passe par l'activation d'une voie de signalisation hautement conservée au sein du RE et qui fait l'objet de ce travail : la voie ***Unfolded Protein Response (UPR)*** ou voie de réponse aux protéines mal conformées.

La voie UPR est un mécanisme adaptatif et physiologique déclenché par la cellule afin de restaurer l'homéostasie réticulaire. Cette réponse adaptative est essentielle notamment dans les cellules sécrétrices telles que les hépatocytes, où le RE est fortement sollicité pour

produire une quantité importante de protéines. La voie UPR a ainsi pour but primaire de restaurer et de maintenir l'homéostasie réticulaire en diminuant la quantité de protéines mal repliées et en augmentant la taille et la capacité de repliement des protéines par le RE. Ainsi, la voie UPR favorise la diminution de la traduction (et donc de l'afflux) de protéines à replier, et active de nombreux gènes impliqués dans la machinerie réticulaire tels que ceux des protéines chaperonnes pour le repliement des protéines, la N-glycosylation, le contrôle qualité, l'homéostasie redox, la dégradation des protéines, ou encore la biogenèse des lipides.

III. Les acteurs clés de la voie UPR dans la transduction du signal de stress réticulaire

La détection du signal de stress dans la lumière du réticulum endoplasmique est médiée par trois protéines transmembranaires effectrices de la voie canonique de l'UPR : IRE1 α (*Inositol-requiring enzyme 1*), PERK (*Protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase*) et ATF6 (*Activating transcription factor 1*). Suite à une cascade de signalisation, ils entraînent une réponse adaptative commune, dont la contribution exacte de chaque effecteur est encore difficile à discerner. A l'état basal, en absence de stress réticulaire (ou « ER stress »), ces trois protéines-sondes transmembranaires sont associées au niveau de leur domaine luminal à la chaperonne réticulaire par excellence : GRP78/BiP. Leur interaction avec cette protéine chaperonne dans la lumière du RE les stabilise dans une conformation inactive à la membrane réticulaire afin d'empêcher le déclenchement de la signalisation UPR (Figure 23).

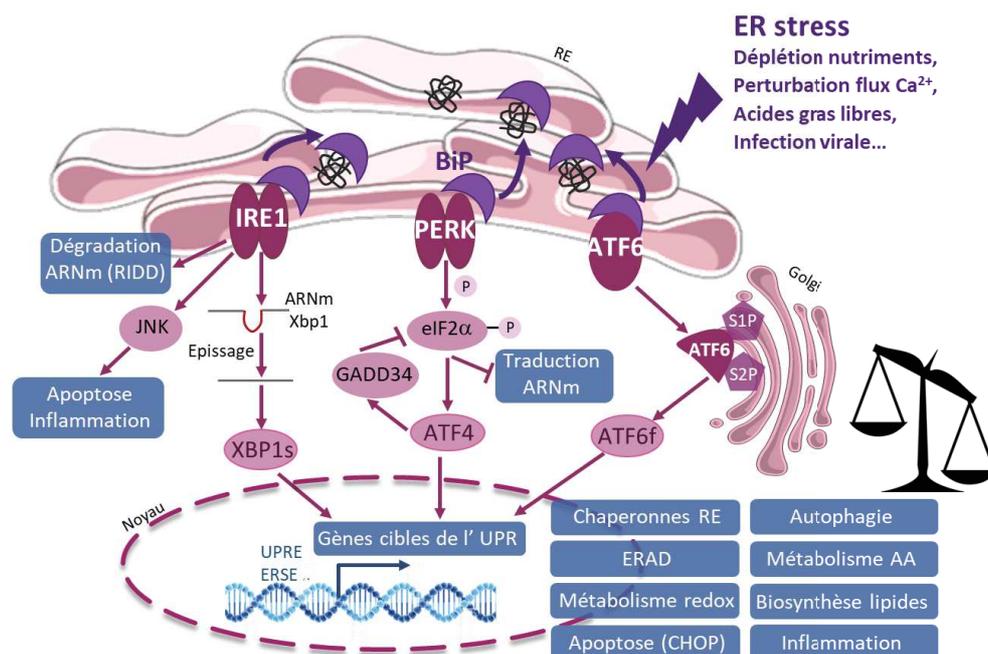


Figure 23 : ER stress, signalisation UPR et conséquences de l'activation de cette voie

En effet, lors d'un stress réticulaire, l'accumulation des protéines mal repliées dans la lumière du RE entraîne une diminution de l'occupation du domaine luminal des trois senseurs par BiP, qui possède une meilleure affinité pour les protéines mal conformées^{100,101}, ce qui active les trois protéines effectrices et engendre la réponse UPR. De plus, il semblerait que les domaines basiques et hydrophobes des protéines mal repliées auraient également un rôle direct dans l'activation de la voie UPR. En effet, à la suite d'études chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*, un modèle de reconnaissance directe a été proposé, en particulier pour IRE1 et également pour PERK, où leur activation et oligomérisation serait également régie par la détection des protéines mal repliées par leur domaine luminal, démasqué suite à la dissociation de BiP¹⁰²⁻¹⁰⁵. Néanmoins, il faut noter que ces deux modèles d'activation directe et indirecte ne sont pas nécessairement exclusifs, et pourraient plutôt être représentatifs de différents stades d'activation de l'UPR (Figure 24).

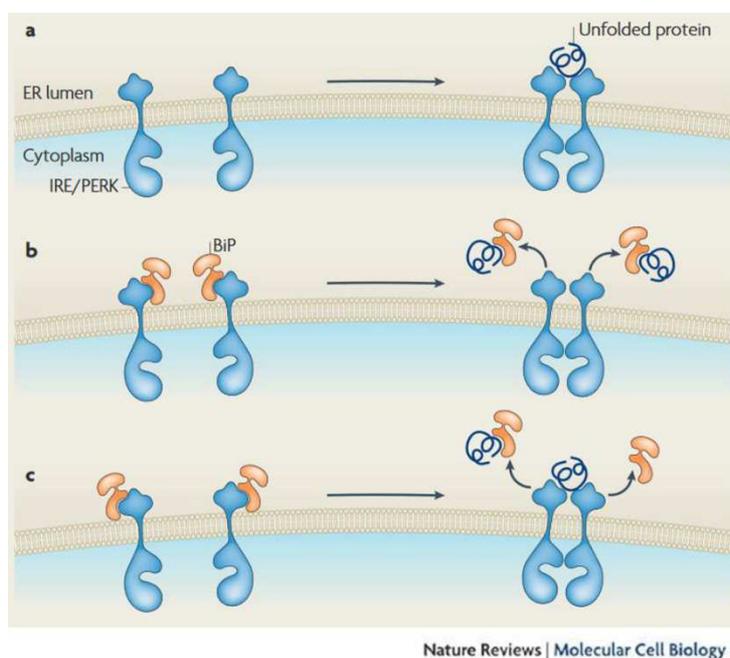


Figure 24 : Hypothèses des mécanismes d'activation des effecteurs IRE1 et PERK.

Le modèle de reconnaissance directe propose que les protéines mal conformées (unfolded protein) elles-mêmes se lient au domaine luminal de IRE1 et PERK (a).

Le modèle d'activation indirecte suggère que BiP maintient IRE1 et PERK dans un état inactif et que sa dissociation pour stabiliser les protéines mal conformées induit leur activation (b).

Un modèle de reconnaissance hybride propose que ces deux mécanismes entrent en jeu dans l'activation de IRE1 et PERK (c).

D'après Ron D. et Walter P., Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 8 (7), 519-529 (2007)

1. La protéine chaperonne réticulaire GRP78/BiP¹⁰⁶

GRP78 (communément appelée BiP) est une ATPase de 78 kDa encodée par le gène HSPA5 appartenant à la famille des HSP70, majoritairement localisée au niveau de la lumière du réticulum endoplasmique des cellules. Elle joue un rôle de protéine chaperonne majeure du RE, d'une part en stabilisant de manière transitoire les protéines nouvellement synthétisées entrant dans la lumière du RE via le complexe translocon, et d'autre part en se liant de manière plus permanente aux protéines matures dépliées ou mal assemblées s'accumulant dans le RE. Ainsi, BiP représente le marqueur le plus commun d'induction de la

voie UPR puisque son expression augmente avec l'accumulation de protéines mal repliées. De par son action de chaperonne et son interaction inhibitrice avec les protéines effectrices de la voie UPR, elle représente un élément régulateur majeur de cette voie de stress. BiP exerce son action de chaperonne grâce à la reconnaissance de courtes séquences hydrophobes sur les peptides, masquant ces domaines pour empêcher leur agrégation intra- ou intermoléculaire et les maintenir dans un état favorable à leur assemblage et oligomérisation. De plus, BiP participe au transport antérograde des protéines à partir du RE vers l'appareil de Golgi ou rétrograde lorsque les protéines anormales sont destinées à la dégradation par le protéasome via la voie ERAD (*Endoplasmic reticulum-associated degradation*).

BiP est constitué de deux sous-unités quasiment identiques où l'extrémité N-terminale possède le site catalytique ATPase (NBD) et l'extrémité C-terminale le domaine de liaison aux substrats, riche en feuillet bêta (SBD). Ces deux domaines communiquent grâce à leur liaison par un domaine linker flexible afin de réguler l'affinité et le temps de résidence des substrats. En effet, l'affinité de BiP pour son substrat est dépendante de la liaison d'une molécule d'ATP ou d'ADP dans le site catalytique N-terminal. Plus précisément, lorsque l'ATP se situe dans le site catalytique, BiP est capable de lier ses substrats. Ensuite, l'ATP est hydrolysé en ADP par sa fonction ATPase intrinsèque ce qui entraîne un changement de conformation au niveau du domaine de liaison au substrat qui renforce l'affinité de BiP envers la chaîne peptidique. Cette affinité est maintenue jusqu'à l'échange de l'ADP par de l'ATP, induisant une augmentation de la constante de dissociation (K_D) permettant ainsi le relargage du peptide (*Figure 25*). Ainsi, la fonction hydrolase de BiP permet de lier puis relarguer successivement les motifs hydrophobes des protéines, où la durée dépend du taux d'hydrolyse de l'ATP en ADP, jusqu'à ce que la protéine adopte sa conformation définitive. Si la conformation de la protéine demeure incorrecte, BiP se lie à nouveau afin d'empêcher la sortie de cette protéine en dehors du RE et de la diriger vers la dégradation par le protéasome.

Dans le RE, BiP peut être présent sous des formes monomériques ou oligomériques, dont la proportion est régulée par des modifications post-traductionnelles. Il semblerait que des conditions accroissant le taux de protéines mal conformées diminueraient le degré de modification de BiP, favorisant les formes monomériques ayant la compétence de lier les protéines mal repliées.

De la même manière que les chaperonnes de la famille des HSP70, la fonction ATPase de BiP est favorisée par son interaction avec des co-chaperonnes de la famille des HSP40, au niveau de leur domaine J. Des études chez la levure *S. cerevisiae* ont montré que BiP (Kar2p)

interagissait avec trois co-chaperonnes réticulaires (Sec63p, Scj1p et Jem1p), permettant d'assister les fonctions de BiP notamment dans la translocation des protéines vers le RE, la liaison aux substrats, l'activité ATPase, ou encore la voie ERAD¹⁰⁷. En outre, chez l'homme, la co-chaperonne de BiP ERdj4 (*Endoplasmic reticulum DNA J domain-containing protein 4*) forme un complexe avec BiP permettant d'empêcher la dimérisation d'IRE1 et d'aider à la dégradation des protéines mal conformées par le protéasome via la voie ERAD.

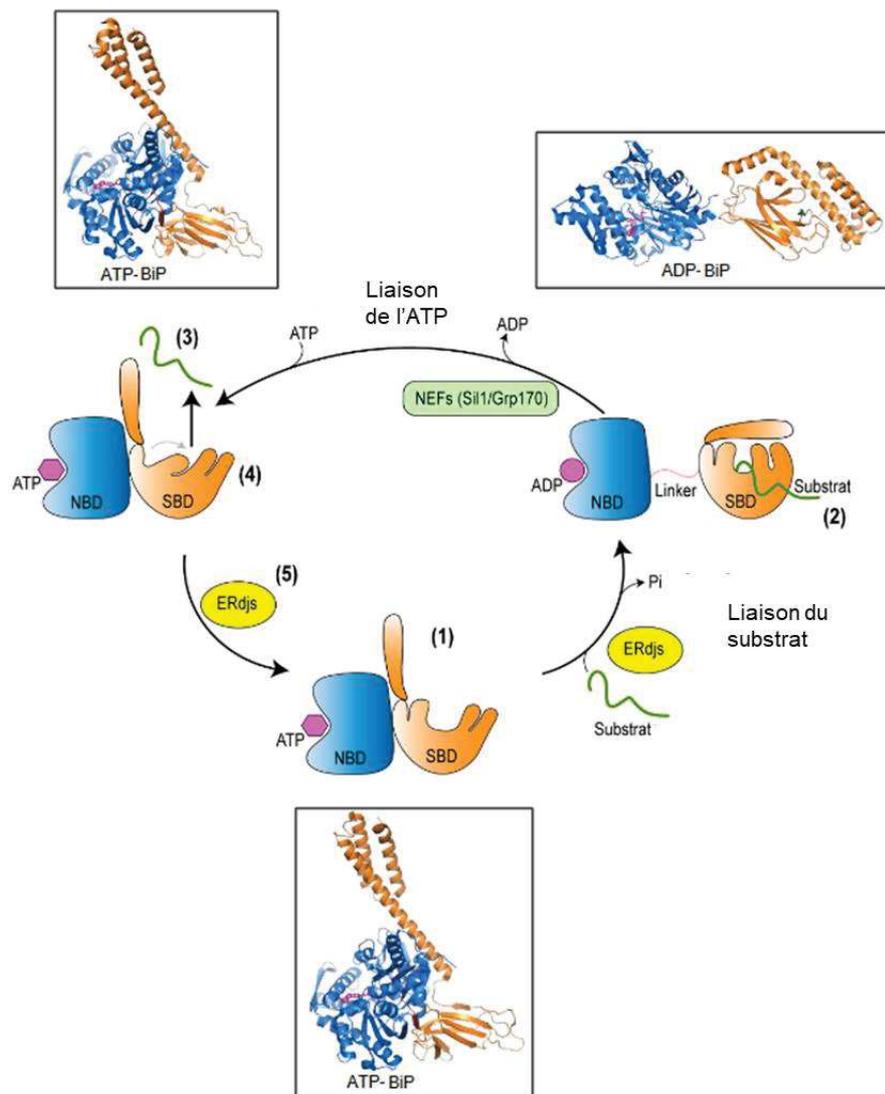


Figure 25 : Cycle d'interaction de BiP avec ses substrats et ses cofacteurs (ATP, ADP, ERdjs...)
SBD : substrate binding domain, NBD : nucleotide binding domain, NEFs : nucleotide exchange factors

2. La voie IRE1 α - XBP1

Du point de vue structurel, IRE1 est une protéine transmembranaire de 110 kDa et 977 acides aminés, située sur la membrane du réticulum endoplasmique. Elle se présente sous forme de 2 isomères : une isoforme IRE1 α ubiquitaire et une isoforme IRE1 β uniquement située au niveau de l'épithélium intestinal.

Lors de l'accumulation de protéines mal conformées dans la lumière réticulaire, l'équilibre de BiP est déplacé vers la stabilisation de ces protéines, permettant la dimérisation et ainsi le rapprochement des domaines Ser/Thr kinase du récepteur transmembranaire pour trans-autophosphorylation et activation.

L'autophosphorylation du récepteur induit alors un changement de conformation permettant l'activation de son activité endoribonucléase (RNase) au niveau du domaine cytosolique, permettant de cliver de manière sélective et non conventionnelle l'ARNm de XBP1 (*X-box Binding Protein 1*). Ainsi, l'excision d'un intron de 26 nucléotides de l'ARNm de XBP1u (*unspliced*) provoque un décalage dans le cadre de lecture aboutissant à la traduction d'une forme clivée correspondant au facteur de transcription XBP1s (*spliced*). Ce puissant facteur de transcription, représentant la forme active de XBP1, migre ensuite dans le noyau afin d'induire la transcription des gènes cibles de l'UPR, grâce à la reconnaissance des domaines UPRE (*Unfolded protein response element*) ou ERSE (*ER stress response element*) par son domaine de liaison à l'ADN bZIP (*Figure 23*). L'ensemble des gènes activés par XBP1 sont partiellement décrits, mais ils comprennent principalement des chaperonnes réticulaires telles que BiP et ses co-chaperones (ERdj4, p58^{IPK}), des isomérases (PDI) permettant d'augmenter la capacité de repliement du RE ainsi que des éléments de la voie ERAD (EDEM) favorisant la dégradation des protéines irrémédiablement mal conformées¹⁰⁸. De plus, via la reconnaissance spécifique de domaines UPRE, XBP1 joue un rôle dans la biosynthèse des lipides et des phospholipides tels que la phosphatidylcholine, permettant l'extension de la membrane réticulaire afin d'accroître la taille et la capacité de repliement du RE¹⁰⁹.

En outre, IRE1 possède une fonction RNase non spécifique appelée RIDD (*Regulated IRE1-dependent RNA degradation*) responsable de la dégradation d'ARNm localisés à la membrane du RE, permettant la diminution de l'import de protéines « clientes » à replier dans la lumière du RE¹¹⁰.

Ainsi, tous ces phénomènes résultant de l'activation de la voie IRE1 permettent de résoudre le mauvais repliement des protéines, de promouvoir la dégradation des protéines mal repliées et d'empêcher leur production et leur accumulation. C'est pourquoi cette voie de

signalisation est extrêmement bien conservée au sein des espèces eucaryotes. Par ailleurs, la voie IRE1 est absolument nécessaire au cours du développement embryonnaire, puisque chez des souris déficientes en *Ire1α* (*Ire1α*^{-/-}), les embryons meurent de cause inconnue après 9,5 à 11,5 jours de gestation, alors que la létalité embryonnaire des souris *Xbp1*^{-/-} est observée à partir de 12,5 jours de gestation, à la suite de graves anomalies de développement dont particulièrement une sévère hypoplasie du foie et une anémie^{111,112}. La voie IRE1 est présente autant chez les protistes monocellulaires, que chez les végétaux et les animaux, faisant d'IRE1 la branche de signalisation UPR la plus ancestrale. Par exemple, chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*, l'accumulation de protéines mal conformées est détectée de la même manière par l'homologue d'IRE1 Ire1p, également pourvue de domaines Ser/Thr kinase et capable de réaliser l'épissage du facteur de transcription Hac1p, homologue de XBP1¹¹³.

D'autre part, en fonction des conditions de stress, l'activation de la voie IRE1 est régulée par des phénomènes de rétrocontrôle positif ou négatif consécutifs de la voie UPR. Par exemple, la voie IRE1 peut être inhibée par la forme non épissée de XBP1 (*XBP1u*), dont l'expression constitutive permettrait d'enrayer l'induction des gènes cibles pour un rétablissement de l'homéostasie réticulaire. Au contraire, l'activité transcriptionnelle de la voie IRE1 est potentialisée à la suite de l'induction de la voie ATF6, où le fragment actif de ce dernier augmente la quantité du précurseur XBP1u suite à la reconnaissance du domaine ERSE de son promoteur^{114,115}. Ainsi, l'intervention d'ATF6 et de XBP1u pourrait expliquer les écarts entre la réponse transcriptionnelle tardive de la voie IRE1 et l'épissage rapide de XBP1. En effet, le niveau basal d'expression de XBP1u étant faible, cette production accrue de l'ARNm de XBP1u grâce à ATF6 permet ainsi d'atteindre un niveau suffisant pour compenser sa dégradation, favorisant l'auto-induction de la voie IRE1 puisque XBP1s est capable d'activer sa propre transcription (*Figure 26*). Ce phénomène illustre ainsi l'existence de multiples coopérations entre les acteurs des différentes voies de l'UPR, permettant d'engendrer des réponses cellulaires adaptées aux différents types de stress réticulaire.

Enfin, l'activation de la voie IRE1 est également contrôlée par des interactions directes avec d'autres protéines au niveau de son domaine cytosolique. Par exemple, la liaison des protéines pro-apoptotiques de la famille Bcl2 BAK et BAX est nécessaire pour une activation complète d'IRE1¹¹⁶. Le recrutement de phosphatases telles que PTP-1B (*Protein-tyrosine phosphatase 1B*) ou AIP1 (*ASK1-interacting protein 1*) et de BI-1 (*BAX inhibitor-1*) limitent l'activité d'IRE1¹¹⁷ alors que d'autres membres de la famille bcl2, BIM et PUMA, sont nécessaires pour prolonger son activité d'épissage¹¹⁸.

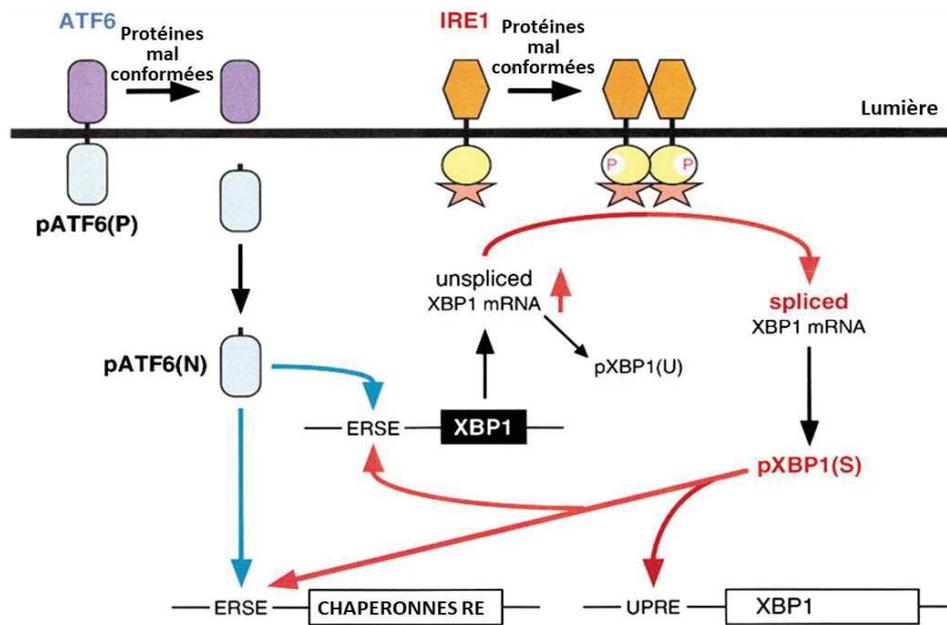


Figure 26 : Schéma de la signalisation IRE1-XBP1 et interaction avec la voie ATF6

3. La voie PERK - ATF4

De la même manière que la voie IRE1, l'accumulation de protéines mal conformées dans la lumière réticulaire et le déplacement de BiP vers la stabilisation de celles-ci induit l'activation de la protéine transmembranaire PERK par homodimérisation puis trans-autophosphorylation de ses domaines Ser/Thr kinase (Figure 23).

PERK partage des similarités structurales avec IRE1 puisque c'est également une protéine transmembranaire dotée d'un domaine N-terminal régulateur conservé situé du côté luminal et sensible aux protéines mal conformées, ainsi que d'une partie cytosolique portant une fonction Ser/Thr kinase.

Cette protéine de 125 kDa fait partie des protéines capables de phosphoryler la sérine 51 de la sous-unité α de la protéine eIF2 (*eukaryotic translation initiation factor 2*), ayant pour conséquence le ralentissement de la formation du complexe ternaire, composé (chez les eucaryotes) de la sous-unité 40S, l'ARNm et l'ARN de transfert (ARNt) de démarrage sur le premier codon. Ainsi, le recrutement de la sous-unité 60S permettant l'assemblage du ribosome 80S est inhibé, permettant l'arrêt global de la traduction des ARNm en protéines. En conséquence, l'inhibition de la traduction permet de réduire rapidement et transitoirement l'afflux de protéines à prendre en charge par le RE. Par ailleurs, l'activation de la voie PERK entraîne la diminution de la production de cycline D1 notamment via cet arrêt global de la traduction, aboutissant à un arrêt du cycle cellulaire en phase G1¹¹⁹.

En outre, il est important de noter que la phosphorylation de la sous-unité α d'eIF2 n'est pas spécifique du stress réticulaire et de l'activation de PERK. Chez les mammifères, elle peut être réalisée par trois autres kinases dans d'autres conditions de stress cellulaire (nutritionnel, oxydatif, thermique, viral...) : GCN2 (*general control nonderepressible 2 kinase*, ou *EIF2AK4*), HRI (*haem-regulated eIF2 α kinase*, ou *EIF2AK1*) et PKR (*dsRNA-activated protein kinase*, ou *EIF2AK2*)¹²⁰. De plus, la phosphorylation d'eIF2 α est transitoire et peut aussi être régulée par la phosphatase PP1c (*protein phosphatase 1 catalytic subunit*) via ses deux sous-unités régulatrices GADD34 (*growth arrest and DNA-damage-inducible protein 34*) et CREP (*constitutive repressor of eIF2 α phosphorylation*)¹²¹.

Paradoxalement, la phosphorylation d'eIF2 α permet la traduction sélective de certains ARNm en facilitant le contournement d'un cadre de lecture ouvert ou uORF (*upstream open reading frame*) situé sur l'extrémité 5' non traduite de l'ARNm bloquant la traduction. Lorsqu'eIF2 α est phosphorylé, l'inhibition d'eIF2B réduit l'échange du GTP en GDP permettant la traduction suite à un assemblage inefficace du ribosome lors de la reconnaissance du codon d'initiation AUG sur cette région uORF^{122,123}. Le cas le plus décrit dans la littérature est celui du facteur de transcription bZIP ATF4 (*Activating transcription factor 4*, ou CREB2) qui possède deux uORF, ce qui explique sa traduction sélective. ATF4 permet d'atténuer le stress réticulaire en activant la transcription de chaperonnes afin de compenser l'accumulation de protéines mal repliées ; ainsi que d'autres facteurs impliqués dans le transport des protéines dans le RE, la biosynthèse et le transport des acides aminés, ou encore le phénomène d'autophagie, d'où l'importance de cette voie dans la réponse au stress réticulaire.

De plus, cette voie permet également d'engendrer une réponse antioxydante grâce à la phosphorylation du facteur de transcription Nrf2 (*Nuclear factor-erythroid-derived 2-related factor 2*) par PERK, entraînant la dissociation du complexe Nrf2/Keap1 (*Kelch-like ECH-associated protein 1*) et par conséquent la translocation de Nrf2 au noyau afin d'activer un panel de gènes cibles permettant *in fine* une réponse adaptative antioxydante et cytoprotectrice¹²⁴. Il semblerait également qu'ATF4 pourrait s'hétérodimériser avec Nrf2 et reconnaître notamment les séquences StRE (*stress-response elements*) afin d'activer les gènes cibles de cette réponse antioxydante telle que l'hème oxygénase 1 (HO-1)¹²⁵.

Parallèlement, sachant qu'un blocage prolongé de la traduction n'est pas compatible avec la survie cellulaire, le facteur de transcription ATF4 entraîne un rétrocontrôle négatif de sa propre voie en induisant l'expression du gène *PPP1R15A*. Ce gène code pour GADD34, une

sous-unité de la Ser/Thr phosphatase PP1c, qui déphosphoryle et ainsi inhibe eIF2 α afin de restaurer la traduction globale des ARNm¹²⁶.

De plus, une des cibles majeures d'ATF4 est CHOP (*CCAAT/enhancer-binding protein homologous protein*). CHOP est un facteur de transcription encodé par le gène *DDIT3* (*DNA damage-inducible transcript 3*), jouant notamment un rôle crucial dans la réponse apoptotique face au stress réticulaire en se liant aux motifs CCAAT présent sur les promoteurs de ses gènes cibles. Son activation est principalement induite par la voie PERK, avec ATF4 se liant aux régions AARE1 et AARE2 (*amino acid response elements*) ainsi que CARE (*C/EBP-ATF response element*) sur son promoteur. En outre, lors d'un stress chronique, les 3 branches de l'UPR convergent vers l'activation de sa transcription, puisque le promoteur de CHOP contient les régions ERSE1 et ERSE2 qui sont reconnues par XBP1s et ATF6 α ¹²⁷. CHOP possède un domaine bZIP lui permettant de former des hétérodimères avec d'autres C/EBPs, ou avec d'autres facteurs à domaines bZIP de la famille des ATF¹²⁸. Par ailleurs, CHOP et ATF4 peuvent former un hétérodimère pour se fixer sur les promoteurs et ainsi augmenter l'expression de nombreux gènes impliqués dans le stress réticulaire tels que ATF3 (*Activating transcription factor 3*), TRIB3 (*Tribbles homolog 3*) et GADD34¹²⁹. Outre CHOP, ATF4 peut être lui-même responsable de la mort cellulaire via l'activation de GADD34 permettant la reprise de la synthèse protéique, ce qui peut engendrer la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans un contexte de surcharge protéique. Ainsi, ATF4 pourrait être un signal primaire et CHOP un signal secondaire lors de la mort cellulaire induite par le stress réticulaire¹²⁹.

En somme, l'importance de la voie PERK est mise en évidence chez les patients atteints du syndrome de Walcott-Rallison, où des mutations de cette kinase entraînent notamment un diabète néonatal, une atrophie du pancréas exocrine, une dysplasie squelettique, un retard de croissance et des complications hépatiques aboutissant à un décès précoce souvent attribuable à une défaillance hépatique¹³⁰.

4. La voie ATF6

De manière semblable aux voies IRE1 et PERK, en cas de stress réticulaire, l'activation de la voie ATF6 est médiée par la dissociation de BiP de son domaine luminal. ATF6 existe sous deux isoformes ubiquitaires chez les mammifères : ATF6 α et ATF6 β , où tous deux sont activés par le stress réticulaire et capables de se lier à l'ADN. Leur rôle est pourtant très différent : ATF6 α est responsable de l'induction des gènes de l'UPR alors que ATF6 β semble jouer le rôle de répresseur transcriptionnel, probablement afin de réguler l'intensité et la durée de la réponse au stress réticulaire médiée par ATF6 α ¹³¹. ATF6 est une protéine transmembranaire

ayant une taille de 90 kDa, avec un domaine C-ter luminal capable de détecter les protéines mal repliées mais dont la séquence ne possède aucune homologie avec celle d'IRE1 ou PERK. ATF6 possède aussi une extrémité N-ter cytosolique possédant un domaine de liaison à l'ADN CREB (*Cyclic AMP Response Element-Binding protein*) – ATF bZIP (*basic leucine zipper*). Son activation est également dépendante de la dissociation de BiP et d'une différence d'état d'oligomérisation mais elle est différente de celle d'IRE1 et PERK du fait qu'elle dépend d'une activité protéolytique. En effet, la dissociation de BiP permet de démasquer une séquence de translocation au Golgi, où ATF6 est clivé séquentiellement par les protéases S1 et S2 (S1P et S2P) situées sur la membrane du Golgi. Le fragment cytosolique clivé de 50 kDa ainsi produit migre dans le noyau où il se lie, de la même manière que XBP1s, au domaine de réponse au stress réticulaire (ERSE) et active les mêmes gènes cibles (*Figure 23*).

Ce facteur de transcription est un puissant activateur transcriptionnel de nombreux gènes codant pour des chaperonnes telles que BiP, GRP94, P58^{IPK}, PDI, ERp72 et la calréticuline permettant d'augmenter la capacité de repliement des protéines par le RE¹³². De plus, de la même manière que XBP1s, ATF6 active l'expression des protéines de la voie ERAD (EDEP), et des phospholipides (phosphatidylcholine), permettant une expansion du RE¹³³. En outre, ATF6 est également capable d'auto-amplifier la réponse UPR et notamment la voie IRE1 puisqu'il induit l'expression d'XBP1. Ainsi, ATF6 est essentiel à la cellule pour le repliement optimal des protéines, leur modification et sécrétion en réponse au stress.

A l'inverse d'IRE1 et PERK, ATF6 est sous forme d'oligomères à l'état basal non stressé¹⁰³. La transition de l'état d'oligomères en monomères est importante pour son activation puisque seuls les monomères sont clivés par S1P. Cependant, cette dé-oligomérisation n'est pas suffisante pour l'activation d'ATF6, puisque des mutations des cystéines, médiant l'oligomérisation par la formation de ponts disulfures, ne conduisent pas automatiquement au trafic d'ATF6 vers le Golgi¹³⁴. De même, la dissociation de BiP n'est pas suffisante pour l'activation d'ATF6, puisque la délétion d'une majeure partie de son domaine luminal, empêchant l'interaction avec BiP, ne conduit pas non plus à une translocation constitutive d'ATF6. En outre, la dissociation de BiP permet notamment l'interaction d'ATF6 avec COPII, un complexe protéique présent sur l'enveloppe des vésicules de transport de protéines cargo du RE vers le Golgi¹³⁵. Il semblerait donc que ce soit la combinaison de plusieurs de ces mécanismes qui active la voie ATF6.

L'activation d'ATF6 en réponse au stress réticulaire par protéolyse intra-membranaire via S1P et S2P ressemble à celle d'autres facteurs de transcription bZIP avec diverses fonctions

cellulaires tels que les membres de la famille OASIS Luman et CREBH (*cAMP-responsive element-binding protein H*), activés également par le stress réticulaire, ou SREBP (*Sterol Response Element Binding Protein*) activé en réponse à une carence en stéroïds¹³⁶. Ce dernier montre qu'au moins une partie de la signalisation UPR a co-évolué avec une voie de réponse à la privation en stéroïds.

L'activité ATF6 est finement régulée, notamment par la protéine wolframine codée par le gène WFS1 (*Wolfram syndrome 1*), dont la mutation est responsable du syndrome de Wolfram de type 1 caractérisé par un dysfonctionnement du RE lié à une dérégulation calcique aboutissant à l'apoptose des cellules bêta pancréatiques et à un diabète de type 1. Cette protéine WFS1 stabilise l'ubiquitine ligase E3 HRD1 (*HMG-CoA reductase degradation protein 1*) et amène ainsi à la dégradation d'ATF6 α par le protéasome et à la suppression de l'expression des gènes cibles d'ATF6 α ¹³⁷.

La voie ATF6, et notamment ATF6 α , est indispensable à la survie des cellules face au stress réticulaire, que ce soit *in vitro* ou *in vivo*. ATF6 est nécessaire au développement puisqu'un double knock-out (KO) d'ATF α et ATF6 β entraîne une mort au stade embryonnaire. En condition de stress réticulaire, des fibroblastes embryonnaires (MEF) ATF6 α ^{-/-} ont un défaut d'activation des chaperonnes et foldases (BiP, GRP94, ERp72 et P5) ainsi que des protéines de la voie ERAD (EDEP, HRD1 et HERP), résultant à une diminution de leur survie par rapport aux cellules MEF wild-type (WT)¹³⁸. De même, des souris ATF6 α ^{-/-} exposées à un stress réticulaire ont une survie diminuée de 80% par rapport aux souris WT¹³⁹. De manière intéressante, ces souris ATF6 α KO soumises à un stress réticulaire présentent une dysfonction hépatique ainsi qu'une stéatose. Ces conséquences semblent être attribuables à une diminution de la synthèse des enzymes de la β -oxydation ainsi que de la déstabilisation de l'ApoB100 permettant la formation des VLDL¹⁴⁰.

IV. Autres régulateurs de l'activation de la voie UPR

Une des questions clés concernant l'activation de la signalisation UPR est si la seule dissociation de BiP avec le domaine luminal de ces protéines sondes est suffisante pour activer l'UPR, ou si d'autres interactions moléculaires en amont peuvent jouer un rôle. En effet, la protéine chaperonne réticulaire BiP ne semblerait pas être le seul élément régulateur de l'activation de la voie UPR.

Il semblerait que non seulement les protéines mal conformées elles-mêmes mais aussi les lipides seraient capables d'induire la signalisation UPR¹⁴¹. De plus, une étude récente a

montré que l'enzyme PDIA6 (*Protein disulfide isomerase A6*), située dans la lumière du RE, est capable de contrôler l'activité d'IRE1 en interagissant directement avec la cystéine 148 de son domaine luminal pour former un pont disulfure et atténuer ainsi son activation¹⁴². Aussi, les thrombospondines, et en particulier la thrombospondine-4, se lient à ATF6 α et favorisent sa translocation nucléaire pour engendrer une réponse adaptative¹⁴³. Enfin, la protéine réticulaire CNPY2 (*Canopy FGF signaling regulator 2*), libérée de son interaction avec BiP lors du stress réticulaire interagit avec le domaine luminal de PERK. Ceci conduit à la cascade de signalisation où le facteur de transcription ATF4 induit la production de CHOP, qui est auto-amplifiée en retour par l'activation de la transcription de CNPY2 par CHOP¹⁴⁴.

Ainsi, ces données montrent que d'autres molécules dans le RE outre BiP peuvent être impliquées dans le déclenchement de la réponse UPR.

V. Conséquences paradoxales de l'activation de la voie UPR : équilibre entre survie et mort cellulaire

Le paradoxe de la voie UPR est que, telle une balance entre le Ying et le Yang, elle peut activer conjointement une réponse adaptative et une réponse pro-apoptotique.

D'une part, un faible niveau de stress réticulaire est physiologique et bénéfique pour la survie cellulaire. L'action coordonnée des 3 branches de la voie UPR (IRE1 α , PERK et ATF6 α) transmet une réponse adaptative (ou *integrated stress response*) ayant pour but de restaurer l'homéostasie réticulaire par différents mécanismes : augmentation de la taille du RE et de la capacité à replier les protéines, diminution de l'afflux des protéines à replier... D'autre part, lorsque ces tentatives pour restaurer l'homéostasie réticulaire échouent car l'ER stress est trop intense et insurmontable, la signalisation UPR induit une réponse pro-apoptotique, processus connu sous le nom d'« UPR terminal ».

Ainsi, une modulation fine et précise de la cinétique et de la durée d'activation des différentes branches de la voie UPR est absolument nécessaire pour ajuster les effets de cette signalisation en fonction du contexte de stress, afin d'obtenir la réponse cellulaire la plus adaptée. C'est pourquoi, en fonction du destin cellulaire, la réponse UPR est qualitativement distincte dans ses effets sur l'expression génique et protéique¹⁴⁵. Malheureusement, actuellement les mécanismes moléculaires exacts permettant à la cellule d'utiliser sélectivement les programmes UPR adaptatifs ou terminaux restent peu connus. De plus, différentes hypothèses ont été proposées mais dans des types cellulaires différents, des contextes et des modèles variables, parfois éloignés des conditions physiologiques de stress

réticulaire. En effet, la plupart des études concernant la voie UPR sont réalisées avec des inducteurs pharmacologiques utilisés à fortes doses, induisant fatalement l'apoptose des cellules. Dans ce contexte, les gènes codant pour les facteurs adaptatifs et apoptotiques sont co-exprimés ce qui gêne la distinction entre les signaux adaptatifs et pro-apoptotiques et rend encore plus difficile la compréhension de la transition entre ces deux phases. Ainsi, certaines hypothèses seront développées ci-après mais il est important de garder à l'esprit que des études de cinétique d'activation de l'UPR supplémentaires sont nécessaires pour amener à une meilleure compréhension de ces mécanismes.

1. Mécanismes de l'UPR « adaptatif »

Lors de l'activation de la signalisation UPR, deux vagues distinctes de réponses cellulaires sont observées. Immédiatement, l'activation de PERK freine la traduction des protéines via la phosphorylation d'eIF2 α . De plus, la dégradation sélective d'ARNm codant pour certaines protéines du RE est initiée grâce à la fonction RIDD de IRE1. Dans un second temps, une réponse transcriptionnelle est mise en place grâce à l'activation des trois facteurs de transcription XBP1s, ATF4 et ATF6f. Ceux-ci activent l'expression d'un large panel de gènes cibles, parfois communs, permettant ainsi d'activer la synthèse de protéines chaperonnes, la voie ERAD, ainsi que l'extension de la membrane du RE.

Malgré la proximité structurale des domaines luminaux d'IRE1 et PERK, le comportement temporel de ces deux effecteurs diffère drastiquement lors d'un ER stress. Dans le cadre de l'UPR adaptatif, il semblerait que la voie IRE1 soit préférentiellement maintenue en dépit de la voie PERK, permettant à XBP1s de produire une réponse globale bénéfique pour la cellule. Ainsi, la voie IRE1 semble jouer un rôle prépondérant dans la protection contre l'apoptose. Par ailleurs, l'extinction transitoire d'IRE1 provoquant ainsi l'arrêt de production du facteur de transcription XBP1s aboutit à une baisse drastique de la viabilité cellulaire en induisant l'apoptose¹⁴⁶. De plus, afin de freiner la signalisation UPR, un rétrocontrôle de la voie PERK est également mis en place par ATF4 qui induit l'expression de GADD34 capable de déphosphoryler eIF2 α pour permettre la reprise de la traduction des ARNm, nécessaire à la survie cellulaire. En outre, sachant que CHOP est le médiateur principal de l'apoptose induite par l'UPR, plusieurs mécanismes de suppression de CHOP sont mis en place de manière précoce par la réponse UPR afin de laisser une chance à la cellule de gérer le stress réticulaire. Par exemple, l'expression du micro-ARN miR-211 dépendante de l'activation de PERK réprime la transcription de CHOP via la méthylation des histones¹⁴⁷. De plus, il semblerait que la survie cellulaire après un stress réticulaire serait notamment permise

grâce à l'induction de mécanismes d'autophagie, puisqu'une perturbation de l'autophagie sensibilise au stress du RE. Le déclenchement de l'autophagie par l'UPR serait principalement médié via l'activation de Beclin 1 par JNK, dépendante de l'interaction d'IRE1 avec TRAF2 (*TNFR-associated factor 2*) activant ASK1 (*Apoptosis signal-regulating kinase 1*). En effet, chez des cellules déficientes en IRE1 ou traitées avec un inhibiteur de JNK, l'autophagie induite par l'ER stress était abolie, alors que des cellules déficientes en PERK ou ATF6 avaient une autophagie similaire aux cellules saines¹⁴⁸. Un autre type d'autophagie, la macroautophagie, est également activée lors de l'ER stress pour permettre la dégradation par le lysosome de grosses structures telles que le RE endommagé ou les protéines agrégées.

En outre, Rutkowski et al. ont émis l'hypothèse que lors d'une exposition à un stress modéré la réponse adaptative et la « résistance » à l'apoptose serait médiée à terme par une meilleure stabilité des ARNm ou protéines de survie par rapport à celles de l'apoptose, et serait moins dépendante de l'activation directe des 3 protéines sondes. En effet, l'activation des senseurs proximaux est atténuée en condition de stress adaptatif, en conséquence d'une amélioration de la capacité de traitement et de repliement des protéines par le RE médiée par la réponse initiale de l'UPR. De plus, ils ont observé ce même phénomène d'atténuation et de protection dans le cadre d'un pré-conditionnement des cellules, où celles-ci sont mises en contact avec un faible niveau d'ER stress avant d'être exposées à un puissant inducteur de l'UPR¹⁴⁵.

2. Mécanismes de l'UPR « terminal »

Au contraire, lors d'un stress chronique et insurmontable, le destin de la cellule doit préférentiellement se tourner vers la mort cellulaire, notamment par apoptose, afin de débarrasser le tissu d'une cellule endommagée. La réponse pro-apoptotique est principalement régulée par les éléments CHOP et IRE1, ainsi qu'une signalisation croisée entre le RE et la mitochondrie. La voie la plus étudiée est celle de CHOP, bien établi comme régulateur majeur de l'apoptose en réponse au stress du RE, comme il l'a été démontré dans de nombreuses études *in vitro* et modèles animaux *in vivo*¹⁴⁵.

e. Mécanismes de l'apoptose induits par CHOP

Contrairement au contexte de stress adaptatif, lors d'un stress chronique, la voie IRE1 semble être rapidement freinée en dépit de la persistance du stress, alors que la voie PERK est maintenue, permettant l'expression de CHOP. Ainsi, l'inactivation d'IRE1 permettrait d'abolir les effets favorables à la survie médiés par XBP1s au profit des effets pro-apoptotiques de la

voie PERK qui devient dominante¹⁴⁹. Par ailleurs, lorsqu'une extinction transitoire de PERK est réalisée expérimentalement, la survie cellulaire est améliorée et l'apoptose empêchée lors d'un stress réticulaire^{150,151}. De plus, l'activation importante et chronique de PERK permet de surmonter les courtes demi-vies des ARNm et protéines d'ATF4 et CHOP afin de promouvoir l'UPR terminal¹⁴⁵. D'ailleurs, dans des cellules subissant un stress chronique, il a été montré que ATF4 et CHOP agissent ensemble à l'état d'hétérodimère pour augmenter la synthèse protéique afin d'induire un stress oxydatif et la mort cellulaire¹²⁹. Les mécanismes d'induction de l'apoptose par CHOP sont multiples et restent peu élucidés. Ils semblent être activés qu'en cas de dépassement d'un certain seuil de stress non résolu.

La mort cellulaire induite par le stress réticulaire est principalement dépendante de la voie apoptotique mitochondriale, qui est régulée par les protéines de la famille Bcl-2 (*B cell lymphoma-2*), comprenant des facteurs anti-apoptotiques (Bcl-2, Bcl-XL...) et pro-apoptotiques (Bax, Bak, Bim, Bid, Bad, Puma...) dont certaines sont qualifiées de « BH3-only » en fonction de leur structure. CHOP exerce son rôle dans l'apoptose principalement en diminuant l'expression des facteurs anti-apoptotiques Bcl-2/Bcl-XL tout en induisant la transcription de Bim¹⁵². L'inhibition de l'expression de Bcl-2 entraîne une diminution de la séquestration des protéines BH3-only (Bad, Bim, Noxa et Puma) nécessaires à la perméabilisation mitochondriale induite par Bax (*Bcl-2-associated X protein*) et Bak (*Bcl-2 homologous antagonist killer*)¹⁵³. En effet, ces derniers entraînent un relargage du cytochrome c, une activation des caspases et finalement l'apoptose de la cellule¹⁵⁴. De plus, CHOP induit également l'expression d'autres facteurs pro-apoptotiques tels que le récepteur de mort DR5 (*Death receptor 5*), TRB3 (*Tribbles-related protein 3*), impliqués également dans l'induction de l'apoptose¹⁵⁵.

D'autres mécanismes apoptotiques de CHOP passent par l'induction d'un stress oxydatif. En effet, en cas de stress du RE prolongé, CHOP induit la transcription de ERO1 α (ER oxidase 1 α), ce qui résulte en une augmentation du caractère oxydant de la lumière du RE, une fuite de H₂O₂ dans le cytoplasme et la formation de ROS¹⁵⁶. Ensuite, l'apoptose induite par cette voie est liée à une perturbation de la signalisation calcique. L'activation d'ERO1 α par CHOP stimule le canal calcique réticulaire IP3R1 (*Inositol 1,4,5-triphosphate receptor type 1*) induisant l'efflux de calcium du RE vers la mitochondrie, ainsi que l'accumulation de calcium dans le cytoplasme activant la kinase CaMKII (*Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II*), déclenchant par conséquent la signalisation apoptotique mitochondriale^{157,158}.

Enfin, l'activation de la transcription de GADD34 par CHOP participe également à l'apoptose en réponse à une activation chronique de l'UPR. En effet, GADD34 réalise la déphosphorylation d'eIF2 α ce qui permet de restaurer la traduction des protéines mais peut également aboutir à un stress oxydatif et mener à la mort cellulaire (Figure 27).

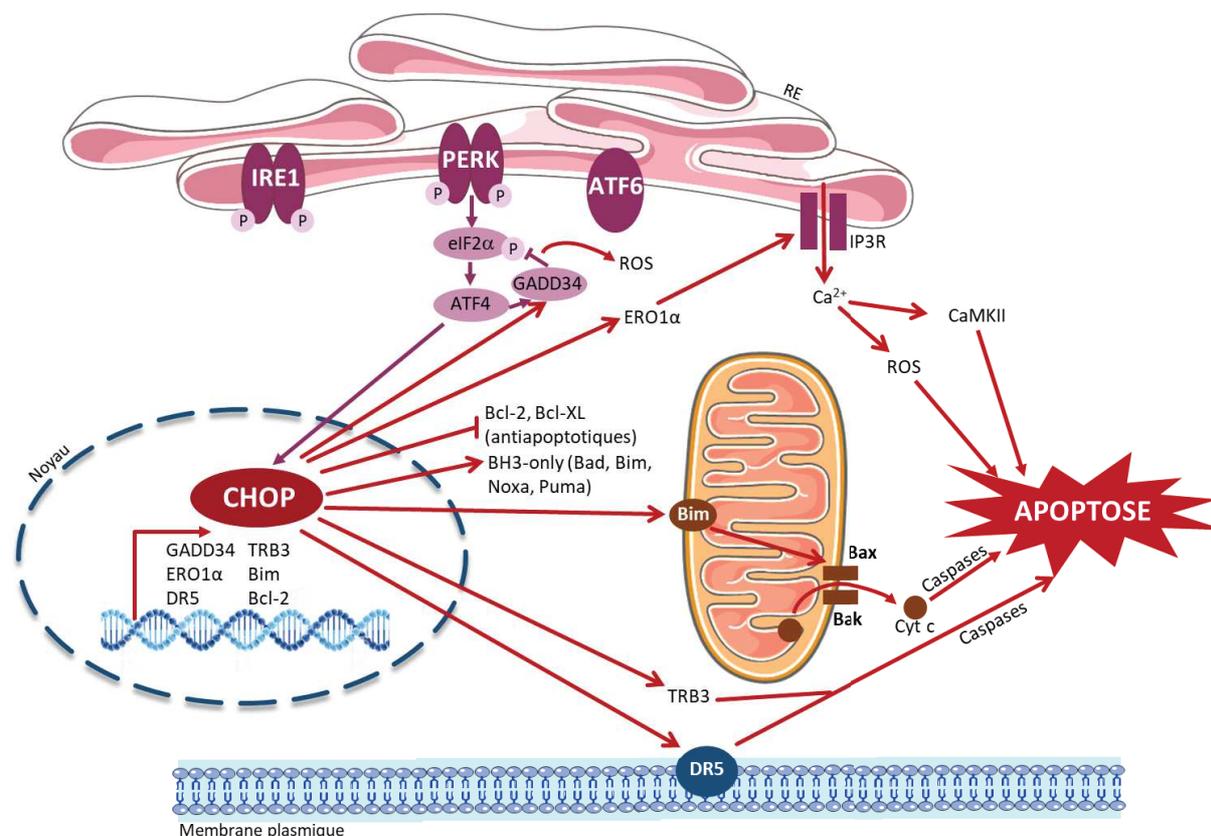


Figure 27 : Schéma simplifié des mécanismes d'induction de l'apoptose par CHOP

f. Mécanismes de l'apoptose induits par la voie IRE1

La signalisation IRE1 participe également à l'induction de l'apoptose face à un ER stress chronique irrésolu.

La protéine sonde IRE1 est sensible à l'intensité ou la durée du stress via une modification de son état d'oligomérisation. En effet, lors d'un stress intense ou prolongé, l'oligomérisation d'IRE1 α est augmentée, ce qui amplifie son activité RIDD et conduit au clivage de divers ARNm, dont des micro-ARN inhibiteurs de l'apoptose, favorisant ainsi la mort cellulaire^{154,159}. Ainsi, dans le cadre de l'UPR terminal, la signalisation apoptotique de IRE1 via RIDD deviendrait dominante par rapport à sa fonction protectrice via l'épissage spécifique de XBP1.

Un autre lien possible entre IRE1 et l'apoptose induite par l'ER stress pourrait être l'interaction d'IRE1 avec des protéines impliquées dans cette signalisation apoptotique. Par

exemple, il a été montré par co-immunoprécipitation que IRE1 interagissait avec Bak et Bax, impliquées dans la voie mitochondriale de l'apoptose, et que cette interaction était importante pour son activation¹¹⁶. De plus, lorsque IRE1 est activé, son interaction avec la protéine adaptatrice TRAF2 active la kinase ASK1 qui induit JNK, dont l'activité prolongée est liée à la mort cellulaire en cas d'ER stress chronique¹⁶⁰. Il a également été montré que IRE1, indépendamment de son activité RNase et également par le biais de TRAF2, pouvait activer la caspase-12, jouant le rôle déclencheur de la voie mitochondriale de l'apoptose en réponse à l'ER stress¹⁶¹ (Figure 28).

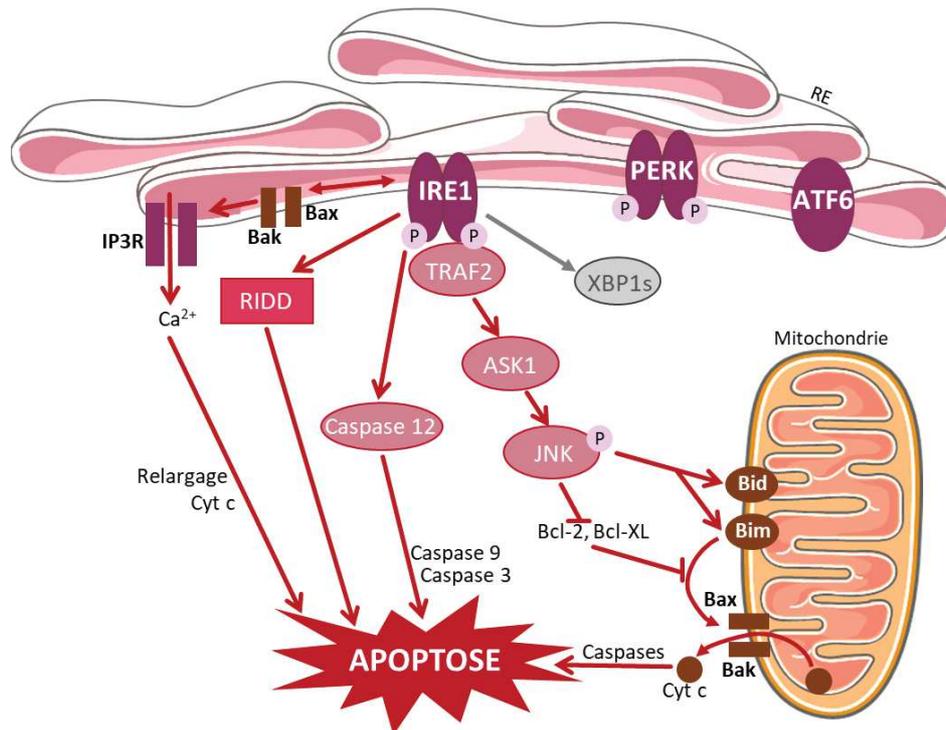


Figure 28 : Schéma simplifié des mécanismes d'induction de l'apoptose par la voie IRE1

3. Cinétique du contrôle du destin cellulaire

Plusieurs hypothèses ont été émises concernant la cinétique d'activation des différentes branches de l'UPR dans le contrôle le destin cellulaire.

Récemment, Márton et al. ont proposé un modèle où les mécanismes adaptatifs et pro-apoptotiques ne pourraient être actifs en même temps grâce un processus de double rétro-contrôle négatif entre les inducteurs de l'autophagie et de l'apoptose, permettant un antagonisme mutuel entre ces deux mécanismes. Egalement, ils ont suggéré que les protéines sondes IRE1 et PERK exerçaient un rétrocontrôle positif mutuel puisque l'absence de l'une d'entre elles avait un impact sur la signalisation de l'autre (Figure 29). Par exemple, l'extinction transitoire de PERK diminuerait la phosphorylation de JNK par IRE1. Cette régulation mutuelle

entre ces branches de l'UPR serait cruciale pour établir un point de non-retour dans le processus de prise de décision de survie ou de mort cellulaire¹⁵⁰. Ainsi, lors d'un stress persistant, le changement de la balance vers une apoptose irréversible permet de garantir qu'une fois la cellule engagée dans ce processus de mort cellulaire, celle-ci ne peut plus revenir en arrière. Ce phénomène permettrait ainsi d'éviter la prolifération de cellules endommagées et de protéger le tissu¹⁶².

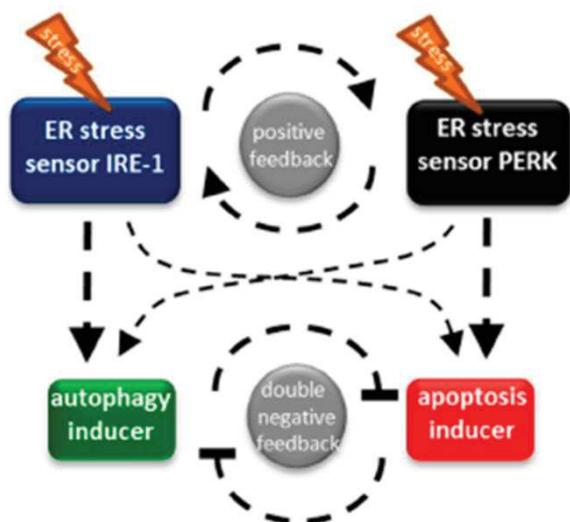


Figure 29 : Schéma du modèle de rétro-contrôle positif (positive feedback) entre IRE1 et PERK et du double rétro-contrôle négatif (double negative feedback) entre les inducteurs de l'autophagie et ceux de l'apoptose.

Hypothèse proposée par Márton et al., Int. J. Mol. Sci. 18(1): 58 (2017)

En revanche, Walter et al. ont évoqué une autre hypothèse où le destin de la cellule stressée est plutôt déterminé par la cinétique d'activation des signalisations IRE1 et PERK plutôt que par le « switch » ou le remplacement de l'activité d'une branche (i.e. IRE1) à la suite d'une autre (i.e. PERK)¹⁴⁶ (Figure 30).

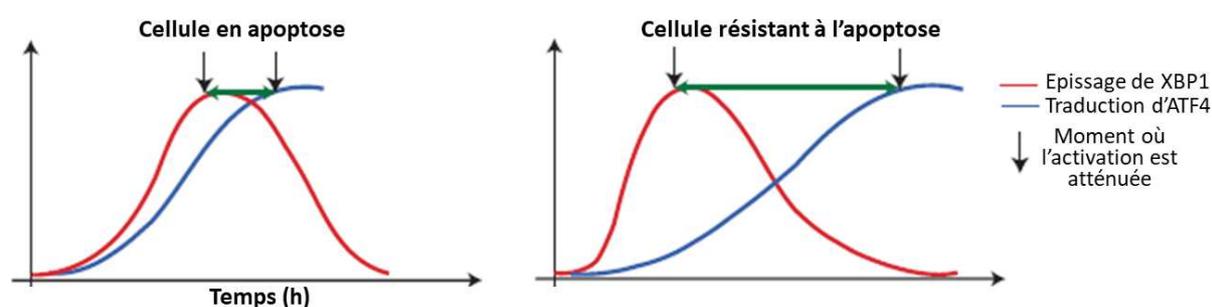


Figure 30 : Destin des cellules en fonction de la cinétique d'activation des voies IRE1 et PERK lors d'un ER stress selon Walter et al.

Dans une cellule en apoptose, l'épissage de XBP1 est tardif et se produit de façon lente, alors que ATF4 s'accumule rapidement et la traduction est relancée précocément (à gauche).

Au contraire, dans une cellule résistante à l'apoptose, IRE1 est activé précocément et XBP1s s'accumule rapidement, alors que la traduction d'ATF4 est plus lente et la déphosphorylation d'eIF2α est tardive (à droite).

Adapté de Walter et al., Cell Death and Differentiation (2015) 22, 1502-1516

VI. Outils pharmacologiques pour induire un stress réticulaire et mimer l'activation de la voie UPR

Afin d'étudier les mécanismes et les conséquences de l'activation de la voie UPR, de nombreux composés inducteurs de stress peuvent être utilisés. Ceux-ci diffèrent dans leur mode d'action et peuvent ainsi induire différents types de stress réticulaire avec des conséquences diverses sur la réponse cellulaire. Seuls les composés avec les modes d'action les plus représentés dans la littérature seront décrits dans ce chapitre (*Tableau 8*).

1. Inhibition de la glycosylation des protéines

La tunicamycine est un agent stresseur spécifique du réticulum endoplasmique largement utilisé dans la littérature. C'est un antibiotique possédant une structure nucléosidique, produit naturellement par différentes bactéries du genre *Streptomyces* telles que *Streptomyces lysosuperficus* ou *Streptomyces clavuligerus*. Le mode d'action de la tunicamycine repose sur l'inhibition de la N-glycosylation des protéines, qui est une modification post-traductionnelle réalisée par l'enzyme N-acétylglucosamine phosphotransférase (GPT). Cette enzyme catalyse le transfert d'un N-acétylglucosamine-1-phosphate à partir d'UDP-N-acétylglucosamine à un dolichol phosphate, représentant la première étape de la biosynthèse des glycoprotéines dans le RE. L'inhibition de la GPT par la tunicamycine est permise grâce à analogie structurale et donc une compétition avec le substrat N-acétylglucosamine de l'enzyme. Il en résulte alors une accumulation de protéines mal conformées dans la lumière du RE suite à l'altération de la synthèse, du repliement et du transport de ces glycoprotéines dans le RE. Son mécanisme étant basé sur la biosynthèse des protéines pour exercer son action, la tunicamycine induit un stress de manière différée et peu intense. Malgré son activité antivirale, la tunicamycine n'a aucune application thérapeutique compte tenu de sa toxicité importante, notamment neurologique mais aussi hépatique et rénale, pouvant être fatale¹⁶³.

2. Inhibition des flux calciques

La thapsigargine est également l'un des agents stresseurs du RE les plus utilisés dans la littérature. C'est une lactone sesquiterpénique extraite de la plante méditerranéenne *Thapsia garganica*. Elle est utilisée comme inducteur de stress réticulaire pour sa fonction d'inhibiteur non-compétitif de la pompe calcique du réticulum endoplasmique SERCA (*Sarco/endoplasmic reticulum calcium ATPase*). L'inhibition puissante et sélective de la pompe SERCA par la thapsigargine induit une augmentation du calcium cytosolique et une déplétion

du calcium réticulaire par le blocage de la recapture du calcium par le RE. Ceci entraîne une perturbation des chaperonnes dépendantes du calcium (telles que la calnexine) et nuit au bon repliement des protéines qui s'accumulent dans le RE, conduisant à terme à l'apoptose. La thapsigargine exerce un effet de manière assez vive et ciblée, ce qui active rapidement la voie UPR. La thapsigargine joue également un rôle inhibiteur de l'autophagie puisqu'elle empêche la fusion des autophagosomes avec les lysosomes, représentant la dernière étape du processus d'autophagie¹⁶⁴. Les bienfaits de la plante *Thapsia garganica* sont utilisés dans la médecine traditionnelle Arabe et Européenne pour le traitement des douleurs rhumatismales. Le manque de sélectivité de la thapsigargine pour les cellules tumorales envers les cellules saines empêche son utilisation en tant que molécule anticancéreuse.

Une prodrogue de la thapsigargine, la mipsagargine (G-202), activée uniquement dans les cellules cancéreuses, est actuellement en études cliniques de phase 2 dans le traitement du glioblastome, du cancer de la prostate, du cancer rénal et du carcinome hépatocellulaire¹⁶⁵.

3. Inhibition du protéasome

Le protéasome est un complexe protéique à plusieurs sous-unités présent dans le cytoplasme et le noyau des cellules eucaryotes. De nombreux inhibiteurs du protéasome sont disponibles pour induire l'UPR. Certains sont approuvés en tant que médicaments (Bortezomib, Carfilzomib, Ixazomib), d'autres sont en essais cliniques (Oprozomib, Delanzomib, Marizomib) et d'autres sont réservés aux études précliniques (MG-132). Les inhibiteurs du protéasome bloquent la dégradation des protéines ubiquitinylées, ce qui induit une accumulation des protéines mal conformées dans la lumière du RE par inhibition de leur transport rétrograde. Ainsi, les cellules sécrétrices ayant un UPR très actif telles que les lymphocytes B sont très sensibles aux inhibiteurs du protéasome et entrent rapidement en apoptose via l'activation des gènes pro-apoptotiques induits par l'UPR (ex : CHOP). C'est pourquoi ils sont étudiés dans le traitement du cancer et sont approuvés dans le traitement du myélome multiple¹⁶⁶.

Le Bortezomib (*Velcade* par Millenium Pharmaceuticals et *Cytomib* par Venus Remedies) est le premier inhibiteur du protéasome approuvé aux Etats-Unis en 2003 par la FDA dans le traitement du myélome multiple. Il inhibe le site catalytique du protéasome 26S de manière puissante et sélective grâce à son atome de bore.

Le Carfilzomib (*Kyprolis* par Onyx Pharmaceuticals) a également été approuvé par la FDA en 2012 pour le traitement du myélome multiple. C'est un tétrapeptide époxycétone inhibiteur irréversible de l'activité chymotrypsine-like du protéasome.

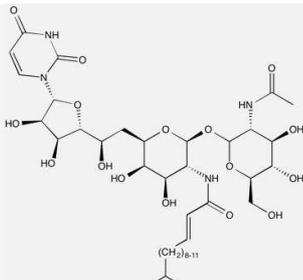
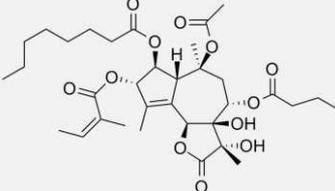
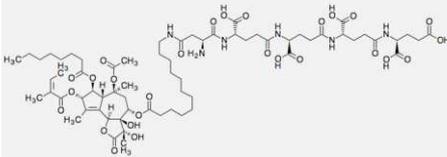
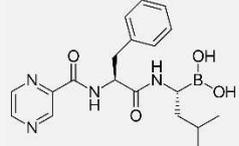
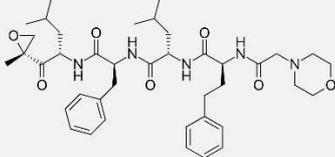
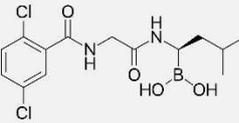
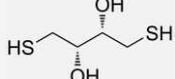
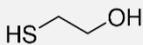
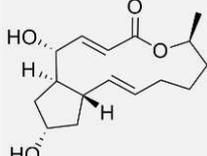
4. Agents réducteurs

Le dithiothreitol (DTT) et le 2- β mercaptoéthanol sont des agents réducteurs qui altèrent l'environnement oxydant du RE et empêchent la formation des ponts disulfures, garants de la conformation et du transport correct des protéines sécrétées. Ce stress réducteur induit ainsi l'UPR suite à une accumulation de protéines mal conformées dans la lumière du RE. Néanmoins, ce ne sont pas des inducteurs spécifiques du stress réticulaire puisqu'ils inhibent également la formation de ponts disulfures des protéines nouvellement synthétisées situées dans le cytosol. Le DTT, ayant un pouvoir réducteur plus important que le 2- β mercaptoéthanol, induit rapidement un stress réticulaire en quelques minutes. Ces deux composés sont toxiques par contact, inhalation et ingestion car ils causent des irritations, des troubles digestifs et peuvent être létaux.

5. Inhibition du transport des protéines

La Brefeldine A est une lactone macrocyclique antivirale produite par le champignon *Penicillium brefeldianum*. Elle inhibe le transport des protéines du RE vers le Golgi, engendrant l'accumulation de protéines dans le RE et un stress réticulaire. Son mécanisme d'action serait lié à une inhibition non compétitive de l'activation de ARF1 (*ADP-ribosylation factor 1*), perturbant la formation des vésicules de transport COP-I à la membrane du Golgi¹⁶⁷.

Tableau 8 : Principaux outils pharmacologiques permettant d'induire l'ER stress

Classe	Molécule	Structure	Mécanisme d'action
Inhibiteur de la N-glycosylation des protéines	Tunicamycine		Inhibition de la N-acétylglucosamine phosphotransférase Accumulation de protéines mal conformées
Inhibiteurs des flux calciques	Thapsigargine		Inhibition de la pompe ATPase calcique du réticulum sarcoplasmique et endoplasmique (SERCA) Diminution du taux de Ca ²⁺ à l'intérieur du RE
	Mipsagargine		
Inhibiteurs du protéasome	Bortezomib		Inhibition du protéasome Bloquent la dégradation des protéines ubiquitinylées
	Carfilzomib		
	Ixazomib		
Agents réducteurs	DTT		Inhibition de la formation de ponts disulfures des protéines Accumulation de protéines mal conformées
	2β-mercaptoéthanol		
Inhibiteur du transport des protéines	Brefeldine A		Inhibition de ARF1 ? Empêche la formation de vésicules de transport COP-I des protéines du RE vers le Golgi

SERCA : Sarco/endoplasmic reticulum calcium ATPase, RE : réticulum endoplasmique, DTT : Dithiothréitol, ARF1 : ADP-ribosylation factor 1)

**PARTIE 3 : LA VOIE UPR DANS LE
DÉVELOPPEMENT DE LA NASH : UNE NOUVELLE
CIBLE THÉRAPEUTIQUE ?**

Le stress du RE et la voie UPR, initialement perçus comme de simples réponses au dérèglement de l'homéostasie protéique, se sont révélés comme des voies de signalisation clés dans le développement de diverses maladies métaboliques. Par exemple, il a été montré que l'UPR est impliqué dans la pathogénèse du diabète de type 1¹⁶⁸ ainsi que du diabète de type 2¹⁶⁹, notamment par ses effets annexes sur le métabolisme des lipides et sur la réponse pro-apoptotique, respectivement. Rétrospectivement, ce lien entre UPR et maladies métaboliques semble évident puisqu'il est connu qu'une perturbation de l'homéostasie des lipides peut induire un stress réticulaire et qu'en corollaire, la voie UPR régule le métabolisme des lipides¹⁷⁰. Compte-tenu de l'implication du foie et de son RE dans le métabolisme des lipides et du lien évident entre lipides et NASH, il est judicieux de se questionner sur l'implication de la voie UPR dans la pathogénèse de la NASH.

I. Implication de la voie UPR dans la physiopathologie de la NASH

L'activation de la voie UPR est une caractéristique prépondérante des maladies métaboliques, dont la NASH. La voie UPR est initialement déclenchée dans le foie en réponse à un stress métabolique, afin de limiter les perturbations de l'homéostasie des protéines et des lipides¹⁷¹⁻¹⁷³. Ainsi, la voie UPR permet de protéger l'unité fonctionnelle du foie, les hépatocytes, en maintenant un réticulum endoplasmique développé et hautement productif pour assurer la synthèse des nombreuses protéines produites par le foie. Cependant, en cas de diabète ou d'obésité par exemple, un état de glucotoxicité, de lipotoxicité et d'inflammation chronique peuvent s'installer ce qui active la voie UPR de manière prolongée et inappropriée. Cette voie initialement protectrice devient alors délétère par divers mécanismes favorisant le développement de la stéatose. De plus, dans ce contexte, l'UPR est également capable d'initier ou de potentialiser des réponses pro-inflammatoires ou pro-apoptotiques qui peuvent accroître les lésions hépatiques et favoriser l'évolution d'une stéatose en stéatohépatite. Ainsi, il est maintenant reconnu que l'UPR joue un rôle mécanistique dans le développement et/ou la progression de la NASH.

1. Voie UPR, maladies métaboliques et NAFLD

Initialement, le rôle crucial de la voie UPR dans le foie a été découvert en 2000, dans une étude montrant que XBP1 est essentiel pour le développement du foie puisque des embryons de souris déficientes en XBP1 présentent une sévère hypoplasie du foie et une hématopoïèse réduite conduisant à leur mort¹¹². La présence d'un stress réticulaire dans la

NASH a été décrite pour la première fois dans des foies de modèles murins génétiques et diététiques de la NASH¹⁶⁹. Ensuite, ces données ont été confirmées dans d'autres modèles animaux d'obésité induisant une stéatose^{174,175}, ainsi que dans le modèle MCD, induisant une stéatose sans obésité¹⁷⁶. Notamment, il a été montré qu'un régime riche en acides gras saturés chez le rat, connu pour induire une insulino-résistance, induisait une stéatose avec une activation de la voie UPR dans le foie¹⁷⁴. De plus, une activation du facteur pro-apoptotique CHOP et du facteur pro-inflammatoire et insulino-désensibilisant JNK a été remarquée dans des modèles animaux de stéatohépatite¹⁷⁶⁻¹⁷⁸. Par la suite, une augmentation des niveaux d'ER stress, avec une perturbation de plusieurs marqueurs de l'UPR, ont également été reportés dans le foie et le tissu adipeux de patients atteints d'obésité, de NAFLD ou de NASH¹⁷⁹⁻¹⁸³. En particulier, une augmentation de la forme phosphorylée de la protéine eIF2 α sans activation en aval de ATF4, GADD34 ou CHOP a été observée chez les patients atteints d'obésité, de NAFLD ou de NASH^{179,180}; ainsi qu'une diminution de XBP1s en corrélation avec une activation accrue de JNK chez les patients atteints de NASH par rapport aux patients ayant une NAFLD. Ainsi, il semblerait que le développement de la NASH soit associé spécifiquement à l'activation de la voie JNK ainsi qu'à l'incapacité de produire XBP1s¹⁷⁹. De plus, il a été montré qu'un défaut d'autophagie chez les personnes obèses était responsable de cette activation de l'UPR et du dérèglement de la signalisation à l'insuline¹⁸⁴, alors qu'une perte de poids chez des individus obèses permet au contraire de diminuer l'état de stress réticulaire¹⁸⁰. En outre, une étude a montré que les taux de BiP étaient diminués dans le sérum et le foie des patients atteints de NASH en comparaison aux patients atteints d'une simple stéatose, révélant un état d'ER stress accru¹⁸⁵. Ainsi, l'ER stress semblerait conduire à l'activation de différentes réponses intracellulaires pouvant initier ou exacerber l'insulino-résistance, l'inflammation, et même dans certains cas aboutir à la mort hépatocytaire et à la lésion tissulaire, qui sont des mécanismes largement impliqués dans la pathogenèse de la NAFLD.

Cependant, malgré l'accumulation de données sur l'ER stress dans la NAFLD, les mécanismes moléculaires de la contribution de l'UPR dans la pathogenèse de la NAFLD ne sont pas encore complètement élucidés.

2. Stress du RE et métabolisme hépatique des lipides

Une accumulation de données montre que la voie UPR, en dehors de sa fonction classique dans le maintien de l'homéostasie des protéines, joue un rôle prépondérant au niveau du métabolisme hépatique des lipides. Il est reconnu depuis plusieurs années que l'accumulation hépatique de lipides, et en particulier d'acides gras saturés, est une cause

d'induction de l'ER stress^{169,174,186,187}. Egalement, de nombreuses études indiquent que l'ER stress perturbe le métabolisme hépatique des lipides et peut favoriser cette accumulation de lipides hépatiques en retour^{140,188-191}. De cette manière, l'accumulation hépatique de lipides pouvant autant être une cause et une conséquence de l'ER stress, un cercle vicieux d'auto-induction favorise le développement de la stéatose hépatique. Cependant, en corrélation avec sa fonction primaire d'adaptation des cellules au stress, l'UPR est également essentiel pour limiter l'accumulation de lipides hépatiques en réponse à un stress lipotoxique^{191,192}.

Ainsi, le rôle délétère ou bénéfique de l'activation de l'UPR dans le contexte de l'accumulation hépatique de lipides est encore actuellement controversé. La balance entre les effets bénéfiques ou délétères de l'activation de l'UPR sur le métabolisme hépatique des lipides semble dépendre des conditions métaboliques, et donc des conditions de réponse au stress réticulaire. En effet, une réponse retardée ou insuffisante à un stress réticulaire peut amener à la conversion des mécanismes physiologiques de la réponse UPR en des conséquences pathologiques, telles que l'accumulation de lipides mais aussi l'insulinorésistance, l'inflammation et l'apoptose, qui jouent un rôle important dans la pathogenèse et la progression de la NASH.

a. Le stress réticulaire peut empêcher l'accumulation hépatique de lipides

Certaines données de la littérature montrent que l'activation de la voie UPR, et en particulier la voie la plus conservée, IRE1, peut permettre de protéger le foie contre le développement d'une stéatose hépatique dans différents contextes de stress réticulaire. En effet, il a été montré qu'IRE1 α est nécessaire pour maintenir l'homéostasie lipidique du foie, en empêchant l'accumulation de lipides et en maintenant la sécrétion de lipoprotéines en cas de stress réticulaire. Ce mécanisme serait lié à son activité endoribonucléase (RIDD) permettant la régulation de l'oxydation des acides gras et la lipolyse des triglycérides. De plus, des souris présentant une délétion hépato-spécifique d'IRE1 α ont une stéatose hépatique exacerbée et développent une NASH profonde, une intolérance au glucose et une résistance à l'insuline à la suite d'un régime gras¹⁹³. Des études de la littérature ont montré que cette voie protectrice de l'UPR contre la stéatose médiée par IRE1 α était perturbée dans le foie des patients atteints de NASH ou dans des modèles animaux obèses, et pourrait être expliquée par un phénomène de S-nitrosylation d'IRE1 α , supprimant son activité RNase^{193,194}. De plus, XBP1s joue également un rôle protecteur puisqu'il contrôle la lipogenèse hépatique en régulant les taux de cholestérol et triglycérides¹⁷².

b. Le stress réticulaire ou une perturbation de l'UPR adaptatif peut favoriser l'accumulation hépatique de lipides

Le stress du RE peut favoriser le développement de pathologies hépatiques liées à l'accumulation de lipides telles que la NAFLD. En effet, il a été montré que la présence d'un stress réticulaire chronique induit une accumulation de lipides dans les hépatocytes notamment en stimulant les voies de synthèse et en inhibant les voies de dégradation et d'export des acides gras.

L'implication des trois branches de la voie UPR dans le métabolisme des lipides hépatiques a été étudiée dans de nombreux modèles animaux de stress réticulaire ayant subi des ablations génétiques de ces éléments de l'UPR, montrant que la perturbation de l'une de ces branches, ou de BiP, a un impact sur l'accumulation hépatique de lipides^{191,195}. Notamment, la voie IRE1 joue un rôle très important dans le métabolisme des lipides puisqu'une délétion spécifique d'IRE1 dans le foie conduit à une stéatose modeste chez la souris, qui devient profonde en cas d'induction de stress réticulaire pharmacologique ou par un régime lipogénique. Au contraire, les souris avec une délétion spécifique de XBP1s dans le foie sont protégées contre le développement d'une stéatose profonde en réponse à un régime lipogénique. De plus, l'ablation génétique d'ATF6 α exacerbe le développement de la stéatose hépatique en réponse à un stress réticulaire induit pharmacologiquement chez la souris via une augmentation du taux de triglycérides et des gouttelettes lipidiques dans le foie¹⁴⁰. De même, la délétion en eIF2 α dans le foie exacerbe la stéatose hépatique suite à un stress réticulaire induit par la tunicamycine. En outre, la surexpression de GADD34 (provoquant l'inactivation d'eIF2 α) protège contre la stéatose induite par un régime gras (HFD), et ce même effet est obtenu avec la surexpression d'une phosphatase d'eIF2 α ¹⁸⁹. De même, des souris portant une délétion hétérozygote d'ATF4 sont protégées contre la stéatose hépatique induite par un régime¹⁹⁶. Enfin, la surexpression de BiP dans le foie de souris ob/ob entraîne une protection contre la stéatose hépatique¹⁹⁰.

Ces données suggèrent que la perturbation de n'importe quelle branche de l'UPR peut avoir des conséquences variables, parfois même au sein de la même branche, sur l'accumulation de lipides hépatiques en cas de stress réticulaire, ce qui montre l'importance critique de l'UPR dans le développement de la stéatose hépatique. Cependant, les mécanismes moléculaires par lesquels l'UPR favorise le développement d'une stéatose hépatique ne sont pas encore complètement élucidés, et apparaissent multifactoriels. Au cours des dernières années, il a été montré que la voie UPR pouvait impacter tous les

mécanismes majeurs de l'accumulation hépatique de lipides : lipogenèse de novo, synthèse des triglycérides, oxydation des acides gras, sécrétion des VLDL, clairance des lipides par autophagie et lipolyse périphérique¹⁹⁷ (Figure 31).

i. Stress réticulaire et lipogenèse de novo

La plupart des nombreuses études récentes concernant le lien entre ER stress et lipogenèse de novo s'accordent sur le fait qu'un stress réticulaire pharmacologique induit une augmentation de la lipogenèse de novo hépatique¹⁸⁸. Le mécanisme le plus communément identifié par lequel l'ER stress augmente la lipogenèse de novo est via la régulation de SREBP-1c (*Sterol regulatory element binding protein 1c*), le régulateur majeur de la synthèse hépatique de lipides. En condition basale, ce facteur de transcription est localisé à la membrane de RE dans un complexe avec SCAP (*SREBP cleavage-activating protein*) et INSIG1 (*Insulin induced gene 1*) et libéré de ce complexe sous l'action de l'insuline afin d'être clivé au golgi pour activer de nombreux gènes de la lipogenèse après translocation dans le noyau. Il semblerait que le stress réticulaire régule SREBP-1c au niveau transcriptionnel et post-traductionnel^{172,198}. Un ER stress pharmacologique favorise le clivage protéolytique de SREBP-1c et la surexpression de BiP dans des souris obèses empêche ce clivage et ainsi supprime la lipogenèse de novo, réduisant la stéatose hépatique¹⁹⁰. Cette augmentation du clivage de SREBP-1c par le stress RE pourrait être expliquée en partie par une augmentation de la dégradation de INSIG1 via la voie ERAD¹⁹⁹, ainsi que par la diminution de la synthèse de INSIG par l'arrêt de la traduction dépendante d'eIF2 α ²⁰⁰. De plus, il a été montré que XBP1s était capable d'induire directement la transcription de SREBP-1c.

Par ailleurs, XBP1 joue un rôle majeur dans le métabolisme des lipides puisqu'il est également capable d'activer d'autres gènes de la lipogenèse tels que FAS (*Fatty acid synthase*), ACC (*Acetyl CoA Carboxylase*) et SCD1 (*Stearoyl-CoA desaturase 1*) de manière indépendante de SREBP-1c¹⁷². En outre, en réponse à un ER stress la voie PERK active les protéines c/EBP (CCAAT-enhancer-binding protein) α et c/EBP β , des régulateurs transcriptionnels de la lipogenèse hépatique, notamment via l'activation de PPAR γ ¹⁸⁹. Nrf2, une cible de PERK semble également réguler l'expression de gènes de la lipogenèse puisque sa délétion chez la souris résulte en la suppression de l'expression des gènes FAS, SREBP-1c et SCD1, conférant une protection contre la stéatose hépatique, qui pourrait être médiée par l'inhibition de la lipogenèse hépatique dépendante de LXR α ^{201,202}. D'autre part, l'ER stress est également responsable du clivage protéolytique de CREBH (*cAMP responsive element binding protein H*),

localisé initialement à la membrane du RE et activé de la même manière qu'ATF6 au niveau du golgi. Or une perturbation de l'activité CREBH favorise la stéatose hépatique induite par un régime chez la souris en partie via une augmentation de la lipogenèse de novo²⁰³.

Cependant, il est à noter que certaines études récentes ont également montré que l'ER stress pouvait diminuer la lipogenèse hépatique²⁰⁴. Ainsi, il est important de tenir compte que les effets de l'ER stress sont particulièrement dépendants des conditions expérimentales utilisées et que la voie UPR peut avoir des conséquences variables, voire opposées en fonction du degré et de la durée du stress réticulaire.

ii. Stress réticulaire et synthèse des triglycérides

En plus de son rôle dans la régulation de la lipogenèse de novo, l'ER stress serait également capable d'induire la formation de triglycérides à partir des acides gras libres. Une enzyme catalysant la dernière étape de la synthèse des triglycérides, DGAT2 (*Diacylglycerol acyl-transferase 2*), est régulée par l'ER stress de nombreuses manières. DGAT2 est une cible pour la dégradation par la voie ERAD²⁰⁵, sa transcription est activée par XBP1s¹⁷² et c'est un substrat de la voie RIDD¹⁷³, ce qui montre que sa régulation peut également être indépendamment de XBP1. En cas de stress réticulaire, la suppression de DGAT2 par l'un de ces mécanismes inhibe la production hépatique de triglycérides. Alors que ceci pourrait sembler bénéfique pour empêcher la stéatose, la suppression de DGAT2 peut également engendrer une accumulation de précurseurs lipidiques toxiques qui aggravent l'atteinte hépatique. Ainsi, il a été montré qu'un KO de DGAT2 chez la souris obèse atteinte de NASH protège contre le développement d'une stéatose mais en dépit d'une augmentation des lésions hépatiques liées à la lipotoxicité²⁰⁶.

iii. Stress réticulaire et sécrétion des VLDL

Le RE est le site majeur de l'assemblage des VLDL (*Very low density lipoprotein*), c'est pourquoi il est indéniable qu'une perturbation de l'homéostasie du RE puisse conduire à un dérèglement de l'assemblage et de la sécrétion des VLDL. D'ailleurs, l'inhibition de la sécrétion des VLDL est considérée comme l'un des mécanismes majeurs par lequel l'ER stress favorise la stéatose hépatique²⁰⁷. En outre, la NASH est associée à une nette diminution de la synthèse hépatique de l'ApoB100, qui représente l'étape limitante de l'export des lipides hépatiques²⁰⁸. Or, il est reconnu qu'un stress réticulaire pharmacologique perturbe la production d'ApoB100 et ainsi la sécrétion des VLDL^{191,209}. De même, un ER stress induit par des acides gras inhibe

l'assemblage et la sécrétion des VLDL, notamment suite à l'arrêt de la traduction induit par l'activation de la voie PERK et la dégradation de l'ApoB100 par la voie ERAD, ce qui peut aggraver la stéatose^{207,210}. Il semblerait que la voie ATF6 soit particulièrement impliquée dans cette régulation de l'assemblage et de la sécrétion des VLDL puisque des souris ATF6 $\alpha^{-/-}$ soumises à de la tunicamycine ont une stéatose hépatique augmentée, associée à une diminution des niveaux protéiques en ApoB100 ainsi qu'à une sécrétion des VLDL perturbée^{140,191}. De plus, l'activation de la voie IRE1 joue également un rôle dans la sécrétion des VLDL car des souris portant une délétion hépato-spécifique pour IRE1 α ont une altération de l'assemblage des VLDL attribuable à une diminution de l'expression de la protéine chaperonne PDI, responsable d'une diminution de l'activité MTP (*Microsomal triglyceride-transfer protein*)¹⁷¹. En outre, l'ER stress peut également impacter la captation des VLDL puisque l'activation de la voie PERK-ATF4 par la tunicamycine induit l'expression de VLDLR, alors que la suppression de l'expression de VLDLR protège contre la stéatose hépatique induite par la tunicamycine²¹¹.

iv. Stress réticulaire et bêta-oxydation des acides gras

Le RE ayant des interactions importantes avec les mitochondries via les MAMs (*Mitochondrial-associated ER membranes*), il est évident que l'ER stress puisse être associé à une altération de la β -oxydation des acides gras par la mitochondrie. D'ailleurs, l'ER stress et l'obésité sont tous deux associés à une augmentation du nombre de MAMs, ce qui fait le lien entre la dysfonction mitochondriale et l'ER stress dans le contexte d'une surcharge en lipides²¹². De récentes données ont montré que la perturbation de la β -oxydation mitochondriale des acides gras pourrait être principalement médié par ATF6 α . En effet, lors d'un ER stress pharmacologique, la transcription du régulateur transcriptionnel majeur de la β -oxydation PPAR α est diminuée, et ceci est amplifié chez des souris déficientes pour ATF6 α ²¹³. De plus, une interaction physique entre ATF6 α et PPAR α a été démontrée, augmentant l'activité transcriptionnelle de ce dernier et favorisant la β -oxydation hépatique²¹⁴. Une autre protéine de stress, CPEB4 (*Cytoplasmic poly-adenylation element-binding 4*), pourrait jouer un rôle dans la stéatose hépatique via la modulation de la fonction mitochondriale. En effet, une déficience en CPEB4 entraîne une aggravation de la stéatose hépatique induite par un régime gras en lien avec une altération de la β -oxydation mitochondriale²¹⁵. Enfin, l'aggravation de la stéatose observée chez des souris déficientes en

CREBH, qui a précédemment été décrite comme résultant d'une augmentation lipogénèse de novo, serait également liée en partie à un défaut de β -oxydation des acides gras²⁰³.

v. Stress réticulaire et autophagie

L'autophagie, une dégradation lysosomale des organelles ou protéines endommagées, permet de générer de l'énergie tout en favorisant la survie cellulaire. Une altération de la lipophagie, un processus permettant la clairance des lipides hépatiques, pourrait contribuer au développement de la stéatose hépatique²¹⁶. Des biopsies hépatiques de patients atteints de NASH présentent des niveaux de P62 élevés, suggérant un défaut d'autophagie²¹⁷. De plus, un ER stress chronique est associé à une induction du processus d'autophagie et une corrélation entre l'ER stress et l'accumulation d'autophagosomes a été observée dans un modèle murin de NAFLD^{148,217}. Il est connu que les branches IRE1 α et PERK de l'UPR sont impliquées dans l'induction de l'autophagie en réponse à un stress réticulaire. Cette autophagie en lien avec l'ER stress est défectueuse dans des cellules déficientes en IRE1 α ou traitées avec un inhibiteur de JNK, ce qui signifie que l'activation de JNK par IRE1 α est nécessaire à l'induction de l'autophagie en cas d'ER stress¹⁴⁸. De plus, XBP1s a également été identifié comme activateur transcriptionnel de Beclin-1, un initiateur du phénomène d'autophagie²¹⁸. Enfin, ATF4 joue également un rôle dans l'autophagie en activant la transcription de médiateurs clés tels que Atg7, Atg10 et Atg5²¹⁹.

vi. Stress réticulaire et lipolyse périphérique

Il est maintenant largement reconnu que la majorité des triglycérides hépatiques chez les patients atteints de NAFLD proviennent des acides gras libres libérés par le tissu adipeux lors de la lipolyse²¹. Cette lipolyse pourrait donc être une cause majeure de stéatose hépatique. Dans un modèle de stress réticulaire chez la souris, il a été montré que la tunicamycine induit une anorexie entraînant une augmentation de la lipolyse du tissu adipeux, sans pour autant induire de stress réticulaire dans ce tissu, ce qui indique que la lipolyse serait secondaire à l'anorexie²¹³. D'autres études ont montré que CREBH favorise une stéatose hépatique à la suite d'un ER stress, non seulement par une augmentation de la lipogénèse et une diminution de la β -oxydation, mais également en partie par une modulation de la lipolyse²⁰³. Des souris déficientes en CREBH ont d'ailleurs une fonction de lipolyse des triglycérides plasmatiques altérée²²⁰.

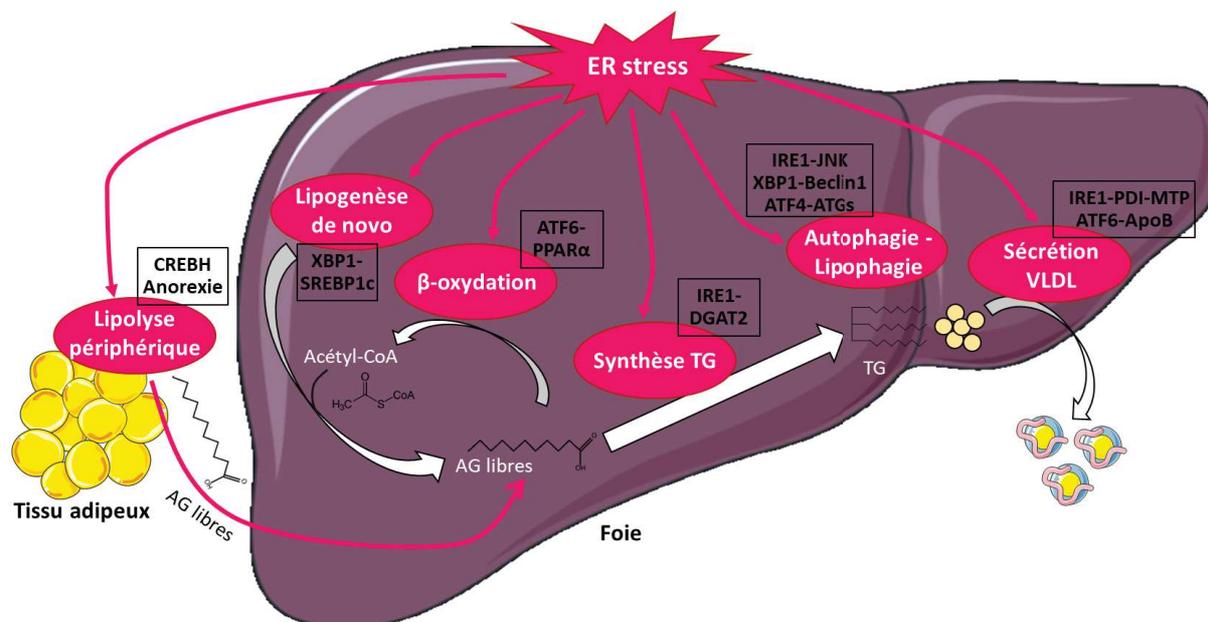


Figure 31 : Principaux mécanismes par lesquels l'ER stress induit l'accumulation de lipides hépatiques
D'après Henkel AS, *Semin. Liver Dis.* 2018 Nov;38(4):320-332

c. L'accumulation de lipides hépatiques induit un stress réticulaire

Le lien entre métabolisme des lipides et l'ER stress est bidirectionnel. Alors que l'activation des voies de l'ER stress peut favoriser la lipogenèse et altérer le métabolisme des lipides, les lipides eux-mêmes et un métabolisme altéré de ceux-ci peut également causer un ER stress. Il est connu depuis plus de 10 ans que la surcharge en lipides hépatiques est une cause d'induction d'ER stress^{169,174,186}. En conséquence, l'activation de la voie UPR par les lipides hépatiques eux-mêmes peut contribuer à la pathogenèse de l'obésité morbide²²¹. De plus, la mort des cellules hépatiques induite par les acides gras semble être un élément critique dans la progression de la NASH²²². Cependant, les mécanismes sous-jacents de l'activation de l'UPR par les lipides et leurs conséquences physiopathologiques ne sont pas encore clairement établis.

Les acides gras saturés, et en particulier ceux à longue chaîne (palmitate, stéarate), activent intensément la voie UPR dans le foie^{151,174,186}. L'excès de cholestérol intracellulaire induit également un ER stress hépatique²²³. Il semblerait que les acides gras saturés et le cholestérol agissent de manière synergique pour favoriser l'ER stress dans le foie¹⁸⁷. A l'inverse, les acides gras insaturés semblent avoir un effet protecteur puisqu'il a été montré qu'une courte exposition aux acides gras insaturés, tels que l'oléate, pouvait atténuer l'ER stress dans le cas d'un excès de palmitate ou de cholestérol²²⁴⁻²²⁶. Par ailleurs, l'ablation génétique ou l'inhibition pharmacologique de SCD-1 (*Stearoyl-Coenzyme A desaturase 1*), une

enzyme clé dans la conversion des acides gras saturés en acides gras insaturés, induit un ER stress en augmentant le taux d'acides gras insaturés dans les phospholipides membranaires^{227,228}. De plus, l'effet potentiellement bénéfique des acides gras insaturés en comparaison aux acides gras saturés sur la stéatose pourrait s'expliquer par un stockage plus efficace des acides gras sous forme de triglycérides neutres^{225,229,230}.

Vraisemblablement, le mécanisme majeur de l'activation de l'UPR par l'accumulation de lipides hépatiques est lié à l'altération de la fluidité de la membrane réticulaire et la perturbation de l'homéostasie calcique. En effet, en comparaison aux autres organelles, la membrane du RE est très fine et très fluide, caractérisée par une faible quantité de cholestérol. Ainsi, un changement de sa composition en lipides peut modifier ses propriétés biophysiques et le comportement de ses peptides transmembranaires. D'ailleurs, il a été observé que des souris obèses ont un ratio supérieur de phosphatidylcholine (PC) par rapport à la phosphatidyléthanolamine (PE) dans la membrane de leur RE en comparaison aux souris non obèses. Ce taux élevé de PC altère la fluidité de la membrane réticulaire ce qui inhibe l'activité de la pompe calcique ATPase SERCA, ce qui perturbe l'homéostasie calcique nécessaire au bon fonctionnement du RE et est à l'origine de l'activation de l'UPR²³¹. De plus, cette étude a montré que dans le foie de souris obèses, l'incorporation dans la membrane du RE des lipides saturés issus de la lipogenèse de novo était favorisée par rapport à celle des lipides insaturés issus de l'alimentation²³¹. De même, il a été observé qu'une surcharge en cholestérol perturbe la structure de la membrane du RE et inhibe l'activité de SERCA, activant la réponse UPR^{187,232}. Il a récemment été montré que la réduction de la fluidité de la membrane pourrait être en partie liée à la protéine THEM2 (*Thioesterase superfamily member 2*) qui, en réponse à une surcharge hépatique en lipides, favorise l'incorporation d'acides gras saturés dans les phospholipides de la membrane réticulaire, réduisant la fluidité membranaire, augmentant l'efflux de calcium réticulaire et activant les voies d'ER stress²³³. De plus, la perturbation de la composition de la membrane lipidique du RE peut directement activer les voies IRE1 et PERK, indépendamment de l'accumulation de protéines mal conformées, en favorisant la dimérisation de leurs domaines transmembranaires suite à une modification des propriétés biophysiques de la membrane²²¹. D'ailleurs, des mutants d'IRE1 α et de PERK ayant perdu leur domaine luminal capteur de stress réticulaire conservent leur réponse face à une altération de la saturation de la membrane lipidique¹⁴¹ (*Figure 32*).

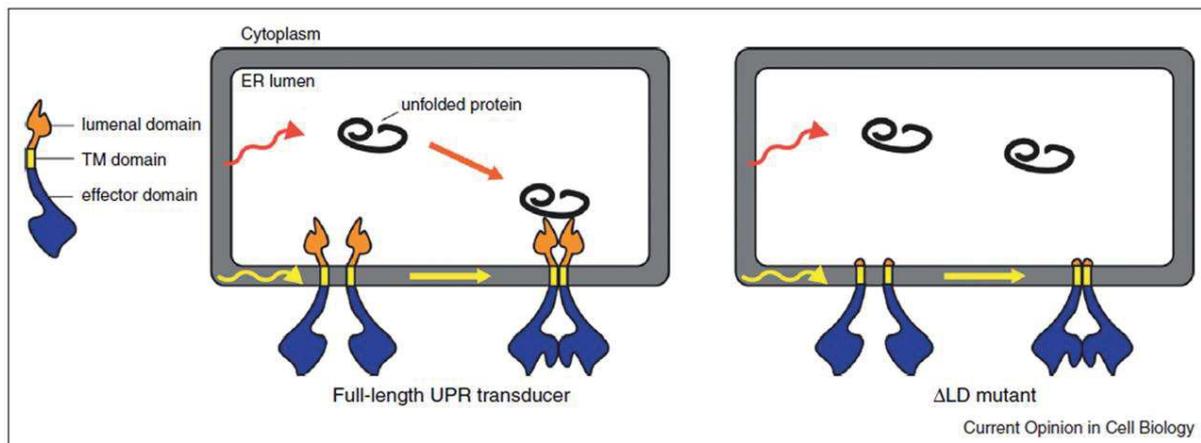


Figure 32 : Mécanisme proposé pour l'activation des senseurs de stress IRE1 et XBP1 par une altération de la composition lipidique de la membrane du RE

La modification de la composition de la bicouche lipidique peut perturber le repliement des protéines ce qui active les senseurs de l'UPR via leurs domaines luminaux (à gauche). Ce phénomène peut également activer les senseurs de l'UPR indépendamment de l'accumulation de protéines mal conformées puisque des mutants de IRE1 et PERK ayant perdu leur domaine luminal peuvent être activés directement par les lipides via un changement des propriétés physiques de la membrane, favorisant leur dimérisation (à droite). D'après Volmer & Ron, Curr Opin Cell Biol. 2015 Apr;33:67-73

Il a également été montré que l'hyperlipidémie, présente notamment en cas d'obésité ou de syndrome métabolique, induit un stress réticulaire au niveau de l'hypothalamus dans le cerveau, provoquant une résistance à la leptine et une activation de la voie UPR dans les hépatocytes²³⁴.

Ainsi, l'ER stress hépatique pouvant promouvoir la lipogenèse *de novo*, et les lipides nouvellement synthétisés pouvant activer l'ER stress, ces phénomènes peuvent concourir à une hyperactivation et une exacerbation de la réponse au stress réticulaire, créant un cercle vicieux aboutissant à terme à des conséquences délétères pour le tissu hépatique.

3. Stress du RE, métabolisme du glucose et insulino-résistance

Outre le métabolisme des lipides, il a également été suggéré que le stress réticulaire et la voie UPR sont également impliqués dans le métabolisme hépatique du glucose. Cependant, les effets directs de l'ER stress sur la néoglucogenèse hépatique sont encore peu élucidés. De plus, l'ER stress pourrait participer aux mécanismes de développement de l'insulino-résistance présente dans les pathologies en lien avec la NASH telles que le diabète de type 2 et le syndrome métabolique.

La néoglucogenèse est réalisée principalement par le foie par les enzymes PEPCK et G6Pase, sous le contrôle transcriptionnel de divers facteurs de transcription et co-facteurs tels que CREB (*Cyclic AMP-responsive element-binding protein*) et FoxO1 (*Forkhead box protein O1*).

D'une part, les éléments de la réponse UPR en eux-mêmes semblent participer à la régulation de la néoglucogenèse hépatique. En effet, il a été montré que le facteur de transcription XBP1s interagit avec FoxO1, ce qui le dirige vers la dégradation par le protéasome et empêche ainsi l'expression de PECK et G6Pase et inhibe la production hépatique de glucose²³⁵. En revanche, PGC1 α (*Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha*), qui est surexprimé en cas d'obésité et de diabète et promeut la néoglucogenèse via l'activation de FoxO1, interagit également avec XBP1s ce qui empêche l'action de ce dernier dans l'inhibition de la néoglucogenèse²³⁶. De plus, la voie ATF6 diminue également la néoglucogenèse puisque ATF6 perturbe l'interaction entre CREB et son co-activateur CRT2 (*CREB regulated transcription coactivator 2*), en se liant et séquestrant ce dernier, ce qui diminue l'occupation de CRT2 sur le promoteur des gènes de la néoglucogenèse²³⁷. En outre, CREBH, un facteur de transcription lié à la membrane du RE et activé de la même manière que ATF6 lors de l'induction de l'UPR, favorise également la transcription des gènes PECK et G6Pase d'une manière dépendante de CRT2, tel CREB²³⁸. Enfin, la voie PERK est également impliquée dans la régulation de la néoglucogenèse puisqu'il a été montré que ATF4 pouvait favoriser la néoglucogenèse via une régulation de l'activité transcriptionnelle de FoxO1²³⁹.

D'autre part, le stress réticulaire dans les hépatocytes pourrait perturber la signalisation à l'insuline et ainsi participer au développement de l'insulinorésistance.

En effet, le mécanisme majeur de cette régulation est médié par la voie IRE1, où lors d'un stress réticulaire, IRE1 est capable de recruter TRAF2 ce qui active la kinase ASK1 pour phosphoryler JNK et ainsi activer ce dernier. En conséquence, une hyperactivation de la voie JNK est responsable de la phosphorylation de IRS1 (*Insulin receptor substrate 1*) sur des résidus sérine à la place de résidus tyrosine ayant pour conséquence l'inhibition de la signalisation de l'insuline²⁴⁰. De plus, l'ER stress via la voie PERK/ATF4/CHOP induit une augmentation de TRB3, qui se lie et inhibe l'activation d'Akt/PKB (Protéine kinase B) par l'insuline dans le foie et perturbe ainsi la signalisation à l'insuline²⁴¹. Enfin, une étude réalisée sur des biopsies de foie de 37 patients obèses non-diabétiques a trouvé une corrélation entre certains marqueurs de l'ER stress et le HOMA-IR, une méthode de quantification de la résistance à l'insuline. En effet, la phosphorylation de eIF2 α et l'expression de la protéine CHOP étaient augmentés avec l'aggravation de l'insulinorésistance et au contraire le clivage d'ATF6 avait tendance à être diminué en relation avec l'HOMA-IR. Cependant, il n'y avait une corrélation significative entre le HOMA-IR et l'expression des autres facteurs de l'ER stress tels que XBP1s et la

phosphorylation de JNK dont l'implication est pourtant plus souvent démontrée dans les modèles animaux d'insulinorésistance²⁴².

4. Stress du RE et inflammation

Environ 10 à 20% des patients atteints de NAFLD développent à terme une inflammation et une fibrose, correspondant au phénotype de la NASH. Dans les pathologies associées à la NAFLD telles que l'obésité et le diabète, la présence d'une inflammation à bas bruit active les récepteurs TLR (Toll-like receptors) de l'immunité innée et la production de cytokines pro-inflammatoires. Par ailleurs, l'UPR pourrait jouer un rôle dans les lésions lipotoxiques qui différencient la NASH de la simple stéatose hépatique. Ainsi, l'ER stress et l'inflammation semblent se combiner pour potentialiser la progression de la stéatose vers la NASH¹⁹⁷. C'est pourquoi l'ER stress et ses signalisations connexes émergent comme des voies centrales dans la régulation des caractéristiques clés de la NASH. De nombreuses voies de signalisation sont communes entre l'ER stress et l'inflammation, telles que la production de ROS, l'activation des facteurs de transcription NFκB et JNK, et la réponse aiguë de la réaction inflammatoire¹⁸¹.

Les stimuli pro-inflammatoires tels que les ROS ou les ligands des TLR engendrent un stress réticulaire et activent la voie UPR. IRE1a pourrait même être activé par la signalisation TLR sans qu'il n'y ait de stress du RE détectable²⁴³. Le repliement des protéines dans le RE est également lié à la génération de ROS et d'un stress oxydatif, pouvant initier ou amplifier une réponse inflammatoire²⁴⁴. Or, la voie PERK peut activer une réponse anti-oxydante pour empêcher l'accumulation de ROS en réponse à l'ER stress via la phosphorylation de Nrf2, qui active la transcription d'un ensemble de protéines anti-oxydantes. D'ailleurs, la délétion de Nrf2 résulte en un développement rapide de la NASH chez des souris sous régime MCD ou *high-fat*^{245,246}. De plus, des activateurs de Nrf2 peuvent atténuer l'atteinte hépatique médiée par le stress oxydatif dans des modèles diététiques de la NASH^{247,248}.

L'activation de NFκB et JNK est également impliquée dans l'inflammation induite en réponse à l'ER stress. L'interaction d'IRE1α avec TRAF2 active JNK, ce qui induit la synthèse de cytokines pro-inflammatoires via une augmentation de l'activité du facteur de transcription AP-1²⁴⁹. Les récentes données obtenues laissent à penser que les effets de l'activation de la voie IRE1a sur les voies métaboliques pourraient être pratiquement indépendants de l'activation de XBP1s et seraient plutôt liés à l'activation de JNK et/ou de la voie RIDD. Ceci pourrait expliquer le contraste phénotypique entre les souris portant une délétion hépatospécifique d'IRE1α et de XBP1s, où la stéatose hépatique est respectivement amplifiée

ou diminuée en réponse à un stress RE ou un régime lipogénique. En effet, contrairement à une déficience hépatique en IRE1 α , les souris déficientes en XBP1s ont une hyperactivation d'IRE1 α en association avec une hyperactivation de JNK, en lien avec un dommage hépatique accru en cas de stress réticulaire²⁵⁰. Ainsi, JNK favorisant l'atteinte hépatique et XBP1s semblant jouer un rôle protecteur lors d'un stress réticulaire, l'activation relative de ces deux cibles d'IRE1a semble être d'une importance critique dans la pathogenèse de la NASH. En outre, il a été identifié qu'une NASH en évolution pouvait se distinguer de manière fiable d'une simple stéatose par la présence d'une activation préférentielle de JNK en combinaison avec une suppression de production de XBP1s¹⁷⁹.

D'autre part, un ER stress prolongé peut également activer NF κ B via les branches IRE1, PERK et ATF6 de l'UPR, notamment via la régulation de son inhibiteur I κ B²⁵¹⁻²⁵³. De plus, le facteur pro-apoptotique CHOP joue un rôle important dans la lipotoxicité via l'activation de la voie NF κ B dans les cellules hépatiques²²². CHOP active l'inflammasome NLRP3 (NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3), un complexe multiprotéique responsable de la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β notamment) via l'activation de la caspase 1. Des biopsies hépatiques de patients NASH ont montré une expression de CHOP accrue en corrélation avec induction des marqueurs de l'inflammasome (caspase 4, caspase 1 et IL-1b) en comparaison avec des patients sans NAFLD ou avec une simple stéatose. Ces marqueurs d'ER stress et d'inflammation étaient également corrélés avec le *NAFLD activity score* et le niveau de lésions hépatiques²⁵⁴. Bien que l'activation de NF κ B est liée à la NASH dans des modèles diététiques (MCD) de stéatohépatite²⁵⁵, le lien entre l'activation de NF κ B et de JNK médiés par l'ER stress et la physiopathologie de la NAFLD reste confus pour l'instant.

L'ER stress peut également activer CREBH dans le foie via une protéolyse similaire à celle d'ATF6. Lors d'un stress du RE dans les hépatocytes, ce facteur de transcription peut former des homo- ou hétéro-dimères avec ATF6 pour induire l'expression de facteurs précoces de l'inflammation, tels que ceux codant pour la protéine C réactive (CRP) et le composant amyloïde P sérique (SAP), qui amplifient l'inflammation à leur tour²⁵⁶. De plus, l'expression de CREBH est elle-même induite par les cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF α et l'IL-6 ou encore le LPS²⁵⁶, qui contribuent également au maintien d'un état inflammatoire lors de l'ER stress.

II. L'ER stress et la voie UPR comme cible thérapeutique dans le traitement de la NASH

L'un des obstacles majeurs au développement de traitements pharmacologiques pour la NASH est le fait que la pathogenèse n'est pas encore complètement élucidée.

Cependant, sachant que l'ER stress et la voie UPR font partie des divers mécanismes impliqués dans la physiopathologie de la NASH, et plus largement des maladies métaboliques, des nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant la voie UPR ont été envisagées afin d'empêcher ou de freiner le développement de ces pathologies. Ainsi, les recherches se sont intéressées au développement d'approches thérapeutiques basées sur la modulation des différents effecteurs de la voie UPR en les ciblant de manière spécifique, ou sur l'ajout de protéines chaperonnes chimiques qui facilitent le repliement des protéines.

Ces dernières années, de nombreuses petites molécules chimiques ayant une activité modulatrice sur les effecteurs des différentes voies de l'UPR ont été découvertes. Ces molécules ont montré des effets bénéfiques prometteurs dans diverses pathologies humaines, notamment dans le domaine de la cancérologie, mais très peu ont été évaluées dans le cadre des maladies métaboliques ou de la NASH. Ainsi, cette partie présentera dans un premier temps les différentes molécules développées afin de cibler spécifiquement la voie UPR, souvent découvertes par screening, mais dont l'efficacité n'a pas forcément été testée dans la NASH ; ainsi que dans un second temps les stratégies thérapeutiques ayant une efficacité dans la NASH en partie liée à une action modulatrice de l'ER stress.

1. Agents ciblant directement l'UPR avec une efficacité non prouvée dans la NASH

L'ER stress et l'activation de la voie UPR étant induits à la suite de divers stimuli et impliqués dans de nombreuses réponses cellulaires, la voie UPR a fait l'objet de plusieurs programmes de recherche visant à développer des outils pharmacologiques modulateurs des différents effecteurs de cette voie. Ainsi, de nombreux modulateurs ont été découverts ces dernières années, notamment grâce à des méthodes de criblage à haut débit (screening), ainsi que grâce à la découverte de la structure cristallographique de IRE1 et PERK. La plupart de ces composés ont été testés dans des stratégies thérapeutiques de lutte contre le cancer tels que le myélome multiple (MM), mais ils pourraient également être envisageables ici dans le cas du carcinome hépatocellulaire (HCC). En effet, un rôle de l'ER stress et de la signalisation UPR a été suggéré dans le cancer, puisque les cellules cancéreuses peuvent exploiter cette voie

afin de résister à l'apoptose et proliférer tout en satisfaisant la demande métabolique majeure nécessaire à leur transformation²⁵⁷. Ces différentes molécules seront présentées en fonction de la branche UPR ciblée dans les *tableaux 9, 10, 11 et 12*.

a. Modulateurs de la voie IRE1

La modulation pharmacologique de la voie IRE1 a été largement explorée comme stratégie thérapeutique dans de nombreuses pathologies telles que le cancer, les maladies neurodégénératives et les maladies métaboliques. Concernant les maladies métaboliques, qui sont en lien avec la NASH, il a été démontré que l'hyperactivation d'IRE1 était délétère. En effet, dans ce contexte d'ER stress chronique, les activités kinases et RIDD d'IRE1 sont suractivées par un haut niveau d'oligomérisation, entraînant une perte de spécificité du domaine RNase envers XBP1 et le clivage de nombreux ARNm et micro-ARNm, ainsi qu'au recrutement et à l'activation de différents facteurs de l'« UPRosome » tels que JNK et NFκB. Ceci conduit alors aux conséquences pathologiques de l'activation de l'UPR terminal : insulino-résistance, inflammation et apoptose (*Figure 33*). Ainsi, ces données font de cette protéine très conservée une cible attractive dans les maladies métaboliques¹⁷³. Cependant, étant donné que l'épissage de XBP1 est tout de même nécessaire à la réponse adaptative dans de nombreuses cellules, y compris les hépatocytes, l'utilisation de tels inhibiteurs *in vivo* peut être limitée compte-tenu des effets indésirables qu'ils pourraient engendrer.

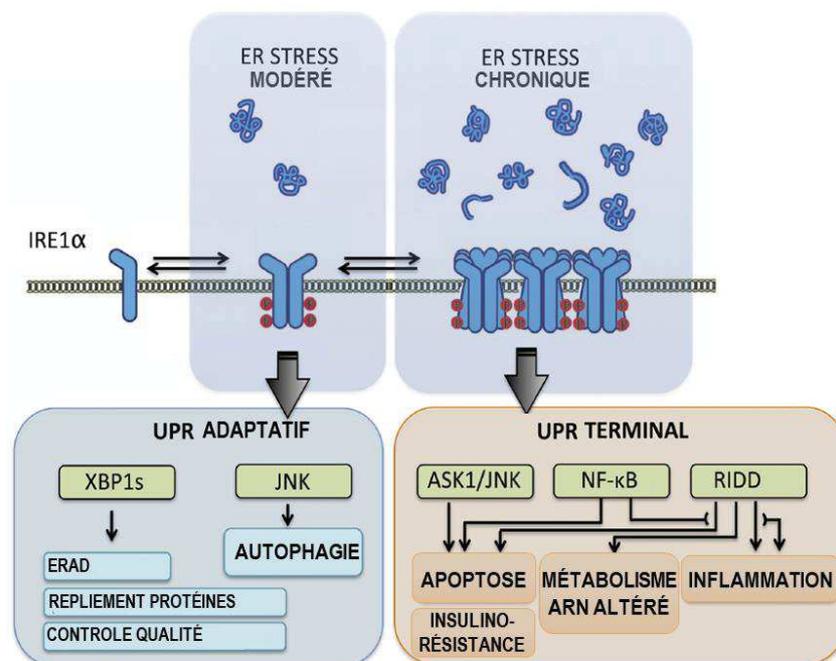


Figure 33 : Différences de réponses entre l'UPR adaptatif en cas d'ER stress modéré et l'UPR terminal en cas d'ER stress chronique. Adapté de Medinas DB et al., Front Mol Neurosci. 5;10:216 (2017)

Les composés qui ciblent IRE1 (*Tableau 9*) agissent principalement sur l'une de ses deux fonctions impliquées dans la réponse UPR : son activité d'endoribonucléase (ou RNase) permettant l'épissage de XBP1, et/ou son activité kinase en liant le domaine de liaison de l'ATP (*Figure 34*). La plupart d'entre eux ont été découverts dans des campagnes de criblage à haut débit *in vitro*, notamment grâce à l'utilisation de systèmes rapporteurs à la luciférase couplés au gène de XBP1 ou des tests de fluorescence dépendante de l'activité RNase d'IRE1 sur un substrat XBP1 fluorescent après clivage²⁵⁸.

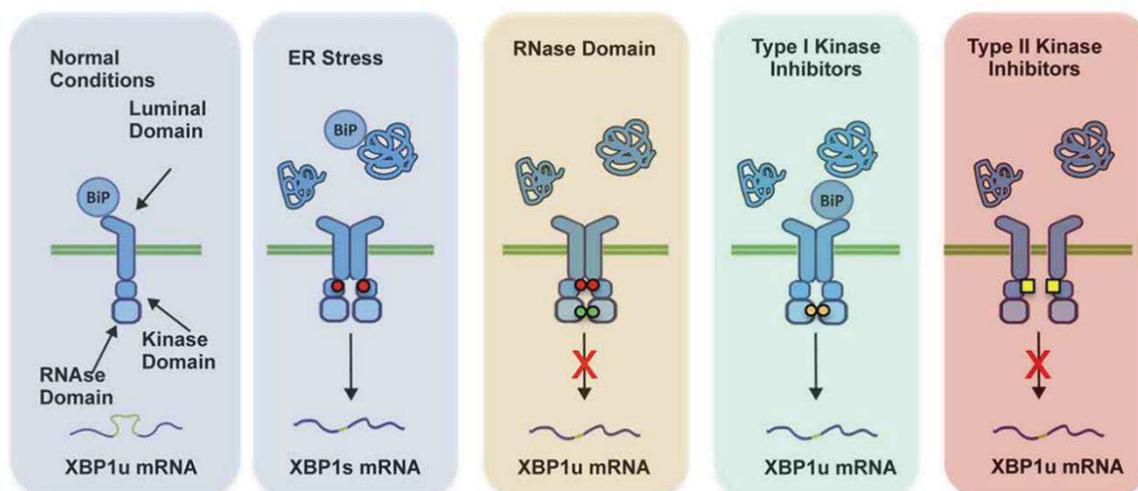


Figure 34 : Différentes approches pharmacologiques dans la modulation de la voie IRE1. Adapté de Medinas DB et al., Front Mol Neurosci. 5;10:216 (2017)

i. Inhibiteurs du domaine RNase d'IRE1 α : 4 μ 8c, STF-083010, MKC-3946 et toyocamycine

De nombreux inhibiteurs de l'activité endoribonucléase d'IRE1 ont été découverts. Ils permettent l'inhibition de l'épissage de l'ARNm de XBP1, ainsi que l'inhibition de la fonction RIDD dégradant divers ARNm et micro-ARN, sans affecter l'activité kinase ou la capacité de dimérisation ou oligomérisation d'IRE1.

La plupart d'entre-eux (4 μ 8c, STF-083010 et MKC-3946) sont des dérivés salicylaldéhydes dont la formation d'une base de Schiff avec une lysine clé enterrée à l'intérieur du domaine RNase (lysine 907) leur confère une sélectivité envers IRE1 grâce à un mécanisme d'action covalent mais réversible^{259,260}. Le composé STF-083010 comporte une liaison imine qui s'hydrolyse en milieu aqueux pour libérer la fonction aldéhyde. Jusqu'à présent, très peu d'études ont été réalisées pour explorer les effets de ces agents dans des modèles murins de maladies hépatiques.

Il a été démontré que le composé 4μ8c pouvait réduire la fibrose hépatique induite chez la souris par du CCl₄ ou l'alcool²⁶¹. Le traitement de macrophages hépatiques murins avec STF-083010 permet une inhibition de l'épissage de XBP1 ainsi que de la transcription de TNFα induit par la tunicamycine²⁶². De plus, le pré-traitement de macrophages humains et murins avec STF-083010 ou 4μ8c empêche l'effet synergique du palmitate couplé au LPS sur l'activation de l'inflammasome. En outre, l'administration de STF-083010 ou 4μ8c chez des souris *foz/foz* sous régime de type occidental (western diet) réduit la formation de plaques d'athérosclérose et l'inflammation²⁶³. Enfin, le traitement par STF-083010 ou 4μ8c chez la souris a permis de démontrer que ces composés pouvaient atténuer la NASH induite par un régime gras en présence d'une hyperactivation de l'activité RNase d'IRE1²⁶⁴.

La toyocamycine, un antibiotique analogue de l'adénosine, a été identifié comme un inhibiteur du clivage et de l'activation de XBP1, possiblement via la modulation de l'activité endoribonucléase d'IRE1²⁶⁵. Récemment, il a été montré que la toyocamycine améliorait la NAFLD et atténuait l'ER stress hépatique chez des souris nourries avec un régime riche en graisses saturées, en fructose et cholestérol²⁶⁶.

ii. Inhibiteurs du domaine kinase d'IRE1α et activateurs de l'activité RNase (inhibiteurs de kinase de type I) : APY29 et sunitinib

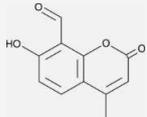
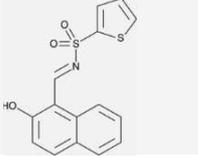
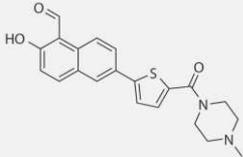
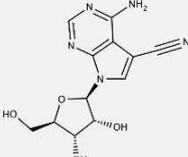
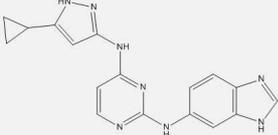
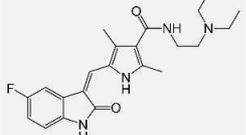
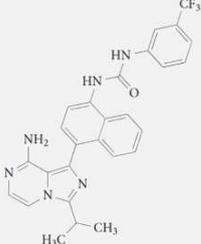
Il a ensuite été démontré que la fonction RNase de IRE1 pouvait être modulée via sa fonction kinase par des composés compétiteurs de l'ATP, tels que APY29 ou le médicament déjà approuvé dans le cancer du rein Sunitinib^{267,268}. En effet, ces deux molécules se lient au site de liaison de l'ATP dans le domaine kinase et inhibent la trans-autophosphorylation d'IRE1 par compétition avec l'ATP, tout en favorisant son oligomérisation. Ceci stabilise une conformation d'IRE1 qui permet toutefois d'activer son domaine RNase, ce qui a l'avantage de favoriser l'épissage de XBP1 tout en supprimant les activités RIDD et l'activation de JNK dépendante de IRE1, améliorant la survie cellulaire²⁶⁹. Néanmoins, cette classe d'inhibiteurs de kinase de type I n'a, à ce jour, pas encore démontré d'intérêt dans le traitement de la NASH.

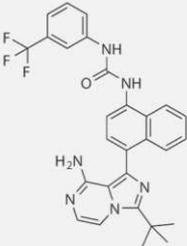
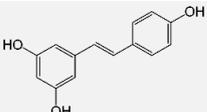
iii. Inhibiteurs du domaine kinase et de l'activité RNase d'IRE1 (Inhibiteurs de kinase de type II) : compound 3 et KIRA6

Plus récemment, des inhibiteurs bloquant à la fois le domaine kinase et indirectement l'activité RNase d'IRE1 tels que le Compound 3 et KIRA6 ont été développés. Ces composés, également appelés « *kinase inhibitors RNase attenuators* » (KIRA), et comportant un motif

pyrazolopyrimidine, permettent une alternative de blocage de la voie IRE1 plus complète. Ils agissent en empêchant la formation d'oligomères d'IRE1, bloquant préférentiellement l'activité RIDD engagée lors de l'UPR terminal par rapport à l'épissage sélectif de XBP1, en fonction de la dose utilisée. Un potentiel thérapeutique de ces composés dans les maladies métaboliques a été démontré, où l'inhibiteur allostérique KIRA6 a permis d'améliorer la survie cellulaire face à l'ER stress, et en particulier celle des cellules β pancréatiques, augmentant les taux d'insuline et diminuant l'hyperglycémie dans un modèle de souris diabétique¹⁵⁹.

Tableau 9 : Molécules ciblant directement la voie IRE1 et potentiel intérêt thérapeutique dans la NASH

Molécule	Structure	Mécanisme d'action / Effet(s)	Intérêt thérapeutique	Références
4 μ 8c		Inhibiteurs du domaine RNase Inhibition de l'épissage de l'ARNm de XBP1 Inhibition de la fonction RIDD	HCC NASH	Tufanli et al., 2017 ²⁶³ Cross et al., 2012 ²⁶⁰
STF-083010				Papandreou et al., 2011 ²⁷⁰ Kim et al., 2015 ²⁶²
MKC-3946				Mimura et al., 2012 ²⁷¹ Joshi et al., 2015
Toyocamycine				Kawamura et al., 2008 ²⁷² Ri et al., 2012 ²⁶⁵ Takahara et al., 2017 ²⁶⁶
APY29		Inhibiteurs du domaine kinase et activateurs de l'activité RNase Compétition avec l'ATP Inhibition de la trans-autophosphorylation d'IRE1 Augmentation de la dimérisation/oligomérisation d'IRE1 Sunitinib agit sur de nombreuses kinases	HCC ? <i>Sunitinib approuvé par FDA dans cancer du rein</i>	Han et al., 2009 ²⁶⁹ Korennykh et al., 2009 ²⁶⁷ Wang et al., 2012 ²⁶⁸
Sunitinib				
Compound 3		Inhibiteurs du domaine kinase et RNase Compétition avec l'ATP Favorisent la survie cellulaire lors ER stress	Insulino-résistance NASH	Wang et al., 2012 ²⁶⁸ Ghosh et al., 2014 ¹⁵⁹ Morita et al., 2017 ²⁷³

KIRA6				
Resveratrol		Diminution de la capacité de XBP1s à se fixer sur les promoteurs de ses gènes cibles favorisant la survie	HCC	Rojas et al., 2014 ²⁷⁴

HCC : Carcinome hépatocellulaire, ER : réticulum endoplasmique, FDA : Food and Drug Administration

b. Modulateurs de la voie PERK

De même que pour la voie IRE1, une hyperactivation de la voie PERK est impliquée dans la pathogenèse de nombreux troubles métaboliques tels que l'obésité, le diabète, l'athérosclérose et la NASH. Par exemple, la voie PERK induit le facteur pro-apoptotique CHOP, ce qui favorise l'insulinorésistance en induisant la mort des cellules β -pancréatiques. De plus, la voie PERK est liée à l'inflammation et à l'activation de la voie NF κ B, notamment via la suppression de I κ B (inhibiteur de NF κ B) suite à l'arrêt de la traduction des protéines médiée par la phosphorylation d'eIF2 α . En outre, la voie PERK joue un rôle dans la réponse anti-oxydante par l'activation de Nrf2. Enfin, de nombreuses études ont démontré que la voie PERK et la phosphorylation d'eIF2 α permettait de maintenir la biosynthèse de l'insuline et l'homéostasie du glucose, de faciliter la croissance tumorale et de diminuer l'efficacité des traitements anticancéreux. Ainsi, plusieurs molécules modulatrices de cette branche de la voie UPR ont été considérées comme outils thérapeutiques intéressants pour cibler l'ER stress dans diverses pathologies (*Tableau 10*). Cependant, compte-tenu des effets à la fois bénéfiques et délétères de la modulation de cette voie, le développement de candidats médicaments touchant cette voie devra être prudent et attentif à la sélectivité de telles molécules.

i. Inhibiteurs de PERK : GSK2606414 et GSK2656157

Les premières molécules ciblant cette voie furent découvertes par l'entreprise biopharmaceutique GSK à la suite d'un criblage de leur librairie d'inhibiteurs de kinases sur un test basé sur le transfert d'énergie entre molécules fluorescentes (HTRF), traduisant la phosphorylation d'eIF2 α . Le premier inhibiteur découvert, GSK2606414 (IC₅₀=0,4nM), fut testé contre le cancer et les maladies neurodégénératives chez la souris. Ce composé biodisponible *per os* permet de diminuer la croissance de la tumeur dans des modèles de

xénogreffe chez la souris et de prévenir la neurodégénérescence *in vivo* dans un modèle murin de maladie à prion²⁷⁵⁻²⁷⁷. En outre, il a également été montré que le composé GSK2606414 est capable d'inhiber l'activation de JNK et de protéger contre la mort cellulaire induite par le palmitate dans des hépatocytes primaires²⁷⁸. A partir de ce composé *lead*, le composé GSK2656157 (IC₅₀=0,9nM) fut développé dans le but d'améliorer les propriétés pharmacocinétiques, en particulier via une diminution de la lipophilie de la molécule. Ce composé possède également une activité anti-tumorale dans divers modèles de xénogreffe, ainsi qu'une activité anti-angiogénique²⁷⁶. De plus, il s'est montré intéressant dans le traitement du cancer du foie puisqu'il a permis de diminuer la viabilité et la prolifération de cellules d'hépatocarcinome en cas d'ER stress ou d'hypoxie *in vitro*, ainsi que de limiter la croissance tumorale dans un modèle murin²⁷⁹. Cependant, des effets toxiques sur les cellules exocrines et en particulier les cellules β -pancréatiques furent observés, de manière similaire au phénotype observé chez les souris délétées pour PERK²⁸⁰. Par ailleurs, la sélectivité de ces molécules pour PERK envers d'autres kinases a été remise en question, notamment suite à la mise en évidence d'une induction de la mort cellulaire dépendante de l'ER stress avec le composé GSK2656157 indépendante de l'inhibition de la phosphorylation d'eIF2 α ²⁸¹. De plus, il a récemment été montré que les composés GSK2606414 et GSK2656157 étaient capables d'inhiber RIPK1 (*Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1*), une kinase responsable de l'apoptose activée par le TNF α , à des concentrations nanomolaires. Ceci met en évidence le risque potentiel de mauvaise interprétation et d'effets non-spécifiques lors de l'utilisation de ces agents²⁸².

ii. Inhibiteurs de la phosphorylation d'eIF2 α : ISRIB

Afin d'éviter la cytotoxicité envers les cellules β -pancréatiques observée avec les composés inhibiteurs de PERK, des petites molécules ciblant la voie eIF2 α pour restaurer la traduction des protéines sans inhiber directement PERK ont été recherchées. A partir d'un criblage phénotypique basé sur l'expression d'ATF4 couplé à un gène rapporteur de la luciférase, un inhibiteur puissant (IC₅₀=5nM) de la phosphorylation d'eIF2 α , qui n'affecte pas l'activation de PERK mais empêche l'adaptation des cellules au stress a été découvert²⁸³. Cette molécule possédait de bonnes propriétés pharmacologiques et pas de toxicité générale chez la souris, et en particulier aucune toxicité pancréatique²⁸⁴. Les auteurs ont rapporté un effet prometteur d'ISRIB dans l'amélioration des processus cognitifs tels que l'apprentissage et la mémoire *in vivo*²⁸⁵. Concernant la cible de cette molécule, il s'est avéré qu'ISRIB était la

première molécule décrite comme ligand et activateur d'eIF2 β , un facteur d'échange de GTP/GDP, n'empêchant pas directement la phosphorylation d'eIF2 α mais plutôt l'interaction entre eIF2 α et eIF2 β ^{286,287}.

Outre l'effet bénéfique de l'inhibition de la phosphorylation d'eIF2 α dans les troubles cognitifs, il a été démontré que la déphosphorylation d'eIF2 α améliorait la tolérance au glucose et atténuait la stéatohépatite chez la souris¹⁸⁹. Cependant, l'efficacité d'ISRIB n'a pas été testée dans des modèles animaux de NASH à ce jour.

iii. Inhibiteurs de la déphosphorylation d'eIF2 α : salubrinal, guanabenz et sephin I

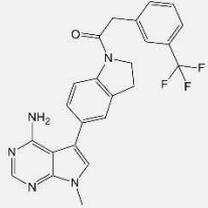
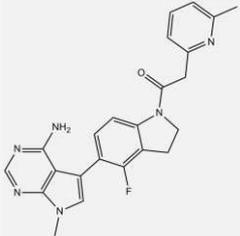
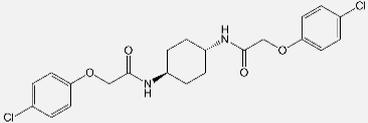
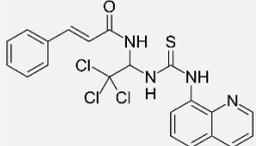
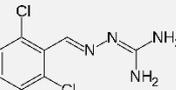
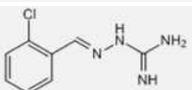
Dans le but d'atténuer l'ER stress et favoriser l'adaptation des cellules au stress, des molécules inhibitrices de la déphosphorylation d'eIF2 α ont été développées. A partir de tests cellulaires permettant d'identifier les composés qui favorisent la survie en cas d'ER stress, des inhibiteurs de phosphatases d'eIF2 α ont été découverts. Ces potentialisateurs de la phosphorylation d'eIF2 α maintiennent ainsi l'arrêt de la traduction des ARNm en protéines, réduisant l'afflux de protéines à replier dans le RE. L'effet bénéfique de cette stratégie a surtout été démontré dans les cellules β -pancréatiques, où le maintien de la phosphorylation d'eIF2 α est nécessaire à la fonction et la survie de ces cellules.

D'une part, le salubrinal est une petite molécule qui inactive indirectement les deux complexes phosphatases d'eIF2 α , GADD34-PP1c et CReP (*Constitutive regulator of eIF2 α phosphorylation*)-PP1c, possiblement en favorisant le désassemblage de ces complexes. Ceci conduit à l'augmentation de la phosphorylation de eIF2 α , la diminution de la traduction des protéines et l'activation de la signalisation ATF4 sous-jacente²⁸⁸. Le salubrinal a permis de réduire la mort neuronale après excitotoxicité dans l'hippocampe²⁸⁹, et de diminuer la neurodégénérescence dans des modèles de maladies de Parkinson²⁹⁰ et de sclérose latérale amyotrophique²⁹¹. Dans des hépatocytes, le co-traitement du salubrinal avec de la tunicamycine pendant 48h a permis d'améliorer significativement la viabilité cellulaire²⁷⁹. En outre, le salubrinal inhibant à la fois le complexe phosphatase dépendant de l'ER stress (GADD34-PP1c) et un complexe exprimé de manière constitutive (CReP-PP1c), ce composé peut engendrer des effets indésirables au long terme liés à une inhibition persistante de ces deux phosphatases. Ceci est confirmé par des preuves génétiques, où des souris invalidées pour GADD34 se développent normalement alors qu'une invalidation à la fois pour GADD34 mais aussi CReP est létal²⁹².

D'autre part, le guanabenz et son dérivé sephin I lient et régulent également GADD34, empêchant l'assemblage du complexe phosphatase GADD34-PP1c et inhibant sélectivement la déphosphorylation d'eIF2 α ^{293,294}. Le guanabenz est aussi un agoniste alpha2-adrénérique approuvé par la FDA dans le traitement de l'hypertension artérielle, c'est pourquoi les effets en dehors de la cible (off-target) doivent être considérés dans l'interprétation des résultats. De plus, le guanabenz présente des effets indésirables (sommolence, céphalées, bouche sèche), alors que son dérivé le sephin I possède les mêmes effets thérapeutiques avec moins d'effets indésirables. Récemment, sephin I a démontré des effets neuroprotecteurs en favorisant la réponse adaptative, permettant de retarder l'apparition des symptômes dans un modèle murin de sclérose en plaques²⁹⁵.

Cependant, il est à noter qu'une inhibition excessive de la traduction des protéines peut avoir des effets néfastes à long terme, c'est pourquoi des études supplémentaires sont nécessaires concernant la sécurité d'emploi de ces molécules.

Tableau 10 : Molécules ciblant directement la voie PERK et potentiel intérêt thérapeutique dans la NASH

Molécule	Structure	Mécanisme d'action / Effet(s)	Intérêt thérapeutique	Références
GSK 2606414		Inhibiteurs de PERK Inhibition de la phosphorylation de PERK Diminution de la viabilité et de la prolifération des cellules d'hépatocarcinome	HCC NASH ?	Axten et al., 2013 ²⁷⁵ Atkins et al., 2013 ²⁷⁶ Vandewynckel et al., 2015 ²⁷⁹ Win et al., 2015 ²⁷⁸
GSK 2656157 (optimisé de GSK 2606414)		Inhibition de l'activation de JNK dépendante de PERK		
ISRIB		Inhibiteur de la phosphorylation d'eIF2α Activateur d'eIF2 β	?	Sidrauski et al., 2015 ²⁸⁵
Salubrinal		Inhibiteurs de la déphosphorylation d'eIF2α Inhibiteurs du complexe phosphatase GADD34-PP1c	Diabète NASH <i>Guanabenz approuvé par la FDA dans le traitement de l'HTA</i>	Boyce et al., 2005 ²⁸⁸ Vandewynckel et al., 2015 ²⁷⁹
Guanabenz		Maintien de l'inhibition de l'arrêt de la traduction des protéines afin de limiter l'afflux de protéines dans le RE		Tsaytler et al., 2011 ²⁹³ Wang et al., 2014 ²⁹⁶
Sephin 1 (dérivé de Guanabenz)				Das et al., 2015 ²⁹⁴

HCC : Carcinome hépatocellulaire, HTA : hypertension artérielle, FDA : Food and Drug Administration

c. Modulateurs de la voie ATF6

La voie ATF6 joue un rôle essentiellement protecteur lors de l'ER stress puisqu'elle permet notamment l'expression de gènes codant pour des chaperonnes ainsi que pour des protéines de la voie ERAD. L'identification de petites molécules qui modulent cette protéine représente une tâche plus ardue à cause du manque de sites de liaison potentiellement « druggables » et l'absence de structure cristallographique disponible à ce jour. Ainsi, le design rationnel de molécules ciblant ATF6 reste actuellement un défi pour la recherche. Les quelques molécules découvertes pour cibler cette voie sont répertoriées dans le *tableau 11*.

i. *Inhibiteurs de la voie ATF6 : ceapins, nelfinavir et mélatonine*

Récemment, une série d'inhibiteurs sélectifs de la signalisation ATF6 α , les ceapins, a été découverte à la suite d'un criblage à haut débit basé sur l'activation de la transcription des gènes cibles d'ATF6 α à l'aide d'un système rapporteur luciférase²⁹⁷. Ces composés sont spécifiques d'ATF6 α puisqu'ils n'affectent pas les branches IRE1 et PERK de l'UPR, et n'empêchent pas le clivage de SREBP en cas de diminution des stérols. C'est une classe de pyrazole amides qui piègent ATF6 α dans le RE et empêchent ainsi sa translocation vers le Golgi pour son activation en cas d'ER stress²⁹⁸. Les ceapins sensibilisent les cellules à l'ER stress sans affecter les cellules non stressées et ont par conséquent un intérêt dans les stratégies thérapeutiques visant à induire la mort des cellules cancéreuses, telles que dans le cas de l'hépatocarcinome. Cependant, une optimisation de ces molécules reste nécessaire pour évaluer leur efficacité et sécurité *in vivo*.

D'autre part, un médicament inhibiteur de la protéase du VIH (virus de l'immunodéficience humaine), le Nelfinavir, commercialisé en Europe par le laboratoire Roche sous le nom Viracept, a été identifié comme inducteur de l'ER stress et de l'apoptose. Il s'est avéré que ce composé était capable d'inhiber la protéase S2P, empêchant la formation de la forme mature d'ATF6 et de SREBP1c et inhibant ainsi leur activité transcriptionnelle²⁹⁹. Ceci confirme les effets anti-cancéreux et le phénotype lipogénique qu'ils ont observés lors de l'utilisation de cette molécule dans le cadre du liposarcome. En outre, ces effets bénéfiques pourraient s'appliquer à d'autres cancers ayant un phénotype lipogénique, tels que l'hépatocarcinome en conséquence de la NASH.

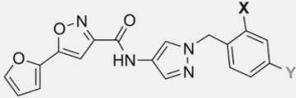
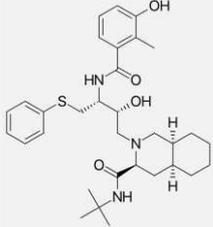
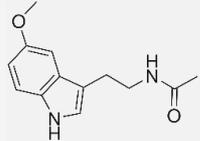
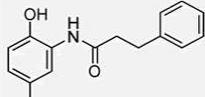
En outre, la mélatonine a été récemment identifiée comme un inhibiteur d'ATF6, favorisant l'apoptose de cellules d'hépatocarcinome par une diminution de l'expression de la cyclooxygénase COX-2, connue pour être impliquée dans le développement de tumeurs en

particulier hépatiques. Au regard de la faible toxicité et des propriétés oncostatiques de la mélatonine observées chez les patients atteints d'hépatocarcinome, cette molécule pourrait être considérée comme une alternative thérapeutique prometteuse dans le traitement de l'hépatocarcinome³⁰⁰.

ii. Activateurs de la voie ATF6 : compound 147

D'autre part, à la suite d'un criblage phénotypique ayant pour but d'identifier des petites molécules étant capables de réguler l'homéostasie des protéines dans le RE via l'induction spécifique des gènes cibles d'ATF6, une série de composés activateurs de cette voie a été découverte. Le plus puissant et spécifique pour la voie ATF6 d'entre eux, appelé compound 147, induit les gènes cibles d'ATF6 et est capable de réduire la sécrétion de protéines mal conformées à la manière d'une activation chimique ou génétique d'ATF6. Cette activation pharmacologique de la voie ATF6 est dépendante du clivage de la protéine endogène par la protéase S1P³⁰¹. De plus, une récente étude a montré que le mécanisme d'action de ce composé était dépendant de la formation d'un métabolite électrophile (quinone) induisant une modification covalente de protéines du RE telles que la chaperonne PDI, connue pour réguler l'activation d'ATF6³⁰². En outre, l'administration de cette molécule dans un modèle d'ischémie-reperfusion a permis de protéger le cœur grâce à une activation spécifique des gènes cibles d'ATF6, tout en ayant également un effet protecteur dans les autres tissus ayant subi cette manœuvre tels que le foie³⁰³.

Tableau 11 : Molécules ciblant directement la voie ATF6 et potentiel intérêt thérapeutique dans la NASH

Molécule	Structure	Mécanisme d'action / Effet(s)	Intérêt thérapeutique	Références
Ceapins		Inhibiteur de la translocation au Golgi Empêche le clivage et l'activation d'ATF6	HCC ?	Gallagher et al., 2016 ²⁹⁷
Nelfinavir		Inhibiteur du clivage d'ATF6 Inhibiteur de la protéase S2P	HCC ?	Guan et al., 2011 ²⁹⁹
Mélatonine		Inhibiteur d'ATF6 Diminution de la viabilité des cellules d'hépatocarcinome via diminution de l'expression de COX-2	HCC	Bu et al., 2017 ³⁰⁰
Compound 147		Activateur de la voie ATF6 Active préférentiellement les gènes cibles de la voie ATF6	?	Plate et al., 2016 ³⁰¹

HCC : Carcinome hépatocellulaire, COX-2 : cyclooxygénase 2

d. Modulateurs des chaperonnes et protéines mal conformées

Sachant que la voie UPR est activée à la suite de l'accumulation de protéines mal conformées dans la lumière du RE, qui sont stabilisées par des protéines chaperonnes telles que BiP, d'autres stratégies thérapeutiques ont visé à moduler ces protéines chaperonnes ou à cibler les protéines mal conformées afin d'agir en amont de la signalisation UPR (Tableau 12).

iii. Modulateurs de BiP

La protéine chaperonne BiP étant une protéine régulatrice majeure du déclenchement et de la réponse à l'ER stress, elle représente une cible attractive importante dans différentes stratégies thérapeutiques.

Par exemple, l'inhibition de son activité de chaperonne représente une stratégie intéressante dans la lutte contre le cancer. D'ailleurs, le honokiol, une molécule naturelle dérivée du *Magnolia grandiflora* et connue pour ses propriétés anti-néoplasiques et anti-angiogéniques a été indentifiée comme inhibiteur de BiP. Il s'est avéré que cette molécule était capable d'interagir avec le domaine ATPase de BiP, favorisant l'ER stress et ainsi la mort de différentes lignées de cellules cancéreuses (mélanome, glioblastome, neuroblastome)³⁰⁴.

Au contraire, afin d'améliorer la réponse au stress et de protéger les cellules contre l'ER stress, la chaperonne moléculaire BiX a été découverte dans un criblage de composés ayant pour but d'identifier des molécules qui induisent BiP. Ce composé augmente l'expression de BiP via l'activation de la voie ATF6 et induit préférentiellement BiP par rapport aux autres chaperonnes telles que GRP94 et de la calréticuline. BiX joue un rôle protecteur dans divers modèles animaux de pathologies neurologiques en empêchant l'induction de l'ER stress et de la mort cellulaire³⁰⁵⁻³⁰⁷. Ce composé n'a pas été testé dans des modèles animaux de NASH mais son rôle protecteur pourrait être intéressant dans ce cas. Cependant, le mécanisme d'action précis de ce composé reste inconnu, et des études supplémentaires sont nécessaires pour évaluer son efficacité et sa sécurité d'emploi.

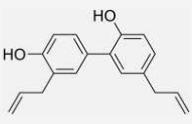
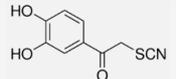
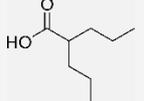
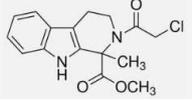
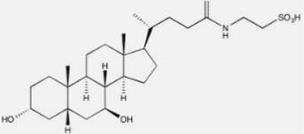
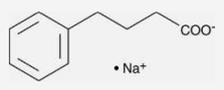
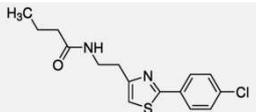
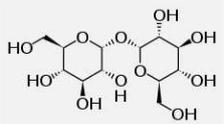
De même, il a été montré que le valproate, un acide gras à courte chaîne indiqué dans le traitement des troubles bipolaires et l'épilepsie, induit également l'expression de BiP, tout en supprimant l'induction de CHOP et l'activation de la caspase 10, protégeant la rétine de l'ER stress dans un modèle animal d'ischémie-reperfusion³⁰⁸.

iv. Chaperonnes chimiques

Les chaperonnes chimiques sont des composés de faible poids moléculaire qui facilitent le repliement des protéines, empêchent leur agrégation, stabilisent les intermédiaires et facilitent le trafic des protéines. Elles agissent d'une manière non sélective puisqu'elles ne ciblent pas spécifiquement une protéine mais toutes les protéines nouvellement synthétisées qui pénètrent dans le RE. Il a été montré que les chaperonnes chimiques permettent d'améliorer la fonction du RE, en diminuant le mauvais repliement des protéines et par conséquent en réduisant l'ER stress *in vitro* et *in vivo*³⁰⁹. Étant donné le rôle bénéfique de l'induction des chaperonnes médiée par l'activation de la voie UPR dans les pathologies métaboliques, les petites molécules possédant une activité de chaperonne représentent une alternative thérapeutique intéressante. Les chaperonnes chimiques les plus étudiées dans des modèles pathologiques *in vivo* et *in vitro* sont l'acide tauro-ursodéoxycholique (TUDCA) et l'acide 4-phénylbutyrique (4-PBA), qui ont respectivement été approuvées par la FDA dans le traitement des troubles du cycle de l'urée et de la cirrhose biliaire primitive²⁵⁷. Actuellement, le TUDCA est également en étude clinique de phase 2 dans le traitement du diabète de type 1. Le TUDCA est un dérivé d'acide biliaire endogène et le 4-PBA est un acide gras à courte chaîne ayant également une activité inhibitrice envers les histones désacétylases de l'ordre du micromolaire³¹⁰. L'activité de chaperonne de ces deux molécules a été découverte pour la première fois lors d'études sur l'allèle Z dans le déficit en alpha-1-antitrypsine et la mutation $\Delta 508$ dans la mucoviscidose, où ces mutations entraînent la formation d'une protéine mal conformée^{311,312}. L'utilisation de ces molécules afin d'inhiber l'ER stress dans des modèles animaux de NASH s'est également révélée bénéfique dans l'amélioration de nombreux paramètres de la NASH et du syndrome métabolique. En effet, les chaperonnes chimiques ont permis de réduire l'ER stress dans le foie et d'améliorer l'insulinorésistance et l'homéostasie du glucose, de réduire la stéatose hépatique³¹³⁻³¹⁵, ainsi que d'améliorer la sensibilité à la leptine²³⁴ dans des modèles animaux d'obésité, de diabète de type 2 ou de NASH. De plus, le TUDCA administré en pré-traitement pendant cinq jours ou en traitement pendant 6h a permis de protéger contre le développement de la NASH en limitant l'activation de l'inflammasome NLRP3 induite par une injection de LPS dans un modèle de souris obèses²⁵⁴. Chez l'homme, le traitement avec le 4-PBA a également permis d'améliorer la tolérance au glucose chez des patients atteints d'insulinorésistance³¹⁶, et le TUDCA a permis de restaurer partiellement la sensibilité à l'insuline dans le foie et les muscles de patients obèses³¹⁷.

Ainsi, même si le mécanisme d'action exact du TUDCA et du 4-PBA reste encore à définir clairement, ces molécules ont prouvé leur efficacité pour réduire l'ER stress dans les troubles métaboliques *in vivo* et pourraient représenter une option thérapeutique pour le traitement de la NASH. Mais peu de données cliniques sont disponibles sur l'effet des chaperonnes chimiques dans la NASH et malheureusement, l'effet de ce type de molécules a souvent été moins prononcé lorsque celles-ci ont été testées dans le traitement des pathologies hépatiques humaines en comparaison aux résultats obtenus chez la souris. Notamment, plusieurs études cliniques utilisant une autre chaperonne chimique, l'acide ursodéoxycholique, n'ont pas réussi à démontrer l'efficacité de ce traitement dans la NASH³¹⁸⁻³²⁰. En outre, un autre facteur limitant dans l'utilisation de ces chaperonnes est leur faible sélectivité et la nécessité d'administrer de fortes concentrations pour obtenir l'effet thérapeutique, c'est pourquoi elles ont tendance à être négligées en tant qu'agents thérapeutiques.

Tableau 12 : Molécules ciblant les chaperonnes et les protéines mal conformées et potentiel intérêt thérapeutique dans la NASH

Cible	Molécule	Structure	Mécanisme d'action / Effet(s)	Intérêt thérapeutique	Références	
BiP	Honokiol		Inhibiteur de BiP Interagit avec le domaine ATPase de BiP Augmente l'ER stress et induit l'apoptose dans différentes lignées de cellules cancéreuses	HCC ?	Martin et al., 2013 ³⁰⁴	
	BiP inducer X (BiX)		Inducteurs de BiP Induisent l'expression de BiP Améliorent le repliement des protéines Diminuent l'ER stress		Kudo et al., 2008 ³⁰⁵	
	Valproate				Zhang et al., 2011 ³⁰⁸	
PDI	16F16		Inhibiteur de PDI		Higa et al., 2014 ³²¹	
Protéines mal conformées	TUDCA		Chaperonnes chimiques Améliorent la capacité du RE à replier les protéines, diminuent l'ER stress	Stabilise l'UPR adaptatif	NASH <i>Approuvé dans les maladies cholestatiques</i>	Lebeaupin et al., 2015 Nakagawa et al., 2014
	4-PBA			Améliore l'efficacité de la voie ERAD	NASH <i>Approuvé dans les maladies du cycle de l'urée</i>	Ozcan et al., 2006 Ben Mosbah et al., 2010
	Azoramide			Améliore la sensibilité à l'insuline	DT2	Fu et al., 2015 ³²²
	Tréhalose			Conservateur Diminue l'ER stress et le stress oxydatif Active l'autophagie		Pagliassotti et al., 2017 ³²³ Honma et al., 2018 ³²⁴

HCC : Carcinome hépatocellulaire, RE : réticulum endoplasmique, DT2 : diabète de type 2

2. Agents ayant une efficacité dans la NASH en partie liée à une modulation de l'ER stress

Bien qu'aucune molécule n'ait été approuvée à ce jour dans le traitement de la NASH, d'autres molécules en cours de développement ou ayant déjà obtenu une autorisation de mise sur le marché dans le traitement d'autres troubles ont montré des effets bénéfiques dans la NASH. D'ailleurs, il semblerait que certaines d'entre elles ont une efficacité dans la NASH qui pourrait être en partie médiée par une réduction de l'ER stress (*Tableau 13*). Cependant, il est à noter que leur effet modulateur de l'ER stress et les conséquences associées sur les mécanismes de la NASH ont été peu explorés dans ces cas. Ainsi, la part d'implication de cette modulation de l'ER stress sur les effets bénéfiques de ces molécules dans l'amélioration de la NASH reste encore peu démontrée et nécessite de plus amples recherches.

a. Les agonistes GLP-1 : liraglutide et exénatide

Sachant que l'insulinorésistance hépatique et la stéatose hépatique sont étroitement liées, il n'est pas surprenant que des agents antidiabétiques diminuant l'insulinorésistance aient été testés dans le traitement de la NASH. Cependant, les résultats concernant l'efficacité de tels agents pour traiter la NASH se sont généralement montrés décevants. La dernière classe de médicaments de ce type ayant eu des effets prometteurs sont les analogues du GLP-1 (*Glucagon-like peptide 1*). Le GLP-1 est une hormone incrétine sécrétée par les cellules L de l'iléon après un repas qui après activation de son récepteur, notamment au niveau du pancréas, favorise la sécrétion d'insuline et inhibe la sécrétion de glucagon, permettant de normaliser la glycémie postprandiale. Par exemple, une étude de phase 2 randomisée contre placebo et en double aveugle a montré une amélioration des paramètres histologiques de la NASH sans aggravation de la fibrose chez des patients traités avec le liraglutide³²⁵. De manière intéressante, il a été montré dans de nombreux types cellulaires, y compris les hépatocytes, que les analogues du GLP-1 atténuent l'ER stress³²⁶⁻³²⁹. Par exemple, l'exénatide (ou exendin-4), un autre agoniste des récepteurs au GLP-1, a permis d'améliorer la fonction et la survie des cellules β -pancréatiques en favorisant la diminution de l'ER stress *in vivo* grâce à l'atténuation de l'arrêt de la traduction de l'insuline, grâce à l'activation d'ATF4³²⁶. De plus, l'exénatide a également permis de protéger les hépatocytes contre la stéatose et la mort cellulaire induites par l'accumulation d'acides gras, en augmentant l'expression de BiP et en diminuant l'expression de CHOP, et en activant l'autophagie³²⁹. En outre, plusieurs études ont identifié l'ER stress comme lien mécanistique entre les analogues au GLP-1 et l'amélioration

de la stéatose hépatique *in vivo*. En effet, le traitement avec un agoniste GLP-1 (liraglutide ou exénatide) de rats ou de souris nourries avec un régime high-fat a permis de protéger contre la stéatose en réduisant l'ER stress dans ces deux modèles^{330,331}. Cependant, il reste à démontrer chez l'homme si les effets bénéfiques observés avec le liraglutide dans le traitement de la NASH sont dus à une réduction de l'ER stress.

b. L'inhibiteur ASK1 : selonsertib

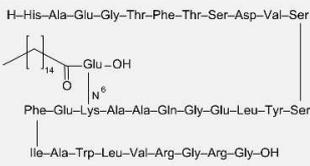
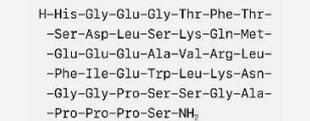
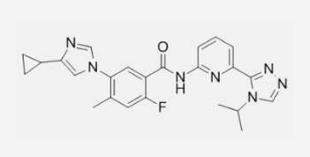
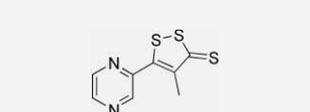
La kinase ASK1 est une autre cible prometteuse dans le traitement de la NASH. Elle est activée par différentes voies de stress cellulaire tels que le stress oxydatif et l'ER stress. En cas d'ER stress, le complexe IRE1 α -TRAF2 active ASK1 entraînant par conséquent l'activation de JNK, ce qui dans le cas de la NASH peut aggraver l'inflammation, l'apoptose et la fibrose hépatique. D'ailleurs, l'activation d'ASK1 a été identifiée chez la souris comme associée à la stéatose, l'inflammation et la fibrose induites par les lipides³³²⁻³³⁴. Une petite molécule inhibitrice d'ASK1, le selonsertib (GS-4997) a permis de réduire les lésions hépatiques de la NASH liées à la fibrose et l'apoptose chez la souris^{335,336}. Récemment, une étude clinique de phase 2 (NCT02466516) a démontré l'efficacité du selonsertib chez les patients atteints de NASH. Dans cette étude, après 24 semaines de traitement, le selonsertib a permis de réduire le stade de fibrose d'au moins un stade chez ces patients, de diminuer la rigidité, le contenu en collagène et l'inflammation lobulaire du foie, ainsi que d'améliorer les taux sériques des marqueurs d'apoptose et de nécrose⁹⁷. Cependant, il reste encore à démontrer si ces effets bénéfiques du selonsertib chez les patients atteints de NASH sont médiés par une diminution de la signalisation JNK induite par l'ER stress.

c. L'activateur Nrf2 : oltipraz

Lorsque la voie PERK est activée, une réponse anti-oxydante et cytoprotectrice peut être engendrée grâce à l'activation du facteur de transcription Nrf2. Cette réponse pourrait ainsi être bénéfique dans le traitement de la NASH, où le stress oxydatif et l'apoptose en lien avec l'ER stress participent à la physiopathologie. D'ailleurs, une petite molécule activatrice de Nrf2 et inhibitrice de LXR α , l'oltipraz, a permis de diminuer l'insulinorésistance et l'obésité induites par un régime high-fat chez la souris, avec une atténuation de l'inflammation et de l'ER stress dans le tissu adipeux³³⁷. De plus, dans une étude clinique de phase 2 (NCT01373554) évaluant l'efficacité de l'oltipraz chez des patients atteints de NAFLD, le traitement pendant 24 semaines avec cette molécule a permis de réduire significativement le contenu hépatique

en lipides sans aggraver la fibrose chez ces patients³³⁸. Cependant, dans cette même étude, l'oltipraz n'a pas permis d'améliorer l'insulinorésistance, les enzymes, lipides et cytokines hépatiques en comparaison avec le placebo. Cette molécule est actuellement en études cliniques de phase 3 (NCT02068339) chez les patients atteints de NAFLD sans cirrhose. Cependant, d'autres études sont nécessaires pour évaluer si les effets bénéfiques de l'oltipraz obtenus chez les patients atteints NAFLD sont liés à une modulation de l'ER stress et plus particulièrement de la voie PERK-Nrf2 dans le foie.

Tableau 13 : Molécules ayant une efficacité dans la NASH et ayant un effet sur l'ER stress

Cible	Molécule	Structure	Mécanisme d'action dans les NAFLD	Effets sur l'ER stress	Références
GLP-1	Liraglutide	 <p>H-His-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser Phe-Glu-Lys-Ala-Ala-Gln-Gly-Glu-Leu-Tyr-Ser Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Arg-Gly-Arg-Gly-OH</p>	Analogues peptidiques du GLP-1 Agonistes des récepteurs au GLP-1 Antidiabétiques Diminuent l'insulinorésistance Favorisent la perte de poids	Diminution de l'ER stress	Ao et al., 2016 ³³⁰ Armstrong et al., 2016 ³²⁵
	Exénatide (Exendin-4)	 <p>H-His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂</p>			Zheng et al., 2017 ³³¹ Sharma et al., 2011 ³²⁹
ASK1	Selonsertib		Inhibiteur de la voie IRE1-ASK1-JNK Réduit les lésions hépatiques liées au stress oxydatif	Réduit les lésions hépatiques liées à l'ER stress	Schuster et al., 2017 ³³⁵ Liles et al., 2017 ³³⁶ Loomba et al., 2017 ⁹⁷
NRF2	Oltipraz		Activateur NRF2 Inhibiteur LXRα Antioxydant Cytoprotecteur Diminue la stéatose	Diminution de l'ER stress dans le tissu adipeux	Yu et al., 2011 ³³⁷ Kim et al., 2017 ³³⁸

ER stress : stress du réticulum endoplasmique, GLP-1 : Glucagon-like peptide 1, ASK1 : apoptosis signal-regulating kinase 1, NRF2 : Nuclear factor-erythroid-derived 2-related factor 2

CONCLUSION

Ces dernières années, la maladie du foie gras (ou *non-alcoholic fatty liver disease*, NAFLD), et la stéatohépatite non alcoolique (ou maladie du soda, NASH), autrefois sporadiques, se sont répandues parallèlement à l'épidémie d'obésité et de diabète de type 2, pour devenir le « fléau du siècle ». En effet, la NAFLD touche actuellement 25% de la population mondiale et les prévisions sont alarmantes car il est estimé que la prévalence de la NASH pourrait augmenter de 63% d'ici à 2030, ce qui fera de cette pathologie la 1^{ère} cause de transplantation hépatique. Face à cette même constatation en France, une tendance à la prise de conscience et des changements dans les mentalités ont pu être observés, notamment grâce à l'action des pouvoirs publics avec les campagnes « manger bouger », « 5 fruits et légumes par jour », « ne pas manger trop gras, trop sucré, trop salé », et la création du Nutriscore. Cependant, ces initiatives restent pour l'instant insuffisantes pour contrer la progression de ces maladies métaboliques.

La NASH représente ainsi un enjeu de santé publique croissant, d'autant plus qu'il n'existe actuellement aucun traitement pour cette pathologie. De nombreuses compagnies ont développé des programmes prometteurs (Genfit, Intercept, Gilead, Allergan...), mais malgré l'effort croissant de la recherche dans ce domaine, beaucoup de progrès restent nécessaires afin d'améliorer le diagnostic de cette pathologie silencieuse et d'élucider les mécanismes physiopathologiques de sa progression. Ces progrès sont limités par la nécessité d'identifier des biomarqueurs validés dans de larges populations de patients et de développer des modèles animaux qui récapitulent tous les aspects de la NAFLD, autant du point de vue des paramètres métaboliques que des caractéristiques histologiques ainsi que de l'évolution de la pathologie.

Le réticulum endoplasmique (RE) est un organelle central dans la régulation de la synthèse et du repliement des protéines, ainsi que dans la biosynthèse des lipides. Diverses perturbations de l'homéostasie du RE peuvent engendrer un stress du réticulum endoplasmique (*ER stress*), déclenchant une réponse physiologique adaptative appelée *Unfolded Protein Response* (UPR). A l'origine initiée dans le but de rétablir l'homéostasie réticulaire et protéger les cellules contre l'accumulation de protéines mal conformées, il s'avère que l'UPR se comporte comme une balance et peut également, à partir d'un certain seuil, engendrer des conséquences délétères pour aboutir à la mort cellulaire.

De plus, de nombreuses données dans la littérature ont montré que l'ER stress et la voie UPR pouvaient jouer un rôle dans la pathogenèse de la NAFLD. En effet, un ER stress chronique ou inadapté peut favoriser le développement et la progression de la stéatose vers la NASH puisqu'il contribue à l'accumulation de lipides hépatiques en activant la lipogenèse et en diminuant le métabolisme et l'export des lipides notamment ; et favorise les processus d'inflammation et de mort cellulaire. Réciproquement, l'ER stress hépatique peut être amplifié par la stéatose via l'accumulation de lipides toxiques (lipotoxicité) et la perturbation de la composition de la membrane du RE, favorisant l'établissement d'un cercle vicieux.

Ainsi, l'ER stress et la voie UPR peuvent représenter une cible thérapeutique intéressante dans le traitement de la NAFLD et plus particulièrement de la NASH, afin d'avoir une nouvelle approche thérapeutique pour interrompre ce cercle vicieux.

Les molécules ciblant directement les effecteurs de la voie UPR ont été principalement développées en oncologie, et très peu d'entre elles ont pu montrer une efficacité et une sécurité dans la NASH. En outre, des molécules possédant des mécanismes d'action moins spécifiques, telles que les chaperonnes chimiques TUDCA et 4-PBA, améliorant la capacité du RE à replier les protéines, ont montré une efficacité *in vivo* pour réduire l'ER stress et améliorer les paramètres biochimiques chez des patients atteints de maladies métaboliques. De plus, des molécules développées dans d'autres troubles ont montré une efficacité dans la NAFLD chez l'homme et dans des modèles animaux en partie liée à une modulation de l'ER stress. C'est par exemple le cas des agonistes GLP-1 (liraglutide, exénatide...) de l'inhibiteur ASK1 selonsertib ou encore de l'activateur NRF2 oltipraz. Ainsi, ces résultats prometteurs confirment l'intérêt de cibler cette voie et de poursuivre les efforts dans ce domaine.

Cependant, cibler l'ER stress reste actuellement un challenge en raison de plusieurs points. En effet, l'UPR est une balance délicate entre des réponses physiologiques adaptatives qui peuvent devenir des réponses pathologiques, il est ainsi important de connaître les conséquences engendrées en fonction de l'intensité et de la durée de son activation, et d'identifier quels « hits » favorisent la transition de l'UPR adaptatif vers l'UPR terminal. De plus, les mécanismes physiopathologiques de la NAFLD étant encore peu élucidés, il reste à déterminer si l'ER stress est une cause ou une conséquence de la dérégulation du métabolisme des lipides dans la NASH. Enfin, la recherche d'agents pharmacologiques ayant une efficacité en clinique est actuellement limitée par les modèles animaux qui ne reproduisent pas complètement la physiopathologie humaine.

BIBLIOGRAPHIE

1. Obesity and overweight [Internet]. Disponible sur: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
2. Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants. *The Lancet*. 9 avr 2016;387(10027):1513-30.
3. Minuk GY. Hepatic regeneration: If it ain't broke, don't fix it. *Can J Gastroenterol J Can Gastroenterol*. juill 2003;17(7):418-24.
4. Fausto N, Riehle KJ. Mechanisms of liver regeneration and their clinical implications. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 27 juin 2005;12(3):181-9.
5. Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science*. 4 avr 1997;276(5309):60-6.
6. Starzl TE, Fung J, Tzakis A, Todo S, Demetris AJ, Marino IR, et al. Baboon-to-human liver transplantation. *Lancet*. 9 janv 1993;341(8837):65-71.
7. Wang F, Bei Y, Zhao Y, Song Y, Xiao J, Yang C. Telocytes in pregnancy-induced physiological liver growth. *Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol*. 2015;36(1):250-8.
8. Zhou J, Tracy TS, Remmel RP. Bilirubin glucuronidation revisited: proper assay conditions to estimate enzyme kinetics with recombinant UGT1A1. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. nov 2010;38(11):1907-11.
9. IDF Diabetes Atlas 8th Edition 2017 Country Reports - France | Report Builder [Internet]. Disponible sur: <https://reports.instantatlas.com/report/view/704ee0e6475b4af885051bcec15f0e2c/FRA>
10. Wong RJ, Aguilar M, Cheung R, Perumpail RB, Harrison SA, Younossi ZM, et al. Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. *Gastroenterology*. mars 2015;148(3):547-55.
11. 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.
12. Zelber-Sagi S, Nitzan-Kaluski D, Halpern Z, Oren R. Prevalence of primary non-alcoholic fatty liver disease in a population-based study and its association with biochemical and anthropometric measures. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver*. sept 2006;26(7):856-63.
13. 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*. janv 2018;15(1):11-20.
14. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*. déc 2004;40(6):1387-95.
15. Freidoony L, Kong ID. Practical approaches to the nutritional management of nonalcoholic fatty liver disease. *Integr Med Res*. 1 déc 2014;3(4):192-7.
16. Ahmed M. Non-alcoholic fatty liver disease in 2015. *World J Hepatol*. 18 juin 2015;7(11):1450-9.
17. Milić S, Lulić D, Štimac D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: Biochemical, metabolic and clinical presentations. *World J Gastroenterol WJG*. 28 juill 2014;20(28):9330-7.
18. Hazlehurst JM, Woods C, Marjot T, Cobbold JF, Tomlinson JW. Non-alcoholic fatty liver disease and diabetes. *Metabolism*. août 2016;65(8):1096-108.
19. Farrell GC. Drugs and steatohepatitis. *Semin Liver Dis*. 2002;22(2):185-94.
20. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc*. juill 1980;55(7):434-8.
21. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*. mai 2005;115(5):1343-51.
22. Semiane N, Foufelle F, Ferré P, Hainault I, Ameddah S, Mallek A, et al. High carbohydrate diet induces nonalcoholic steato-hepatitis (NASH) in a desert gerbil. *C R Biol*. 1 janv 2017;340(1):25-36.
23. Liu W, Baker RD, Bhatia T, Zhu L, Baker SS. Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Cell Mol Life Sci CMLS*. mai 2016;73(10):1969-87.

24. Fujita K, Nozaki Y, Wada K, Yoneda M, Fujimoto Y, Fujitake M, et al. Dysfunctional very-low-density lipoprotein synthesis and release is a key factor in nonalcoholic steatohepatitis pathogenesis. *Hepatology*. sept 2009;50(3):772-80.
25. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two « hits »? *Gastroenterology*. avr 1998;114(4):842-5.
26. Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology*. nov 2010;52(5):1836-46.
27. Fazel Y, Koenig AB, Sayiner M, Goodman ZD, Younossi ZM. Epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. août 2016;65(8):1017-25.
28. Ganz M, Szabo G. Immune and inflammatory pathways in NASH. *Hepatology*. déc 2013;77(2):771-81.
29. Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. juill 2017;14(7):397-411.
30. Tiggelman AM, Boers W, Linthorst C, Brand HS, Sala M, Chamuleau RA. Interleukin-6 production by human liver (myo)fibroblasts in culture. Evidence for a regulatory role of LPS, IL-1 beta and TNF alpha. *J Hepatol*. sept 1995;23(3):295-306.
31. Thompson KC, Trowern A, Fowell A, Marathe M, Haycock C, Arthur MJ, et al. Primary rat and mouse hepatic stellate cells express the macrophage inhibitor cytokine interleukin-10 during the course of activation *In vitro*. *Hepatology*. déc 1998;28(6):1518-24.
32. Bril F, Lomonaco R, Orsak B, Ortiz-Lopez C, Webb A, Tio F, et al. Relationship between disease severity, hyperinsulinemia, and impaired insulin clearance in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. juin 2014;59(6):2178-87.
33. Jha P, Knopf A, Koefeler H, Mueller M, Lackner C, Hoefler G, et al. Role of adipose tissue in methionine-choline-deficient model of non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Biochim Biophys Acta*. juill 2014;1842(7):959-70.
34. du Plessis J, van Pelt J, Korf H, Mathieu C, van der Schueren B, Lannoo M, et al. Association of Adipose Tissue Inflammation With Histologic Severity of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. sept 2015;149(3):635-648.e14.
35. Ray K. NAFLD. Leaky guts: intestinal permeability and NASH. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. mars 2015;12(3):123.
36. Shapiro H, Kolodziejczyk AA, Halstuch D, Elinav E. Bile acids in glucose metabolism in health and disease. *J Exp Med*. 5 févr 2018;215(2):383-96.
37. Schrauwen-Hinderling VB, Kooi ME, Schrauwen P. Mitochondrial Function and Diabetes: Consequences for Skeletal and Cardiac Muscle Metabolism. *Antioxid Redox Signal*. 1 janv 2016;24(1):39-51.
38. Shimizu N, Maruyama T, Yoshikawa N, Matsumiya R, Ma Y, Ito N, et al. A muscle-liver-fat signalling axis is essential for central control of adaptive adipose remodelling. *Nat Commun*. 1 avr 2015;6:6693.
39. Rusli F, Deelen J, Andriyani E, Boekschoten MV, Lute C, van den Akker EB, et al. Fibroblast growth factor 21 reflects liver fat accumulation and dysregulation of signalling pathways in the liver of C57BL/6J mice. *Sci Rep*. 29 juill 2016;6:30484.
40. Younossi ZM. Review article: current management of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;28(1):2-12.
41. Lee SS, Park SH. Radiologic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 21 juin 2014;20(23):7392-402.
42. Li Q, Dhyani M, Grajo JR, Sirlin C, Samir AE. Current status of imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*. 27 août 2018;10(8):530-42.
43. Patel KD, Abeysekera KWM, Marlais M, McPhail MJW, Thomas HC, Fitzpatrick JA, et al. Recent advances in imaging hepatic fibrosis and steatosis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. févr 2011;5(1):91-104.
44. 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*. juin 2005;41(6):1313-21.
45. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis*. févr 2004;24(1):3-20.
46. Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Belt P, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology*. 2011;53(3):810-20.
47. Alkhoury N, McCullough AJ. Noninvasive Diagnosis of NASH and Liver Fibrosis Within the Spectrum of NAFLD. *Gastroenterol Hepatol*. oct 2012;8(10):661-8.
48. Haas JT, Francque S, Staels B. Pathophysiology and Mechanisms of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Annu Rev Physiol*. 2016;78(1):181-205.

49. European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD), European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2016;64(6):1388-402.
50. Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology.* juill 2001;121(1):91-100.
51. Campos GM, Bambha K, Vittinghoff E, Rabl C, Posselt AM, Ciovica R, et al. A clinical scoring system for predicting nonalcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients. *Hepatology Baltim Md.* juin 2008;47(6):1916-23.
52. Zein C, Edmison J, Schluchter M, Feldstein A, Zein N, McCullough A. A NASH Predictive index (NPI) for use in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2007;
53. Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Messous D, Munteanu M, Imbert-Bismut F, et al. Diagnostic value of biochemical markers (NashTest) for the prediction of non alcoholic steato hepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol.* 10 nov 2006;6:34.
54. Anty R, Iannelli A, Patouraux S, Bonnafous S, Lavallard VJ, Senni-Buratti M, et al. A new composite model including metabolic syndrome, alanine aminotransferase and cytokeratin-18 for the diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients. *Aliment Pharmacol Ther.* déc 2010;32(11-12):1315-22.
55. Younossi ZM, Page S, Rafiq N, Birendinc A, Stepanova M, Hossain N, et al. A biomarker panel for non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and NASH-related fibrosis. *Obes Surg.* avr 2011;21(4):431-9.
56. Feldstein AE, Lopez R, Tamimi TA-R, Yerian L, Chung Y-M, Berk M, et al. Mass spectrometric profiling of oxidized lipid products in human nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *J Lipid Res.* oct 2010;51(10):3046-54.
57. Harrison SA, Oliver D, Arnold HL, Gogia S, Neuschwander-Tetri BA. Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. *Gut.* oct 2008;57(10):1441-7.
58. 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 Baltim Md.* avr 2007;45(4):846-54.
59. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology Baltim Md.* juill 2007;46(1):32-6.
60. Guha IN, Parkes J, Roderick P, Chattopadhyay D, Cross R, Harris S, et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. *Hepatology Baltim Md.* févr 2008;47(2):455-60.
61. Ratziu V, Massard J, Charlotte F, Messous D, Imbert-Bismut F, Bonyhay L, et al. Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterol.* 14 févr 2006;6:6.
62. Musso G, Gambino R, Tabibian JH, Ekstedt M, Kechagias S, Hamaguchi M, et al. Association of non-alcoholic fatty liver disease with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* juill 2014;11(7):e1001680.
63. Hauser SC, Pardi DS, Poterucha JJ. Mayo Clinic Gastroenterology and Hepatology Board Review. CRC Press; 2005. 496 p.
64. Caldwell S, Argo C. The Natural History of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis.* 2010;28(1):162-8.
65. Yasui K, Hashimoto E, Komorizono Y, Koike K, Arai S, Imai Y, et al. Characteristics of patients with nonalcoholic steatohepatitis who develop hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* mai 2011;9(5):428-33; quiz e50.
66. Younossi ZM, Otgonsuren M, Henry L, Venkatesan C, Mishra A, Erario M, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) with hepatocellular carcinoma (HCC) in the United States from 2004 to 2009. *Hepatology Baltim Md.* déc 2015;62(6):1723-30.
67. Musso G, Cassader M, Olivetti C, Rosina F, Carbone G, Gambino R. Association of obstructive sleep apnoea with the presence and severity of non-alcoholic fatty liver disease. A systematic review and meta-analysis. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes.* mai 2013;14(5):417-31.

68. Haluzik M, Colombo C, Gavrilova O, Chua S, Wolf N, Chen M, et al. Genetic background (C57BL/6J versus FVB/N) strongly influences the severity of diabetes and insulin resistance in ob/ob mice. *Endocrinology*. juill 2004;145(7):3258-64.
69. Ganz M, Csak T, Szabo G. High fat diet feeding results in gender specific steatohepatitis and inflammasome activation. *World J Gastroenterol*. 14 juill 2014;20(26):8525-34.
70. Santhekadur PK, Kumar DP, Sanyal AJ. Preclinical models of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. févr 2018;68(2):230-7.
71. Stephenson K, Kennedy L, Hargrove L, Demieville J, Thomson J, Alpini G, et al. Updates on Dietary Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Current Studies and Insights. *Gene Expr*. 21 mars 2018;18(1):5-17.
72. Van Herck MA, Vonghia L, Francque SM. Animal Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease—A Starter’s Guide. *Nutrients* [Internet]. 27 sept 2017 [cité 19 févr 2019];9(10). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5691689/>
73. Cole BK, Feaver RE, Wamhoff BR, Dash A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) models in drug discovery. *Expert Opin Drug Discov*. 2018;13(2):193-205.
74. Trak-Smayra V, Paradis V, Massart J, Nasser S, Jebara V, Fromenty B. Pathology of the liver in obese and diabetic ob/ob and db/db mice fed a standard or high-calorie diet. *Int J Exp Pathol*. déc 2011;92(6):413-21.
75. Leclercq IA, Farrell GC, Schriemer R, Robertson GR. Leptin is essential for the hepatic fibrogenic response to chronic liver injury. *J Hepatol*. août 2002;37(2):206-13.
76. Poekes L, Legry V, Farrell G, Leclercq I. Role of ciliary dysfunction in a new model of obesity and non-alcoholic steatohepatitis: the foz/foz mice. *Arch Public Health*. 6 juin 2014;72(Suppl 1):O7.
77. Lebeaupein C, Vallée D, Hazari Y, Hetz C, Chevet E, Bailly-Maitre B. Endoplasmic reticulum stress signalling and the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. oct 2018;69(4):927-47.
78. van der Windt DJ, Sud V, Zhang H, Tsung A, Huang H. The Effects of Physical Exercise on Fatty Liver Disease. *Gene Expr*. 18 mai 2018;18(2):89-101.
79. 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*. août 2015;149(2):379-88; quiz e15-16.
80. Luyckx FH, Lefebvre PJ, Scheen AJ. Non-alcoholic steatohepatitis: association with obesity and insulin resistance, and influence of weight loss. *Diabetes Metab*. avr 2000;26(2):98-106.
81. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatol Baltim Md*. juin 2012;55(6):2005-23.
82. 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*. 6 mai 2010;362(18):1675-85.
83. Klein EA, Thompson IM, Tangen CM, Crowley JJ, Lucia MS, Goodman PJ, et al. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA*. 12 oct 2011;306(14):1549-56.
84. Schürks M, Glynn RJ, Rist PM, Tzourio C, Kurth T. Effects of vitamin E on stroke subtypes: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*. 4 nov 2010;341:c5702.
85. Lin HZ, Yang SQ, Chuckaree C, Kuhajda F, Ronnet G, Diehl AM. Metformin reverses fatty liver disease in obese, leptin-deficient mice. *Nat Med*. sept 2000;6(9):998-1003.
86. Angelico F, Burattin M, Alessandri C, Del Ben M, Lirussi F. Drugs improving insulin resistance for non-alcoholic fatty liver disease and/or non-alcoholic steatohepatitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 24 janv 2007;(1):CD005166.
87. Grey A, Bolland M, Gamble G, Wattie D, Horne A, Davidson J, et al. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist rosiglitazone decreases bone formation and bone mineral density in healthy postmenopausal women: a randomized, controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*. avr 2007;92(4):1305-10.
88. Elasy TA, Griffin M. Thiazolidinedione use, fluid retention, and congestive heart failure: a consensus statement from the American Heart Association and American Diabetes Association: response to Nesto. *Diabetes Care*. août 2004;27(8):2096; author reply 2096.
89. Colmers IN, Bowker SL, Majumdar SR, Johnson JA. Use of thiazolidinediones and the risk of bladder cancer among people with type 2 diabetes: a meta-analysis. *CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can*. 4 sept 2012;184(12):E675-683.

90. Nissen SE, Wolski K. Effect of Rosiglitazone on the Risk of Myocardial Infarction and Death from Cardiovascular Causes. *N Engl J Med.* 14 juin 2007;356(24):2457-71.
91. Ratziu V, Harrison SA, Francque S, Bedossa P, Leheret P, Serfaty L, et al. Elafibranor, an Agonist of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α and - δ , Induces Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis Without Fibrosis Worsening. *Gastroenterology.* 2016;150(5):1147-1159.e5.
92. 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.* 14 mars 2015;385(9972):956-65.
93. Dongiovanni P, Petta S, Mannisto V, Mancina RM, Pipitone R, Karja V, et al. Statin use and non-alcoholic steatohepatitis in at risk individuals. *J Hepatol.* 1 sept 2015;63(3):705-12.
94. Oseini AM, Sanyal AJ. Therapies in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver.* 2017;37 Suppl 1:97-103.
95. Loomba R, Sirlin CB, Ang B, Bettencourt R, Jain R, Salotti J, et al. Ezetimibe for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: assessment by novel magnetic resonance imaging and magnetic resonance elastography in a randomized trial (MOZART trial). *Hepatol Baltim Md.* avr 2015;61(4):1239-50.
96. Friedman SL, Ratziu V, Harrison SA, Abdelmalek MF, Aithal GP, Caballeria J, et al. A randomized, placebo-controlled trial of cenicriviroc for treatment of nonalcoholic steatohepatitis with fibrosis. *Hepatol Baltim Md.* 2018;67(5):1754-67.
97. Loomba R, Lawitz E, Mantry PS, Jayakumar S, Caldwell SH, Arnold H, et al. The ASK1 inhibitor selonsertib in patients with nonalcoholic steatohepatitis: A randomized, phase 2 trial. *Hepatology.* 2018;67(2):549-59.
98. Gilead Announces Topline Data From Phase 3 STELLAR-4 Study of Selonsertib in Compensated Cirrhosis (F4) Due to Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH) [Internet]. Disponible sur: <https://www.gilead.com/news-and-press/press-room/press-releases/2019/2/gilead-announces-topline-data-from-phase-3-stellar4-study-of-selonsertib-in-compensated-cirrhosis-f4-due-to-nonalcoholic-steatohepatitis-nash>
99. Gilead Announces Topline Data From Phase 3 STELLAR-3 Study of Selonsertib in Bridging Fibrosis (F3) Due to Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH) [Internet]. Disponible sur: <https://www.gilead.com/news-and-press/press-room/press-releases/2019/4/gilead-announces-topline-data-from-phase-3-stellar3-study-of-selonsertib-in-bridging-fibrosis-f3-due-to-nonalcoholic-steatohepatitis-nash>
100. Bertolotti A, Zhang Y, Hendershot LM, Harding HP, Ron D. Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol.* juin 2000;2(6):326-32.
101. Shen J, Chen X, Hendershot L, Prywes R. ER Stress Regulation of ATF6 Localization by Dissociation of BiP/GRP78 Binding and Unmasking of Golgi Localization Signals. *Dev Cell.* juill 2002;3(1):99-111.
102. Carrara M, Prischi F, Ali M. UPR Signal Activation by Luminal Sensor Domains. *Int J Mol Sci.* 21 mars 2013;14(3):6454-66.
103. Gardner BM, Walter P. Unfolded proteins are Ire1-activating ligands that directly induce the unfolded protein response. *Science.* 30 sept 2011;333(6051):1891-4.
104. Wang P, Li J, Sha B. The ER stress sensor PERK luminal domain functions as a molecular chaperone to interact with misfolded proteins. *Acta Crystallogr Sect Struct Biol.* 01 2016;72(Pt 12):1290-7.
105. Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol.* juill 2007;8(7):519-29.
106. Gething M-J. Role and regulation of the ER chaperone BiP. *Semin Cell Dev Biol.* 1 oct 1999;10(5):465-72.
107. Vembar SS, Jonikas MC, Hendershot LM, Weissman JS, Brodsky JL. J Domain Co-chaperone Specificity Defines the Role of BiP during Protein Translocation. *J Biol Chem.* 16 juill 2010;285(29):22484-94.
108. Lee A-H, Iwakoshi NN, Glimcher LH. XBP-1 Regulates a Subset of Endoplasmic Reticulum Resident Chaperone Genes in the Unfolded Protein Response. *Mol Cell Biol.* 1 nov 2003;23(21):7448-59.
109. Sriburi R, Bommasamy H, Buldak GL, Robbins GR, Frank M, Jackowski S, et al. Coordinate regulation of phospholipid biosynthesis and secretory pathway gene expression in XBP-1(S)-induced endoplasmic reticulum biogenesis. *J Biol Chem.* 9 mars 2007;282(10):7024-34.
110. Hollien J, Weissman JS. Decay of endoplasmic reticulum-localized mRNAs during the unfolded protein response. *Science.* 7 juill 2006;313(5783):104-7.

111. Iwawaki T, Akai R, Yamanaka S, Kohno K. Function of IRE1 alpha in the placenta is essential for placental development and embryonic viability. *Proc Natl Acad Sci*. 29 sept 2009;106(39):16657-62.
112. Reimold AM, Etkin A, Clauss I, Perkins A, Friend DS, Zhang J, et al. An essential role in liver development for transcription factor XBP-1. *Genes Dev*. 15 janv 2000;14(2):152-7.
113. Mori K, Ogawa N, Kawahara T, Yanagi H, Yura T. mRNA splicing-mediated C-terminal replacement of transcription factor Hac1p is required for efficient activation of the unfolded protein response. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 25 avr 2000;97(9):4660-5.
114. Lee K, Tirasophon W, Shen X, Michalak M, Prywes R, Okada T, et al. IRE1-mediated unconventional mRNA splicing and S2P-mediated ATF6 cleavage merge to regulate XBP1 in signaling the unfolded protein response. *Genes Dev*. 15 févr 2002;16(4):452-66.
115. Yoshida H, Matsui T, Yamamoto A, Okada T, Mori K. XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. *Cell*. 28 déc 2001;107(7):881-91.
116. Hetz C, Bernasconi P, Fisher J, Lee A-H, Bassik MC, Antonsson B, et al. Proapoptotic BAX and BAK Modulate the Unfolded Protein Response by a Direct Interaction with IRE1 α . *Science*. 28 avr 2006;312(5773):572-6.
117. Lisbona F, Rojas-Rivera D, Thielen P, Zamorano S, Todd D, Martinon F, et al. BAX Inhibitor-1 Is a Negative Regulator of the ER Stress Sensor IRE1 α . *Mol Cell*. 27 mars 2009;33(6):679-91.
118. Rodriguez DA, Zamorano S, Lisbona F, Rojas-Rivera D, Urra H, Cubillos-Ruiz JR, et al. BH3-only proteins are part of a regulatory network that control the sustained signalling of the unfolded protein response sensor IRE1 α . *EMBO J*. 16 mai 2012;31(10):2322-35.
119. Brewer JW, Diehl JA. PERK mediates cell-cycle exit during the mammalian unfolded protein response. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 7 nov 2000;97(23):12625-30.
120. Iwawaki T, Akai R, Toyoshima T, Takeda N, Ishikawa T-O, Yamamura K-I. Transgenic mouse model for imaging of ATF4 translational activation-related cellular stress responses in vivo. *Sci Rep*. 7 avr 2017;7:46230.
121. Novoa I, Zeng H, Harding HP, Ron D. Feedback inhibition of the unfolded protein response by GADD34-mediated dephosphorylation of eIF2 α . *J Cell Biol*. 28 mai 2001;153(5):1011-22.
122. Palam LR, Baird TD, Wek RC. Phosphorylation of eIF2 facilitates ribosomal bypass of an inhibitory upstream ORF to enhance CHOP translation. *J Biol Chem*. 1 avr 2011;286(13):10939-49.
123. Baird TD, Wek RC. Eukaryotic initiation factor 2 phosphorylation and translational control in metabolism. *Adv Nutr Bethesda Md*. 1 mai 2012;3(3):307-21.
124. Cullinan SB, Zhang D, Hannink M, Arvisais E, Kaufman RJ, Diehl JA. Nrf2 is a direct PERK substrate and effector of PERK-dependent cell survival. *Mol Cell Biol*. oct 2003;23(20):7198-209.
125. He CH, Gong P, Hu B, Stewart D, Choi ME, Choi AM, et al. Identification of activating transcription factor 4 (ATF4) as an Nrf2-interacting protein. Implication for heme oxygenase-1 gene regulation. *J Biol Chem*. 15 juin 2001;276(24):20858-65.
126. Brush MH, Weiser DC, Shenolikar S. Growth arrest and DNA damage-inducible protein GADD34 targets protein phosphatase 1 alpha to the endoplasmic reticulum and promotes dephosphorylation of the alpha subunit of eukaryotic translation initiation factor 2. *Mol Cell Biol*. févr 2003;23(4):1292-303.
127. Oyadomari S, Mori M. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death Differ*. avr 2004;11(4):381-9.
128. Yang Y, Liu L, Naik I, Braunstein Z, Zhong J, Ren B. Transcription Factor C/EBP Homologous Protein in Health and Diseases. *Front Immunol* [Internet]. 27 nov 2017 ; Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5712004/>
129. Han J, Back SH, Hur J, Lin Y-H, Gildersleeve R, Shan J, et al. ER-stress-induced transcriptional regulation increases protein synthesis leading to cell death. *Nat Cell Biol*. mai 2013;15(5):481-90.
130. Julier C, Nicolino M. Wolcott-Rallison syndrome. *Orphanet J Rare Dis*. 4 nov 2010;5(1):29.
131. Thuerauf DJ, Morrison L, Glembotski CC. Opposing Roles for ATF6 α and ATF6 β in Endoplasmic Reticulum Stress Response Gene Induction. *J Biol Chem*. 14 mai 2004;279(20):21078-84.
132. Okada T, Yoshida H, Akazawa R, Negishi M, Mori K. Distinct roles of activating transcription factor 6 (ATF6) and double-stranded RNA-activated protein kinase-like endoplasmic

- reticulum kinase (PERK) in transcription during the mammalian unfolded protein response. *Biochem J.* 1 sept 2002;366(2):585-94.
133. Bommasamy H, Back SH, Fagone P, Lee K, Meshinchi S, Vink E, et al. ATF6alpha induces XBP1-independent expansion of the endoplasmic reticulum. *J Cell Sci.* 15 mai 2009;122(Pt 10):1626-36.
 134. Nadanaka S, Okada T, Yoshida H, Mori K. Role of disulfide bridges formed in the luminal domain of ATF6 in sensing endoplasmic reticulum stress. *Mol Cell Biol.* févr 2007;27(3):1027-43.
 135. Schindler AJ, Schekman R. In vitro reconstitution of ER-stress induced ATF6 transport in COPII vesicles. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 20 oct 2009;106(42):17775-80.
 136. Brown MS, Goldstein JL. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell.* 2 mai 1997;89(3):331-40.
 137. Fonseca SG, Ishigaki S, Osowski CM, Lu S, Lipson KL, Ghosh R, et al. Wolfram syndrome 1 gene negatively regulates ER stress signaling in rodent and human cells. *J Clin Invest.* mars 2010;120(3):744-55.
 138. Yamamoto K, Sato T, Matsui T, Sato M, Okada T, Yoshida H, et al. Transcriptional Induction of Mammalian ER Quality Control Proteins Is Mediated by Single or Combined Action of ATF6 α and XBP1. *Dev Cell.* 4 sept 2007;13(3):365-76.
 139. Wu J, Rutkowski DT, Dubois M, Swathirajan J, Saunders T, Wang J, et al. ATF6 α Optimizes Long-Term Endoplasmic Reticulum Function to Protect Cells from Chronic Stress. *Dev Cell.* 4 sept 2007;13(3):351-64.
 140. Yamamoto K, Takahara K, Oyadomari S, Okada T, Sato T, Harada A, et al. Induction of liver steatosis and lipid droplet formation in ATF6alpha-knockout mice burdened with pharmacological endoplasmic reticulum stress. *Mol Biol Cell.* 1 sept 2010;21(17):2975-86.
 141. Volmer R, Ploeg K van der, Ron D. Membrane lipid saturation activates endoplasmic reticulum unfolded protein response transducers through their transmembrane domains. *Proc Natl Acad Sci.* 19 mars 2013;110(12):4628-33.
 142. Eletto D, Eletto D, Dersh D, Gidalevitz T, Argon Y. Protein Disulfide Isomerase A6 controls the decay of IRE1 α signaling via disulfide-dependent association. *Mol Cell.* 20 févr 2014;53(4):562-76.
 143. Lynch JM, Maillet M, Vanhoutte D, Schloemer A, Sargent MA, Blair NS, et al. A Thrombospondin-Dependent Pathway for a Protective ER Stress Response. *Cell.* 8 juin 2012;149(6):1257-68.
 144. Hong F, Liu B, Wu BX, Morreall J, Roth B, Davies C, et al. CNPY2 is a key initiator of the PERK–CHOP pathway of the unfolded protein response. *Nat Struct Mol Biol.* oct 2017;24(10):834-9.
 145. Rutkowski DT, Arnold SM, Miller CN, Wu J, Li J, Gunnison KM, et al. Adaptation to ER stress is mediated by differential stabilities of pro-survival and pro-apoptotic mRNAs and proteins. *PLoS Biol.* nov 2006;4(11):e374.
 146. Walter F, Schmid J, Düssmann H, Concannon CG, Prehn JHM. Imaging of single cell responses to ER stress indicates that the relative dynamics of IRE1/XBP1 and PERK/ATF4 signalling rather than a switch between signalling branches determine cell survival. *Cell Death Differ.* sept 2015;22(9):1502-16.
 147. Chitnis NS, Pytel D, Bobrovnikova-Marjon E, Pant D, Zheng H, Maas NL, et al. miR-211 Is a Prosurvival MicroRNA that Regulates chop Expression in a PERK-Dependent Manner. *Mol Cell.* 9 nov 2012;48(3):353-64.
 148. Ogata M, Hino S, Saito A, Morikawa K, Kondo S, Kanemoto S, et al. Autophagy Is Activated for Cell Survival after Endoplasmic Reticulum Stress. *Mol Cell Biol.* 15 déc 2006;26(24):9220-31.
 149. Lin JH, Li H, Yasumura D, Cohen HR, Zhang C, Panning B, et al. IRE1 Signaling Affects Cell Fate During the Unfolded Protein Response. *Science.* 9 nov 2007;318(5852):944.
 150. Márton M, Kurucz A, Lizák B, Margittai É, Bánhegyi G, Kapuy O. A Systems Biological View of Life-and-Death Decision with Respect to Endoplasmic Reticulum Stress—The Role of PERK Pathway. *Int J Mol Sci.* janv 2017;18(1):58.
 151. Cao J, Dai D-L, Yao L, Yu H-H, Ning B, Zhang Q, et al. Saturated fatty acid induction of endoplasmic reticulum stress and apoptosis in human liver cells via the PERK/ATF4/CHOP signaling pathway. *Mol Cell Biochem.* 1 mai 2012;364(1):115-29.
 152. McCullough KD, Martindale JL, Klotz LO, Aw TY, Holbrook NJ. Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down-regulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state. *Mol Cell Biol.* févr 2001;21(4):1249-59.

153. Cheng EH, Wei MC, Weiler S, Flavell RA, Mak TW, Lindsten T, et al. BCL-2, BCL-X(L) sequester BH3 domain-only molecules preventing BAX- and BAK-mediated mitochondrial apoptosis. *Mol Cell*. sept 2001;8(3):705-11.
154. Hetz C. The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 18 janv 2012;13(2):89-102.
155. Yamaguchi H, Wang H-G. CHOP is involved in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis by enhancing DR5 expression in human carcinoma cells. *J Biol Chem*. 29 oct 2004;279(44):45495-502.
156. Marciniak SJ, Yun CY, Oyadomari S, Novoa I, Zhang Y, Jungreis R, et al. CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum. *Genes Dev*. 15 déc 2004;18(24):3066-77.
157. Li G, Mongillo M, Chin K-T, Harding H, Ron D, Marks AR, et al. Role of ERO1-alpha-mediated stimulation of inositol 1,4,5-triphosphate receptor activity in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *J Cell Biol*. 21 sept 2009;186(6):783-92.
158. Timmins JM, Ozcan L, Seimon TA, Li G, Malagelada C, Backs J, et al. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II links ER stress with Fas and mitochondrial apoptosis pathways. *J Clin Invest*. oct 2009;119(10):2925-41.
159. Ghosh R, Wang L, Wang ES, Perera BGK, Igbaria A, Morita S, et al. Allosteric Inhibition of the IRE1 α RNase Preserves Cell Viability and Function during Endoplasmic Reticulum Stress. *Cell*. 31 juill 2014;158(3):534-48.
160. Ventura J-J, Hübner A, Zhang C, Flavell RA, Shokat KM, Davis RJ. Chemical genetic analysis of the time course of signal transduction by JNK. *Mol Cell*. 3 mars 2006;21(5):701-10.
161. Yoneda T, Imaizumi K, Oono K, Yui D, Gomi F, Katayama T, et al. Activation of caspase-12, an endoplasmic reticulum (ER) resident caspase, through tumor necrosis factor receptor-associated factor 2-dependent mechanism in response to the ER stress. *J Biol Chem*. 27 avr 2001;276(17):13935-40.
162. Kapuy O, Vinod PK, Mandl J, Bánhegyi G. A cellular stress-directed bistable switch controls the crosstalk between autophagy and apoptosis. *Mol Biosyst*. 2 févr 2013;9(2):296-306.
163. Heifetz A, Keenan RW, Elbein AD. Mechanism of action of tunicamycin on the UDP-GlcNAc:dolichyl-phosphate GlcNAc-1-phosphate transferase. *Biochemistry*. mai 1979;18(11):2186-92.
164. Ganley IG, Wong P-M, Gammoh N, Jiang X. Distinct Autophagosomal-Lysosomal Fusion Mechanism Revealed by Thapsigargin-Induced Autophagy Arrest. *Mol Cell*. 24 juin 2011;42(6):731-43.
165. Treiman M, Caspersen C, Christensen SB. A tool coming of age: thapsigargin as an inhibitor of sarco-endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPases. *Trends Pharmacol Sci*. 1 avr 1998;19(4):131-5.
166. Obeng EA, Carlson LM, Gutman DM, Harrington WJ, Lee KP, Boise LH. Proteasome inhibitors induce a terminal unfolded protein response in multiple myeloma cells. *Blood*. 15 juin 2006;107(12):4907-16.
167. Niu T-K, Pfeifer AC, Lippincott-Schwartz J, Jackson CL. Dynamics of GBF1, a Brefeldin A-sensitive Arf1 exchange factor at the Golgi. *Mol Biol Cell*. mars 2005;16(3):1213-22.
168. Engin F. ER stress and development of type 1 diabetes. *J Investig Med Off Publ Am Fed Clin Res*. janv 2016;64(1):2-6.
169. Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee A-H, Iwakoshi NN, Ozdelen E, et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science*. 15 oct 2004;306(5695):457-61.
170. Ho N, Xu C, Thibault G. From the unfolded protein response to metabolic diseases – lipids under the spotlight. *J Cell Sci*. 1 févr 2018;131(3):jcs199307.
171. Wang S, Chen Z, Lam V, Han J, Hassler J, Finck BN, et al. IRE1 α -XBP1s induces PDI expression to increase MTP activity for hepatic VLDL assembly and lipid homeostasis. *Cell Metab*. 3 oct 2012;16(4):473-86.
172. Lee A-H, Scapa EF, Cohen DE, Glimcher LH. Regulation of hepatic lipogenesis by the transcription factor XBP1. *Science*. 13 juin 2008;320(5882):1492-6.
173. So J-S, Hur KY, Tarrio M, Ruda V, Frank-Kamenetsky M, Fitzgerald K, et al. Silencing of lipid metabolism genes through IRE1 α -mediated mRNA decay lowers plasma lipids in mice. *Cell Metab*. 3 oct 2012;16(4):487-99.
174. Wang D, Wei Y, Pagliassotti MJ. Saturated fatty acids promote endoplasmic reticulum stress and liver injury in rats with hepatic steatosis. *Endocrinology*. févr 2006;147(2):943-51.

175. Yang L, Jhaveri R, Huang J, Qi Y, Diehl AM. Endoplasmic reticulum stress, hepatocyte CD1d and NKT cell abnormalities in murine fatty livers. *Lab Investig J Tech Methods Pathol.* sept 2007;87(9):927-37.
176. Rahman SM, Schroeder-Gloeckler JM, Janssen RC, Jiang H, Qadri I, Maclean KN, et al. CCAAT/enhancing binding protein beta deletion in mice attenuates inflammation, endoplasmic reticulum stress, and lipid accumulation in diet-induced nonalcoholic steatohepatitis. *Hepato Baltim Md.* mai 2007;45(5):1108-17.
177. Schattenberg JM, Singh R, Wang Y, Lefkowitz JH, Rigoli RM, Scherer PE, et al. JNK1 but not JNK2 promotes the development of steatohepatitis in mice. *Hepato Baltim Md.* janv 2006;43(1):163-72.
178. Svegliati-Baroni G, Candelaresi C, Saccomanno S, Ferretti G, Bachetti T, Marziani M, et al. A model of insulin resistance and nonalcoholic steatohepatitis in rats: role of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and n-3 polyunsaturated fatty acid treatment on liver injury. *Am J Pathol.* sept 2006;169(3):846-60.
179. Puri P, Mirshahi F, Cheung O, Natarajan R, Maher JW, Kellum JM, et al. Activation and Dysregulation of the Unfolded Protein Response in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology.* févr 2008;134(2):568-76.
180. Gregor MF, Yang L, Fabbrini E, Mohammed BS, Eagon JC, Hotamisligil GS, et al. Endoplasmic reticulum stress is reduced in tissues of obese subjects after weight loss. *Diabetes.* mars 2009;58(3):693-700.
181. Zhang X-Q, Xu C-F, Yu C-H, Chen W-X, Li Y-M. Role of endoplasmic reticulum stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 21 févr 2014;20(7):1768-76.
182. Passos E, Ascensão A, Martins MJ, Magalhães J. Endoplasmic Reticulum Stress Response in Non-alcoholic Steatohepatitis: The Possible Role of Physical Exercise. *Metabolism.* juill 2015;64(7):780-92.
183. Lake AD, Novak P, Hardwick RN, Flores-Keown B, Zhao F, Klimecki WT, et al. The Adaptive Endoplasmic Reticulum Stress Response to Lipotoxicity in Progressive Human Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Toxicol Sci.* 1 janv 2014;137(1):26-35.
184. Yang L, Li P, Fu S, Calay ES, Hotamisligil GS. Defective hepatic autophagy in obesity promotes ER stress and causes insulin resistance. *Cell Metab.* 9 juin 2010;11(6):467-78.
185. Rodríguez-Suárez E, Duce AM, Caballería J, Martínez Arrieta F, Fernández E, Gómara C, et al. Non-alcoholic fatty liver disease proteomics. *Proteomics Clin Appl.* avr 2010;4(4):362-71.
186. Wei Y, Wang D, Topczewski F, Pagliassotti MJ. Saturated fatty acids induce endoplasmic reticulum stress and apoptosis independently of ceramide in liver cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* août 2006;291(2):E275-281.
187. Pineau L, Colas J, Dupont S, Beney L, Fleurat-Lessard P, Berjeaud J-M, et al. Lipid-induced ER stress: synergistic effects of sterols and saturated fatty acids. *Traffic Cph Den.* juin 2009;10(6):673-90.
188. Lee J-S, Mendez R, Heng HH, Yang Z-Q, Zhang K. Pharmacological ER stress promotes hepatic lipogenesis and lipid droplet formation. *Am J Transl Res.* 2012;4(1):102-13.
189. Oyadomari S, Harding HP, Zhang Y, Oyadomari M, Ron D. Dephosphorylation of translation initiation factor 2alpha enhances glucose tolerance and attenuates hepatosteatosis in mice. *Cell Metab.* juin 2008;7(6):520-32.
190. Kammoun HL, Chabanon H, Hainault I, Luquet S, Magnan C, Koike T, et al. GRP78 expression inhibits insulin and ER stress-induced SREBP-1c activation and reduces hepatic steatosis in mice. *J Clin Invest.* mai 2009;119(5):1201-15.
191. Rutkowski DT, Wu J, Back S-H, Callaghan MU, Ferris SP, Iqbal J, et al. UPR pathways combine to prevent hepatic steatosis caused by ER stress-mediated suppression of transcriptional master regulators. *Dev Cell.* déc 2008;15(6):829-40.
192. Fisher EA, Brodsky JL. The unfolded protein response: a multifaceted regulator of lipid and lipoprotein metabolism. *Cell Metab.* 3 oct 2012;16(4):407-8.
193. Wang J-M, Qiu Y, Yang Z, Kim H, Qian Q, Sun Q, et al. IRE1α prevents hepatic steatosis by processing and promoting the degradation of select microRNAs. *Sci Signal.* 15 mai 2018;11(530).
194. Yang L, Calay ES, Fan J, Arduini A, Kunz RC, Gygi SP, et al. S-Nitrosylation links obesity-associated inflammation to endoplasmic reticulum dysfunction. *Science.* 31 juill 2015;349(6247):500-6.
195. Bommiasamy H, Popko B. Chapter Six - Animal Models in the Study of the Unfolded Protein Response. In: Conn PM, éditeur. *Methods in Enzymology* [Internet]. Academic Press; 2011

- p. 91-109. (The Unfolded Protein Response and Cellular Stress, Part C; vol. 491). Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012385928000067>
196. Seo J, Fortuno ES, Suh JM, Stenesen D, Tang W, Parks EJ, et al. Atf4 regulates obesity, glucose homeostasis, and energy expenditure. *Diabetes*. nov 2009;58(11):2565-73.
 197. Henkel AS. Unfolded Protein Response Sensors in Hepatic Lipid Metabolism and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Semin Liver Dis*. nov 2018;38(04):320-32.
 198. Werstuck GH, Lentz SR, Dayal S, Hossain GS, Sood SK, Shi YY, et al. Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. *J Clin Invest*. mai 2001;107(10):1263-73.
 199. Lee JN, Ye J. Proteolytic activation of sterol regulatory element-binding protein induced by cellular stress through depletion of Insig-1. *J Biol Chem*. 22 oct 2004;279(43):45257-65.
 200. Basseri S, Austin RC. Endoplasmic Reticulum Stress and Lipid Metabolism: Mechanisms and Therapeutic Potential [Internet]. *Biochemistry Research International*. 2012. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/bri/2012/841362/>
 201. Huang J, Tabbi-Anneni I, Gunda V, Wang L. Transcription factor Nrf2 regulates SHP and lipogenic gene expression in hepatic lipid metabolism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. déc 2010;299(6):G1211-1221.
 202. Kay HY, Kim WD, Hwang SJ, Choi H-S, Gilroy RK, Wan Y-JY, et al. Nrf2 inhibits LXR α -dependent hepatic lipogenesis by competing with FXR for acetylase binding. *Antioxid Redox Signal*. 15 oct 2011;15(8):2135-46.
 203. Zhang C, Wang G, Zheng Z, Maddipati KR, Zhang X, Dyson G, et al. Endoplasmic reticulum-tethered transcription factor cAMP responsive element-binding protein, hepatocyte specific, regulates hepatic lipogenesis, fatty acid oxidation, and lipolysis upon metabolic stress in mice. *Hepatology*. avr 2012;55(4):1070-82.
 204. Herrema H, Zhou Y, Zhang D, Lee J, Salazar Hernandez MA, Shulman GI, et al. XBP1s Is an Anti-lipogenic Protein. *J Biol Chem*. 12 2016;291(33):17394-404.
 205. Choi K, Kim H, Kang H, Lee S-Y, Lee SJ, Back SH, et al. Regulation of diacylglycerol acyltransferase 2 protein stability by gp78-associated endoplasmic-reticulum-associated degradation. *FEBS J*. juill 2014;281(13):3048-60.
 206. Yamaguchi K, Yang L, McCall S, Huang J, Yu XX, Pandey SK, et al. Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. juin 2007;45(6):1366-74.
 207. Ota T, Gayet C, Ginsberg HN. Inhibition of apolipoprotein B100 secretion by lipid-induced hepatic endoplasmic reticulum stress in rodents. *J Clin Invest*. janv 2008;118(1):316-32.
 208. Charlton M, Sreekumar R, Rasmussen D, Lindor K, Nair KS. Apolipoprotein synthesis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. avr 2002;35(4):898-904.
 209. Liao W, Chan L. Tunicamycin induces ubiquitination and degradation of apolipoprotein B in HepG2 cells. *Biochem J*. 1 févr 2001;353(Pt 3):493-501.
 210. Qiu W, Su Q, Rutledge AC, Zhang J, Adeli K. Glucosamine-induced endoplasmic reticulum stress attenuates apolipoprotein B100 synthesis via PERK signaling. *J Lipid Res*. sept 2009;50(9):1814-23.
 211. Jo H, Choe SS, Shin KC, Jang H, Lee JH, Seong JK, et al. Endoplasmic reticulum stress induces hepatic steatosis via increased expression of the hepatic very low-density lipoprotein receptor. *Hepatology*. 2013;57(4):1366-77.
 212. Arruda AP, Pers BM, Parlakgöl G, Güney E, Inouye K, Hotamisligil GS. Chronic enrichment of hepatic endoplasmic reticulum-mitochondria contact leads to mitochondrial dysfunction in obesity. *Nat Med*. déc 2014;20(12):1427-35.
 213. DeZwaan-McCabe D, Sheldon RD, Gorecki MC, Guo D-F, Gansemer ER, Kaufman RJ, et al. ER Stress Inhibits Liver Fatty Acid Oxidation while Unmitigated Stress Leads to Anorexia-Induced Lipolysis and Both Liver and Kidney Steatosis. *Cell Rep*. 30 2017;19(9):1794-806.
 214. Chen X, Zhang F, Gong Q, Cui A, Zhuo S, Hu Z, et al. Hepatic ATF6 Increases Fatty Acid Oxidation to Attenuate Hepatic Steatosis in Mice Through Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α . *Diabetes*. 2016;65(7):1904-15.
 215. Maillo C, Martín J, Sebastián D, Hernández-Alvarez M, García-Rocha M, Reina O, et al. Circadian- and UPR-dependent control of CPEB4 mediates a translational response to counteract hepatic steatosis under ER stress. *Nat Cell Biol*. 2017;19(2):94-105.
 216. Singh R, Kaushik S, Wang Y, Xiang Y, Novak I, Komatsu M, et al. Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature*. 30 avr 2009;458(7242):1131-5.
 217. González-Rodríguez A, Mayoral R, Agra N, Valdecantos MP, Pardo V, Miquilena-Colina ME, et al. Impaired autophagic flux is associated with increased endoplasmic reticulum stress during the development of NAFLD. *Cell Death Dis*. 17 avr 2014;5:e1179.

218. Margariti A, Li H, Chen T, Martin D, Vizcay-Barrena G, Alam S, et al. XBP1 mRNA splicing triggers an autophagic response in endothelial cells through BECLIN-1 transcriptional activation. *J Biol Chem.* 11 janv 2013;288(2):859-72.
219. B'chir W, Maurin A-C, Carraro V, Averous J, Jousse C, Muranishi Y, et al. The eIF2 α /ATF4 pathway is essential for stress-induced autophagy gene expression. *Nucleic Acids Res.* sept 2013;41(16):7683-99.
220. Lee JH, Giannikopoulos P, Duncan SA, Wang J, Johansen CT, Brown JD, et al. The transcription factor cyclic AMP-responsive element-binding protein H regulates triglyceride metabolism. *Nat Med.* 12 juin 2011;17(7):812-5.
221. Volmer R, Ron D. Lipid-dependent regulation of the unfolded protein response. *Curr Opin Cell Biol.* avr 2015;33:67-73.
222. Willy JA, Young SK, Stevens JL, Masuoka HC, Wek RC. CHOP links endoplasmic reticulum stress to NF- κ B activation in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Mol Biol Cell.* 2015;26(12):2190–2204.
223. Feng B, Yao PM, Li Y, Devlin CM, Zhang D, Harding HP, et al. The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages. *Nat Cell Biol.* sept 2003;5(9):781-92.
224. Fu S, Watkins SM, Hotamisligil GS. The role of endoplasmic reticulum in hepatic lipid homeostasis and stress signaling. *Cell Metab.* 2 mai 2012;15(5):623-34.
225. Listenberger LL, Han X, Lewis SE, Cases S, Farese RV, Ory DS, et al. Triglyceride accumulation protects against fatty acid-induced lipotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 18 mars 2003;100(6):3077-82.
226. Peng G, Li L, Liu Y, Pu J, Zhang S, Yu J, et al. Oleate blocks palmitate-induced abnormal lipid distribution, endoplasmic reticulum expansion and stress, and insulin resistance in skeletal muscle. *Endocrinology.* juin 2011;152(6):2206-18.
227. Ariyama H, Kono N, Matsuda S, Inoue T, Arai H. Decrease in Membrane Phospholipid Unsaturation Induces Unfolded Protein Response. *J Biol Chem.* 16 juill 2010;285(29):22027-35.
228. Minville-Walz M, Pierre A-S, Pichon L, Bellenger S, Fèvre C, Bellenger J, et al. Inhibition of stearoyl-CoA desaturase 1 expression induces CHOP-dependent cell death in human cancer cells. *PLoS One.* 16 déc 2010;5(12):e14363.
229. Leamy AK, Egnatchik RA, Shiota M, Ivanova PT, Myers DS, Brown HA, et al. Enhanced synthesis of saturated phospholipids is associated with ER stress and lipotoxicity in palmitate treated hepatic cells. *J Lipid Res.* 2014;55(7):1478-88.
230. Liu X, Burhans MS, Flowers MT, Ntambi JM. Hepatic oleate regulates liver stress response partially through PGC-1 α during high-carbohydrate feeding. *J Hepatol.* 2016;65(1):103-12.
231. Fu S, Yang L, Li P, Hofmann O, Dicker L, Hide W, et al. Aberrant lipid metabolism disrupts calcium homeostasis causing liver endoplasmic reticulum stress in obesity. *Nature.* 26 mai 2011;473(7348):528-31.
232. Li Y, Ge M, Ciani L, Kuriakose G, Westover EJ, Dura M, et al. Enrichment of Endoplasmic Reticulum with Cholesterol Inhibits Sarcoplasmic-Endoplasmic Reticulum Calcium ATPase-2b Activity in Parallel with Increased Order of Membrane Lipids IMPLICATIONS FOR DEPLETION OF ENDOPLASMIC RETICULUM CALCIUM STORES AND APOPTOSIS IN CHOLESTEROL-LOADED MACROPHAGES. *J Biol Chem.* 27 août 2004;279(35):37030-9.
233. Ersoy BA, Maner-Smith KM, Li Y, Alpertunga I, Cohen DE. Thioesterase-mediated control of cellular calcium homeostasis enables hepatic ER stress. *J Clin Invest.* 02 2018;128(1):141-56.
234. Ozcan L, Ergin AS, Lu A, Chung J, Sarkar S, Nie D, et al. Endoplasmic Reticulum Stress Plays a Central Role in Development of Leptin Resistance. *Cell Metab.* janv 2009;9(1):35-51.
235. Zhou Y, Lee J, Reno CM, Sun C, Park SW, Chung J, et al. Regulation of glucose homeostasis through a XBP-1-FoxO1 interaction. *Nat Med.* mars 2011;17(3):356-65.
236. Lee J, Salazar Hernández MA, Auen T, Mucka P, Lee J, Ozcan U. PGC-1 α functions as a co-suppressor of XBP1s to regulate glucose metabolism. *Mol Metab.* 2018;7:119-31.
237. Wang Y, Vera L, Fischer WH, Montminy M. The CREB coactivator CRT2 links hepatic ER stress and fasting gluconeogenesis. *Nature.* 23 juill 2009;460(7254):534-7.
238. Lee M-W, Chanda D, Yang J, Oh H, Kim SS, Yoon Y-S, et al. Regulation of Hepatic Gluconeogenesis by an ER-Bound Transcription Factor, CREBH. *Cell Metab.* 7 avr 2010;11(4):331-9.
239. Li K, Zhang J, Yu J, Liu B, Guo Y, Deng J, et al. MicroRNA-214 suppresses gluconeogenesis by targeting activating transcriptional factor 4. *J Biol Chem.* 27 mars 2015;290(13):8185-95.
240. Salvadó L, Palomer X, Barroso E, Vázquez-Carrera M. Targeting endoplasmic reticulum stress in insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab.* août 2015;26(8):438-48.

241. Flamment M, Hajduch E, Ferré P, Foufelle F. New insights into ER stress-induced insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab*. août 2012;23(8):381-90.
242. Kumashiro N, Erion DM, Zhang D, Kahn M, Beddow SA, Chu X, et al. Cellular mechanism of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Proc Natl Acad Sci*. 27 sept 2011;108(39):16381-5.
243. Qiu Q, Zheng Z, Chang L, Zhao Y-S, Tan C, Dandekar A, et al. Toll-like receptor-mediated IRE1 α activation as a therapeutic target for inflammatory arthritis. *EMBO J*. 11 sept 2013;32(18):2477-90.
244. Santos CXC, Tanaka LY, Wosniak J, Laurindo FRM. Mechanisms and Implications of Reactive Oxygen Species Generation During the Unfolded Protein Response: Roles of Endoplasmic Reticulum Oxidoreductases, Mitochondrial Electron Transport, and NADPH Oxidase. *Antioxid Redox Signal*. 23 avr 2009;11(10):2409-27.
245. Okada K, Warabi E, Sugimoto H, Horie M, Gotoh N, Tokushige K, et al. Deletion of Nrf2 leads to rapid progression of steatohepatitis in mice fed atherogenic plus high-fat diet. *J Gastroenterol*. mai 2013;48(5):620-32.
246. Chowdhry S, Nazmy MH, Meakin PJ, Dinkova-Kostova AT, Walsh SV, Tsujita T, et al. Loss of Nrf2 markedly exacerbates nonalcoholic steatohepatitis. *Free Radic Biol Med*. 15 janv 2010;48(2):357-71.
247. Shimozono R, Asaoka Y, Yoshizawa Y, Aoki T, Noda H, Yamada M, et al. Nrf2 activators attenuate the progression of nonalcoholic steatohepatitis-related fibrosis in a dietary rat model. *Mol Pharmacol*. juill 2013;84(1):62-70.
248. Okada K, Warabi E, Sugimoto H, Horie M, Tokushige K, Ueda T, et al. Nrf2 inhibits hepatic iron accumulation and counteracts oxidative stress-induced liver injury in nutritional steatohepatitis. *J Gastroenterol*. août 2012;47(8):924-35.
249. Urano F, Wang X, Bertolotti A, Zhang Y, Chung P, Harding HP, et al. Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. *Science*. 28 janv 2000;287(5453):664-6.
250. Olivares S, Henkel AS. Hepatic Xbp1 Gene Deletion Promotes Endoplasmic Reticulum Stress-induced Liver Injury and Apoptosis. *J Biol Chem*. 11 déc 2015;290(50):30142-51.
251. Yamazaki H, Hiramatsu N, Hayakawa K, Tagawa Y, Okamura M, Ogata R, et al. Activation of the Akt-NF-kappaB pathway by subtilase cytotoxin through the ATF6 branch of the unfolded protein response. *J Immunol Baltim Md* 1950. 15 juill 2009;183(2):1480-7.
252. Deng J, Lu PD, Zhang Y, Scheuner D, Kaufman RJ, Sonenberg N, et al. Translational repression mediates activation of nuclear factor kappa B by phosphorylated translation initiation factor 2. *Mol Cell Biol*. déc 2004;24(23):10161-8.
253. Zhang K, Kaufman RJ. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. *Nature*. 24 juill 2008;454(7203):455-62.
254. Lebeaupin C, Proics E, de Bievilte CHD, Rousseau D, Bonnafous S, Patouraux S, et al. ER stress induces NLRP3 inflammasome activation and hepatocyte death. *Cell Death Dis*. sept 2015;6(9):e1879.
255. Dela Peña A, Leclercq I, Field J, George J, Jones B, Farrell G. NF-kappaB activation, rather than TNF, mediates hepatic inflammation in a murine dietary model of steatohepatitis. *Gastroenterology*. nov 2005;129(5):1663-74.
256. Zhang K, Shen X, Wu J, Sakaki K, Saunders T, Rutkowski DT, et al. Endoplasmic reticulum stress activates cleavage of CREBH to induce a systemic inflammatory response. *Cell*. 10 févr 2006;124(3):587-99.
257. Hetz C, Chevet E, Harding HP. Targeting the unfolded protein response in disease. *Nat Rev Drug Discov*. sept 2013;12(9):703-19.
258. Doultinos D, Avril T, Lhomond S, Dejeans N, Guédât P, Chevet E. Control of the Unfolded Protein Response in Health and Disease. *SLAS Discov Adv Life Sci R D*. 2017;22(7):787-800.
259. Tomasio SM, Harding HP, Ron D, Cross BCS, Bond PJ. Selective inhibition of the unfolded protein response: targeting catalytic sites for Schiff base modification. *Mol Biosyst*. 28 août 2013;9(10):2408-16.
260. Cross BCS, Bond PJ, Sadowski PG, Jha BK, Zak J, Goodman JM, et al. The molecular basis for selective inhibition of unconventional mRNA splicing by an IRE1-binding small molecule. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 10 avr 2012;109(15):E869-878.
261. Heindryckx F, Binet F, Ponticos M, Rombouts K, Lau J, Kreuger J, et al. Endoplasmic reticulum stress enhances fibrosis through IRE1 α -mediated degradation of miR-150 and XBP-1 splicing. *EMBO Mol Med*. 2016;8(7):729-44.

262. Kim S, Joe Y, Kim HJ, Kim Y-S, Jeong SO, Pae H-O, et al. Endoplasmic reticulum stress-induced IRE1 α activation mediates cross-talk of GSK-3 β and XBP-1 to regulate inflammatory cytokine production. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1 mai 2015;194(9):4498-506.
263. Tufanli O, Telkoparan Akillilar P, Acosta-Alvear D, Kocaturk B, Onat UI, Hamid SM, et al. Targeting IRE1 with small molecules counteracts progression of atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 21 2017;114(8):E1395-404.
264. Lebeaupin C, Vallée D, Rousseau D, Patouraux S, Bonnafous S, Adam G, et al. Bax inhibitor-1 protects from nonalcoholic steatohepatitis by limiting inositol-requiring enzyme 1 alpha signaling in mice. *Hepatology Baltim Md*. 2018;68(2):515-32.
265. Ri M, Tashiro E, Oikawa D, Shinjo S, Tokuda M, Yokouchi Y, et al. Identification of Toyocamycin, an agent cytotoxic for multiple myeloma cells, as a potent inhibitor of ER stress-induced XBP1 mRNA splicing. *Blood Cancer J*. juill 2012;2(7):e79.
266. Takahara I, Akazawa Y, Tabuchi M, Matsuda K, Miyaaki H, Kido Y, et al. Toyocamycin attenuates free fatty acid-induced hepatic steatosis and apoptosis in cultured hepatocytes and ameliorates nonalcoholic fatty liver disease in mice. *Papa S, éditeur. PLOS ONE*. 9 mars 2017;12(3):e0170591.
267. Korennykh AV, Egea PF, Korostelev AA, Finer-Moore J, Zhang C, Shokat KM, et al. The unfolded protein response signals through high-order assembly of Ire1. *Nature*. 5 févr 2009;457(7230):687-93.
268. Wang L, Perera BGK, Hari SB, Bhatarai B, Backes BJ, Seeliger MA, et al. Divergent allosteric control of the IRE1 α endoribonuclease using kinase inhibitors. *Nat Chem Biol*. déc 2012;8(12):982-9.
269. Han D, Lerner AG, Vande Walle L, Upton J-P, Xu W, Hagen A, et al. IRE1alpha kinase activation modes control alternate endoribonuclease outputs to determine divergent cell fates. *Cell*. 7 août 2009;138(3):562-75.
270. Papandreou I, Denko NC, Olson M, Van Melckebeke H, Lust S, Tam A, et al. Identification of an Ire1alpha endonuclease specific inhibitor with cytotoxic activity against human multiple myeloma. *Blood*. 27 janv 2011;117(4):1311-4.
271. Mimura N, Fulciniti M, Gorgun G, Tai Y-T, Cirstea D, Santo L, et al. Blockade of XBP1 splicing by inhibition of IRE1 is a promising therapeutic option in multiple myeloma. *Blood*. 14 juin 2012;119(24):5772-81.
272. Kawamura T, Tashiro E, Yamamoto K, Shindo K, Imoto M. SAR study of a novel triene-ansamycin group compound, quinotrierixin, and related compounds, as inhibitors of ER stress-induced XBP1 activation. *J Antibiot (Tokyo)*. mai 2008;61(5):303-11.
273. Morita S, Villalta SA, Feldman HC, Register AC, Rosenthal W, Hoffmann-Petersen IT, et al. Targeting ABL-IRE1 α Signaling Spares ER-Stressed Pancreatic β Cells to Reverse Autoimmune Diabetes. *Cell Metab*. 4 avr 2017;25(4):883-897.e8.
274. Rojas C, Pan-Castillo B, Valls C, Pujadas G, Garcia-Vallve S, Arola L, et al. Resveratrol enhances palmitate-induced ER stress and apoptosis in cancer cells. *PLoS One*. 2014;9(12):e113929.
275. Axten JM, Romeril SP, Shu A, Ralph J, Medina JR, Feng Y, et al. Discovery of GSK2656157: An Optimized PERK Inhibitor Selected for Preclinical Development. *ACS Med Chem Lett*. 10 oct 2013;4(10):964-8.
276. Atkins C, Liu Q, Minthorn E, Zhang S-Y, Figueroa DJ, Moss K, et al. Characterization of a novel PERK kinase inhibitor with antitumor and antiangiogenic activity. *Cancer Res*. 15 mars 2013;73(6):1993-2002.
277. Moreno JA, Halliday M, Molloy C, Radford H, Verity N, Axten JM, et al. Oral treatment targeting the unfolded protein response prevents neurodegeneration and clinical disease in prion-infected mice. *Sci Transl Med*. 9 oct 2013;5(206):206ra138.
278. Win S, Than TA, Le BHA, García-Ruiz C, Fernandez-Checa JC, Kaplowitz N. Sab (Sh3bp5) dependence of JNK mediated inhibition of mitochondrial respiration in palmitic acid induced hepatocyte lipotoxicity. *J Hepatol*. juin 2015;62(6):1367-74.
279. Vandewynckel Y-P, Laukens D, Bogaerts E, Paridaens A, Van den Bussche A, Verhelst X, et al. Modulation of the unfolded protein response impedes tumor cell adaptation to proteotoxic stress: a PERK for hepatocellular carcinoma therapy. *Hepatology Int*. janv 2015;9(1):93-104.
280. Harding HP, Zeng H, Zhang Y, Jungries R, Chung P, Plesken H, et al. Diabetes mellitus and exocrine pancreatic dysfunction in perk $^{-/-}$ mice reveals a role for translational control in secretory cell survival. *Mol Cell*. juin 2001;7(6):1153-63.

281. Krishnamoorthy J, Rajesh K, Mirzajani F, Kesoglidou P, Papadakis A, Koromilas AE. Evidence for eIF2 α phosphorylation-independent effects of GSK2656157, a novel catalytic inhibitor of PERK with clinical implications. *Cell Cycle*. mars 2014;13(5):801-6.
282. Rojas-Rivera D, Delvaeye T, Roelandt R, Nerinckx W, Augustyns K, Vandenabeele P, et al. When PERK inhibitors turn out to be new potent RIPK1 inhibitors: critical issues on the specificity and use of GSK2606414 and GSK2656157. *Cell Death Differ*. 2017;24(6):1100-10.
283. Sidrauski C, Acosta-Alvear D, Khoutorsky A, Vedantham P, Hearn BR, Li H, et al. Pharmacological brake-release of mRNA translation enhances cognitive memory. *eLife*. 28 mai 2013;2:e00498.
284. Halliday M, Radford H, Sekine Y, Moreno J, Verity N, le Quesne J, et al. Partial restoration of protein synthesis rates by the small molecule ISRIB prevents neurodegeneration without pancreatic toxicity. *Cell Death Dis*. 5 mars 2015;6:e1672.
285. Sidrauski C, McGeachy AM, Ingolia NT, Walter P. The small molecule ISRIB reverses the effects of eIF2 α phosphorylation on translation and stress granule assembly. *eLife*. 26 févr 2015;4.
286. Sekine Y, Zyryanova A, Crespillo-Casado A, Fischer PM, Harding HP, Ron D. Stress responses. Mutations in a translation initiation factor identify the target of a memory-enhancing compound. *Science*. 29 mai 2015;348(6238):1027-30.
287. Sidrauski C, Tsai JC, Kampmann M, Hearn BR, Vedantham P, Jaishankar P, et al. Pharmacological dimerization and activation of the exchange factor eIF2B antagonizes the integrated stress response. *eLife*. 15 avr 2015;4:e07314.
288. Boyce M, Bryant KF, Jousse C, Long K, Harding HP, Scheuner D, et al. A selective inhibitor of eIF2 α dephosphorylation protects cells from ER stress. *Science*. 11 févr 2005;307(5711):935-9.
289. Sokka A-L, Putkonen N, Mudo G, Pryazhnikov E, Reijonen S, Khiroug L, et al. Endoplasmic Reticulum Stress Inhibition Protects against Excitotoxic Neuronal Injury in the Rat Brain. *J Neurosci*. 24 janv 2007;27(4):901-8.
290. Colla E, Coune P, Liu Y, Pletnikova O, Troncoso JC, Iwatsubo T, et al. Endoplasmic Reticulum Stress Is Important for the Manifestations of α -Synucleinopathy In Vivo. *J Neurosci*. 7 mars 2012;32(10):3306-20.
291. Saxena S, Cabuy E, Caroni P. A role for motoneuron subtype-selective ER stress in disease manifestations of FALS mice. *Nat Neurosci*. mai 2009;12(5):627-36.
292. Harding HP, Zhang Y, Scheuner D, Chen J-J, Kaufman RJ, Ron D. Ppp1r15 gene knockout reveals an essential role for translation initiation factor 2 α (eIF2 α) dephosphorylation in mammalian development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 10 févr 2009;106(6):1832-7.
293. Tsaytler P, Harding HP, Ron D, Bertolotti A. Selective inhibition of a regulatory subunit of protein phosphatase 1 restores proteostasis. *Science*. 1 avr 2011;332(6025):91-4.
294. Das I, Krzyzosiak A, Schneider K, Wrabetz L, D'Antonio M, Barry N, et al. Preventing proteostasis diseases by selective inhibition of a phosphatase regulatory subunit. *Science*. 10 avr 2015;348(6231):239-42.
295. Chen Y, Podojil JR, Kunjamma RB, Jones J, Weiner M, Lin W, et al. Sephin1, which prolongs the integrated stress response, is a promising therapeutic for multiple sclerosis. *Brain J Neurol*. 1 févr 2019;142(2):344-61.
296. Wang L, Popko B, Tixier E, Roos RP. Guanabenz, which enhances the unfolded protein response, ameliorates mutant SOD1-induced amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis*. nov 2014;71:317-24.
297. Gallagher CM, Garri C, Cain EL, Ang KK-H, Wilson CG, Chen S, et al. Ceapins are a new class of unfolded protein response inhibitors, selectively targeting the ATF6 α branch. *eLife*. 20 2016;5.
298. Gallagher CM, Walter P. Ceapins inhibit ATF6 α signaling by selectively preventing transport of ATF6 α to the Golgi apparatus during ER stress. *eLife*. 20 2016;5.
299. Guan M, Fousek K, Jiang C, Guo S, Synold T, Xi B, et al. Nelfinavir induces liposarcoma apoptosis through inhibition of regulated intramembrane proteolysis of SREBP-1 and ATF6. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 1 avr 2011;17(7):1796-806.
300. Bu L-J, Yu H-Q, Fan L-L, Li X-Q, Wang F, Liu J-T, et al. Melatonin, a novel selective ATF-6 inhibitor, induces human hepatoma cell apoptosis through COX-2 downregulation. *World J Gastroenterol*. 14 févr 2017;23(6):986-98.
301. Plate L, Cooley CB, Chen JJ, Paxman RJ, Gallagher CM, Madoux F, et al. Small molecule proteostasis regulators that reprogram the ER to reduce extracellular protein aggregation.

- eLife [Internet]. [cité 8 juin 2019];5. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4954754/>
302. Paxman R, Plate L, Blackwood EA, Glembotski C, Powers ET, Wiseman RL, et al. Pharmacologic ATF6 activating compounds are metabolically activated to selectively modify endoplasmic reticulum proteins. *eLife*. 07 2018;7.
 303. Blackwood EA, Azizi K, Thuerauf DJ, Paxman RJ, Plate L, Kelly JW, et al. Pharmacologic ATF6 activation confers global protection in widespread disease models by reprogramming cellular proteostasis. *Nat Commun*. 14 janv 2019;10(1):187.
 304. Martin S, Lamb HK, Brady C, Lefkove B, Bonner MY, Thompson P, et al. Inducing apoptosis of cancer cells using small-molecule plant compounds that bind to GRP78. *Br J Cancer*. 23 juill 2013;109(2):433-43.
 305. Kudo T, Kanemoto S, Hara H, Morimoto N, Morihara T, Kimura R, et al. A molecular chaperone inducer protects neurons from ER stress. *Cell Death Differ*. févr 2008;15(2):364-75.
 306. Inokuchi Y, Nakajima Y, Shimazawa M, Kurita T, Kubo M, Saito A, et al. Effect of an inducer of BiP, a molecular chaperone, on endoplasmic reticulum (ER) stress-induced retinal cell death. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. janv 2009;50(1):334-44.
 307. Oida Y, Hamanaka J, Hyakkoku K, Shimazawa M, Kudo T, Imaizumi K, et al. Post-treatment of a BiP inducer prevents cell death after middle cerebral artery occlusion in mice. *Neurosci Lett*. 22 oct 2010;484(1):43-6.
 308. Zhang Z, Tong N, Gong Y, Qiu Q, Yin L, Lv X, et al. Valproate protects the retina from endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis after ischemia-reperfusion injury. *Neurosci Lett*. 24 oct 2011;504(2):88-92.
 309. Lindquist SL, Kelly JW. Chemical and biological approaches for adapting proteostasis to ameliorate protein misfolding and aggregation diseases: progress and prognosis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 1 déc 2011;3(12).
 310. Dokmanovic M, Marks PA. Prospects: Histone deacetylase inhibitors. *J Cell Biochem*. 2005;96(2):293-304.
 311. Burrows JA, Willis LK, Perlmutter DH. Chemical chaperones mediate increased secretion of mutant alpha 1-antitrypsin (alpha 1-AT) Z: A potential pharmacological strategy for prevention of liver injury and emphysema in alpha 1-AT deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 15 févr 2000;97(4):1796-801.
 312. Singh OV, Pollard HB, Zeitlin PL. Chemical rescue of deltaF508-CFTR mimics genetic repair in cystic fibrosis bronchial epithelial cells. *Mol Cell Proteomics MCP*. juin 2008;7(6):1099-110.
 313. Ozcan U, Yilmaz E, Ozcan L, Furuhashi M, Vaillancourt E, Smith RO, et al. Chemical chaperones reduce ER stress and restore glucose homeostasis in a mouse model of type 2 diabetes. *Science*. 25 août 2006;313(5790):1137-40.
 314. Jiménez-Castro MB, Elias-Miro M, Mendes-Braz M, Lemoine A, Rimola A, Rodés J, et al. Tauroursodeoxycholic acid affects PPAR γ and TLR4 in Steatotic liver transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. déc 2012;12(12):3257-71.
 315. Namisaki T, Noguchi R, Moriya K, Kitade M, Aihara Y, Douhara A, et al. Beneficial effects of combined ursodeoxycholic acid and angiotensin-II type 1 receptor blocker on hepatic fibrogenesis in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol*. févr 2016;51(2):162-72.
 316. Xiao C, Giacca A, Lewis GF. Sodium phenylbutyrate, a drug with known capacity to reduce endoplasmic reticulum stress, partially alleviates lipid-induced insulin resistance and beta-cell dysfunction in humans. *Diabetes*. mars 2011;60(3):918-24.
 317. Kars M, Yang L, Gregor MF, Mohammed BS, Pietka TA, Finck BN, et al. Tauroursodeoxycholic Acid may improve liver and muscle but not adipose tissue insulin sensitivity in obese men and women. *Diabetes*. août 2010;59(8):1899-905.
 318. Lindor KD, Kowdley KV, Heathcote EJ, Harrison ME, Jorgensen R, Angulo P, et al. Ursodeoxycholic acid for treatment of nonalcoholic steatohepatitis: results of a randomized trial. *Hepatology Baltim Md*. mars 2004;39(3):770-8.
 319. Dufour J-F, Oneta CM, Gonvers J-J, Bihl F, Cerny A, Cereda J-M, et al. Randomized placebo-controlled trial of ursodeoxycholic acid with vitamin e in nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. déc 2006;4(12):1537-43.
 320. Leuschner UFH, Lindenthal B, Herrmann G, Arnold JC, Rössle M, Cordes H-J, et al. High-dose ursodeoxycholic acid therapy for nonalcoholic steatohepatitis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Hepatology Baltim Md*. août 2010;52(2):472-9.

321. Higa A, Taouji S, Lhomond S, Jensen D, Fernandez-Zapico ME, Simpson JC, et al. Endoplasmic Reticulum Stress-Activated Transcription Factor ATF6 α Requires the Disulfide Isomerase PDIA5 To Modulate Chemoresistance. *Mol Cell Biol.* 15 mai 2014;34(10):1839-49.
322. Fu S, Yalcin A, Lee GY, Li P, Fan J, Arruda AP, et al. Phenotypic assays identify azoramidate as a small-molecule modulator of the unfolded protein response with antidiabetic activity. *Sci Transl Med.* 17 juin 2015;7(292):292ra98.
323. Pagliassotti MJ, Estrada AL, Hudson WM, Wei Y, Wang D, Seals DR, et al. Trehalose supplementation reduces hepatic endoplasmic reticulum stress and inflammatory signaling in old mice. *J Nutr Biochem.* 2017;45:15-23.
324. Honma Y, Sato-Morita M, Katsuki Y, Mihara H, Baba R, Harada M. Trehalose activates autophagy and decreases proteasome inhibitor-induced endoplasmic reticulum stress and oxidative stress-mediated cytotoxicity in hepatocytes. *Hepato Res.* 2018;48(1):94-105.
325. Armstrong MJ, Gaunt P, Aithal GP, Barton D, Hull D, Parker R, et al. Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet Lond Engl.* 13 févr 2016;387(10019):679-90.
326. Yusta B, Baggio LL, Estall JL, Koehler JA, Holland DP, Li H, et al. GLP-1 receptor activation improves beta cell function and survival following induction of endoplasmic reticulum stress. *Cell Metab.* nov 2006;4(5):391-406.
327. Schisano B, Harte AL, Lois K, Saravanan P, Al-Daghri N, Al-Attas O, et al. GLP-1 analogue, Liraglutide protects human umbilical vein endothelial cells against high glucose induced endoplasmic reticulum stress. *Regul Pept.* 10 févr 2012;174(1-3):46-52.
328. Cunha DA, Ladrière L, Ortis F, Igoillo-Esteve M, Gurzov EN, Lupi R, et al. Glucagon-like peptide-1 agonists protect pancreatic beta-cells from lipotoxic endoplasmic reticulum stress through upregulation of BiP and JunB. *Diabetes.* déc 2009;58(12):2851-62.
329. Sharma S, Mells JE, Fu PP, Saxena NK, Anania FA. GLP-1 analogs reduce hepatocyte steatosis and improve survival by enhancing the unfolded protein response and promoting macroautophagy. *PloS One.* 2011;6(9):e25269.
330. Ao N, Yang J, Wang X, Du J. Glucagon-like peptide-1 preserves non-alcoholic fatty liver disease through inhibition of the endoplasmic reticulum stress-associated pathway. *Hepato Res Off J Jpn Soc Hepatol.* avr 2016;46(4):343-53.
331. Zheng X, Xu F, Liang H, Cao H, Cai M, Xu W, et al. SIRT1/HSF1/HSP pathway is essential for exenatide-alleviated, lipid-induced hepatic endoplasmic reticulum stress. *Hepato Baltim Md.* 2017;66(3):809-24.
332. Imarisio C, Alchera E, Bangalore Revanna C, Valente G, Follenzi A, Trisolini E, et al. Oxidative and ER stress-dependent ASK1 activation in steatotic hepatocytes and Kupffer cells sensitizes mice fatty liver to ischemia/reperfusion injury. *Free Radic Biol Med.* 2017;112:141-8.
333. Yamamoto E, Dong Y-F, Kataoka K, Yamashita T, Tokutomi Y, Matsuba S, et al. Olmesartan prevents cardiovascular injury and hepatic steatosis in obesity and diabetes, accompanied by apoptosis signal regulating kinase-1 inhibition. *Hypertens Dallas Tex* 1979. sept 2008;52(3):573-80.
334. Zhang P, Wang P-X, Zhao L-P, Zhang X, Ji Y-X, Zhang X-J, et al. The deubiquitinating enzyme TNFAIP3 mediates inactivation of hepatic ASK1 and ameliorates nonalcoholic steatohepatitis. *Nat Med.* 2018;24(1):84-94.
335. Schuster S, McGeough MD, Johnson CD, Zagorska A, Budas G, Hoffman HM, et al. Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) inhibition reduces liver fibrosis and apoptosis in a NLRP3 mutant model of NASH. *J Hepatol.* 1 janv 2017;66(1):S608-9.
336. Liles JT, Zagorska A, Hollenback D, Budas GR, Liu H, Liu K, et al. Combination of an ASK1 inhibitor and FXR agonist increases efficacy in a mouse model of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* 1 janv 2017;66(1):S19-20.
337. Yu Z, Shao W, Chiang Y, Foltz W, Zhang Z, Ling W, et al. Oltipraz upregulates the nuclear respiratory factor 2 alpha subunit (NRF2) antioxidant system and prevents insulin resistance and obesity induced by a high-fat diet in C57BL/6J mice. *Diabetologia.* 1 avr 2011;54(4):922-34.
338. Kim W, Kim BG, Lee JS, Lee CK, Yeon JE, Chang MS, et al. Randomised clinical trial: the efficacy and safety of oltipraz, a liver X receptor alpha-inhibitory dithiolethione in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;45(8):1073-83.

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2018/2019

Nom : ANDRES
Prénom : Marine

Titre de la thèse : La voie Unfolded Protein Response comme nouvelle cible thérapeutique dans le traitement de la stéatohépatite non alcoolique

Mots-clés : UPR, réticulum endoplasmique, stress réticulaire, NAFLD, NASH

Résumé : La stéatohépatite non alcoolique (NASH), communément appelée maladie du soda, est une pathologie hépatique liée au mode de vie, caractérisée par une accumulation anormale de lipides dans les hépatocytes ainsi qu'une ballonnisation et une inflammation, pouvant s'accompagner d'une fibrose. Ces dernières années, parallèlement à l'épidémie mondiale de diabète et d'obésité, sa prévalence a connu une ascension fulgurante. Actuellement sans traitement, la NASH représente un enjeu de santé publique majeur. Malgré les nombreux efforts scientifiques réalisés, les mécanismes physiopathologiques conduisant à son développement restent encore à élucider complètement. Parmi les différents facteurs impliqués, il semblerait que le stress du réticulum endoplasmique et la voie Unfolded Protein Response (UPR) pourraient jouer un rôle dans son développement. Initialement perçues comme de simples réponses au dérèglement de l'homéostasie protéique, ces voies de signalisation se sont révélées comme des éléments clés du développement de diverses maladies métaboliques. Ainsi, la voie UPR pourrait représenter une cible thérapeutique intéressante dans le traitement de la NASH. Par ailleurs, quelques molécules en développement ciblant l'UPR ont montré des effets encourageants chez l'Homme ou dans des modèles animaux de la NASH.

Membres du jury :

Président : Malika BALDUYCK, Maître de Conférences, Laboratoire de Biochimie, Faculté de Pharmacie, Université de Lille - Praticien Hospitalier, CHRU de Lille

Directeur de thèse : Rebecca DEPRez-POULAIN, Professeur des Universités, Laboratoire de Chimie Thérapeutique, Faculté de Pharmacie, Université de Lille

Membre(s) extérieur(s) : Catherine DACQUET, Directeur de Projet de Recherche, Pôle d'Innovation Thérapeutique Cardio-Métabolisme, Institut de Recherches Servier